

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР  
ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ  
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»

На правах рукописи

Маслацов Николай Анатольевич

**ИССЛЕДОВАНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ КАЛЬЦИФИКАЦИИ  
СТАБИЛЬНЫХ И НЕСТАБИЛЬНЫХ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ  
БЛЯШЕК В КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЯХ**

3.1.20. Кардиология

Диссертации на соискание учёной степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
член-корреспондент РАН,  
доктор медицинских наук,  
профессор  
Рагино Юлия Игоревна

Новосибирск – 2023

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

ВВЕДЕНИЕ. . . . .	4
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. . . . .	14
1.1 Фундаментальные основы кальцификации. . . . .	14
1.1.1 Общие положения. . . . .	14
1.1.2 Типы сосудистой кальцификации. . . . .	16
1.2 Кальцификация атеросклеротических бляшек. . . . .	18
1.2.1 Паттерны кальцификации атеросклеротических бляшек. . . . .	18
1.2.2 Связь типа кальцификации с характером атеросклеротического поражения. . . . .	19
1.2.3 Связь кальцификации с нестабильностью атеросклеротических бляшек. . . . .	22
1.2.4 Механические факторы нестабильности атеросклеротических бляшек. . . . .	24
1.3 Молекулярные механизмы кальцификации. . . . .	26
1.3.1 Биомаркеры воспаления и кальцификация . . . . .	26
1.3.2 Сигнальные пути при дифференцировке гладкомышечных клеток. . .	27
1.3.3 Ингибиторы сосудистой кальцификации. . . . .	32
1.3.4 Факторы регуляции сосудистой кальцификации. . . . .	35
1.3.5 Основные биомаркеры сосудистой кальцификации. . . . .	36
1.3.6 Биомаркеры кальцификации и эпикардальная жировая ткань. . . . .	42
1.4 Биомаркеры кальцификации при некоторых заболеваниях и состояниях. . . . .	43
1.4.1 Биомаркеры кальцификации, эндотелиальная дисфункция и сосудистое воспаление. . . . .	43
1.4.2 Биомаркеры кальцификации и сахарный диабет. . . . .	45
1.4.3 Биомаркеры кальцификации и хроническая болезнь почек. . . . .	46
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. . . . .	47
2.1 Дизайн и схема исследования. . . . .	47

2.2 Общая характеристика обследования пациентов. . . . .	48
2.3 Лабораторные методы исследования. . . . .	53
2.4 Оценка отдалённых результатов после операции коронарного шунтирования. . . . .	54
2.5 Статистическая обработка . . . . .	55
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ. . . . .	57
3.1 Клинические характеристики у мужчин с коронарным атеросклерозом с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях. . . . .	57
3.2 Биохимические факторы кальцификации и эндотелиальной дисфункции в стабильных и нестабильных атеросклеротических бляшках из коронарных артерий у мужчин с коронарным атеросклерозом. . . . .	59
3.3 Биохимические факторы кальцификации и эндотелиальной дисфункции в крови у мужчин с коронарным атеросклерозом. . . . .	67
3.4 Поиск ассоциаций факторов кальцификации бляшек с развитием неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в пятилетний отдаленный период после операции коронарного шунтирования. . . . .	72
ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ. . . . .	77
ЗАКЛЮЧЕНИЕ. . . . .	83
ВЫВОДЫ. . . . .	85
ПРАКТИЧЕСКАЯ РЕКОМЕНДАЦИЯ. . . . .	87
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ . . . . .	88
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ . . . . .	91
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА. . . . .	121

## ВВЕДЕНИЕ

Исследование этиопатогенетических механизмов атеросклероза и его осложнений, в том числе кальцификации атеросклеротических бляшек, является современной фундаментальной задачей медицины. Проблема влияния сосудистой кальцификации в особенности выраженной на формирование нестабильных атером, представляющих собой патогенетический субстрат для атеротромбоза с развитием инфаркта миокарда (ИМ) и острого коронарного синдрома (ОКС) в целом, остаётся дискуссионной до настоящего момента: способствует атерокальциноз или, наоборот, замедляет развитие нестабильной атеросклеротической бляшки. Сложилось общее представление о том, что способствующие развитию коронарных событий нестабильные атеросклеротические бляшки имеют, в отличие от стабильных, несколько ключевых признаков: в первую очередь – это характерная истончённая, зачастую с дефектами и разрывами, фиброзная покрышка; во-вторых, значительное по размеру, в сравнении с самой атеросклеротической бляшкой, липидное ядро; в-третьих, отсутствие очагов плотной кальцификации [91; 191]. Тем не менее в ряде работ было продемонстрировано, что кальцификация бляшек в коронарных артериях является сильным и независимым предиктором формирования нестабильных атером и в целом неблагоприятного сердечно-сосудистого прогноза [37; 38; 54; 67; 69; 112; 175; 190].

У пациентов с коронарным атеросклерозом интерпретация феномена коронарной кальцификации в зависимости от ультраструктуры кальцинирующего поражения может значительно различаться. Так, на стабильность атеросклеротической бляшки может указывать плотная очаговая кальцификация. И, напротив, на уязвимость атеросклеротических бляшек и высокий риск развития осложнений, связанных с разрывом фиброзной покрышки и атеротромбозом, могут указывать диссеминированные очаги микрокальцификации [10].

Кальцификация атеросклеротических бляшек коронарных сосудов не просто коррелирует в зависимости от степени с традиционными факторами риска,

но и сама независимо связана с риском возникновения сердечно-сосудистых событий, а её распространённость может достигать 90 % [62].

Механизмы сосудистой кальцификации представляют собой аналогичные остеогенезу процессы, регулируемые благодаря биомолекулам и соединениям костной ткани, среди которых можно отметить: а) фосфаты и соли кальция, в том числе, в форме гидроксиапатита; б) коллаген I типа, выполняющий не только структурную, но и сигнальную функции, влияя на работу микровезикул и трансформацию ГМК; в) остеогенные факторы, такие как остеокальцин, остеоонектин, остеопротегерин, остеокальцин и другие [101; 145]. Резорбция очагов кальцификации была выявлена в атеросклеротических бляшках, где также были идентифицированы остеобластоподобные клетки [96; 126].

### **Степень разработанности темы исследования**

Изучение биомолекул, ассоциированных с процессами кальцификации при атеросклеротических поражениях артерий, является актуальной развивающейся областью научных исследований. На сегодняшний день имеющиеся совершенно противоположные точки зрения многих исследователей относительно влияния кальцификации на нестабильность атеросклеротической бляшки указывают на нерешённость проблемы. Данные об изучении биомолекул кальцификации непосредственно в атеросклеротических очагах коронарных артерий человека практически отсутствуют, а данные об ассоциации биомолекул кальцификации с развитием неблагоприятных сердечно-сосудистых событий крайне малочисленны.

В связи с вышеизложенным, изучение этиопатогенеза сосудистой кальцификации и определение её роли в атерогенезе и формировании нестабильных атеросклеротических бляшек, являющихся патогенетическим субстратом развития ОКС и инфаркта миокарда, становится актуальной современной темой как для исследования атерогенеза в общем, так и для получения новых данных, дополняющих и уточняющих известные механизмы формирования нестабильных атеросклеротических бляшек.

## **Цель работы**

Исследовать у мужчин с коронарным атеросклерозом биомолекулы кальцификации атеросклеротических бляшек (остеопонтин, остеоонектин, остеопротегерин, остеокальцин) в крови и в сосудистой стенке и выявить ассоциации данных биомолекул с развитием неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в пятилетний период после операции коронарного шунтирования (КШ).

## **Задачи исследования**

1. Изучить клинические характеристики мужчин с коронарным атеросклерозом, имеющих нестабильные атеросклеротические бляшки в коронарных артериях.

2. Исследовать биохимические факторы кальцификации (остеопонтин, остеоонектин, остеопротегерин, остеокальцин) и эндотелиальной дисфункции (sVCAM-1, MCP-1, E-селектин) у мужчин с коронарным атеросклерозом в стабильных и нестабильных атеросклеротических бляшках коронарных артерий.

3. Исследовать биохимические факторы кальцификации (остеопонтин, остеоонектин, остеопротегерин, остеокальцин) и эндотелиальной дисфункции (sVCAM-1, MCP-1, E-селектин) в крови у мужчин с коронарным атеросклерозом с наличием нестабильных и кальцифицированных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях.

4. Осуществить поиск ассоциаций факторов кальцификации атеросклеротических бляшек (остеопонтин, остеоонектин, остеопротегерин, остеокальцин) с наступлением комбинированной конечной точки: смерть от сердечно-сосудистого заболевания; инфаркт миокарда; инсульт; проведение дополнительной операции (неблагоприятный прогноз) в отдалённый пятилетний период после операции коронарного шунтирования.

### Научная новизна работы

Впервые у мужчин с коронарным атеросклерозом исследованы биохимические факторы кальцификации (остеопонтин, остеонектин, остеопротегерин, остеокальцин) в стабильных и нестабильных атеросклеротических бляшках коронарных артерий. Было установлено, что показатели остеонектина в нестабильных атеросклеротических бляшках коронарных артерий в 1,5 раза ниже, чем в стабильных бляшках. В атеросклеротических бляшках с крупными кальцификатами снижено содержание остеопонтина (в 4,2 раза) и остеонектина (в 2,3 раза) при сопоставлении с бляшками без кальцификации. Значения остеокальцина увеличивались с кальцификацией бляшки и достигали наибольших показателей в бляшках с крупными кальцификатами – в 10,7 раз больше, чем в бляшках без кальцификатов и в 1,7 раз больше, чем в бляшках с мелкими кальцификатами. Показано, что шанс формирования нестабильной атеросклеротической бляшки связан со степенью кальцификации очага: вероятность наличия нестабильной бляшки выше в 4,4 раза при наличии в ней мелких кальцификатов (ОШ = 4,413; 95 % ДИ 1,545–12,602) и выше почти в 40 раз – при наличии в ней крупных кальцификатов (ОШ = 39,443; 95 % ДИ 3,564–436,53) по отношению к некальцинированным бляшкам. В атеросклеротических бляшках коронарных артерий относительный риск формирования кальцификатов связан с остеокальцином (ОШ = 1,011; 95 % ДИ 1,004–1,018).

Впервые изучены биохимические факторы кальцификации (остеопонтин, остеонектин, остеопротегерин, остеокальцин) в крови у мужчин, имевших в коронарных артериях нестабильные и кальцифицированные атеросклеротические бляшки. Выявлены статистически значимые корреляционные связи между показателями в атеросклеротических бляшках и в крови уровней биомолекул sVCAM-1 ( $r = 0,180$ ;  $p = 0,038$ ); MCP-1 ( $r = 0,263$ ;  $p = 0,003$ ), остеопонтина ( $r = -0,192$ ;  $p = 0,031$ ) и остеокальцина ( $r = 0,353$ ;  $p = 0,0001$ ). Показатели остеонектина в крови у мужчин, имевших в коронарных артериях нестабильные атеросклеротические бляшки выше ( $p = 0,024$ ), чем у мужчин, не имевших в

коронарных артериях нестабильных бляшек. Значения остеокальцина в крови у мужчин, имевших кальцифицированные атеросклеротические бляшки в коронарных артериях, в 1,2 раза выше ( $p = 0,033$ ), чем у мужчин, не имевших в коронарных артериях кальцифицированных атеросклеротических бляшек.

Впервые проведён поиск ассоциаций факторов кальцификации атеросклеротических бляшек (остеопонтин, остонектин, остепротегерин, остеокальцин) с наступлением комбинированной конечной точки: смерть от сердечно-сосудистых заболеваний; инфаркт миокарда; инсульт; проведение дополнительной операции (неблагоприятный прогноз) в отдалённый пятилетний период после операции коронарного шунтирования. Установлено, что у мужчин с коронарным атеросклерозом с неблагоприятным после операции КШ пятилетним прогнозом показатели остеокальцина в крови до операции были выше в 1,2 раза ( $p = 0,035$ ), чем у мужчин с благоприятным отдалённым пятилетним прогнозом. У мужчин с коронарным атеросклерозом после операции КШ отдаленный неблагоприятный пятилетний прогноз прямо ассоциирован с возрастом (ОШ 1,139; 95 % ДИ 1,006–1,289); ( $p = 0,039$ ), показателями окружности талии (ОШ 1,097; 95 % ДИ 1,004–1,199); ( $p = 0,040$ ) и уровнем остеокальцина в крови (ОШ 1,095; 95 % ДИ 1,002–1,171); ( $p = 0,015$ ).

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Результаты исследования биохимических факторов кальцификации (остеопонтин, остонектин, остепротегерин, остеокальцин) у мужчин с коронарным атеросклерозом в атеросклеротических бляшках коронарных артерий позволили прийти к выводу, что шанс формирования нестабильной бляшки связан со степенью её кальцификации – вероятность развития нестабильной бляшки повышается при наличии в ней кальцификатов, особенно крупных. Относительный риск формирования в атеросклеротических бляшках коронарных артерий кальцификатов прямо ассоциирован с содержанием в них остеокальцина.

Результаты изучения биомаркеров кальцификации (остеопонтин, остонектин, остепротегерин, остеокальцин) в крови у мужчин с коронарным



атеросклерозом позволили прийти к выводу, что содержание в крови остеокальцина, во-первых, прямо ассоциировано с его содержанием в атеросклеротических бляшках коронарных артерий и, во-вторых, выше у участников исследования, имевших кальцифицированные атеросклеротические бляшки в коронарных артериях, чем у участников без таковых.

Выявлено, что у мужчин с коронарным атеросклерозом после операции КШ отдаленный неблагоприятный пятилетний прогноз прямо ассоциирован с возрастом, показателем окружности талии и уровнем в крови остеокальцина.

### **Методология и методы диссертационного исследования**

Диссертационное исследование было проведено в несколько этапов, по дизайну являлось исследованием «наблюдательное когортное одноцентровое исследование с проспективным пятилетним наблюдением». 130 мужчин с атеросклерозом коронарных артерий, подтверждённым данными коронарографии, со стабильной стенокардией напряжения приняли участие в исследовании, им была проведена плановая операция КШ. Взятие крови для исследования проводилось перед операцией. В ходе операции КШ у 78 пациентов по кардиохирургическим показаниям была проведена коронарная эндартерэктомия и выполнен забор интимы-медии артерий. Степень кальцификации коронарного русла как до операции КШ, так и интраоперационно не оценивалась. Всего из материала эндартерэктомии, забранного у 78 пациентов, было получено 140 фрагментов-образцов интимы-медии для проведения биохимических и гистологических исследований. В 140 фрагментах-образцах интимы-медии гистологическим методом были определены 89 стабильных и 51 нестабильная атеросклеротическая бляшка. Далее 78 участников исследования поделили на 2 подгруппы: в подгруппу I включены 40 мужчин без нестабильных бляшек, в подгруппу II – 38 мужчин с наличием хотя бы одной нестабильной атеросклеротической бляшки в коронарных артериях. С помощью иммуноферментного анализа оценивали концентрации биомолекул, ассоциированных с кальцификацией (остеопонтин, остеоонектин, остеопротегерин,

остеокальцин), в крови и в гомогенатах атеросклеротических бляшек коронарных артерий. Через пять лет после КШ у 92 участников был оценен отдалённый прогноз. Под неблагоприятным прогнозом принято наступление комбинированной конечной точки: смерть от сердечно-сосудистого заболевания; инсульт; фатальный и нефатальный инфаркт миокарда; проведение дополнительной операции (чрескожное коронарное вмешательство, повторное коронарное шунтирование). Для изучения отдалённого прогноза у пациентов, проходивших в пятилетний период лечение и обследование в поликлиниках и стационарах, использовали выписки из медицинской документации – амбулаторных карт и/или историй болезни в том числе и у повторно оперированных пациентов, а также данные при повторных обращениях в поликлинику и/или клинику ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина Минздрава России». Наступление комбинированной конечной точки также фиксировалось методом направленного интервью пациентов по телефону при предоставлении пациентами или их родственниками медицинской документации, в противном случае – пациенты исключались, а их данные не учитывались в проспективной части исследования. Статистический анализ данных, проведённый на заключительном этапе, и построение многофакторной регрессионной модели позволили сформулировать обоснованные выводы и получить статистически значимые данные.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Формирование в коронарных артериях у мужчин нестабильных атеросклеротических бляшек напрямую ассоциировано с наличием в них кальцификатов. У мужчин наличие в атеросклеротических бляшках в коронарных артериях очагов кальцификации напрямую ассоциировано с содержанием в них остеокальцина.

2. Уровень в крови остеокальцина у мужчин с коронарным атеросклерозом напрямую ассоциирован с его содержанием в атеросклеротических бляшках

коронарных артерий, а при наличии кальцифицированных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях остеокальцин повышен в крови.

3. Отдаленный неблагоприятный пятилетний прогноз у мужчин с коронарным атеросклерозом после операции КШ прямо ассоциирован с возрастом, окружностью талии и уровнем в крови остеокальцина.

### **Степень достоверности результатов исследования**

Мощность выборки была рассчитана по формуле:

$$N \text{ min} = 15,4*(p*(1-p))/W^2, \quad (1)$$

где  $p$  – ожидаемое значение вероятности случайного события;

$W$  – ширина доверительного интервала для значения вероятности.

Минимальный объём выборки пациентов с коронарным атеросклерозом, которым во время операции КШ была выполнена коронарная эндартерэктомия, по данной формуле составил 60. В основную группу мужчин в исследовании было включено 78 человек.

Достоверность результатов диссертации обеспечена использованием современных лабораторных, функционально-диагностических и клинических методик. Для проведения статистического анализа был использован пакет программ SPSS Statistics версии 17.0.

### **Апробация результатов диссертации**

Результаты работы были представлены и обсуждены: на Российских национальных конгрессах кардиологов (Екатеринбург, 2019; Онлайн, 2020; Санкт-Петербург, 2021; Казань, 2022); Всероссийских конференциях Национального общества по атеросклерозу (Москва, 2019–2022). Апробация диссертационной работы была проведена 20 июня 2022 г. на межлабораторном семинаре НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН.

### **Внедрение результатов исследования**

Диссертационная работа проведена в рамках: а) бюджетной темы по Государственному заданию № АААА-А17-117112850280-2; б) бюджетной темы при поддержке биоресурсных коллекций по Государственному заданию № 0324-2017-0048; в) Программы научно-исследовательских работ НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН (руководитель программы проф. Рагино Ю. И.) совместно с ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России (руководитель программы проф. Чернявский А. М.), проведение исследования было одобрено этическим комитетом НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН (Протокол № 80 от 24.11.2020; Николаев К. Ю., Фомина Е. М., Дума С. Н., Щербакова Л. В., Кузнецов А. А., Логвиненко И. И., Прийдак М. В.); г) финансовой поддержки гранта РФФИ № 19-015-00055 «Роль сосудистого кальциноза в стабильности и нестабильности атеросклеротических бляшек» (2019–2021 гг.).

Материалы и выводы диссертации используются в работе клиники НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН, а также в учебном процессе – в «Школах по липидологии» для врачей, в программах клинической ординатуры НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН – терапевтов, кардиологов, липидологов.

### **Публикации**

Было опубликовано 5 статей по материалам диссертации, из них 4 статьи были опубликованы в центральных российских журналах, рекомендованных перечнем ВАК Российской Федерации, 1 статья в журнале реферативной базы данных и системы цитирования Web of Science (Q1).

### **Объем и структура диссертации**

Диссертационная работа представлена на 124 страницах машинописного текста и содержит 11 таблиц и 20 рисунков. Структура работы включает введение, обзор литературы, главу, посвященную материалам и методам исследования, главу собственных исследований, обсуждение результатов, заключение, выводы,

практические рекомендации и список использованной литературы. В списке цитируемых источников присутствует 220 публикаций, включая 34 российских и 186 зарубежных источников.

### **Личный вклад автора**

Автором была разработана проспективная часть исследования, в рамках которой была подготовлена база данных с опорой на протоколы и полученные результаты. Кроме того, был выполнен статистический анализ данных и научное обоснование результатов исследования. Автор лично принимал участие в проведении иммуноферментных исследований крови. Все научные публикации, содержащие полученные результаты, были написаны и опубликованы совместно с соавторами в журналах, рекомендованных ВАК.

## ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Фундаментальные основы кальцификации

#### 1.1.1 Общие положения

Кальцификация – это биологический процесс образования, осаждения и накопления солей кальция в тканях организма. На физиологическом уровне кальцификация в организме человека реализуется, в первую очередь, в процессе остеогенеза, но также и при некоторых других естественных состояниях. Термин «кальциноз» близок по значению к понятию кальцификации, но подразумевает под собой исключительно патологическое накопление солей кальция в мягких тканях, такая эктопическая кальцификация в организме человека чаще по своей распространённости обнаруживается в стенке сосудов.

Выделяют два вида эктопической кальцификации: метастатическая и дистрофическая. Метастатическая кальцификация развивается вследствие повышения концентраций кальция в сыворотке крови, что способствует кальцификации в ранее неизменённых тканях [186]. Основными причинами метастатической кальцификации являются: а) гиперпаратиреоз; б) паратгормон-родственные белки, секретирующиеся некоторыми типами опухолей; в) повышенная костная резорбция – первично костные опухоли (например, множественная миелома), метастатическое поражение костей, болезнь Педжета, длительная иммобилизация; г) нарушения, связанные с обменом витамина Д – интоксикация витамином Д, синдром Вильямса, саркоидоз; д) хроническая болезнь почек (ХБП). Дистрофическая кальцификация представляет собой формирование и отложение солей кальция в повреждённых или некротизированных тканях, которая возникает при нормальных значениях кальция в сыворотке. К дистрофическому типу кальцификации относят кальцификацию при некрозе жировой ткани, казеозный некроз при туберкулёзе,

псаммомные тельца, встречающиеся, например, в менингиомах и др., а также кальцификацию атеросклеротических бляшек.

Связь сосудистой кальцификации с атеросклеротическими сердечно-сосудистыми заболеваниями является крайне актуальной современной проблемой, которая оживлённо обсуждается в исследованиях последних лет. В течение продолжительного промежутка времени главенствовала точка зрения, что сосудистая кальцификация является процессом, связанным со старением – дегенеративным и пассивным отложением кальций-фосфатных комплексов в стенке артерий. Было продемонстрировано, что данный процесс является активным и сложным, схожим с остеогенезом. Хотя темпы развития атерогенеза и прогрессирования сосудистой кальцификации действительно увеличиваются с возрастом [124]. Сосудистая кальцификация таким же образом, как и остеогенез осуществляется под контролем эндотелиальных, мезенхимальных клеток и гемопоэтических. Часть исследователей объясняют сосудистую кальцификацию не через призму прогрессирующего патологического процесса, а в большей степени как адаптивно-компенсаторную реакцию, возникающую при поражении эндотелия сосудов и иммунологический ответ, являющийся естественной защитой организма [150]. Такая теория объясняет, почему в коронарном русле могут быть обнаружены очаги кальцификации атеросклеротических бляшек до клинических проявлений атеросклероза, а кальцификация не является терминальной стадией заболевания, но может служить прогностическим маркером сердечно-сосудистых событий [98].

К развитию сосудистой кальцификации приводят следующие процессы:

- а) воспалительные стимулы;
- б) нарушение аутофагии;
- в) эндоплазматический стресс;
- г) митохондриальная дисфункция [55; 129].

В развитии сосудистой кальцификации активно участвуют не только указанные выше механизмы, но и наследственная предрасположенность.

Множественные гены и локусы связаны с сосудистой кальцификацией при анализе сцепления [220].

Артериальное ремоделирование является адаптивной реакцией стенки артерий на продолжительное действие стрессорных агентов. Оценить степень ремоделирования сосудов при сосудистой кальцификации можно клинически с помощью определения скорости пульсовой волны, коэффициента растяжимости (distensibility coefficient) и толщины комплекса интима-медиа. Позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) с  $^{18}\text{F-NaF}$  позволяет обнаружить активный на момент исследования процесс кальцификации, что является значимым для стратификации риска, но высокая стоимость, лучевая нагрузка и невозможность дифференцировать кальцификацию интимы и медики делают данный метод весьма ограниченным [204]. Одним из самых важных неинвазивных способов выявления коронарной кальцификации является компьютерная томография. Исследование коронарного кальция с использованием индекса Агатстона и других улучшающих методик может быть самым простым и недорогим методом прогнозирования коронарных событий: оценки суммарного бремени атеросклероза в коронарном русле; определения потенциально уязвимых атеросклеротических бляшек [94]. Методы внутрисосудистой визуализации – внутрисосудистое ультразвуковое исследование (ВСУЗИ) и оптическая когерентная томография (ОКТ) помимо оценки атеросклеротического поражения и выявления нестабильных бляшек дают возможность исследователю оценить характер коронарной кальцификации. Учёт наличия и выраженности сосудистой кальцификации позволяет значительно повысить точность диагностики атеросклероза и прогноза его течения [30].

### **1.1.2 Типы сосудистой кальцификации**

Сосудистая кальцификация классифицируется на несколько гистоанатомических типов, соответствующих двум основным видам: кальцификация интимы (или атеросклеротическая кальцификация) и кальцификация медики. Первый тип характерен для атеросклероза, при котором



гладкомышечные клетки сосудов претерпевают трансформацию в остеобластоподобные клетки. Второй тип свойственен при различных заболеваниях и состояниях, таких как хроническая болезнь почек, сахарный диабет, ожирение, остеопороз, менопауза, пожилой возраст, идиопатическая артериальная кальцификация у младенцев, болезнь Кавасаки и др. Сосудистая жёсткость в большей или меньшей степени является неотъемлемым атрибутом кальцификации меди, при этом во многих исследованиях доказана связь между этими явлениями [51], которые, в свою очередь, также являются предикторами смерти от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) [204]. Посредством увеличения сосудистой жёсткости, кальцификация меди и артериальная гипертензия, в особенности изолированная систолическая её форма, формируют порочный круг. В исследовании McEniery C. M et al. показано, что при выявлении у лиц этой формы гипертензии значимо чаще определялась кальцификация аорты по сравнению с лицами, не страдающими артериальной гипертензией [46].

Кальцификация интимы и меди имеют различные патофизиологические механизмы – кальцификация интимы ассоциирована с атеросклерозом и воспалением в атеросклеротической бляшке, в свою очередь, кальцификация меди связана с метаболическими нарушениями. С учётом того, что оба варианта кальцификации ассоциированы с дислипидемией, хронической болезнью почек, сахарным диабетом, старшим возрастом, следует полагать, что оба процесса имеют некоторые общие патофизиологические механизмы.

Современная этиопатогенетическая классификация сосудистой кальцификации включает в себя три типа кальцификации [97]:

- воспалительный тип (связанный с атеросклерозом, преимущественно это кальцификация интимы);
- метаболический тип (связанный преимущественно с хронической болезнью почек и сахарным диабетом, включает в себя кальцификацию интимы и меди);

– связанный с генетическими причинами (например, эластическая псевдоксантома, генерализованная артериальная кальцификация у младенцев, артериальная кальцификация, связанная с дефицитом CD73 и др.)

## **1.2 Кальцификация атеросклеротических бляшек**

### **1.2.1 Паттерны кальцификации атеросклеротических бляшек**

Атерокальциноз классифицируют в зависимости от размера кальцината и типа атеросклеротической бляшки [90; 115]. Гистологически микрокальцификация представляет собой образование кальцинатов размером от 0,5 мкм до 15 мкм в диаметре. Микрокальцификаты возникают из внеклеточных везикул, источником которых являются макрофаги и/или гладкомышечные клетки (ГМК), или из апоптотических телец, образующихся в результате гибели ГМК и в меньшей степени макрофагов [143].

Пятнистой кальцификацией (*punctate calcification*) называют отложения кальция размером более 15 мкм, но не более 1 мм. Такой тип кальцификации локализуется как в поверхностных, так и в глубоких зонах некротического ядра, очагом нуклеации обычно выступают апоптотические тельца, возникающие после гибели макрофагов [148].

Микрокальцинаты часто сливаются в более крупные частицы и вовлекают в процесс кальцификации как некротическое ядро, так и богатый коллагеном экстрацеллюлярный матрикс с образованием пятен (*speckles*) и фрагментированных (*fragments*) кальцификатов. Фрагментированные кальцификаты – отложения кальция более 1 мм. Дальнейшее прогрессирование кальцификации в атеросклеротической бляшке приводит к образованию кальцифицированных слоёв (*sheet calcification*) или узелков (*nodular calcification*).

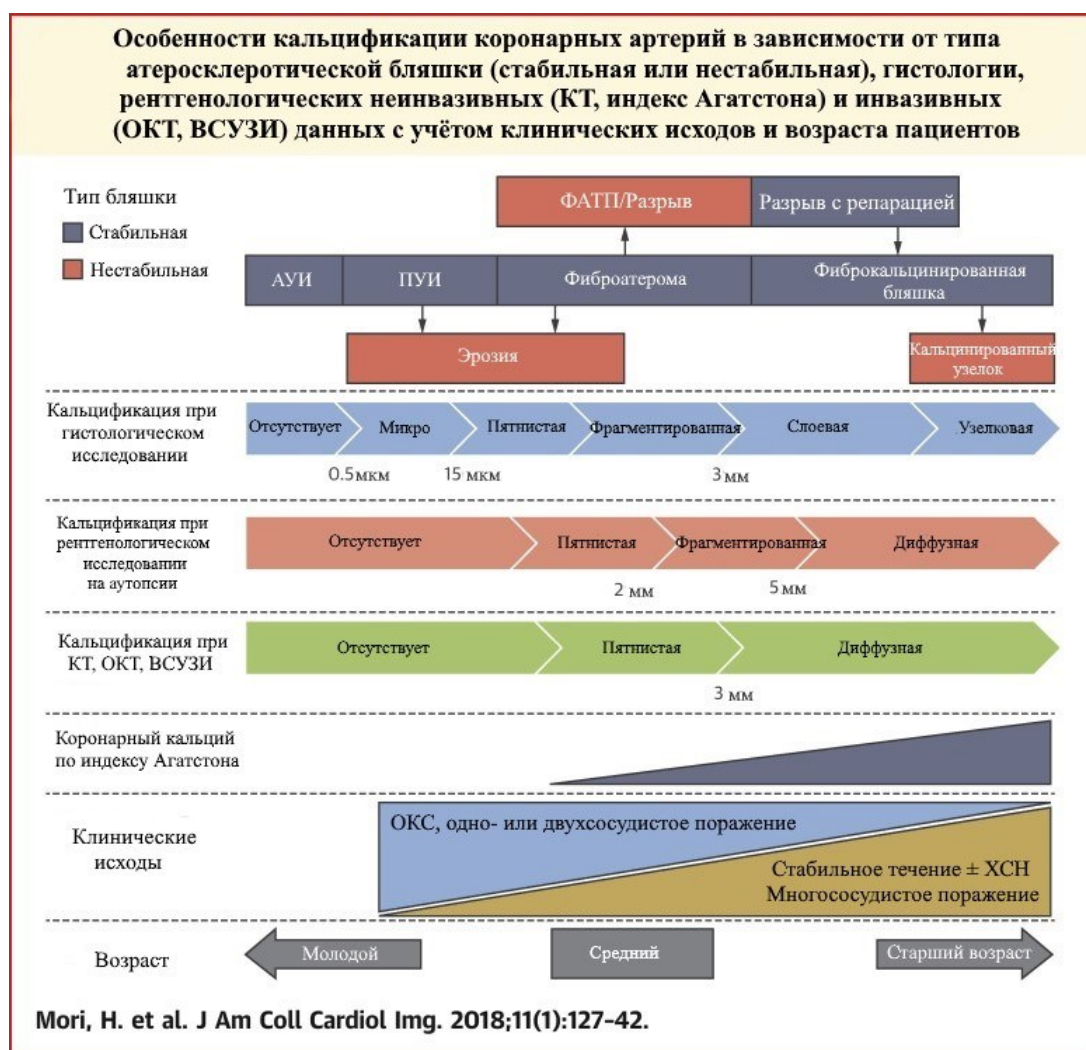
Слоевой паттерн кальцификации (*sheet calcification*) характеризуется кальцинозом площадью более одного квадранта сосуда. Такой тип

кальцификации характерен как для стабильных, так и нестабильных атеросклеротических бляшек.

При узелковом типе кальцификации (nodular calcification) нодулярные отложения кальция могут располагаться как внутри бляшки, так и выступать в просвет сосуда, при этом фиброзная покрывка остаётся интактной. Термин узелковой кальцификации следует отличать от термина кальцинированный узелок (calcified nodule), при котором отложения кальция «выпирают» из атеросклеротической бляшки в просвет сосуда, а на поверхности фиброзной покрывки имеются участки, лишённые эндотелия, или зоны эндотелиального повреждения, где могут локализоваться тромбы. Такой тип атеросклеротических бляшек стоит рассматривать как нестабильный. Кальцинированный узелок является наименее частой причиной развития ОКС [58].

### **1.2.2 Связь типа кальцификации с характером атеросклеротического поражения**

Независимым фактором сердечно-сосудистого риска и смерти является кальцификация коронарных артерий. Помимо этого, поражение коронарных артерий атерокальцинозом ассоциируется с дисфункцией эндотелия сосудов и прогрессированием атеросклеротического поражения. Исследования также указывают, что на успешность проведения эндоваскулярных вмешательств существенно может повлиять атерокальциноз, особенно – выраженный [72]. Отмечена высокая распространенность кальциноза сосудистого русла у больных с мультифокальным атеросклерозом, особенно в старшей возрастной группе [18]. На рисунке 1 продемонстрирована связь типа атеросклеротического поражения с гистологической картиной кальцификации.



Примечание: АУИ – адаптивное утолщение интимы, ПУИ – патологическое утолщение интимы, ФАТП – фиброатерома с тонкой покрывкой.

Рисунок 1 – Связь типа атеросклеротического поражения с гистологической картиной кальцификации (Mori H. et al., 2018)

Связь подтверждена данными рентгенологических исследований на аутопсии, данными с использованием методов клинической визуализации (КТ, ОКТ, ВСУЗИ), коронарным кальцием (индекс Агатстона) с оценкой клинических исходов и возраста. При этом наглядно, что ОКС ассоциирован с меньшей степенью коронарной кальцификации, представленной преимущественно фрагментированным типом кальцификации, в то время как стабильная стенокардия характеризуется диффузной/слоевой кальцификацией.

Как правило, на ранних стадиях повреждения интимы (адаптивное утолщение интимы и липидные полосы) кальцификация отсутствует. Патологическое утолщение интимы – это наиболее раннее атеросклеротическое поражение, при котором в липидном пуле возможна микрокальцификация [115]. Микрокальцификаты обычно располагаются вблизи более крупных кальцинатов. Начало кальцификации и её прогрессирование зависят как от типа атеросклеротической бляшки, так и от особенностей её микроокружения. На ранних стадиях микрокальцификаты возникают из апоптотических телец ГМК; при размерах кальцинатов более 0,5 мкм их можно обнаружить с помощью световой микроскопии [133; 176]. Микровезикулы представляют собой первичный субстрат для кальцификации, они возникают, в первую очередь, из клеточной мембраны в процессе воспаления при гибели клеток – апоптозе и некротической дезинтеграции [210]. Микровезикулы содержат обширный набор белковых молекул, исследования показали, что они включают до 79 различных белковых компонентов, в том числе, матриксные металлопротеиназы, а также белки, связанные с кальцификацией. С помощью микроскопии с высоким разрешением была выявлена начальная стадия микрокальцификации внутри внеклеточных везикул диаметром 100–300 нм [111; 147].

При патологическом утолщении интимы частота микрокальцификации составляет 57 %, тогда как на ранней стадии формирования фиброатеромы частота микрокальцификации и пятнистой кальцификации достигает 100 % [148]. Это связано с тем, что липидный пул, характерный для патологического утолщения интимы, состоит из протеогликанов экстрацеллюлярного матрикса и коллагена III типа, синтезируемого ГМК, а также из внеклеточных липидов, большая часть которых расположена глубоко внутри бляшки ближе к внутренней эластической пластинке. Отрицательно заряженные сульфатные протеогликаны (например, версикан, бигликан и декорин) задерживают липопротеины в липидных пулах – это самый ранний этап атерогенеза [146].

Фиброатерома характеризуется наличием некротического ядра, в котором отсутствует внеклеточный матрикс и ГМК, а имеются лишь бесклеточные

обломки и продукты распада. Содержание кальция и фосфора внутри клеток является строго регулируемым процессом в здоровых тканях. Однако в случае гибели клеток или дистрофических изменений это приводит к патологическим ионным концентрациям, что и происходит в некротическом ядре – повреждающее действие активных форм кислорода и гидролитические ферменты способствуют высвобождению фосфата из макромолекул, что обуславливает микрокальцификацию [58]. Кальцификация прогрессирует в некротическом ядре и распространяется от внешнего его края в богатый коллагеном матрикс. Дальнейшее развитие кальцификации бляшки с участием ГМК и коллагенового матрикса проходит независимо от некротического ядра [11].

Стоит отметить, что прогрессирование атеросклероза от фиброатеромы до нестабильной бляшки и её разрыва, сопровождается стремительным увеличением объёма некротического ядра, но соответствующего прогрессирования кальцификации при этом может не наблюдаться. А степень кальцификации после репарации разрыва покрышки атеросклеротической бляшки или в фиброкальцинированной бляшке, характеризующиеся сужением просвета сосуда, может не соответствовать площади некротического ядра. Кальцификацию атеросклеротических бляшек нельзя рассматривать с позиции терминальной стадии атеросклероза коронарного русла, потому что кальцификация может являться атрибутом всех этапов прогрессирования атеросклероза [33].

### **1.2.3 Связь кальцификации с нестабильностью атеросклеротических бляшек**

Формирование некальцифицированных атеросклеротических бляшек происходит раньше, чем кальцифицированных. Принято считать, что первые характеризуются большей склонностью к разрыву или эрозированию, а вторые – стабильностью покрышки атеромы [167].

В прогрессировании атеросклероза, а также в уязвимости атеросклеротических бляшек и дальнейшем их разрыве главную роль

обеспечивает воспаление. Воспаление является основным фактором для образования микрокальцинатов в нестабильных атеросклеротических бляшках. Выявлена непосредственная связь между степенью провоспалительной макрофагальной активности и микрокальцификацией, что ведет к уязвимости атеросклеротических бляшек [120].

Исследование, проведенное Alison M. A. et al., включало 4 544 участников с подтвержденным диагнозом ишемическая болезнь сердца (ИБС), у которых были выявлены очаги сосудистой кальцификации различной локализации с помощью компьютерной томографии; было выявлено, что за почти восьмилетний период наблюдения наибольшую летальность имели пациенты с кальцификацией коронарных артерий [71].

Несмотря на то, что кальцификация коронарных артерий значимо коррелирует с объёмом атеросклеротического поражения коронарного русла, патологоанатомические данные свидетельствуют о том, что выраженная кальцификация не связана с нестабильностью бляшек. Патологоанатомическое исследование коронарных артерий людей, умерших в результате внезапной сердечной смерти, выявило, что большинство острых разрывов атеросклеротических бляшек локализуются в зонах без кальцификации, либо с микро- или фрагментированной кальцификацией, а участки выраженного кальциноза были связаны с репарацией сосудистой стенки после разрыва покрышки бляшки или с фиброкальцинированными бляшками [58].

Формирование кальцификации коронарных артерий в обязательном порядке проходит стадию уязвимости, когда особенно высок риск разрыва и эрозии капсулы из-за роста очагов кальцификации [32]. Для фиброатеромы с тонкой покрышкой характерен паттерн кальцификации, схожий с таковым при разрыве атеросклеротической бляшки [58]. Уязвимый фенотип бляшек, как, например, фиброатерома с тонкой покрышкой и нестабильные бляшки, характеризующиеся разрывом или эрозией фиброзной капсулы, в коронарных артериях обычно характеризуются наличием очагов микрокальцификации или фрагментированной кальцификацией, слоевой паттерн кальцификации встречается несколько реже.

В исследовании Narula J. et al. площадь кальцификации при разрыве бляшки в среднем составила менее 5 % от общей площади бляшки и равнялась  $(0,58 \pm 0,99)$  мм<sup>2</sup>; тогда как площадь кальцификации в стабильной бляшке составляла примерно 1 мм<sup>2</sup>. Кальцифицированные сегменты коронарных артерий с лёгкой и умеренной кальциевой нагрузкой имеют наибольшую вероятность разрыва [119]. Следует отметить, что возможно формирование нестабильной атеросклеротической бляшки в отсутствие её кальцификации. Приём статинов приводит к формированию стабильного фенотипа атеромы с плотной кальцификацией [194].

При большей плотности кальцификации, что чаще связано с репарацией после предшествующего разрыва бляшки, отмечается низкое содержание липидов в последней, что свидетельствует о менее уязвимом характере поражения [49; 73]. В то же время, множественные очаги пятнистой или фрагментарной, мелкой кальцификации малой плотности говорят о меньшей стабильности бляшки и увеличенных рисках сердечно-сосудистых осложнений, особенно это касается локализации кальцификатов в липидном пуле [210]. Нестабильные атеросклеротические бляшки в исследовании Mauriello A. et al. имели значительно меньшую плотность кальцификации при сопоставлении со стабильным фенотипом. При этом степень кальцификации коронарных артерий являлась значимой для определения пациентов с неблагоприятным прогнозом, но не для определения нестабильных бляшек [95].

#### **1.2.4 Механические факторы нестабильности атеросклеротических бляшек**

Стабильность фиброатеромы также определяется механическим напряжением её фиброзной покрышки. Близость кальцината к просвету сосуда усиливает степень поверхностного напряжения фиброзной покрышки. Уязвимость атеросклеротической бляшки зависит от площади поверхности, разделяющей кальцинированный участок бляшки и некальцинированный, так как



разница в их плотности может отличаться в 4–5 раз. С позиций биомеханики кальцификация оказывает бифазное влияние на стабильность атеросклеротических бляшек, так как по мере роста и увеличения плотности кальцификации локальное механическое напряжение на границе между кальцинированным и не кальцинированным участками бляшки снижается, что способствует стабильности бляшки [121; 144]. На степень поверхностного напряжения фиброзной покрышки атеросклеротической бляшки влияют следующие факторы: локализация; размер; количество кальцинатов и их ориентация относительно направления кровотока. Чаще микрокальцинаты формируются в атероме вблизи погибающих или погибших макрофагов в глубине некротического ядра и реже локализуются в фиброзной капсуле [210]. Микрокальцификация внутри тонкой фиброзной покрышки способствует её разрыву, так как разница в плотности кальцината и окружающей ткани приводит локально к увеличению сосудистого напряжения [35; 176]. Несмотря на то, что выявление очагов микрокальцификации в атеросклеротических бляшках представляет для исследователей исключительный интерес, возможности визуализации остаются по сей день несовершенными [87].

Таким образом, паттерн кальцификации во многом определяется типом атеросклеротического поражения, является его важнейшей характеристикой, так как может предопределять уязвимость атеросклеротической бляшки, в том числе изменяя её биомеханические свойства.

## 1.3 Молекулярные механизмы кальцификации

### 1.3.1 Биомаркеры воспаления и кальцификация

В процесс сосудистой кальцификации на самых ранних этапах вовлекаются клетки с модифицированным фенотипом, во многом схожие с остеобластами, а также вовлекаются многоядерные гигантские клетки, которые экспрессируют антигены, свойственные остеокластам, включая RANK и катепсин-К. Вазкулярные гладкомышечные клетки (ВГМК) играют важную роль в этом процессе. Они проявляют свойства остеобластов и активно участвуют в кальцификации сосудистых стенок [70; 137]. Известно, что процесс дифференцировки в остеобластоподобные клетки помимо ГМК, обладающих выраженной пластичностью, могут проходить перициты и циркулирующие стволовые клетки. Однако, возможно, ГМК и перициты фенотипически являются вариантом одной популяции клеток [28].

Кальцификация интимы в большей степени напоминает эндохондральный тип окостенения. Кальцификация инициируется хондроцитоподобными клетками и связана с факторами воспаления, в первую очередь, цитокинами, которые синтезируются макрофагами и пенистыми клетками в ответ на изменения в микроокружении – присутствие окисленных липопротеинов. В ответ на провоспалительные стимулы ГМК переключают сократительный фенотип на синтетический, продуцируя некоторые белки экстрацеллюлярного матрикса, а также медиаторы воспаления, тем самым участвуя в атерогенезе и сосудистой кальцификации [13]. Данный воспалительный процесс ассоциирован с повышением уровней ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови, что способствует усилению активности тканевой неспецифической щелочной фосфатазы (ТНЩФ). Активность ТНЩФ может приводить к кальцификации независимо от Runx2 (основного транскрипционного фактора остеобластов) в ГМК [77; 206]. ИЛ-6 в значительной степени связан с кальцификацией коронарных артерий и сердечно-сосудистой смертностью у пациентов с хронической болезнью почек [123].

С-реактивный белок (СРБ) – провоспалительный белок, который синтезируется преимущественно гепатоцитами, но может синтезироваться и непосредственно в сосудистой стенке ГМК [43]. СРБ способствует переключению фенотипа ГМК *in vitro* [125].

Пентраксин 3 (РТХ3) является членом семейства пентраксинов и синтезируется, главным образом, эндотелием печени и сосудов в ответ на стимулы ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 и ИЛ-6. Пентраксин 3 также вырабатывается лейкоцитами в периферической крови, миелоидными дендритными клетками, ГМК, фибробластами, адипоцитами, хондроцитами, мезангиальными и эпителиальными клетками [169]. В популяционном исследовании с участием практически здоровых взрослых четырёх этнических групп РТХ3 был ассоциирован с сердечно-сосудистыми факторами риска, субклиническими изменениями, а также с уровнем коронарного кальция и коронарными событиями. Эти ассоциации не зависели от уровня СРБ, подтверждая гипотезу о том, что РТХ3 в отличие от СРБ отражает другие аспекты воспаления, связанного с атеросклерозом [52].

При провоспалительных состояниях процесс ремоделирования смещается в сторону резорбции матрикса, что приводит к опасному ослаблению фиброзной покрышки и к разрыву бляшки [6]. Дисбаланс тканевых ингибиторов металлопротеиназ (ТИМП) и ММП способствует атерогенезу, агрегации тромбоцитов и дестабилизации бляшек. ММП-9 была исследована в работе Полонской Я. В. и соавт. в атеросклеротических бляшках коронарных артерий, при статистическом анализе было продемонстрировано, что относительный риск формирования кальцифицированных бляшек связан с данной металлопротеиназой [21].

### **1.3.2 Сигнальные пути при дифференцировке гладкомышечных клеток**

Сосудистой кальцификации предшествует миграция ГМК из меди сосуда в воспалительный очаг в интимае, где попутно ГМК претерпевают структурные и функциональные изменения за счёт снижения экспрессии сократительных белков.

Синтетический фенотип ГМК в интиме образует коллаген и протеогликаны и способствует формированию фиброзной покрышки, стабилизируя атеросклеротическую бляшку [193]. Однако репаративная роль ГМК в интиме не является единственной. ГМК способны экспрессировать воспалительные клеточные маркеры и высвобождать воспалительные цитокины, такие как ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  и МСР-1 [86]. В свою очередь, ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  продолжают воспалительный каскад, снижая стабильность бляшки через ICAM-1, VCAM-1 и ММП-9 [193]. По данным Allahverdian S. et al., более 50 % пенистых клеток при исследовании коронарных артерий имели происхождение из ГМК [88]. ГМК обладают выраженной пластичностью в интиме, которую обеспечивают определённые сигнальные пути (рисунок 2).

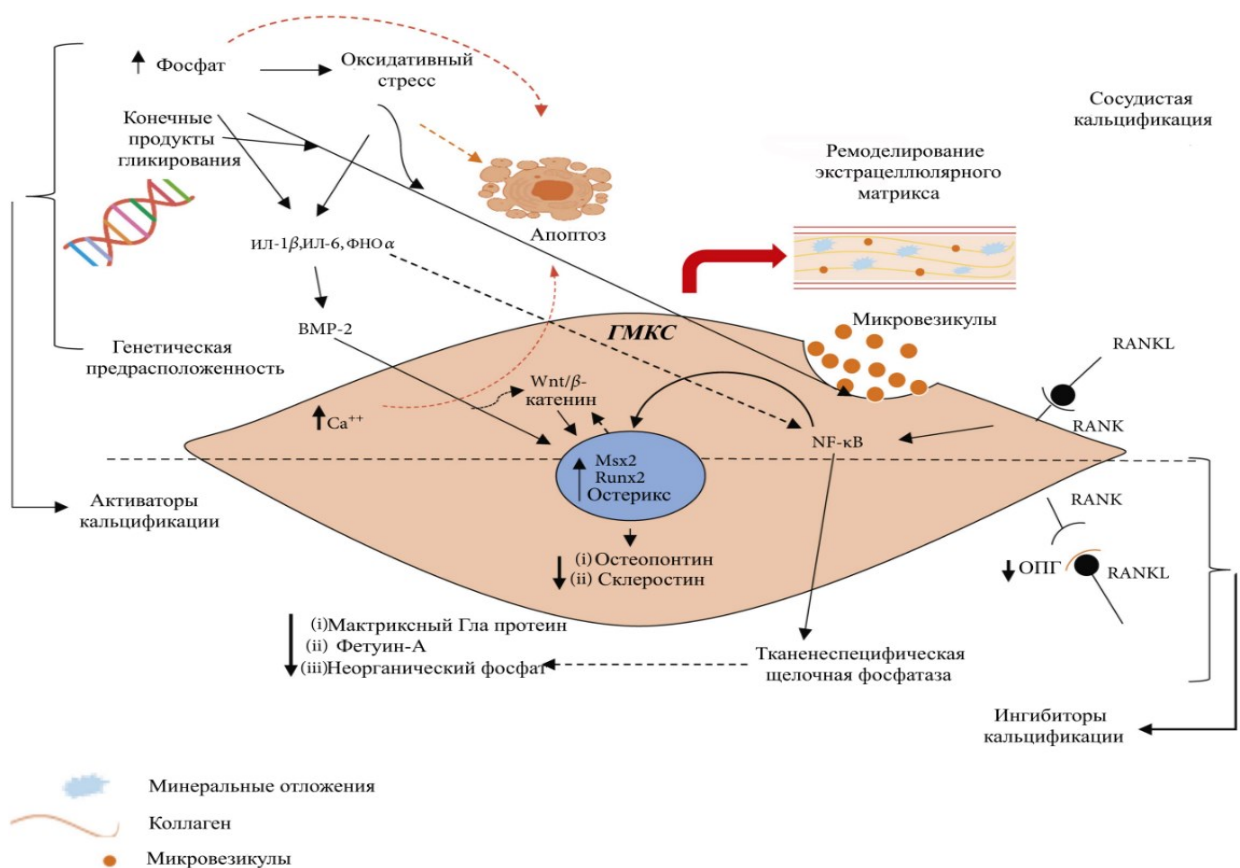


Рисунок 2 – Механизмы клеточной дифференцировки ГМК и сосудистой кальцификации (Guzman L.F.E. et al., 2020)

На рисунке 2 представлены основные механизмы, способствующие клеточной дифференцировке ГМК и сосудистой кальцификации.

Костные морфогенетические белки (BMPs) – это группа сигнальных белков, факторов роста, оказывающих своё действие посредством нескольких сигнальных путей. По своему происхождению BMP относятся к семейству белков трансформирующего фактора роста бета (TGF- $\beta$ ). BMP2 является наиболее изученным из костных морфогенетических белков, он обладает остеогенной активностью, связанной с гипергликемией, воспалением и оксидативным стрессом. Важным фактором остеогенной дифференцировки как при физиологическом остеогенезе, так и при кальцификации мягких тканей является BMP2. Несмотря на то, что функционально BMP2 и BMP4 различаются, сами белки между собой высокоомологичны, а их активация происходит под воздействием одинаковых факторов и стимулов. Наиболее типичные для сердечно-сосудистой системы костные морфогенетические белки представлены BMP2 и BMP4. Костные морфогенетические белки экспрессируются в сосудах как в норме, так и при кальцификации. BMP2 активирует процесс минерализации, в то время как BMP4 стимулирует пролиферацию эндотелиальных клеток и ангиогенез [113]. Секреция молекул BMP происходит в активной форме, а регуляция BMP осуществляется внеклеточными антагонистами [17]. Механизм действия BMP опосредован Runx2 и индукцией апоптоза ГМК, способствующих кальцификации сосудов. Взаимодействие костных морфогенетических белков и рецепторов первого типа (ALK1, ALK2, ALK3, ALK6) активирует белки Smad1, Smad5, Smad8, тогда как рецепторы ALK4, ALK5, ALK7 активируют Smad2 и Smad3. После активации данные Smad-белки формируют комплекс с медиатором Smad4. Далее весь комплекс перемещается внутрь ядра клетки, где непосредственно стимулирует синтез следующих остеогенных факторов и сигнальных путей: остерикс; Runx2; Alp, Msx2. Ингибиторы Smad (Smad6, Smad7) контролируют проостеогенный механизм действия BMP-Smad [65].

Сигнальный путь Wnt/ $\beta$ -катенин участвует во многих онтогенетических и физиологических процессах, включая морфогенез, дифференцировку тканей и

органов, пролиферацию, миграцию и апоптоз клеток, но также этот сигнальный путь имеет важное значение при развитии и прогрессировании сосудистых поражений – эндотелиальной дисфункции, активации макрофагов, пролиферации, дифференцировки и миграции ГМК. Активация сигнального пути Wnt происходит при связывании лиганда Wnt с корецептором LRP5/6 и белком-рецептором Frizzled. Этот процесс усиливается BMP2, который стимулирует экспрессию гена Msx2 [60; 61; 118; 216]. Это способствует инактивации мультипротеинового комплекса ( $\beta$ -catenin destruction complex) и деградации протеасомы, что ведёт к накоплению свободного  $\beta$ -катенина в цитоплазме и последующему его перемещению в ядро;  $\beta$ -катенин регулирует дифференцировку остеобластов и необходим для работы остеогенной транскрипционной программы [53]. При гиперфосфатемии Wnt/ $\beta$ -катенин сигнальный путь стимулирует продукцию Runx2 и фактора транскрипции остерикс [217]. Канонический Wnt-LRP5 сигнальный путь участвует в формировании пенистых клеток [215].

Связанный с Runt транскрипционный фактор 2 (Runx2) является основным фактором транскрипции сосудистой кальцификации. Runx2 регулирует экспрессию генов, связанных с остеобластами, таких как гены остерикс, RANKL, коллагена I типа, а также гены, кодирующие остеопонтин, остеокальцин, остеопротегерин, костный сиалопротеин и др. [149; 192]. Важную роль в процессе остеогенеза и сосудистой кальцификации играет ген Runx2, экспрессия которого определяется BMP, также выступающим и синергистом Runx2 [66].

RANKL – ключевой регулятор формирования остеокластов в костной ткани [182]. Клетки-предшественницы остеокластов требуют активации рецептора RANK с помощью RANKL для полноценного созревания [173]. Все больше исследований свидетельствует о том, что важную роль в сосудистой кальцификации может играть соотношение RANK/RANKL. RANK был выявлен в образцах изменённых клапанов сердца и в атеросклеротических бляшках. Взаимодействие RANK со своим лигандом запускает сигнальный путь NF- $\kappa$ B в ГМК, инициируя кальцификацию. Также RANK косвенно способствует кальцификации ГМК за счёт усиления паракринной прокальцифицирующей

активности макрофагов, что достигается через высвобождение ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$ , связывающих TRAF 2, 5 и 6 (факторы, ассоциированные с рецептором ФНО) с цитоплазматическим доменом RANK через специфические сайты [201; 219]. Существенное влияние на уровень МГП в плазме оказывают степень атерокальциноза и уровень RANKL в плазме крови, что было обнаружено в ряде исследований [80; 89].

Ядерный фактор-каппа В (NF- $\kappa$ B) – это транскрипционный фактор, регулирующий экспрессию генов, связанных с миграцией, пролиферацией и апоптозом клеток. Сильнейшим стимулом для наращивания экспрессии NF- $\kappa$ B при сосудистой кальцификации является ФНО- $\alpha$ , за этим следует уменьшение экспрессии генов гомолога белка анкилоза (ANKH). ANKH является трансмембранным белком, контролирующим высвобождение из клетки пирофосфата [39]. NF- $\kappa$ B способствует сосудистой кальцификации различными механизмами. NF- $\kappa$ B увеличивает экспрессию тристетрапролина (ТТР, дестабилизирующий РНК белок) и снижает уровень мРНК ANKH, уменьшая количество пирофосфата во внеклеточном пространстве. NF- $\kappa$ B запускает транскрипцию ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6, обеспечивает работу сигнального пути RANKL/RANK и может модулировать провоспалительный каскад в ГМК через сигнальный путь Wnt/ $\beta$ -катенина в ответ на гиперфосфатемию. NF- $\kappa$ B также способствует кальцификации ГМК за счет экспрессии Msx2 и Runx2 [134; 195].

Интегрированные сигнальные пути BMP2, Runx2 и Msx2 продемонстрировали тесную связь и взаимодействие друг с другом. Данная взаимосвязь между сигнальными молекулами обуславливает их тканеспецифическое действие. Отмечается, что увеличение активности сигнальных путей Runx2, Msx и BMP может вызывать различные эффекты в разных типах тканей. Значимым фактом является возможность появления противоположного характера эффекта одних и тех же сигнальных молекул в разных тканях. Действие сигнальных молекул определяется их концентрацией, присутствием ингибиторов или ко-активаторов этих биологически активных веществ, а также типом клеток [17].

### 1.3.3 Ингибиторы сосудистой кальцификации

Причиной сосудистой кальцификации является дисбаланс между прокальцифицирующими факторами и ингибиторами кальцификации. Фосфат в повышенных концентрациях в сыворотке крови может вызывать кальцификацию коронарных артерий, в том числе, и при сохранной функции почек. Это свидетельствует о важной роли фосфата в патофизиологии сосудистой кальцификации. Процесс кальцификации может продолжаться независимо от восстановления уровней концентрации фосфата и кальция, что подтверждается результатами исследования [211]. Есть основания считать, что сосудистая кальцификация является активно регулируемым и инициируемым процессом. На рисунке 3 представлены ингибиторы и факторы кальцификации в ГМК.



Рисунок 3 – Ингибиторы и факторы кальцификации в ГМК

(Nakahara T. et al., 2017)



Где (а) активированный матриксный Gla протеин (МГП) ингибирует BMP; (б) PP (пирофосфат) препятствует преципитации фосфата кальция (пирофосфат синтезируется из нуклеотидтрифосфата нуклеотидпирофосфатазой/фосфотрансферазой-1 (ENPP1) или попадает в ЭЦМ путём переноса гомологом белка анкилоза (ANKH), пирофосфат расщепляется тканенеспецифической щелочной фосфатазой (TNAP)); (в) фетуин-А предотвращает рост кристаллов фосфата кальция и снижает индуцированный кальцием и фосфатом апоптоз в ГМК; (г) фосфорилированный остеопонтин (ОПН) подавляет кальцификацию; (д) Клото подавляет экспрессию натрий-фосфатного котранспортёра 1 и 2 (Pit1/2) и препятствует захвату фосфата ГМК; (е) остеопротегерин (ОПГ) блокирует передачу сигнала RANK-RANKL, связываясь с RANKL.

К важнейшим ингибиторам сосудистой кальцификации относятся: неорганический пирофосфат, матриксный Gla протеин, фетуин-А, Клото, остеопонтин, остеопротегерин [92]. Влияние склеростина и белков Диккофа на сосудистую кальцификацию активно изучается.

Неорганический пирофосфат является основным изученным ингибитором кальцификации во внеклеточной среде. Неорганический пирофосфат синтезируется в ГМК и транспортируется во внеклеточную среду мембранным белком ANKH [192]. Гидролиз неорганического пирофосфата ENPP1 и ТНЦФ способствует сосудистой кальцификации [104; 208]. Высокий уровень внеклеточного фосфата, часто выявляемый при ХБП, диабете и кальцификации аорты, снижает синтез неорганического пирофосфата за счёт увеличения экспрессии ENPP1 и ТНЦФ путём индукции апоптоза ГМК [192].

Матриксный Gla протеин (МГП) представляет собой белок, фосфорилируемый и карбоксилируемый с участием витамина К. МГП синтезируется в различных типах клеток – мезенхимальных, сосудистых и хондроцитах. МГП является сильным ингибитором сосудистой кальцификации. Механизм действия МГП включает в себя прямое ингибирование преципитации фосфата кальция, формирования матриксных везикул, образования

апоптотических телец и дифференцировки ГМК. Макрофаги и интактные ГМК содержат ингибиторы кальцификации, среди которых фетуин-А и МГП, способствующие быстрому фагоцитозу апоптотических телец. Специфическим эффектом МГП является ингибирование BMP-2 и BMP-4, которые имеют сходную структуру с МГП [82; 200].

Фетуин-А представляет собой гликопротеин плазмы, который синтезируется в печени и является циркулирующим белковым ингибитором кальцификации, одна молекула которого способна связать около 100 катионов кальция. Фетуин-А подавляет кальцификацию как на системном уровне, так и местно, влияя на уровни фосфата кальция внутри везикул и в экстрацеллюлярном матриксе, снижая кальций-индуцированный апоптоз в ГМК. В условиях высоких концентраций фосфата и кальция молекула фетуина-А образует кальций-протеиновые частицы диаметром 50–100 нм, связывая вышеуказанные ионы. Аморфный фосфат кальция фетуин-А удерживает в растворимой форме и препятствует его осаждению. У пациентов без диабета и ХБП по результатам коронарографии уровни фетуина-А отрицательно коррелировали с наличием коронарной кальцификации (ОШ: 0,54; 95 % ДИ;  $P = 0,025$ ) [113]. В исследовании Ix J. H. et al. концентрации фетуина-А значимо не были связаны с новыми случаями выявления или прогрессирования коронарной кальцификации в течение трёхлетнего периода наблюдения [110]. В исследовании Арутюновой М. С. и соавт. выявлено ингибирующее влияние фетуина-А на сосудистую кальцификацию и развитие ремоделирования миокарда левого желудочка у лиц с СД 1 типа [4].

Клото влияет на многие факторы, препятствующие развитию сердечно-сосудистых заболеваний: подавляет перекисное окисление липидов и развитие воспаления; предупреждает повреждение эндотелия; формирование атеросклероза; кальцификацию сосудов; угнетает фиброзирование сердца и сосудов и повышение их жесткости [1]. Клото – это белок, прямой ингибитор захвата фосфата ГМК, способствующий усилению фосфатурии [138]. Дефицит

Клото способствует усилению захвата фосфата ГМК, их трансформации в остеобластоподобные клетки и инициации кальцификации [92].

Механизмы действия и влияние на сосудистую кальцификацию остеопонтина и остеопротегерина подробно будут рассмотрены в пунктах 1.3.4 и 1.4.

К ингибиторам кальцификации относят белки Диккопфа и склеростин.

Белок Диккопфа 1 является ингибитором канонического пути Wnt/ $\beta$ -катенин, блокируя взаимодействие лиганда Wnt с LRP5/6 [36]. Белок Диккопфа 1 снижает экспрессию Runx2 и подавляет Msx2, препятствуя остеогенной трансдифференцировке ГМК [217]. Высокие уровни белка Диккопфа 1 могут способствовать формированию нестабильных атеросклеротических бляшек, подавляя диффузную «защитную» кальцификацию [57]. В исследовании Ueland T. et al. уровни белка Диккопфа 1 у пациентов с ОКС были связаны с сердечно-сосудистой смертью [41].

Склеростин – это гликопротеин, состоящий из 190 аминокислот, член семейства DAN-белков. Склеростин связывается с LRP 5/6 остеобластов, подавляя Wnt-сигнальный путь, а также проявляет антагонизм к BMP2 в костной ткани. В исследовании на мышах Nguyen-Yamamoto L. et al. продемонстрировали, что склеростин препятствует сосудистой кальцификации подавляя синтез BMP2 [212]. Повышенные уровни склеростина в сыворотке крови у пациентов, находящихся на гемодиализе, были связаны с более низким уровнем смертности [184].

#### **1.3.4. Факторы регуляции сосудистой кальцификации**

Помимо вышеупомянутых сигнальных путей и биомаркеров к факторам регуляции сосудистой кальцификации также относятся:

а) щелочная фосфатаза – молекулярный маркер сосудистой кальцификации и фенотипический функциональный маркер остеобластов, основная роль щелочной фосфатазы заключается в гидролизе моноэфиров фосфорной кислоты с

высвобождением неорганического фосфата [56], ТНЦФ стимулирует трансдифференцировку ГМК сосудов в хондроциты за счёт осаждения кальция и активации BMP2 [205];

б) витамин К препятствует развитию и прогрессированию сердечно-сосудистых заболеваний, а также препятствует сосудистой кальцификации, активируя МГП и участвуя в противовоспалительных механизмах [114; 199];

в) витамин Д3 подавляет сосудистую кальцификации [180], дефицит витамина D является фактором, существенно увеличивающим риск смерти от ССЗ [29];

г) эстрогены модулируют экспрессию RANKL [106], эстроген-индуцированная аутофагия подавляет остеогенную дифференцировку ГМК и сосудистую кальцификацию [153];

д) паратгормон (ПТГ) предотвращает прогрессирование кальцификации сосудов путём подавления сигнала BMP2-Msx2-Wnt, паратгормон и белок родственной ПТГ (PTH related protein) подавляют экспрессию остеогенных маркеров в ГМК и отложение кальция [40];

е) гомоцистеин – гипергомоцистеинемия способствует увеличению риска прогрессирования кальцификации коронарных артерии в 2 раза и в 1,5 раза увеличивает риск кальцификации нисходящего отдела грудной аорты [47];

ж) РНК – выявлены циркулирующие микроРНК, которые могут служить биомаркерами кальциноза сердечно-сосудистой системы [20], показано, что снижение уровня мРНК ADIPOQ и секреции адипонектина в ЭЖТ и периваскулярной ЖТ, ассоциировано с массивной коронарной кальцификацией [3].

### **1.3.5 Основные биомаркеры сосудистой кальцификации**

К основным, наиболее изученным, биомаркерам сосудистой кальцификации относятся остеопротегерин (ОПГ), остеопонтин (ОПН), остеоонектин (ОН) и остеокальцин (ОК).

В 1997 году группа калифорнийских исследователей под руководством Simonet W обнаружила гликопротеин, известный как остеопротегерин. Этот белок является представителем суперсемейства рецепторов ФНО- $\alpha$ . Ученые смогли установить, что ОПГ экспрессируется стромальными клетками и остеобластами. Функция остеопротегерина заключается в связывании и подавлении активности RANKL, вырабатываемого теми же клетками. Остеопротегерин, действуя как растворимый рецептор-«ловушка», предотвращает взаимодействие RANKL с его рецептором.

Необходимым условием для остеокластогенеза является связывание RANK-рецептора с RANKL. ОПГ препятствует связыванию RANKL со своим рецептором, чтобы предотвратить чрезмерную резорбцию остеокластами [168]. В основе как сосудистой кальцификации, так и ремоделирования кости и нарушения костного метаболизма может лежать дисбаланс системы регуляции остеокластогенеза, отражающийся в повышении уровня паратгормона и снижении уровня остеопротегерина [25].

В норме ОПГ и RANKL были выявлены в ГМК меди артерий [201]. Особую роль в процессе кальцификации может играть ОПГ, связывая RANKL и подавляя кальцификацию ГМК. Согласно исследованиям Rattazzi M. et al., ОПГ может модулировать воспалительные процессы в сосудах, в том числе и при атерогенезе [172]. Важным фактом является то, что ОПГ секретируется эндотелиоцитами при воспалении [202]. По данным исследования Neumann M. F. et al., ОПГ выявлялся значительно чаще в липидном ядре атеросклеротических бляшек из сонных артерий, чем в образцах атеросклеротических бляшек из бедренных артерий. Степень инфильтрации ткани макрофагами коррелирует с уровнем экспрессии в ней ОПГ [179]. Chung J. et al. продемонстрировали, что ОПГ является биомаркером поражения органов-мишеней [51]. Исследование Kwon A. et al. доказывает, что уровень ОПГ в крови был более высоким у пациентов с ИБС и кальцификацией сонных артерий по сравнению с контрольной группой. Повышение концентрации ОПГ в крови у пациентов с атеросклерозом было связано с высоким уровнем СРБ и других медиаторов воспаления в

сыворотке. Кроме того, ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  и фактор роста тромбоцитов индуцируют экспрессию ОПГ в ГМК, что впоследствии снижает воспалительный ответ [189]. Степень кальцификации коронарных артерий коррелирует с уровнем ОПГ плазмы крови. Выявление кальцификации бедренных артерий в нескольких исследованиях было связано с высокими уровнями триады ОПГ/RANKL/RANK плазмы крови [2; 89; 107; 172].

Повышенные уровни ОПГ в плазме крови ассоциируются с избыточной массой тела, атеросклерозом и кальцинозом коронарных артерий, а также с плохим контролем диабета и диабетическими сосудистыми осложнениями [22]. По данным Ahmed S. et al., показатели ОПГ в сыворотке у участников были связаны с индексом массы тела [42]. В другом исследовании, проведенном de Ciriza C.P. et al., было выявлено, что ОПГ активно экспрессируется в жировой ткани, и его уровень значительно выше у пациентов с метаболическим синдромом по сравнению с пациентами, которые не имели метаболический синдром [81].

Важно отметить, что пациенты с терминальной почечной недостаточностью на стадиях как додиализной, так и диализной, имеют значительно повышенный уровень ОПГ. Кроме того, уровень ОПГ ассоциирован как со степенью кальциноза артерий, так и с общей смертностью у этих пациентов, как сообщается в исследовании Krzanowski M. et al. [102].

В целом, ОПГ может рассматриваться как потенциальный предиктор развития атеросклероза и прогностический маркер неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [22].

Белок остеопонтин (ОПН) является значимым компонентом костной матрицы. Он относится к семейству гликопротеинов-регуляторов минерализации зубов и костей SIBLING (Small Integrin-Binding Ligand, N-linked Glycoprotein) и синтезируется такими клетками, как остеокласты, остециты и остеобласты. Главная физиологическая функция ОПН заключается в регуляции процессов биоминерализации и кальцификации. В организме человека ОПН может присутствовать в различных изоформах, каждая из которых выполняет определенные биологические функции. Поэтому исследование изоформ ОПН,

включая те, которые экспрессируются при сердечно-сосудистой патологии, может быть перспективным направлением исследований [140].

ОПН является кислым белком, который имеет участок для связывания гидроксиапатита [122]. ОПН подавляет сосудистую кальцификацию в стенке сосуда на физиологическом уровне. В экспериментальной модели ОПН ингибирует минерализацию ГМК сосудов путём прямого связывания с кальцием [113]. ОПН, экспрессируясь сосудистыми ГМК и макрофагами, выполняет функцию цитокина, участвуя в хемотаксисе при помощи передачи в неминерализованные ткани сигналов интегрин и опсонизации. ОПН усиливает активность остеокластов, стимулируя их дифференцировку, а также подавляет минерализацию, участвуя тем самым в костном гомеостазе. Влияние ОПН на остеокластогенез осуществляется через снижение экспрессии ОПГ в стромальных клетках и усиление экспрессии RANKL, как указано в исследовании Li X. Y. et al. [75]. Образование комплекса интегрин с ОПН на поверхности остеокластов приводит к снижению уровня кальция в цитозоле и экспрессии карбоангидразы II, что создает необходимые условия для процесса резорбции [101; 104].

В эксперименте Väsk M. et al. показано, что у мышей с дефицитом ОПН не наблюдалось развитие спонтанной сосудистой кальцификации. Однако кальцификация возникала, если в рацион мышей с дефицитом ОПН вводили корм с высоким содержанием фосфатов или скрещивали с мышами с дефицитом МГП. Таким образом, ОПН является индуцируемым ингибитором кальцификации [104]. ОПН и МГП высоко экспрессируются ГМК, эндотелиоцитами и макрофагами в атеросклеротических бляшках. В некротическом ядре и очагах кальцификации наблюдается выраженная экспрессия как самого ОПН, так и мРНК. ОПН экспрессируется в пенистых клетках в липидном ядре фиброатеромы, а также в CD68-позитивных макрофагах, окружающих некротическое ядро в фиброкальцинированных бляшках [83]. В очаге воспаления под действием тромбина и ММП ОПН гидролизует на фрагменты, которые имеют большую активность, чем полноразмерный ОПН [183]. У пациентов с разной степенью остеопении и кальциноза коронарных артерий концентрация ОПН сыворотки

значимо не различалась, но у пациентов с тяжёлым коронарным атеросклерозом, рассчитанным по шкале SYNTAX, уровень ОПН был на 36 % выше ( $p = 0,04$ ), чем у пациентов с коронарным атеросклерозом меньшей тяжести [25].

ОПН участвует в начальной стадии сосудистого ремоделирования, так как способствует деградации эластической мембраны меди артерий и пролиферации ГМК [5]. Увеличение ОПН сыворотки крови может быть маркером ремоделирования миокарда, так концентрация ОПН у участников с фракцией выброса ниже 40 % была практически в два раза выше, чем у участников со значениями фракции выброса левого желудочка 40 % и выше [25].

Остеонектин (ОН) – избирательно связывающий коллаген и соли фосфата и кальция неколлагеновый гликопротеин костной ткани. Остеонектин является важным компонентом в минерализации коллагенового матрикса в остеоиде. Также ОН является центром нуклеации костной ткани и играет важную роль в инициации кристаллизации, поскольку ОН обладает как сайтом связывания гидроксиапатита, так и коллаген-связывающим доменом, то это позволяет ему связывать кристаллы гидроксиапатита и коллаген, способствуя минерализации.

Некоторые исследования показали, что экспрессия остеоネクтина связана с экспрессией коллагена I типа и других фибриллярных коллагенов. Остеонектин способен связывать различные типы коллагена, такие как коллаген I, III, IV и V [181]. Остеонектин обладает активирующим воздействием на остеокласты и остеобласты, вызывая их дифференцировку [2; 156].

Некоторые исследователи полагают, что наличие продуктивного этапа воспаления в сосудистой стенке может выражаться в высоком содержании остеоネクтин-положительных клеток в периферическом кровотоке [2; 117].

Обнаружены ассоциации между уровнями остеоネクтина и уровнями липидов и воспалительных маркеров атерогенеза (триглицериды, ЛПВП-ХС, С-пептид, ФНО-альфа) в крови [27]. В соответствии с исследованием, проведенным Рагино Ю. И. и соавт., у мужчин с ИМ в анамнезе наблюдается повышенная концентрация остеоネクтина, превышающая показатели контрольной группы в три



раза. Сравнительный анализ выявил, что у участников без ОКС уровень остеоонектина также значительно выше – в 2,7 раза, чем в группе контроля [26].

Таким образом, остеоонектин можно рассматривать, как потенциальный маркер сосудистого воспаления и прогрессирования атеросклероза, в том числе, коронарного, хотя экспрессия ОН напрямую не вовлечена в процесс коронарной кальцификации.

Остеокальцин – белок костного матрикса, который синтезируется остеобластами преимущественно в процессе остеогенеза. ОК представляет собой пептид, состоящий из 49 аминокислот, который посттрансляционно модифицируется путём карбоксилирования трёх остатков глутамата, что увеличивает его сродство к гидроксиапатиту, тем самым ОК внедряется в костный матрикс. Некоторые исследования указывают на корреляцию между уровнем остеокальцина в крови и скоростью костного образования, что позволяет рассматривать его как потенциальный биомаркер костного ремоделирования.

В пенсистых клетках макрофагального происхождения наблюдается экспрессия остеокальцина как на ранних стадиях развития атеросклероза, так и на стадии фиброатеромы, а в фиброкальцинированных бляшках остеокальцин был выявлен непосредственно в кальцинатах, что указывает на значимость остеокальцина в развитии сосудистой кальцификации [8].

В результате проведенного исследования, основанного на 33 наблюдательных наблюдениях с участием 21 021 участников, было установлено, что уровни общего циркулирующего остеокальцина в крови существенно ниже у пациентов, страдающих сердечно-сосудистыми заболеваниями по сравнению с контрольной группой. Выявлена отрицательная корреляция между показателями общего остеокальцина в крови и выраженностью атеросклероза и коронарной кальцификации [185]. По данным Zhang H. et al., у участников исследования с ОКС было определено большее количество остеокальцин-положительных предшественниц эндотелиоцитов и очагов пятнистой кальцификации в коронарных артериях, чем у участников со стабильной стенокардией [96].

В исследовании Барбараш О. Л. и соавт. показано, что в группе пациентов с прогрессирующей кальцификацией коронарных артерий по данным МСКТ через 5 лет после КШ было выявлено снижение уровня остеокальцина ( $p = 0,001$ ); значимых изменений остеокальцина в группе без прогрессирования коронарной кальцификации не наблюдалось [12].

Остеокальцин может являться маркером нестабильности бляшки, вызванной повышенной кальцификацией [31]. Взаимосвязь между фракцией выброса левого желудочка и показателями ОК в крови выявили Zhang X. et al., продемонстрировав, что более низкие значения ОК в крови были связаны с систолической дисфункцией левого желудочка [141].

### **1.3.6 Биомаркеры кальцификации и эпикардальная жировая ткань**

Эпикардальная жировая ткань (ЭЖТ) – это висцеральная жировая ткань, которая в физиологических условиях выполняет протективную функцию по отношению к сердцу. В коронарных артериях атеросклеротические бляшки чаще расположены в зонах, прилегающих к ЭЖТ. На сосудистые ГМК в коронарных артериях ЭЖТ может воздействовать паракринно, способствуя кальцификации атеромы, в том числе посредством усиления дифференцировки остеобластов. ЭЖТ экспрессирует ОПГ, ОПН и ОН, а также мРНК BMP2 и BMP4; объемом ЭЖТ положительно коррелировал с экспрессией гена ОПГ. Секреция и экспрессия BMP2 и BMP4 вероятнее осуществляется адипоцитами, но может осуществляться и другими типами клеток – эндотелиальными клетками и макрофагами. В исследовании Luna-Luna M. у пациентов с ИБС экспрессия обоих генов BMP2 и BMP4 в ЭЖТ превышала таковую в контрольной группе, однако эта разница для BMP4 не была статистически значимой. BMP2 и BMP4 способны индуцировать *in vitro* трансдифференцировку сосудистых ГМК в остеобластный клон.

Экспрессия ОПН и ВМР ЭЖТ может способствовать кальцификации атеросклеротической бляшки, а также экспрессия ОПН коррелировала с темпами атерогенеза в целом [64; 100].

Таким образом, ЭЖТ – уникальное жировое депо в организме с точки зрения размера его адипоцитов, биохимического состава и метаболической активности. При этом ЭЖТ может оказывать паракринное действие на сердце и кровообращение, о чем свидетельствует независимая ассоциация её объема с коронарной кальцификацией [34].

## **1.4 Биомаркеры кальцификации при некоторых заболеваниях и состояниях**

### **1.4.1 Биомаркеры кальцификации, эндотелиальная дисфункция и сосудистое воспаление**

Lee C. J. et al. выявили у пациентов с артериальной гипертензией сильную положительную корреляционную связь между сердечно-лодыжечным индексом и ОПГ [188]. Связь прогрессирования ишемической болезни сердца с увеличением жёсткости артериальной стенки и развитием сосудистого воспаления, а также связь с повышенными показателями ОПН и ОПГ в сыворотке крови была выявлена в исследовании Maniatis K. et al., а также Tousoulis D. et al. [161; 187]. Только циркулирующий ОПГ (но не общий МГП и не ОПН) у женщин в постменопаузальном периоде был связан с аортальной жёсткостью и являлся маркером сердечно-сосудистого риска [63]. В исследовании Morisawa T. et al. было обнаружено, что у пациентов с ишемической болезнью сердца уровень ОПГ имел важное значение как маркер раннего развития атеросклероза и был связан с утолщением интимы-медии каротидных артерий. Кроме того, уровень ОПГ был связан с уровнем асимметричного диметиларгинина (АДМА), который является маркером эндотелиальной дисфункции [165].

Другое исследование, проведенное Strobescu-Ciobanu C. et al., показало, что ОПГ и ОПН оказывают модулирующий эффект на атерогенез в сонных артериях в условиях воспаления и при наличии кальцификации. У пациентов с ишемическим инсультом наблюдались высокие уровни ОПГ, связанные с усилением воспаления в атеросклеротической бляшке и нестабильностью этих бляшек [157]. Также было продемонстрировано, что величина ОПГ в крови при госпитализации по поводу ишемического инсульта коррелировала со степенью его тяжести [170]. У данной группы пациентов ОПГ следует расценивать и как предиктор летального исхода [162]. На примере пациентов с ОКС после ЧКВ в работе Hyseni A. et al. показано, что при выявлении высоких значений ОПГ летальность составляла 27,8 %, в то время как при определении низких значений ОПГ летальность была 12,4 % ( $p = 0,007$ ) [78].

Другое исследование, проведенное Wang H. H. et al., показало, что у пациентов с гиперурикемией уровни ОПГ в плазме связаны с развитием эндотелиальной дисфункции [214]. ОПГ, возможно, связан с повышенным сердечно-сосудистым риском у пациентов с ревматоидным артритом [128].

У пациентов с заболеванием периферических артерий сывороточные концентрации ОПГ были повышены в группе пациентов с ожирением и метаболическим синдромом в исследовании Golledge J. et al. [99].

У пациентов с артериальной гипертензией важную роль в регуляции воспаления при сосудистой кальцификации играет ОПН. Уровень ОПН в сыворотке у пациентов с артериальной гипертензией и сосудистой кальцификацией в исследовании Ge Q. et al. был связан с активацией макрофагов и моноцитов. По мнению авторов, ОПН предположительно ингибирует процессы кальцификации, связанному с вовлечением макрофагов, двумя путями: а) ОПН тормозит созревание макрофагов до остеокластов; б) ОПН снижает степень экспрессии молекул воспаления в макрофагах [159]. ОПН у детей независимо связан с биомаркерами эндотелиальной дисфункции [158].

Безусловно, в упомянутых исследованиях среди вышеприведённых биомаркеров именно для ОПГ была выявлена особая роль, как маркера

эндотелиальной дисфункции и сосудистого воспаления, а также доказана роль в качестве предиктора неблагоприятного прогноза для некоторых групп пациентов.

#### **1.4.2 Биомаркеры кальцификации и сахарный диабет**

Более высокий гликированный гемоглобин в исследовании Carson A. P. et al. был ассоциирован с прогрессированием коронарной кальцификации, в том числе, до стадии выраженного кальциноза [116].

Эндотелиальная дисфункция может быть вызвана дисбалансом уровней RANKL и ОПГ в сыворотке крови у пациентов с сахарным диабетом [44].

В своей работе Niveditha Devi R. на основании статистического анализа делает вывод, что ОПГ является полезным маркером-предиктором ОИМ среди пациентов, страдающих СД 2 типа [151]. В работах Kremzer A. A., а также, в схожей по дизайну работе Firdouse M. S. et al., были изучены группы пациентов с СД 2 типа – ОПГ в крови был независимо связан с тяжестью атеросклероза коронарных артерий [48; 135].

Среди пациентов, страдающих СД 2 типа, наиболее высокий уровень ОПГ был отмечен у участников с ХБП и с меньшими значениями скорости клубочковой фильтрации [163]. Медикаментозная терапия СД 2 типа у коморбидных пациентов с ожирением в исследовании Schinzari F. уменьшала показатели ОПГ сыворотки [68]. ОПГ являлся маркером кальцификации коронарных артерий у пациентов с СД 2 типа, что подтверждено исследованиями Berezin A.E. et al. [59].

У пациентов с сахарным диабетом 2 типа повышенные значения ОПГ были ассоциированы с сердечно-сосудистыми заболеваниями, что предположительно связано со снижением продукции NO, индуцируемой инсулином, и эндотелиальной дисфункцией в целом. Также ОПГ у пациентов с сахарным диабетом 2 типа является предиктором инфаркта миокарда и степени поражения коронарного русла атеросклерозом в целом.

### 1.4.3 Биомаркеры кальцификации и хроническая болезнь почек

У пациентов с ХБП основной предпосылкой кальцификации меди в настоящее время считаются нарушения кальциево-фосфорного обмена [207]. Как показало исследование Huang Q. X. et al. при изучении группы пациентов с ХБП, увеличение ОПГ в крови было связано с повышенной смертностью от ССЗ [103]. Сходные результаты получены в работе Diaz M. A. et al., в которой высокие концентрации ОПГ в крови у пациентов на перитонеальном диализе были самым ценным предиктором смерти как от ССЗ, так и от всех причин [166]. У участников исследования Vozic M. et al. с ХБП в анамнезе уровни sTWEAK, ОПН и ОПГ в комбинации были предикторами сердечно-сосудистого прогноза [84].

ОПН и рецептор-2 ФНО были тесно связаны с сывороточным тромбомодулином у пациентов с терминальной почечной недостаточностью [105]. Остеокальцин сыворотки у пациентов диализной стадии ХБП не был связан сосудистой кальцификацией [154].

Сосудистая кальцификация является одним из атрибутов прогрессирования атеросклеротического поражения, а также независимым фактором сердечно-сосудистого риска. Сосудистая кальцификация представляет собой активный процесс, регулируемый многими типами клеток и биомолекул. Оценки кальциевого индекса и традиционных факторов риска не всегда бывает достаточно для прогнозирования сердечно-сосудистых осложнений. Таким образом, выделение специфических лабораторных маркеров кальцификации и предрасположенности к сосудистой кальцификации является весьма актуальным в настоящее время [7].

## ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Дизайн и схема исследования

Дизайн исследования – наблюдательное когортное с проспективным пятилетним наблюдением (рисунок 4). Все пациенты заполняли и подписывали форму согласия на обработку персональных данных и информированное согласие на участие в исследовании.



Рисунок 4 – Дизайн исследования

## 2.2 Общая характеристика обследования пациентов

В исследовании приняли участие 130 мужчин в возрасте от 50 до 75 лет, их средний возраст составил  $(60,4 \pm 6,3)$  лет, со стабильной стенокардией напряжения, без ОКС, с коронарным атеросклерозом, верифицированным по данным коронароангиографии, которые поступили в клинику ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е. Н. Мешалкина Минздрава России» в период с 2016 по 2021 гг. на операцию коронарного шунтирования (КШ).

Критериями включения в исследование являлись: мужской пол; подтверждённый коронароангиографией диагноз ИБС; анамнез перенесенного ИМ или приступов стабильной стенокардии напряжения, документированных описанием клинической картины и данными инструментальных методов исследования.

Критериями исключения из исследования являлись: женский пол; недавний анамнез ОКС – ИМ или нестабильная стенокардия, возникшие менее 6 месяцев до поступления в клинику; тяжелая, клинически значимая острая сопутствующая патология или в стадии обострения (печеночная недостаточность, дыхательная недостаточность, почечная недостаточность, хронические инфекционно-воспалительные заболевания); анамнестически известные – токсическое поражение тяжелыми металлами, гиперпаратиреоз, активные онкологические заболевания.

В условиях ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е. Н. Мешалкина Минздрава России» операция КШ была проведена всем 130 пациентам – участникам исследования. Взятие крови для исследования проводилось перед операцией.

По показаниям у 78 участников, которые составили основную подгруппу, во время операции КШ была выполнена эндартерэктомия из одной или нескольких коронарных артерий. В ходе эндартерэктомии было произведено взятие интимы-медии артерий для дальнейшего исследования. Каждый полученный материал эндартерэктомии был симметрично разделен поперечно и продольно на 3–4 фрагмента. Для выполнения иммуноферментных и гистологических исследований



использовали 140 образцов фрагментов интимы-медии из материала эндартерэктомии 78 участников. Оценка кальцификации коронарного русла, в том числе атеросклеротических бляшек, подвергшихся впоследствии эндартерэктомии, до операции КШ и интраоперационно не проводилась.

В патоморфологической лаборатории ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е. Н. Мешалкина Минздрава России» было проведено гистологическое исследование полученного биоматериала. После макроскопического описания образцов, включающего характер сужения просвета артерии, протяжённости атеросклеротической бляшки, кровоизлияния в структуры атеросклеротической бляшки, тромбы и очаги кальцификации, был выполнен гистологический анализ. Для анализа использовался бинокулярный микроскоп Axiostar Plus. Окраска полученных образцов проводилась стандартным методом гематоксилин-эозином и по Ван Гизону. Наличие нестабильных и стабильных атеросклеротических бляшек выявлялось после гистологического исследования образцов интимы-медии. Нестабильную атеросклеротическую бляшку выявляли, опираясь на данные, представленные в работах Waksman R., исходя из следующих критериев: наличие крупного липидного ядра, занимающего более 40 % общей площади бляшки; инфильтрация Т-лимфоцитами и макрофагами более 25 в поле зрения 0,3 мм, а также – толщина фиброзной покрышки не превышает 65 мкм [213]. В 140 фрагментах образцах интимы-медии были определены 89 стабильных и 51 нестабильная атеросклеротическая бляшка.

В ходе проведенного гистологического исследования фрагментов интимы-медии из 78 было отобрано 40 мужчин, у которых не было выявлено в коронарных артериях нестабильных бляшек, и сформирована первая подгруппа. Во вторую подгруппу вошли 38 мужчин, у которых в коронарном русле была определена хотя бы одна нестабильная бляшка.

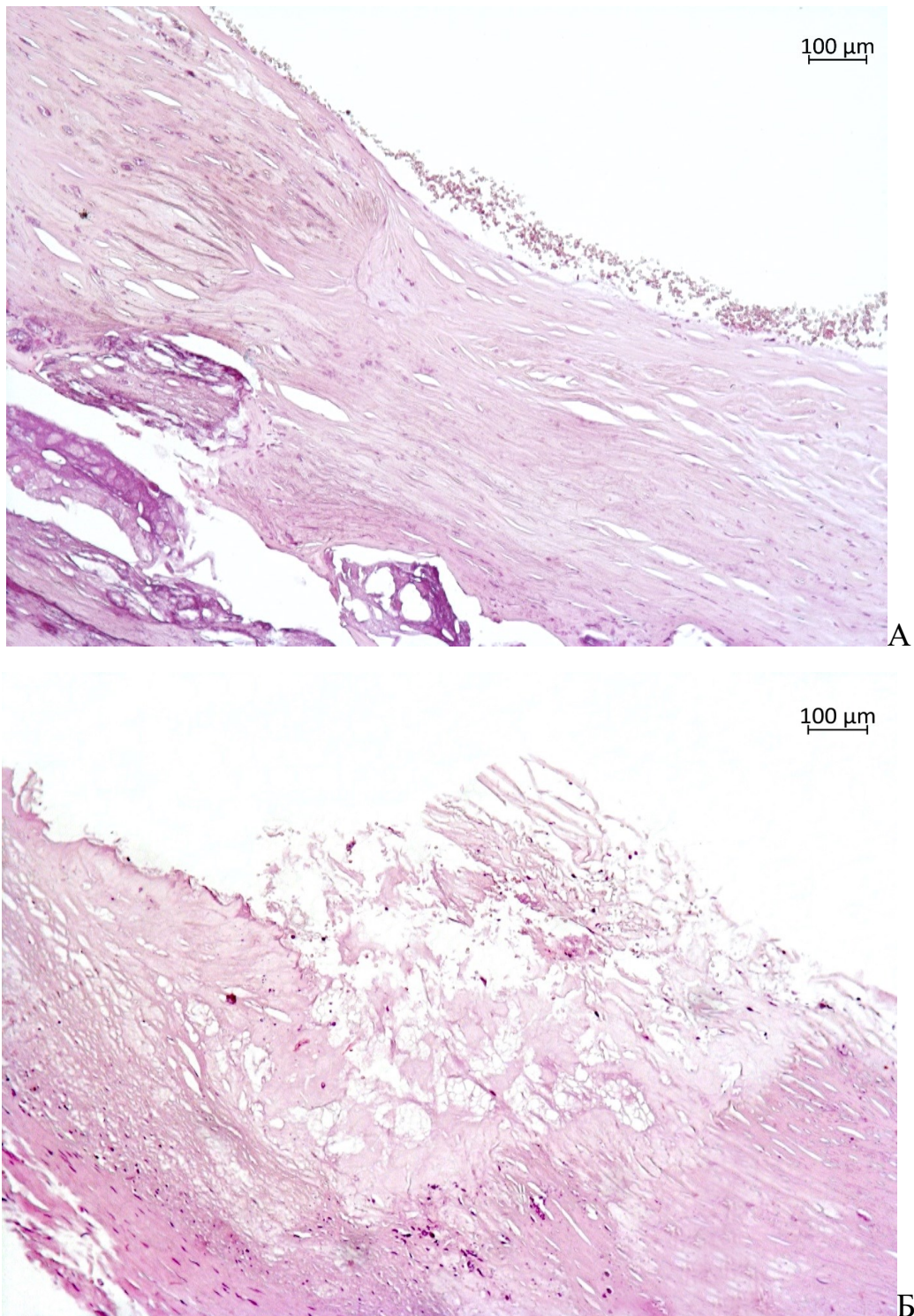
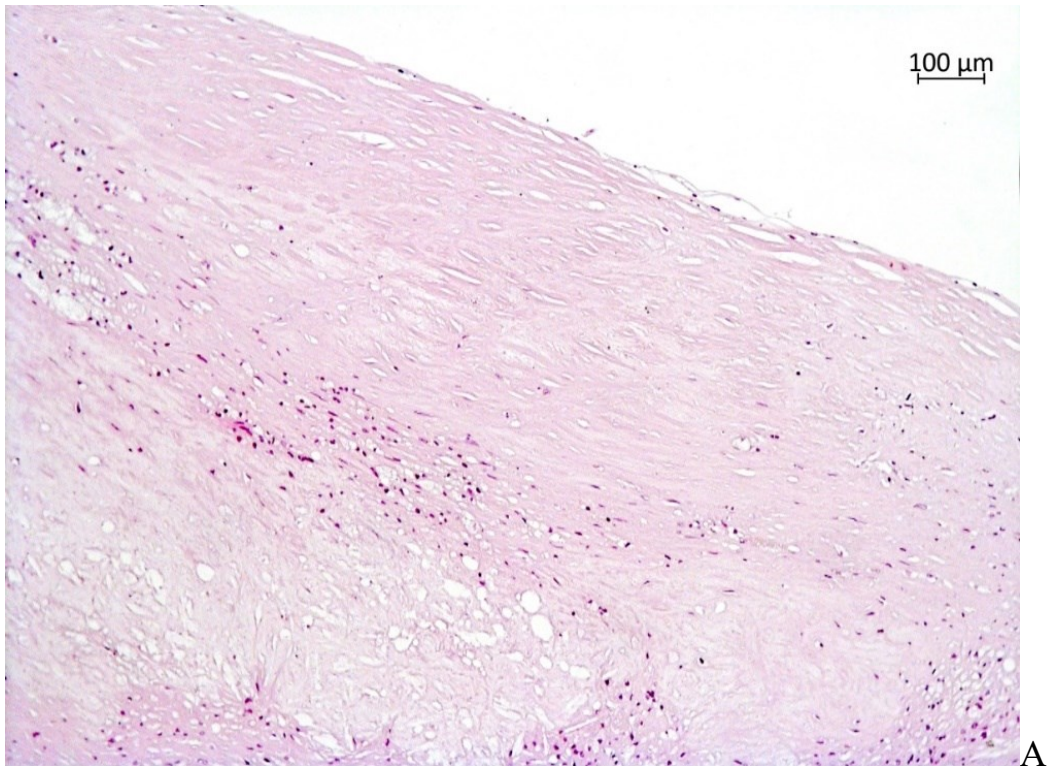


Рисунок 5 – Атеросклеротические бляшки коронарных сосудов: А) стабильная фиброзная бляшка с кальцификацией; Б) нестабильная атеросклеротическая бляшка. Ув.  $\times 100$ . Окраска гематоксилин-эозином

На рисунке 5А сохранены целостность эндотелиальной выстилки и фиброзной покрывки в стабильной фиброзной бляшке. Сохранившие

целостность эритроциты определяются в просвете сосуда. Крупноглыбчатые кальцификаты выявляются в слоях, дистальных от просвета.

На рисунке 5Б в атеросклеротической бляшке определяется большое атероматозное ядро, состоящее из аморфных масс, внеклеточных липидов и кристаллов холестерина. Фиброзная капсула атеромы имеет протяжённый участок повреждения и разрывы.



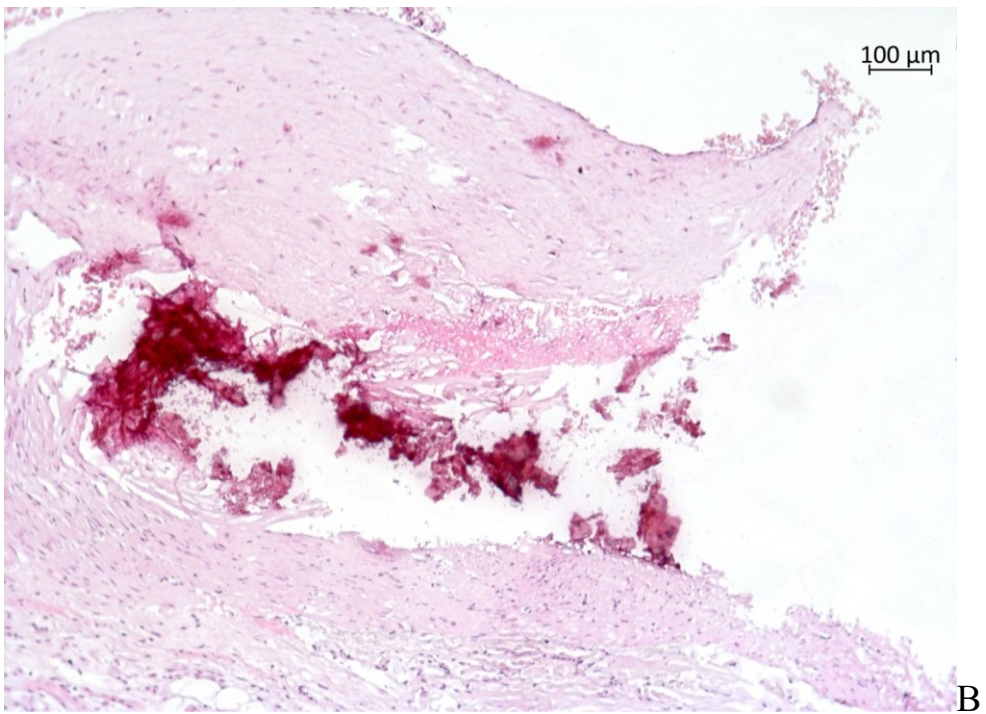
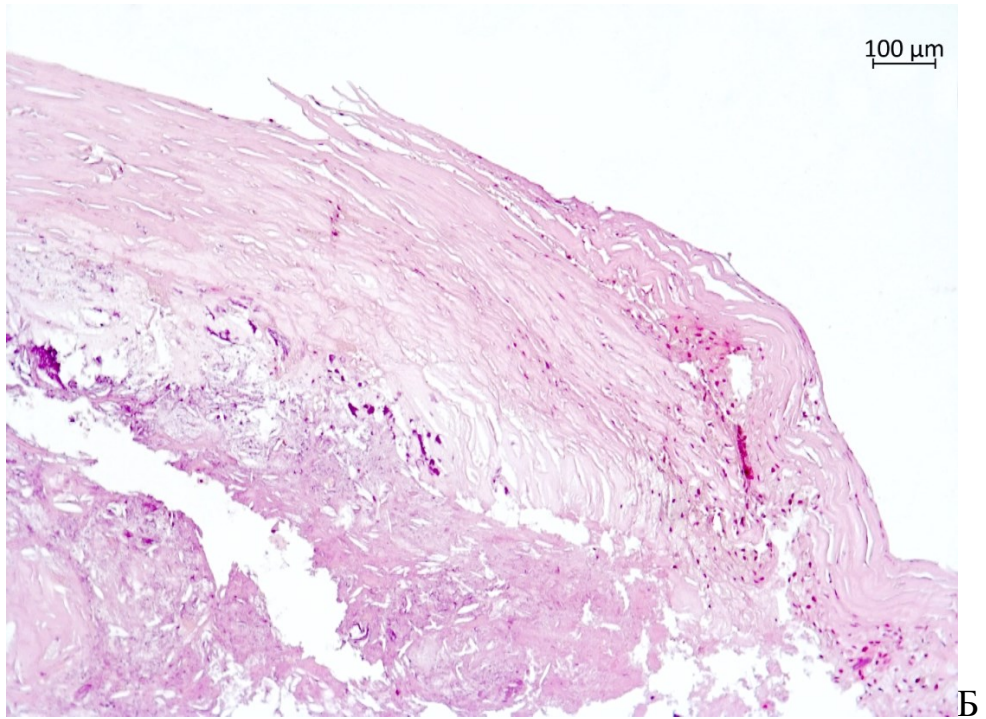


Рисунок 6 – Атеросклеротические бляшки с разной степенью кальцификации:  
А) без кальцификатов, стабильная фиброзная бляшка с началом атероматоза;  
Б) с мелкими кальцификатами, нестабильная атеросклеротическая бляшка; В) с крупными кальцификатами, нестабильная атеросклеротическая бляшка. Ув. × 100.

Окраска гематоксилин-эозином

На представленном рисунке 6А целостность эндотелиальной выстилки и толстой фиброзной покрышки сохранены. Наблюдается небольшое липидное ядро из внеклеточных липидов, пенистых клеток, кристаллов холестерина и очаговая пенистоклеточная инфильтрация в дистальных от просвета слоях.

На рисунке 6Б в атеросклеротической бляшке определяется большое атероматозное ядро, состоящее из аморфных масс, кристаллов холестерина, с участками мелкоглыбчатой кальцификации. Фиброзная покрышка неравномерно истончена с надрывами и участками моноклеарной инфильтрации.

На рисунке 6В в атеросклеротической бляшке определяется толстая фиброзная покрышка с разрывами в области плеча и очаги крупноглыбчатой кальцификации.

### **2.3 Лабораторные методы исследования**

В условиях лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН под руководством ведущего научного сотрудника д-ра биол. наук Каштановой Е. В. были проведены биохимические исследования. Методами иммуноферментного анализа (ИФА) на ИФА-анализаторе MultiscanEX (Thermo Labsystem, Финляндия) в крови и в гомогенатах атеросклеротических бляшек коронарных артерий определяли концентрации биомолекул, ассоциированных с кальцификацией: остеопротегерин; остеопонтин (тест-системы ELISA Bender MedSystems); остеоонектин; остеокальцин (тест-системы ELISA Immunodiagnostic Systems Ltd). Также определяли концентрации биомолекул, ассоциированных с эндотелиальной дисфункцией, в гомогенатах атеросклеротических бляшек коронарных артерий и в крови: моноцитарно-хемоаттрактантный протеин 1 типа MCP-1; молекулы адгезии: E-селектин; sVCAM-1 (тест-системы ELISA Bender MedSystems). В гомогенатах также определяли белок по методу Лоури и рассчитывали результаты относительно белка.

## 2.4 Оценка отдалённых результатов после операции коронарного шунтирования

Через 5 лет после операции КШ из 130 участников исследования у 92 пациентов (70,8 %) был изучен отдалённый прогноз. У 38 участников исследования не удалось определить отдалённый пятилетний прогноз по нескольким объективным причинам: с момента операции КШ не прошло пяти лет (набор участников исследования продолжался с 2016 по 2021 гг.); смерть от иных причин, не связанных с сердечно-сосудистой патологией; не получилось установить повторный контакт. Для изучения отдалённого прогноза у пациентов, проходивших в пятилетний период лечение и обследование в поликлиниках и стационарах, использовали выписки из медицинской документации – амбулаторных карт и/или историй болезни, в том числе, и у повторно оперированных пациентов, а также – данные при повторных обращениях в поликлинику и/или клинику ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е. Н. Мешалкина Минздрава России». Наступление комбинированной конечной точки также фиксировалось методом направленного интервью пациентов по телефону при предоставлении пациентами или их родственниками медицинской документации, в противном случае пациенты исключались, а их данные не учитывались в проспективной части исследования. Учитывались следующие конечные точки: смерть от сердечно-сосудистых заболеваний; нефатальный инфаркт миокарда; фатальный инфаркт миокарда; проведение дополнительной операции (чрескожное коронарное вмешательство, повторное коронарное шунтирование); инсульт. С учётом прогноза было сформировано 2 подгруппы пациентов – 64 мужчины (69,6 %) с благоприятным отдалённым пятилетним периодом после операции КШ составили 1 подгруппу, 28 мужчин (30,4 %) с неблагоприятным (наступление комбинированной конечной точки) отдалённым пятилетним периодом составили 2 подгруппу.

## 2.5 Статистическая обработка

Данные, полученные в результате исследования, были обработаны при помощи программ SPSS Statistics (версия 17.0). Для оценки характера распределения количественных признаков использовался тест Колмогорова–Смирнова. Сравнение групп с нормальным распределением осуществлялось с использованием t-критерия Стьюдента. В тексте представлены количественные характеристики признаков в виде среднего арифметического значения (M) и стандартного отклонения (SD). Непараметрический U-критерий Mann-Whitney использовался для сравнения независимых переменных в группах при ненормальном распределении признаков. Полученные результаты представлены в виде медианы (Me) с указанием межквартильного размаха – 25-й и 75-й процентиля. В настоящем исследовании была проведена оценка зависимости количественных признаков выборочных данных из совокупностей на основании рангового коэффициента корреляции Спирмена ( $r_s$ ). Для оценки вероятности наличия кальцифицированных или нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях была применена множественная логистическая регрессия, основанная на уровнях изучаемых биомолекул кальцификации в крови. Результаты данного анализа, представленные в таблице, были выражены в виде отношения шансов (ОШ) с 95 % доверительным интервалом (ДИ) для ОШ.

Для исследования ассоциаций и различия пропорций при оценке качественных признаков был использован критерий  $\chi^2$  Пирсона. Мощность выборки была рассчитана по формуле:

$$N_{\min} = 15.4 * (p * (1-p)) / W^2, \quad (1)$$

где  $p$  – ожидаемое значение вероятности случайного события;

$W$  – ширина доверительного интервала для значения вероятности.

По данной формуле было определено, что минимальное количество пациентов с коронарным атеросклерозом после КШ с коронарной

эндартерэктомией составляет 60 человек. В исследование включены 78 мужчин в основной группе.

На всех этапах статистического анализа критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы ( $p$ ) принимался менее 0,05.



## ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

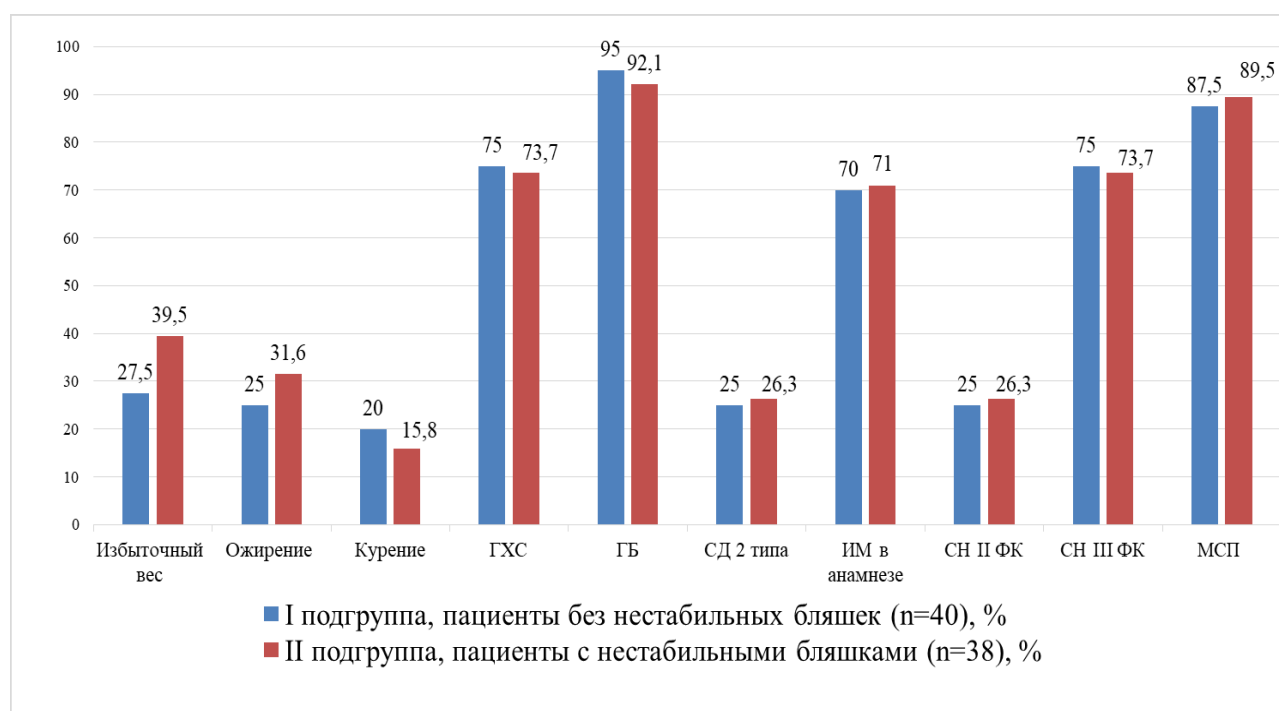
### 3.1 Клинические характеристики у мужчин с коронарным атеросклерозом с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях

Исходя из данных таблицы 1, по характеристикам клинического течения заболевания (анамнез перенесённого ИМ, ФК стенокардии напряжения) и факторов риска ССЗ, по распространенности атеросклеротического поражения коронарных артерий (одно- или многососудистое поражение коронарных артерий) участники исследования с коронарным атеросклерозом и без нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях не отличались от пациентов с наличием (хотя бы одной) нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях. Данные опираются на гистологический анализ образцов интима-медиа, рисунок 7 наглядно демонстрирует данные таблицы 1.

Таблица 1 – Сравнительная клиническая характеристика мужчин с коронарным атеросклерозом с наличием и отсутствием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях

Параметры	I подгруппа пациенты без нестабильных бляшек n = 40	II подгруппа пациенты с нестабильными бляшками n = 38	p
Возраст, лет	59,4 ± 6,6	60,6 ± 6,5	0,511
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	28,8 ± 5,1	29,4 ± 4,7	0,391
Избыточный вес (ИМТ 25–29,9 кг/м <sup>2</sup> )	11 (27,5 %)	15 (39,5 %)	0,102
Ожирение (ИМТ ≥ 30 кг/м <sup>2</sup> )	10 (25 %)	12 (31,6 %)	0,209
Курение	8 (20 %)	6 (15,8 %)	0,431
Гиперхолестеринемия (ОХС ≥ 5,0 ммоль/л)	30 (75 %)	28 (73,7 %)	0,875
Гипертоническая болезнь	38 (95 %)	35 (92,1 %)	0,661

Параметры	I подгруппа пациенты без нестабильных бляшек n = 40	II подгруппа пациенты с нестабильными бляшками n = 38	p
Сахарный диабет 2 типа	10 (25 %)	10 (26,3 %)	0,587
ИМ в анамнезе	28 (70 %)	27 (71 %)	0,782
Стабильная стенокардия напряжения:			
II ФК	10 (25 %)	10 (26,3 %)	0,541
III ФК	30 (75 %)	28 (73,7 %)	0,631
Многососудистое поражение коронарных артерий	35 (87,5 %)	34 (89,5 %)	0,518



Примечание: ГХС – гиперхолестеринемия ( $\text{ОХС} \geq 5,0$  ммоль/л); ГБ – гипертоническая болезнь; СД – сахарный диабет; СН – стенокардия напряжения; МСП – многососудистое поражение коронарных артерий.

Рисунок 7 – Клинические характеристики мужчин с коронарным атеросклерозом

### 3.2 Биохимические факторы кальцификации и эндотелиальной дисфункции в стабильных и нестабильных атеросклеротических бляшках из коронарных артерий у мужчин с коронарным атеросклерозом

Среди изученных нестабильных атеросклеротических бляшек коронарных артерий, опираясь на результаты гистологического исследование, 80 % бляшек имели очаги кальцификации, стабильные же бляшки – только в 45 % случаев имели в своей структуре кальцификаты (таблица 2, рисунок 8).

Таблица 2 – Характеристика атеросклеротических бляшек по наличию кальцификатов

Наличие кальцификатов	Стабильная бляшка n ( %)	Нестабильная бляшка n ( %)
Общее количество	89 (100 %)	51 (100 %)
Нет	49 (55,1 %)	10 (19,6 %)
Мелкие и пылевидные	36 (40,4 %)	31 (60,8 %)
Крупные	4 (4,5 %)	10 (19,6 %)

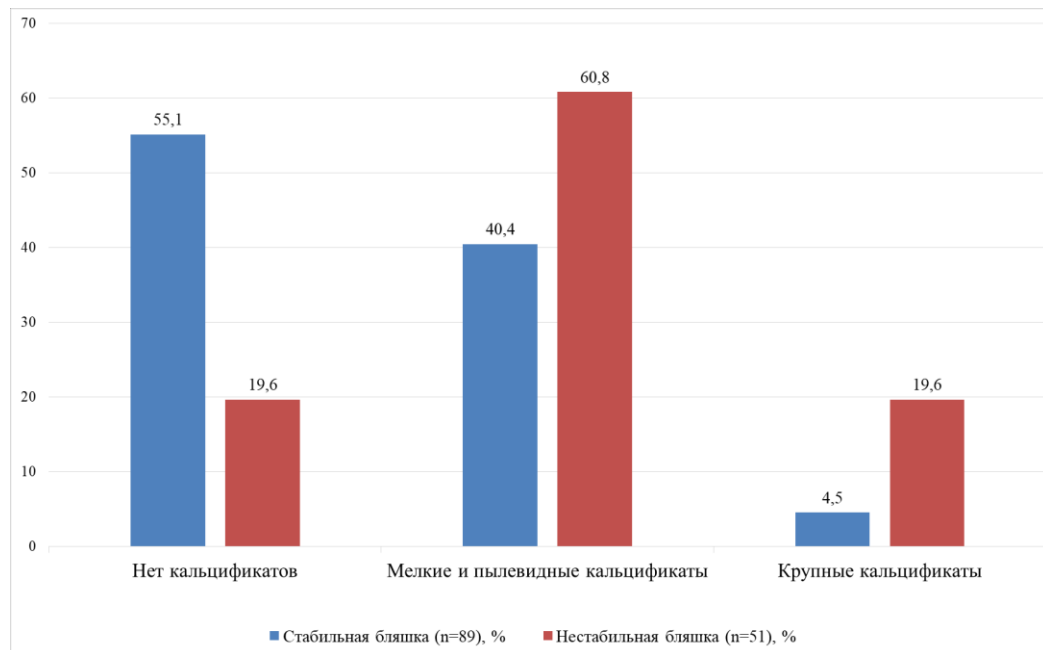


Рисунок 8 – Характеристика атеросклеротических бляшек по наличию кальцификатов

При исследовании биомолекул эндотелиальной дисфункции значимые различия между стабильными и нестабильными бляшками были получены для sVCAM-1 и E-селектина (таблица 3, рисунок 9).

Таблица 3 – Биохимические маркеры эндотелиальной дисфункции в стабильных и нестабильных атеросклеротических бляшках (Me [25 %; 75 %])

Показатели	Стабильная бляшка (n = 89)	Нестабильная бляшка (n = 51)	p
МСР-1, (пг/мг белка)	79,0 [35,4; 169,5]	85,4 [35,5; 174,1]	0,904
sVCAM-1, (нг/мг белка)	122,9 [45,9; 254,4]	66,4 [18,5; 161,3]	<b>0,014</b>
Е-селектин, (нг/мг белка)	5,4 [1,8; 14,9]	2,0 [1,1; 3,8]	<b>0,0001</b>

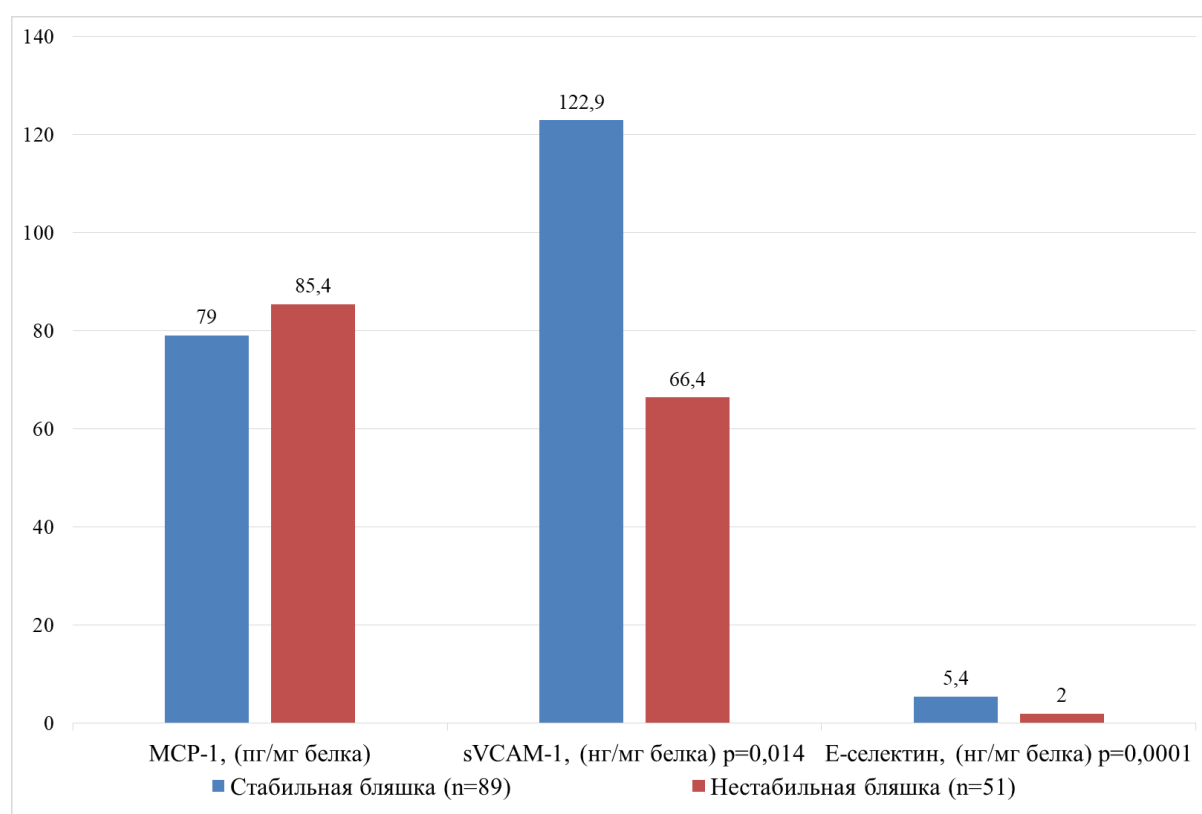


Рисунок 9 – Биохимические маркеры эндотелиальной дисфункции в стабильных и нестабильных атеросклеротических бляшках

При анализе показателей кальцификации в стабильных и нестабильных бляшках, значимое различие было получено только для остеоонектина, уровень которого был в 1,5 раза выше в стабильных бляшках (таблица 4, рисунок 10).

Таблица 4 – Маркеры кальцификации в стабильных и нестабильных атеросклеротических бляшках (Me [25 %; 75 %])

Показатели	Стабильная бляшка (n = 89)	Нестабильная бляшка (n = 51)	p
Остеопротегерин, (пг/мг белка)	110,7 [43,0; 235,9]	89,9 [34,4; 249,4]	0,491
Остеопонтин, (нг/мг белка)	3,3 [1,4; 8,1]	1,7 [0,7; 7,6]	0,122
Остеокальцин, (нг/мг белка)	16,9 [2,3; 112,9]	14,0 [3,7; 100,5]	0,691
Остеонектин, мкг/мг белка	2,4 [1,4; 4,4]	1,6 [1,1; 2,9]	<b>0,024</b>

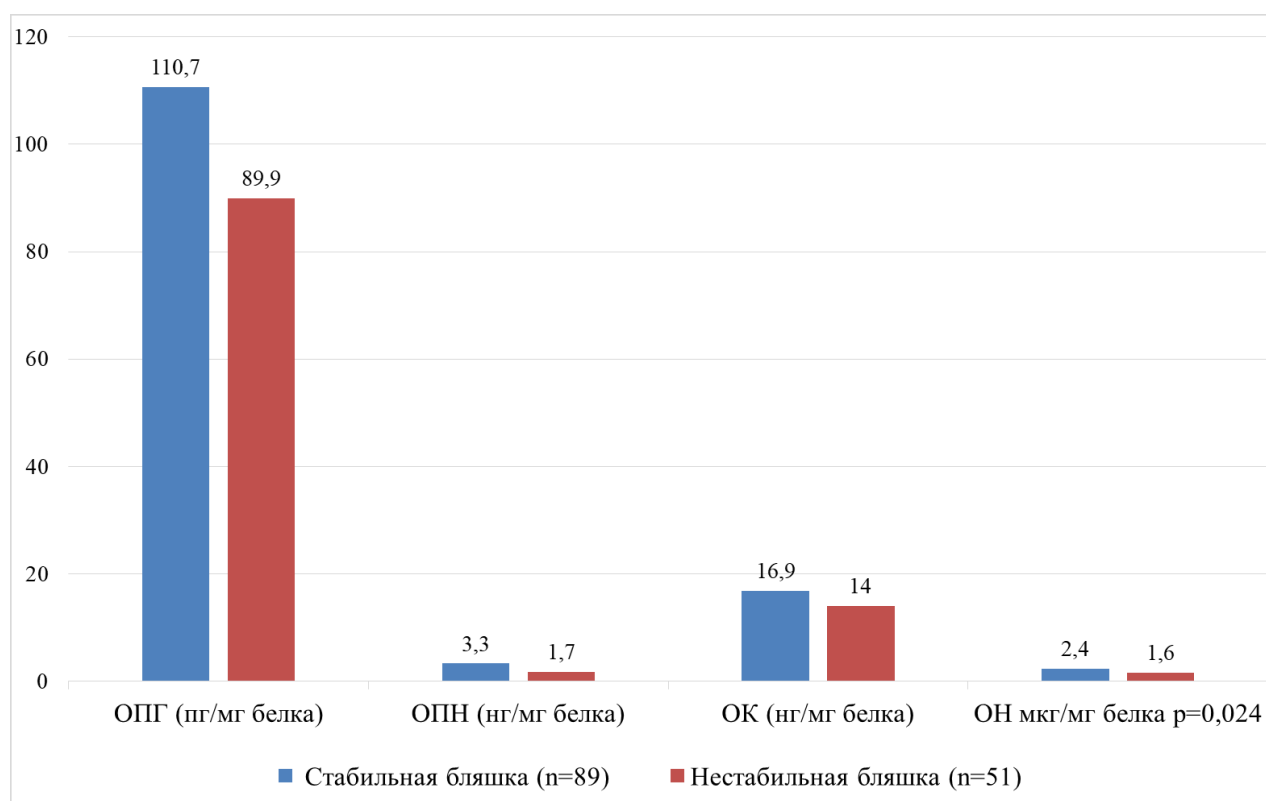


Рисунок 10 – Маркеры кальцификации в стабильных и нестабильных атеросклеротических бляшках

При оценке маркеров эндотелиальной дисфункции в очагах с разной степенью кальцификации выявлено снижение уровня sVCAM-1 и E-селектина в очагах с крупными кальцификатами. Значимое снижение этих показателей было по отношению как к участкам без кальцификатов, так и к участкам с мелкими кальцификатами (таблица 5, рисунок 11).

Таблица 5 – Маркеры эндотелиальной дисфункции в гомогенатах интимы-медии коронарных артерий исходя из гистологической характеристики степени кальцификации (Me [25 %; 75 %])

Показатели	1. Без кальцификатов (n=59)	2. Мелкие и пылевидные кальцификаты (n=67)	3. Крупные кальцификаты (n=14)	p
МСР-1, (пг/мг белка)	80,2 [35,0; 147,8]	77,5 [37,2; 174,1]	148,2 [29,0; 179,3]	(1-2) 0,069 (1-3) 0,762 (2-3) 0,441
sVCAM-1, (нг/мг белка)	115,0 [44,6; 239,2]	110,9 [34,3; 229,5]	30,3 [8,1; 52,3]	(1-2) 0,074 <b>(1-3) 0,005</b> <b>(2-3) 0,01</b>
E-селектин, (нг/мг белка)	4,9 [2,1; 13,0]	3,1 [1,1; 7,9]	0,9 [0,3; 2,1]	<b>(1-2)0,016</b> <b>(1-3)0,002</b> <b>(2-3)0,048</b>

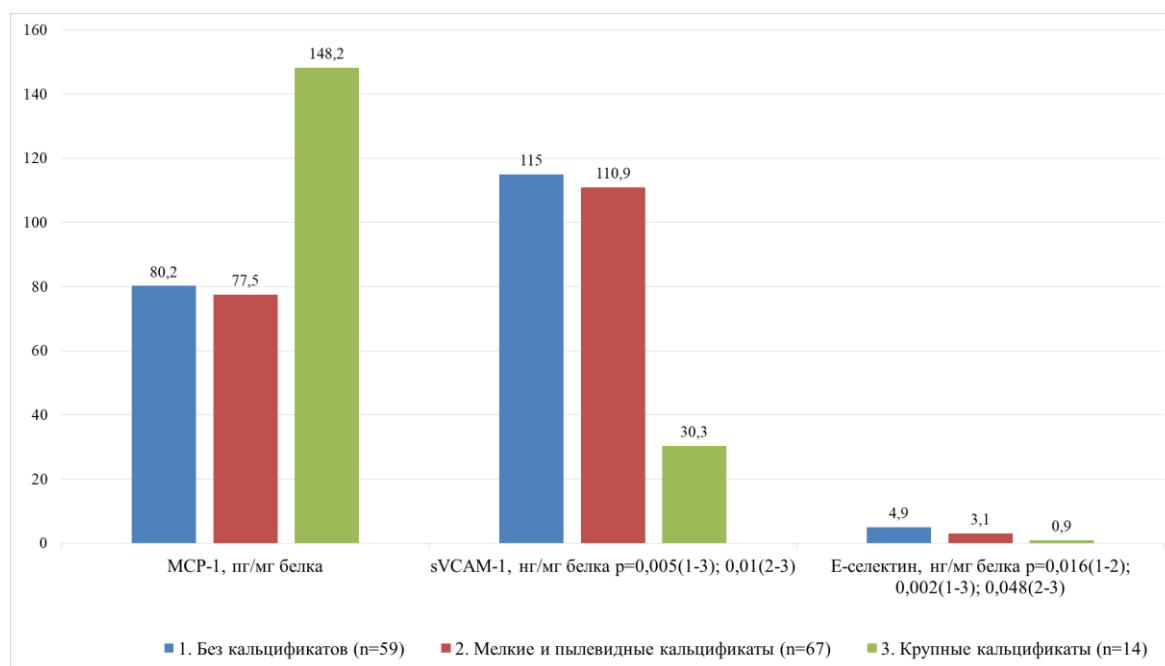


Рисунок 11 – Маркеры эндотелиальной дисфункции в гомогенатах интимы-медии коронарных артерий исходя из гистологической характеристики степени кальцификации

Таблица 6 – Маркеры кальцификации в атеросклеротических бляшках коронарных артерий в зависимости от гистологической оценки степени кальцификации (Me [25 %; 75 %])

Показатели	1. Без кальцификатов (n = 59)	2. Мелкие и пылевидные кальцификаты (n = 67)	3. Крупные кальцификаты (n = 14)	p
Остеопротегерин, пг/мг белка	122,4 [43,8; 194,7]	115,1 [32,3; 264,0]	66,7 [40,4; 118,5]	(1-2) 0,063 (1-3) 0,762 (2-3) 0,441
Остеопонтин, нг/мг белка	4,6 [1,8; 10,2]	2,3 [0,9; 7,3]	1,1 [0,3; 3,5]	(1-2) 0,056 <b>(1-3) 0,012</b> (2-3) 0,236
Остеокальцин, нг/мг белка	5,6 [1,2; 54,5]	34,3 [7,8; 148,1]	60,1 [3,0; 156,0]	<b>(1-2) 0,001</b> (1-3) 0,545 <b>(2-3) 0,025</b>

Показатели	1. Без кальцификатов (n = 59)	2. Мелкие и пылевидные кальцификаты (n = 67)	3. Крупные кальцификаты (n = 14)	p
Остеонектин, мкг/мг белка	2,3 [1,1; 4,9]	2,0 [1,3; 3,8]	0,98 [0,4; 2,1]	(1-2) 0,088 <b>(1-3) 0,016</b> <b>(2-3) 0,023</b>

Значения остеокальцина увеличивались с кальцификацией бляшки и достигали наибольших показателей в бляшках с крупными кальцификатами – в 10,7 раз больше, чем в бляшках без кальцификатов и в 1,7 раз больше ( $p = 0,025$ ), чем в бляшках с мелкими кальцификатами (см. таблица 6, рисунок 12).

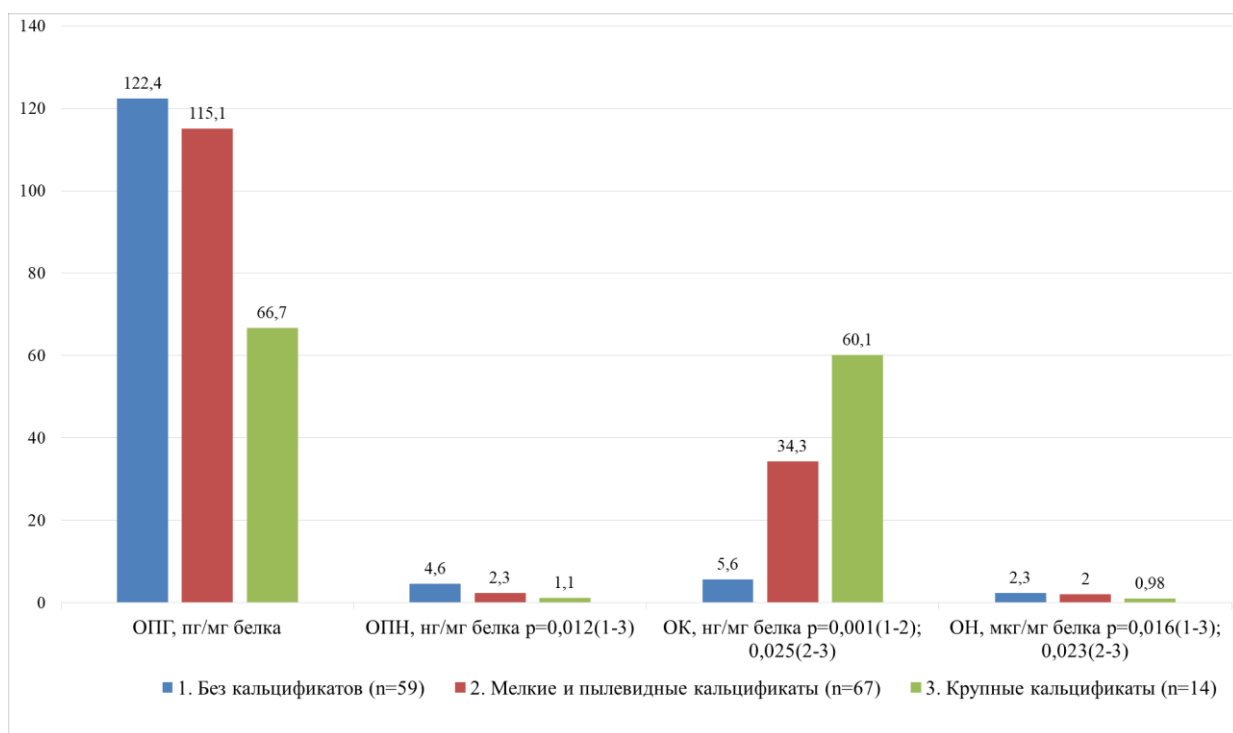


Рисунок 12 – Маркеры кальцификации в атеросклеротических бляшках коронарных артерий в зависимости от гистологической оценки степени кальцификации



Анализ корреляционных связей между биомолекулами эндотелиальной дисфункции и биомолекулами кальцификации в атеросклеротических очагах представлен в таблице 7 и на рисунке 13.

Таблица 7 – Корреляционные связи между маркерами эндотелиальной дисфункции и кальцификации в атеросклеротических бляшках коронарных артерий

Показатели	МСР-1, пг/мг белка	sVCAM, нг/мг белка	E-селектин, нг/мг белка
Остеопротегерин, (пг/мг белка)	<b>r = 0,489</b> p = 0,0001	<b>r = 0,223</b> p = 0,008	r = 0,125 p = 0,157
Остеопонтин, (нг/мг белка)	<b>r = 0,523</b> p = 0,0001	<b>r = 0,388</b> p = 0,0001	<b>r = 0,312</b> p = 0,0001
Остеокальцин, (нг/мг белка)	<b>r = 0,290</b> p = 0,001	<b>r = 0,329</b> p = 0,0001	r = 0,097 p = 0,274
Остеонектин, (мкг/мг белка)	<b>r = 0,421</b> p = 0,0001	<b>r = 0,669</b> p = 0,0001	<b>r = 0,520</b> p = 0,0001

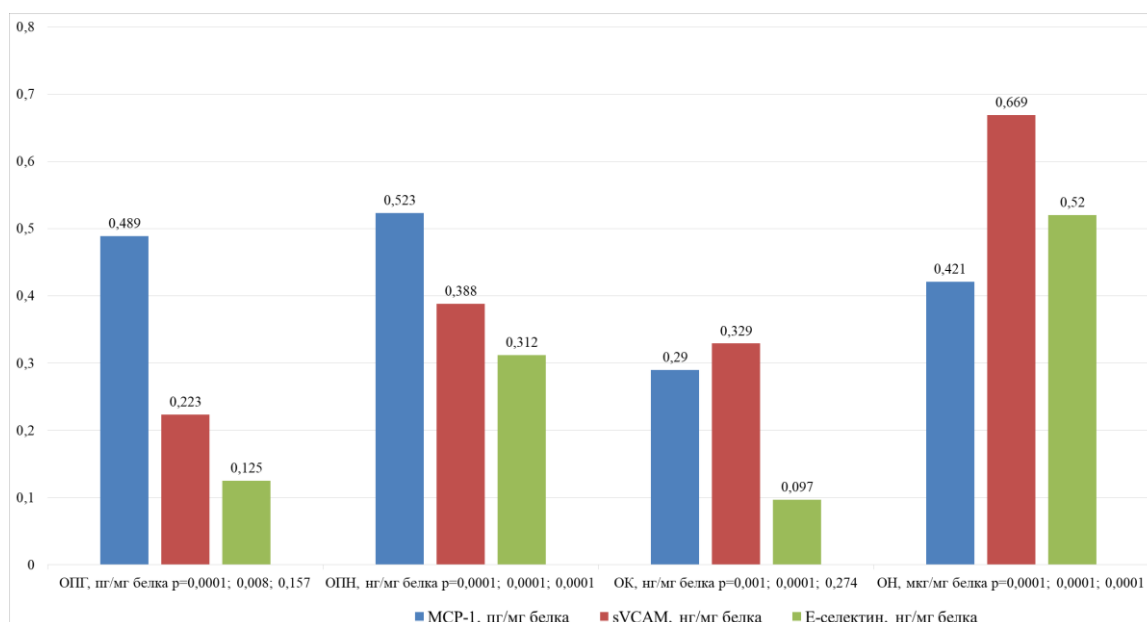


Рисунок 13 – Корреляционные связи между маркерами эндотелиальной дисфункции и кальцификации в атеросклеротических бляшках коронарных артерий

Для уточнения влияния факторов эндотелиальной дисфункции на маркёры кальцификации был проведён множественный линейный регрессионный анализ. Было проанализировано несколько моделей, где в качестве зависимой переменной включали один из факторов кальцификации (остеонектин, остеопонтин, остеокальцин и остеопротегерин), в качестве независимых выступали изучаемые маркеры эндотелиальной дисфункции (MCP-1, sVCAM-1 и E-селектин). Было выявлено, что остеонектин связан с sVCAM-1 ( $B = 0,01$ ;  $p = 0,0001$ ) и E-селектином ( $B = 0,055$ ;  $p = 0,001$ ) ( $R^2 = 0,596$ ;  $p = 0,0001$ ). Уровень остеопонтин ассоциирован с sVCAM ( $B = 0,013$ ;  $p = 0,043$ ) ( $R^2 = 0,296$ ;  $p = 0,0001$ ); остеокальцин связан с молекулами адгезии сосудистого эндотелия ( $B = 0,85$ ;  $p = 0,001$ ); ( $R^2 = 0,184$ ;  $p = 0,0001$ ); уровень остеопротегерина также зависит от sVCAM-1 ( $B = 0,249$ ;  $p = 0,038$ ); ( $R^2 = 0,084$ ;  $p = 0,014$ ). Проведенный далее пошаговый анализ подтвердил полученные результаты.

Проведенный мультивариантный логистический регрессионный анализ с построением мультивариантных моделей, где в качестве зависимой переменной было прогрессирование атеросклеротического поражения до нестабильной бляшки (стабильная/нестабильная), показал, что шанс формирования нестабильной бляшки связан со снижением в ней уровня E-селектина (ОШ = 0,924; 95 % ДИ 0,854–0,999), ( $p = 0,047$ ) и со степенью кальцификации очага: вероятность наличия нестабильной бляшки выше в 4,4 раза при наличии в ней мелких кальцификатов (ОШ = 4,413; 95 % ДИ 1,545–12,602), ( $p = 0,006$ ) и выше почти в 40 раз – при наличии в ней крупных кальцификатов (ОШ = 39,443; 95 % ДИ 3,564–436,53), ( $p = 0,003$ ) по отношению к бляшкам без кальцификации.

При проведении мультивариантного логистического анализа, где в качестве зависимой переменной было взято наличие кальцификации атеросклеротического очага (нет/есть кальцификация), относительный риск формирования кальцификатов в атеросклеротических бляшках коронарных артерий был связан с остеокальцином (ОШ = 1,011; 95 % ДИ 1,004–1,018), ( $p = 0,001$ ).

### 3.3. Биохимические факторы кальцификации и эндотелиальной дисфункции в крови у мужчин с коронарным атеросклерозом

Необходимо рассматривать системные, а не только местные патофизиологические аспекты для изучения механизмов прогрессирования атерогенеза, ведущих к уязвимости бляшки. Поэтому крайне актуальными являются исследования, проводимые параллельно в сосудах и в крови.

При изучении ассоциаций содержания биомолекул кальцификации и дисфункции эндотелия между атеросклеротическими бляшками и кровью были выявлены статистически значимые корреляционные связи для sVCAM-1 ( $r = 0,180$ ;  $p = 0,038$ ), MCP-1 ( $r = 0,263$ ;  $p = 0,003$ ), остеопонтин ( $r = -0,192$ ;  $p = 0,031$ ) и остеокальцин ( $r = 0,353$ ;  $p = 0,0001$ ). Полученный результат позволяет предположить возможность использования этих биомолекул, особенно остеокальцин, в качестве потенциального биомаркера оценки состояния сосудистой стенки по анализу крови.

Для определения в крови возможных значимых биомаркеров, указывающих на имеющиеся нестабильные бляшки в коронарном русле, 78 участников исследования поделили на 2 подгруппы: в подгруппу I включены 40 мужчин без нестабильных бляшек, в подгруппу II – 38 мужчин с наличием хотя бы одной нестабильной атеросклеротической бляшки в коронарных артериях. В соответствии с результатами из таблицы 8, из всех исследованных в работе биохимических маркеров, различия между двумя подгруппами были получены лишь для остеокальцина, содержание которого в крови у мужчин, имевших нестабильные бляшки в коронарном русле, было несколько выше (рисунок 14).

Таблица 8 – Биохимические маркеры кальцификации и эндотелиальной дисфункции в крови мужчин с коронарным атеросклерозом в зависимости от типа бляшки в коронарной артерии (Me [25 %; 75 %])

Показатели	I подгруппа (только стабильные бляшки в коронарных артериях) n = 40	II группа (есть нестабильная бляшка в коронарной артерии) n = 38	p
Остеопротегерин, (пг/мл)	60,5 [36,5; 79,9]	49,0 [43,5; 60,5]	0,154
Остеопонтин, (нг/мл)	28,2 [18,1; 42,1]	27,5 [17,1; 38,0]	0,432
Остеокальцин, (нг/мл)	12,0 [8,3; 16,5]	14,6 [7,8; 17,9]	0,089
Остеонектин, (мкг/мл)	8,9 [8,0; 10,9]	9,2 [7,5; 10,4]	<b>0,024</b>
МСР-1, (пг/мл)	404,6 [283,9; 530,9]	547,4 [353,9; 625,4]	0,093
sVCAM-1, (нг/мл)	838,8 [669,5; 1023,1]	809,2 [655,6; 935,8]	0,264
E-селектин, (нг/мл)	47,7 [33,3; 60,2]	54,5 [38,2; 62,1]	0,116

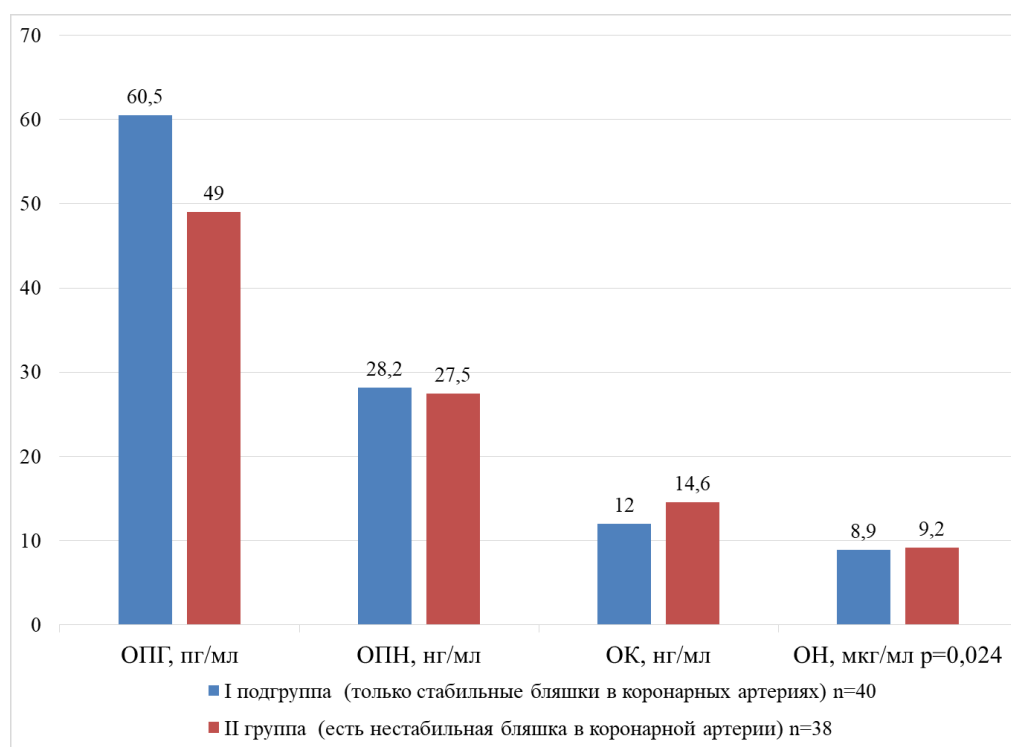


Рисунок 14 – Биохимические маркеры кальцификации и эндотелиальной дисфункции в крови мужчин с коронарным атеросклерозом в зависимости от типа бляшки в коронарной артерии

На рисунке 15 приведены показатели маркеров эндотелиальной дисфункции в крови мужчин с коронарным атеросклерозом (по данным таблицы 8).

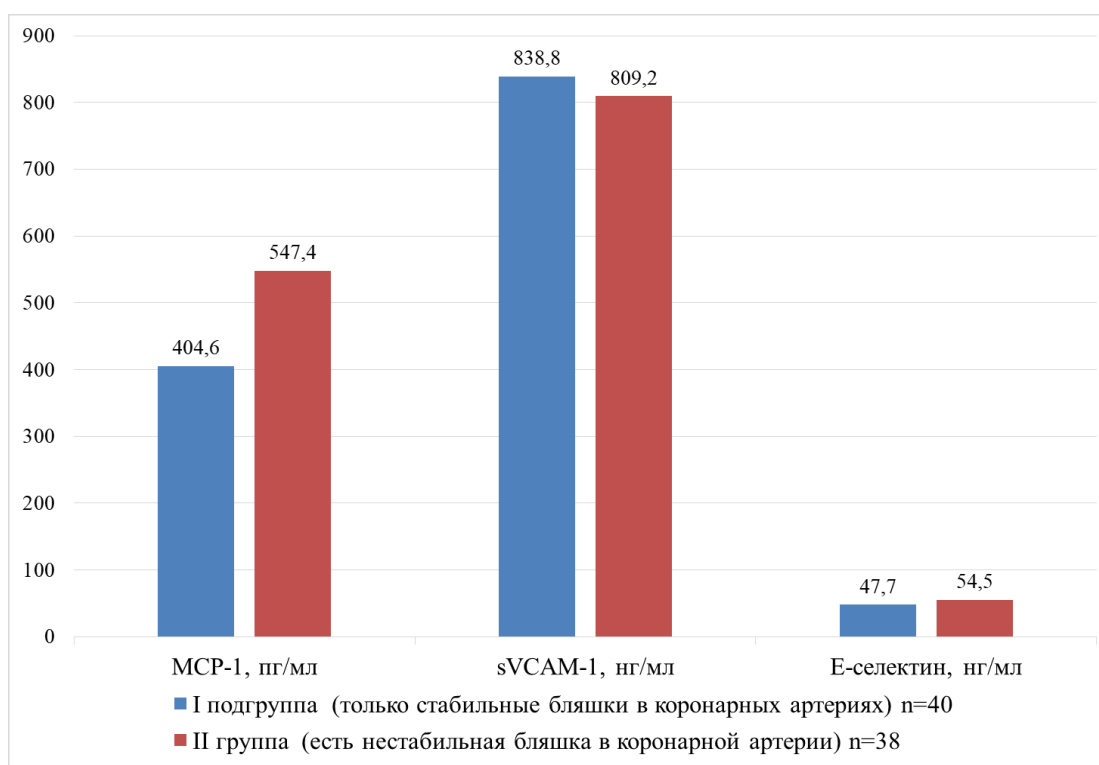


Рисунок 15 – Показатели маркеров эндотелиальной дисфункции в крови мужчин с коронарным атеросклерозом

Показатели биохимических маркеров кальцификации эндотелиальной дисфункции в крови мужчин с коронарным атеросклерозом в зависимости от выявления очагов кальцификации в бляшках продемонстрированы в таблице 9 и на рисунке 16.

Показатели маркеров эндотелиальной дисфункции в крови мужчин с коронарным атеросклерозом в зависимости от выявления очагов кальцификации в бляшках отображены на рисунке 17.

Таблица 9 – Биохимические маркеры кальцификации и эндотелиальной дисфункции в крови мужчин с коронарным атеросклерозом в зависимости от выявления очагов кальцификации в бляшках (Me [25 %; 75 %])

Показатели	III подгруппа (нет кальцифицированных бляшек) n = 30	IV подгруппа (есть кальцифицированные бляшки) n = 48	p
Остеопротегерин, (пг/мл)	59,4 [33,9; 78,9]	52,0 [41,7; 78,4]	0,075
Остеопонтин, (нг/мл)	8,7 [7,2; 10,8]	9,2 [8,0; 10,4]	0,125
Остеокальцин, (нг/мл)	11,8 [8,1; 14,6]	14,1 [9,1; 14,1]	<b>0,033</b>
Остеонектин, (мкг/мл)	8,7 [7,2; 10,8]	9,2 [8,0; 10,4]	0,092
МСР-1, (пг/мл)	421,1 [294,7; 563,8]	467,7 [398,9; 622,8]	0,324
sVCAM-1, (нг/мл)	843,5 [695,7; 1003,6]	838,8 [669,5; 1023,1]	0,069
E-селектин, (нг/мл)	41,8 [33,5; 60,2]	53,7 [38,9; 62,1]	0,223

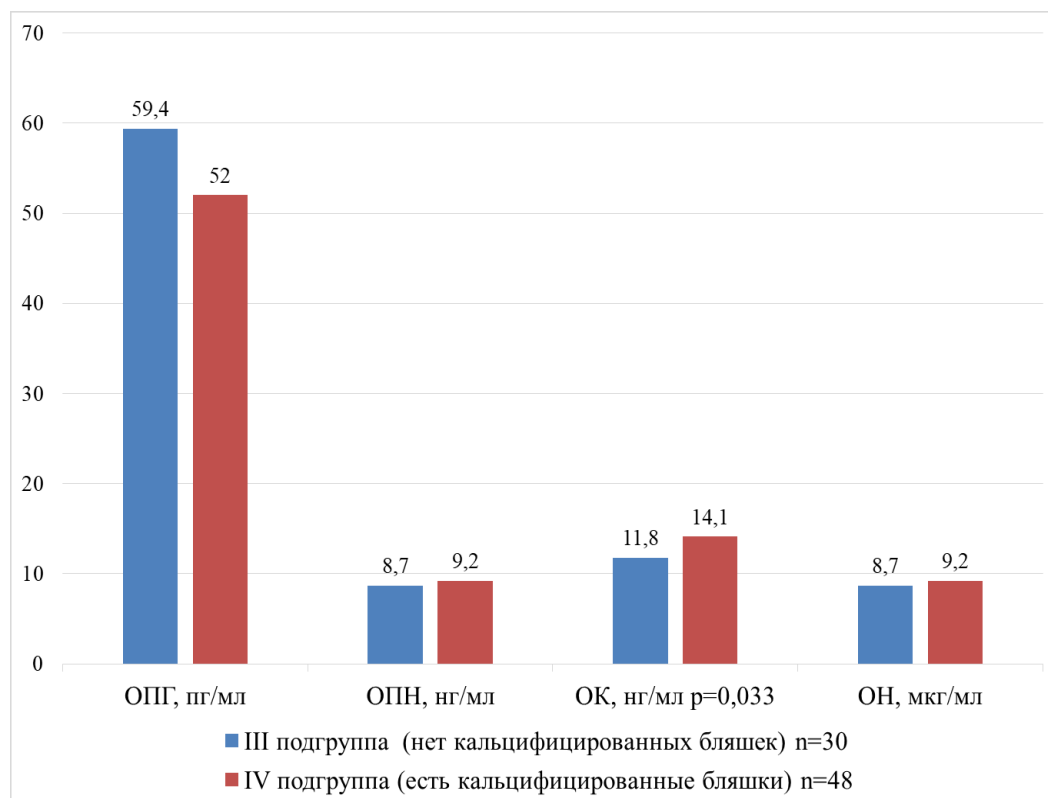


Рисунок 16 – Показатели биохимических маркеров кальцификации в крови мужчин с коронарным атеросклерозом в зависимости от выявления очагов кальцификации в бляшках

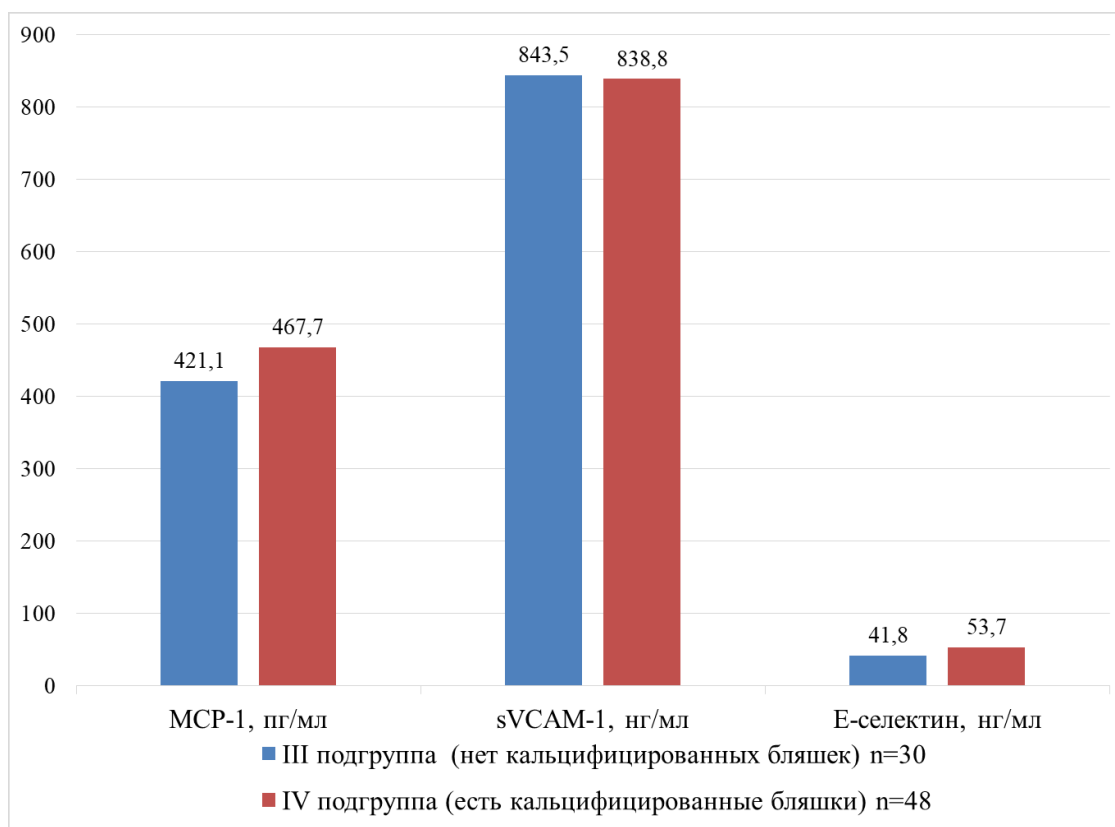


Рисунок 17 – Показатели маркеров эндотелиальной дисфункции в крови мужчин с коронарным атеросклерозом в зависимости от выявления очагов кальцификации в бляшках

Также для определения в крови возможных значимых биомаркеров, указывающих на имеющиеся очаги кальцификации в бляшках в коронарном русле, 78 участников основной подгруппы поделили на отдельные подгруппы – в подгруппу III включены мужчины, у которых не выявили очагов кальцификации в исследуемых бляшках, в подгруппу IV – мужчины с выявленными очагами кальцификации в атеросклеротических бляшках коронарных артериях. Согласно данным таблицы 9, из всех изученных нами биохимических показателей разница между двумя подгруппами была выявлена только для остеокальцина, содержание в крови которого было в 1,2 раза выше у мужчин, имеющих кальцифицированные бляшки в коронарных артериях. Эти данные свидетельствует о возможности использования остеокальцина в качестве потенциального биомаркера оценки

наличия кальцифицированных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях, используя анализ крови.

### **3.4 Поиск ассоциаций факторов кальцификации бляшек с развитием неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в пятилетний отдаленный период после операции коронарного шунтирования**

Через 5 лет после КШ из 130 участников исследования у 92 пациентов (70,8 %) был изучен отдалённый прогноз. Учитывались следующие конечные точки: смерть от сердечно-сосудистого заболевания; нефатальный инфаркт миокарда; фатальный инфаркт миокарда; проведение дополнительной операции (чрескожное коронарное вмешательство, повторное коронарное шунтирование); инсульт. В течение 5 лет у 5 мужчин (5,4 %) была зафиксирована сердечно-сосудистая смерть (включая один случай фатального инфаркта миокарда), у 6 мужчин (6,5 %) был нефатальный инфаркт миокарда, у 5 мужчин (5,4 %) был инсульт, у 12 мужчин (13,0 %) была проведена дополнительная операция.

С учётом прогноза было сформировано 2 подгруппы пациентов: 64 мужчины (69,6 %) с благоприятным пятилетним периодом после операции КШ составили 1-ю подгруппу и 28 мужчин (30,4 %) с неблагоприятным (наступление комбинированной конечной точки) отдаленным пятилетним периодом составили 2-ю подгруппу.

Был проведен поиск ассоциаций неблагоприятного пятилетнего прогноза после КШ и полученными показателями биомолекул кальцификации (остеопонтин, остеоонектин, остеопротегерин, остеокальцин), оцененными в крови до КШ. В таблице 10 продемонстрированы данные сравнительного межгруппового анализа. Было выявлено, что у мужчин, имевших неблагоприятный пятилетний прогноз, показатели остеокальцина в крови до КШ были в 1,2 раза выше, чем у мужчин с благоприятным пятилетним прогнозом.



Таблица 10 – Сравнение концентрации в крови биомолекул кальцификации между подгруппами мужчин с разным отдаленным прогнозом после КШ (Ме [25; 75])

Показатели	Неблагоприятный прогноз n=28	Благоприятный прогноз n=64	p
Остеопротегерин, пг/мл	51,4 [33,5; 79,3]	52,3 [34,2; 77,3]	0,077
Остеокальцин, нг/мл	14,0 [9,0; 21,8]	11,8 [7,7; 15,1]	<b>0,035</b>
Остеопонтин, нг/мл	20,2 [17,8; 49,8]	28,9 [16,0; 38,0]	0,646
Остеонектин, мкг/мл	7,4 [9,2; 10,2]	8,8 [7,9; 10,9]	0,431
sVCAM-1, нг/мл	788,7 [627,4; 1058,6]	841,2 [697,0; 1038,1]	0,097
E-селектин, нг/мл	49,9 [33,6; 62,1]	47,6 [33,2; 60,0]	0,423
MCP-1, пг/мл	443,5 [249,5; 537,3]	456,6 [322,1; 588,8]	0,546

Сравнительные данные концентраций биомолекул и показателей эндотелиальной дисфункции кальцификации в крови между подгруппами мужчин с коронарным атеросклерозом с разным отдалённым прогнозом после КШ, подтверждающие выводы таблицы 10, представлены на рисунках 18 и 19.

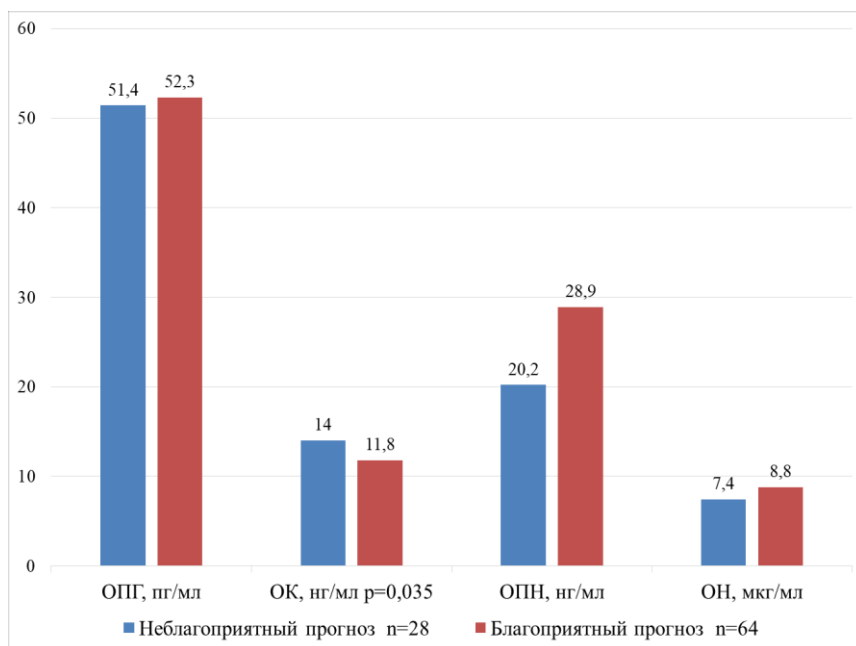


Рисунок 18 – Сравнительные данные концентраций биомолекул кальцификации в крови между подгруппами мужчин с коронарным атеросклерозом с разным отдалённым прогнозом после КШ

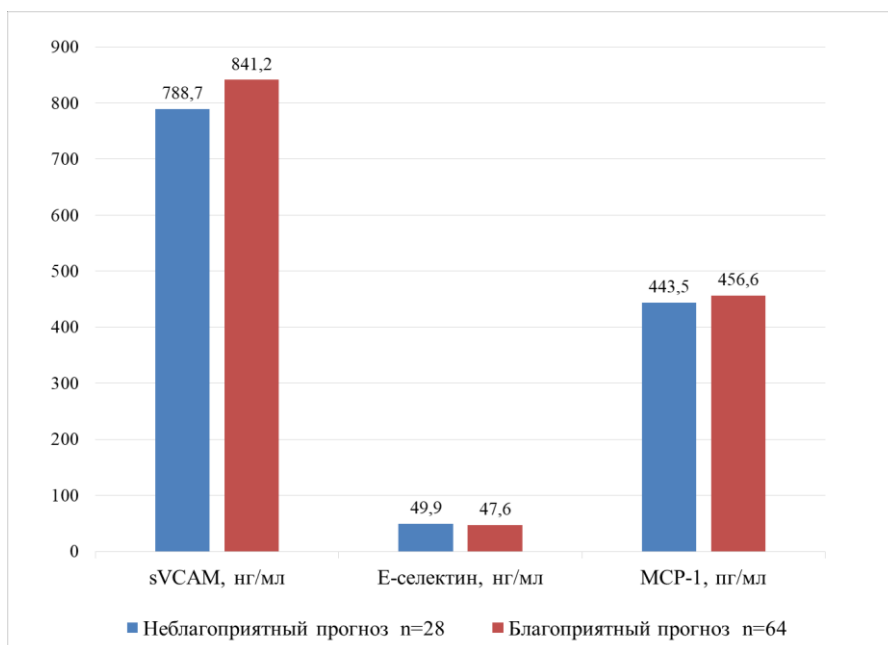


Рисунок 19 – Сравнительные данные концентраций в крови показателей эндотелиальной дисфункции между подгруппами мужчин с коронарным атеросклерозом с разным отдалённым прогнозом после КШ

Далее был выполнен многофакторный регрессионный анализ – «благоприятный/неблагоприятный прогноз» был использован в качестве зависимой переменной. Параметры клинической характеристики пациентов (возраст, ИМТ, окружность талии, избыточный вес, ожирение, курение, уровни в крови холестерина, триглицеридов, глюкозы, анамнез гипертонической болезни, сахарного диабета 2 типа, ИМ в анамнезе, ФК класс стенокардии напряжения, количество пораженных атеросклерозом коронарных артерий, данные о ССЗ у родственников и др.) в разных сочетаниях, а также показатели биомолекул кальцификации и эндотелиальной дисфункции были использованы в модели в качестве независимых переменных. В таблице 11 и на рисунке 20 представлены только выявленные статистически значимые влияния признаков на развитие неблагоприятного отдаленного периода после операции КШ.

Таблица 11 – Результаты многофакторного регрессионного анализа ассоциации клинических и биохимических показателей с риском неблагоприятного прогноза развития коронарного атеросклероза после операции КШ

Показатели	ОШ	95 % ДИ	p
Возраст	1,139	1,006-1,289	<b>0,039</b>
ОТ	1,097	1,004-1,199	<b>0,040</b>
ТГ крови	0,981	0,963-0,999	<b>0,044</b>
Остеокальцин крови	1,095	1,002-1,171	<b>0,015</b>

На рисунке приведены данные, подтверждающие результаты исследований, представленных в таблице 11.

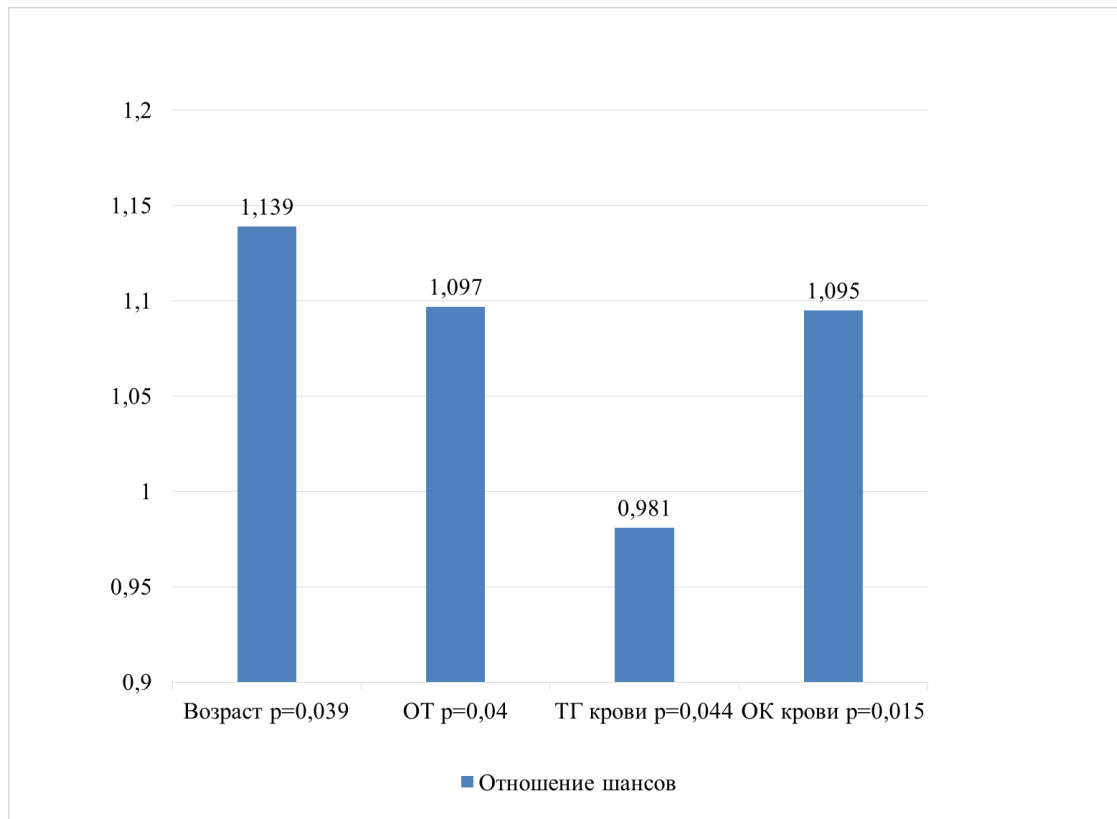


Рисунок 20 – Результаты многофакторного регрессионного анализа ассоциации клинических и биохимических показателей с риском неблагоприятного прогноза после КШ

Других ассоциаций клинических и биохимических показателей (биомолекулы кальцификации и эндотелиальной дисфункции) с риском неблагоприятного пятилетнего прогноза после операции КШ не выявлено.

Отдаленный неблагоприятный пятилетний прогноз у мужчин с коронарным атеросклерозом после операции КШ прямо ассоциирован с возрастом, показателями окружности талии и уровнем остеокальцина в крови. Из 28 участников с неблагоприятным прогнозом у 20 была проведена эндартерэктомия из коронарной/-ых артерий, 14 из них (70 %) имели хотя бы одну нестабильную атеросклеротическую бляшку в коронарном русле.

## ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Наши результаты подтверждают концепцию о том, что эндотелиальная дисфункция и кальцификация атеросклеротических бляшек коронарных артерий являются важными патологическими процессами в развитии атеросклероза, особенно на ранней стадии. Эти два явления могут по-разному влиять на течение атеросклероза и предоставить дополнительную информацию о будущем риске сердечно-сосудистых заболеваний. Сосудистая кальцификация может влиять на нестабильность атеросклеротической бляшки и способствовать её переходу в уязвимое состояние.

По нашим данным, более кальцифицированными оказались нестабильные атеросклеротические бляшки, являющиеся причиной неблагоприятных сердечно-сосудистых событий. По данным мультивариантной логистической регрессии, риск развития нестабильной бляшки был связан со степенью кальцификации. Полученные результаты согласуются с исследованиями Hoffmann U. et al. – коронарный кальций имел наиболее сильные корреляционные связи с ИБС, сердечно-сосудистыми заболеваниями и общей смертностью независимо от факторов риска Фрамингемской шкалы [74].

Наши данные предполагают, что повышенные в крови уровни ОН могут выступать в качестве маркеров наличия нестабильных бляшек в коронарных сосудах.

ОН наряду с ОПН относится к матрично-клеточным гликопротеидам, влияющим на активность металлопротеиназ. В некальцинированных артериях взрослых ОН экспрессируется конститутивно, а концентрации ОН повышаются в кальцифицированных атеросклеротических бляшках. Ciceri P. et al. предположили, что ОН может играть регулируемую роль в процессе кальцификации и возможно принимать участие в регуляции митоза и дифференцировке клеток [156].

Повышенные уровни ОК в крови могут выступать в качестве маркера наличия кальцинированных бляшек.

Данные о влиянии ОК на сосудистую кальцификацию и стабильность атеросклеротических бляшек противоречивы. ОК – это синтезируемый остеобластами неколлагенный белок, существующий в двух формах: карбоксилированной, что обеспечивает сродство к костному матриксу и декарбоксилированной форме – гормонально активной. ОК широко используемый клинический маркер костного ремоделирования при остеопорозе [132]. Декарбоксилированный ОК влияет на обмен глюкозы и энергетический обмен в  $\beta$ -клетках поджелудочной железы – стимулирует секрецию инсулина и повышает чувствительность периферических тканей к последнему [131]. Имеются данные, что в сосудистой стенке ОК подавляет кальцификацию [164]. По данным Millar S. A. et al., ОК не является медиатором кальцификации сосудов [45]. Rashdan N. A. et al. выявили колокализацию ОК с кальцификацией ГМК в кальцифицированных бляшках и указали на решающую роль ОК в кальцификации артерий [155]. В своём обзоре Tasey A. et al. предполагают, что общий ОК оказывает защитное действие на эндотелий, предотвращая развитие атеросклероза, но влияет ли ОК на кальцификацию сосудов остаётся неясным [171]. По нашим данным, не было значимой разницы в уровнях ОК между стабильными и нестабильными атеросклеротическими бляшками, однако при увеличении степени кальцификации бляшки – содержание ОК возрастало, что говорит о связи ОК с сосудистой кальцификацией. Такие же результаты были получены при изучении ОК в сыворотке крови. Это говорит о возможности использования ОК в качестве маркера кальцификации сосудов.

По нашим данным, выявлена тенденция к снижению уровней ОПГ и ОПН в нестабильных бляшках, что говорит о роли этих маркеров в стабилизации атеросклеротического очага.

ОПГ и ОПН являются важными факторами как прогрессирования атеросклероза, так и ремоделирования сосудов. Было выявлено, что уровни ОПГ и ОПН повышены у пациентов с ИБС [161]. По данным Lin J. F. et al., высокие

уровни ОПГ и ОПН, были значимыми предикторами смерти у пациентов с ИБС [160]. В исследовании Tousoulis D. et al. было показано, что уровни ОПГ и ОПН в сыворотке положительно связаны с ригидностью артерий и тяжестью ИБС [187].

ОПГ – это гликопротеин, относящийся к семейству рецепторов ФНО, который способен подавлять остеокластогенез, являясь рецептором-ловушкой для RANKL. Между уровнем ОПГ и тяжестью ИБС выявлена сильная корреляционная связь [93]. Взаимосвязь между уровнем ОПГ в крови и коронарным кальцием была выявлена у пациентов с СД 2 типа [164]. По данным Callegari A. et al., ОПГ подавляет кальцификацию сосудов [127]. В нашем исследовании уровень ОПГ был выше в очагах без кальцификации и в очагах с мелкими кальцификатами, что подтверждает выводы Callegari A. et al., хотя эта разница была статистически незначимой, поэтому необходимы дальнейшие исследования.

ОПН – это белок, выполняющий множество функций, координируя внутриклеточные сигналы, он участвует в регулировании клеточной миграции, дифференцировке и адгезии различных клеток, а также в продукции цитокинов [107]. У пациентов с ИБС уровень ОПН коррелирует со степенью ремоделирования левого желудочка и выраженностью коронарной кальцификации [25]. По мнению Hirota S. et al., ОПН оказывает влияние на прогрессирование атеросклероза и кальцификацию атеросклеротических бляшек, поскольку уровень экспрессии мРНК ОПН повышается по мере прогрессирования атеросклероза, а макрофаги, экспрессирующие мРНК ОПН, локализуются вблизи фиброатеромы [109].

При исследовании маркеров эндотелиальной дисфункции более низкие уровни sVCAM-1 и E-селектина были в нестабильных бляшках и в образцах с крупными кальцификатами. Наши данные согласуются с работой Oishi Y. et al., где отмечено, что в группе пациентов со стабильной ИБС и умеренным атеросклерозом уровень E-селектина был самым высоким, в отличие от группы пациентов с выраженным атеросклерозом [79]. Согласно исследованию Jang Y. et al., E-селектин имеет большое значение на ранних стадиях развития

атеросклероза [76]. По данным Kunutsor S. K. et al., плазменный уровень sVCAM-1 был обратно и независимо связан с сердечно-сосудистыми заболеваниями [136]. Ряд исследователей отмечают, что повышенный уровень sVCAM-1 является индикатором наличия коронарного атеросклероза, но не его прогрессирования [196]. По нашим данным, невзирая на то, что значения sVCAM-1 был ниже в нестабильных бляшках и в очагах с крупными кальцификатами, таких различий для sVCAM-1 в плазме крови не было выявлено, хотя в целом этот показатель у пациентов с верифицированным атеросклерозом был выше, чем у условно здоровых пациентов.

Проведённый нами корреляционный анализ показал связь факторов эндотелиальной дисфункции с маркерами кальцификации. Наибольшее влияние на кальцификацию оказывал sVCAM-1, прежде всего, через остонектин, который регулирует образование кристаллов гидроксиапатита, отражает степень дифференцировки ГМК и способствует кальцификации.

В диссертационной работе было выявлено, что до операции КШ показатель ОК в крови у мужчин с неблагоприятным пятилетним прогнозом был в 1,2 раза больше, чем у мужчин с благоприятным после КШ пятилетним прогнозом. Также после КШ риск пятилетнего неблагоприятного прогноза ассоциирован с показателем в крови ОК, оценённым до операции КШ ( $B = 0,018$ ;  $R^2 = 0,285$ ;  $p = 0,008$ ). Имеются данные о том, что кальцификация атеросклеротических бляшек в коронарных артериях независимо связана со значениями ОК в крови [93].

В диссертационном исследовании у 20 из 28 мужчин с коронарным атеросклерозом и неблагоприятным прогнозом в ходе операции КШ была выполнена эндартерэктомия. В полученных образцах интима-медиа у 14 пациентов (70 %) была выявлена хотя бы одна нестабильная атеросклеротическая бляшка в коронарных артериях. В итоге, факт наличия нестабильной/-ых бляшек в коронарных артериях чаще приводил к неблагоприятным сердечно-сосудистым событиям. В исследовании PROSPECT для выявления нестабильных атеросклеротических бляшек использовали внутрисосудистую визуализацию.



Среди 595 фиброатером с тонкой покрышкой, выявленных в ходе виртуальной гистологии, только 26 из них стали причиной коронарного события за среднее время наблюдения 3,4 года. Хотя при учёте ещё двух показателей помимо виртуальной гистологии: сужение просвета сосуда (plaque burden) на 70 % и более и снижение минимальной площади сосуда (minimal lumen area) менее 4,0 мм<sup>2</sup> – коронарные события возникали в 18,2 % в течение периода 3,4 года. Большинство новых коронарных событий возникало при необструктивных атеросклеротических поражениях, которые при этом были ассоциированы с наличием у этих же пациентов фиброатером/-ы с тонкой покрышкой, для которых при внутрисосудистом исследовании были характерны сужением просвета сосуда на 70 % и более и снижение минимальной площади сосуда менее 4,0 мм<sup>2</sup> [37]. Таким образом, исследование Stone G. W. et al. не дискредитирует концепцию нестабильных бляшек, а ещё раз подчёркивает, что пациенты, имеющие нестабильные бляшки в коронарных артериях, подвержены более высоким рискам коронарных событий.

По данным диссертационного исследования, у мужчин с коронарным атеросклерозом после операции КШ отдалённый неблагоприятный пятилетний прогноз был напрямую ассоциирован с возрастом и окружностью талии.

Известно, что с возрастом риск коронарной кальцификации увеличивается. Прогрессирование степени коронарной кальцификации, продемонстрированное в течение 10 лет наблюдения в исследовании Gasset A. J. et al. с применением КТ, ассоциировано с факторами сердечно-сосудистого риска [178]. К факторам риска прогрессирования кальцификации коронарных артерий и неблагоприятного прогноза относят сахарный диабет [50], курение [177], семейную гиперхолестеринемию [85]. Нами были зафиксированы тенденции (статистически не значимые) к прямому влиянию факта курения на неблагоприятный отдалённый прогноз после операции КШ у мужчин с коронарным атеросклерозом. Связь между отдалённым прогнозом и прогрессированием кальцификации коронарных артерий остаётся ещё плохо изученной.

Одним из ограничивающих факторов в нашем исследовании являлся малый размер выборки, особенно для сравнения биомаркеров в крови у участников, имевших нестабильные атеросклеротические бляшки и участников, имевших только стабильные бляшки в образцах эндартерэктомии, а также у пациентов с наличием кальцифицированных атеросклеротических бляшек и пациентов, не имеющих кальцификатов в полученных образцах интима-медиа. Отсутствие данных КТ коронарного кальция, имеющего высокую специфичность и чувствительность в количественной оценке и диагностике коронарной кальцификации, является другим ограничением. Преимуществом работы могло быть использование методов внутрисосудистого исследования коронарных артерий, которое помогло бы дать представление о наличии нестабильных и кальцифицированных атеросклеротических бляшек в коронарном русле.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведённого исследования в группе из 130 мужчин в возрасте 50–75 лет с коронарографически верифицированным коронарным атеросклерозом мы изучили клинические характеристики участников исследования, биохимические факторы кальцификации (ОПГ, ОПН, ОН, ОК) и эндотелиальной дисфункции (Е-селектин, MCP-1, sVCAM-1) в крови, а также изучили эти показатели в стабильных и нестабильных атеросклеротических бляшках в исследуемой группе. Также был выполнен поиск ассоциаций факторов кальцификации бляшек с наступлением комбинированной конечной точки (смерть от сердечно-сосудистого заболевания, инфаркт миокарда, инсульт, проведение дополнительной операции) в отдалённый пятилетний период после операции КШ.

В ходе исследования было выявлено, что в нестабильных атеросклеротических бляшках коронарных артерий уровень остеоонектина в 1,5 раза ниже, чем в стабильных бляшках. В атеросклеротических бляшках с крупными кальцификатами снижено содержание остеоопонтина (в 4,2 раза) и остеоонектина (в 2,3 раза), чем в бляшках без кальцификации. Уровень остеокальцина повышался при кальцификации бляшки и наиболее высоким был в бляшках с крупными кальцификатами – выше в 10,7 раз, чем в бляшках без кальцификатов и в 1,7 раз выше, чем в бляшках с мелкими кальцификатами. Было выявлено, что шанс формирования нестабильной атеросклеротической бляшки связан со степенью кальцификации очага – вероятность наличия нестабильной бляшки выше в 4,4 раза при наличии в ней мелких кальцификатов (ОШ = 4,413; 95 % ДИ 1,545–12,602) и выше почти в 40 раз – при наличии в ней крупных кальцификатов (ОШ = 39,443; 95 % ДИ 3,564–436,53) по отношению к бляшкам без кальцификации. С остеокальцином связан относительный риск формирования кальцификатов в атеросклеротических бляшках коронарных артерий (ОШ = 1,011; 95 % ДИ 1,004–1,018).

Выявлены статистически значимые корреляционные связи между показателями в атеросклеротических бляшках и в крови уровней биомолекул sVCAM-1 ( $r = 0,180$ ;  $p = 0,038$ ), MCP-1 ( $r = 0,263$ ;  $p = 0,003$ ), остеопонтинина ( $r = -0,192$ ;  $p = 0,031$ ) и остеокальцина ( $r = 0,353$ ;  $p = 0,0001$ ). Значения остеоонектина в крови у мужчин, имевших в коронарных артериях нестабильные атеросклеротические бляшки выше ( $p = 0,024$ ), чем у мужчин, не имевших в коронарных артериях нестабильных бляшек. Значения остеокальцина в крови у мужчин, имевших кальцифицированные атеросклеротические бляшки в коронарных артериях, в 1,2 раза выше ( $p = 0,033$ ), чем у мужчин, не имевших в коронарных артериях кальцифицированных атеросклеротических бляшек.

Установлено, что у мужчин с коронарным атеросклерозом с неблагоприятным после операции КШ пятилетним прогнозом показатели остеокальцина в крови до операции были выше в 1,2 раза ( $p = 0,035$ ), чем у мужчин с благоприятным отдалённым пятилетним прогнозом. У мужчин с коронарным атеросклерозом после операции КШ отдаленный неблагоприятный пятилетний прогноз прямо ассоциирован с возрастом (ОШ 1,139; 95 % ДИ 1,006–1,289); ( $p = 0,039$ ), показателями окружности талии (ОШ 1,097; 95 % ДИ 1,004–1,199); ( $p = 0,040$ ) и уровнем остеокальцина в крови (ОШ 1,095; 95 % ДИ 1,002–1,171); ( $p = 0,015$ ).

Ввиду того, что исследование было проведено на небольшой выборке пациентов, в особенности для сравнения биомаркеров в крови, то полученные результаты в дальнейшем могут быть использованы в более крупных исследованиях.

## ВЫВОДЫ

1. Мужчины с коронарным атеросклерозом и с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях не отличались от пациентов без нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях по характеристикам факторов риска ССЗ, клинического течения заболевания (ФК стенокардии напряжения, наличие ИМ в анамнезе), а также распространённости атеросклеротического поражения коронарных артерий (поражение двух и более коронарных артерий).

2. У мужчин с коронарным атеросклерозом в нестабильных атеросклеротических бляшках коронарных артерий содержание остеоонектина было в 1,5 раза ниже ( $p = 0,024$ ), чем в стабильных бляшках. В атеросклеротических бляшках с крупными кальцификатами было снижено содержание sVCAM-1 и E-селектина, а также остеоопонтина – в 4,2 раза ( $p = 0,012$ ) и остеоонектина – в 2,3 раза ( $p = 0,016$ ), чем в бляшках без кальцификации. Уровень остеокальцина повышался при кальцификации бляшки и наиболее высоким был в бляшках с крупными кальцификатами – выше в 10,7 раз, чем в бляшках без кальцификатов и в 1,7 раз выше ( $p = 0,025$ ), чем в бляшках с мелкими кальцификатами.

3. Шанс формирования нестабильной бляшки связан со снижением в ней уровня E-селектина (ОШ = 0,924; 95 % ДИ 0,854–0,999); ( $p = 0,047$ ) и со степенью кальцификации очага: вероятность наличия нестабильной бляшки выше в 4,4 раза при наличии в ней мелких кальцификатов (ОШ = 4,413; 95 % ДИ 1,545–12,602); ( $p = 0,006$ ). В атеросклеротических бляшках коронарных артерий относительный риск формирования кальцификатов связан с остеокальцином (ОШ = 1,011; 95 % ДИ 1,004–1,018); ( $p = 0,001$ ).

4. У мужчин с коронарным атеросклерозом выявлены статистически значимые корреляционные связи между показателями в атеросклеротических бляшках и в крови уровней биомолекул sVCAM-1 ( $r = 0,180$ ;  $p = 0,038$ ), MCP-1 ( $r = 0,263$ ;  $p = 0,003$ ), остеоопонтина ( $r = -0,192$ ;  $p = 0,031$ ) и остеокальцина

( $r = 0,353$ ;  $p = 0,0001$ ). Значения остеоонектина в крови у мужчин, имевших в коронарных артериях нестабильные атеросклеротические бляшки выше ( $p = 0,024$ ), чем у мужчин, не имевших в коронарных артериях нестабильных бляшек. Значения остеокальцина в крови у мужчин, имевших кальцифицированные атеросклеротические бляшки в коронарных артериях, в 1,2 раза выше ( $p = 0,033$ ), чем у мужчин, не имевших в коронарных артериях кальцифицированных атеросклеротических бляшек.

5. У мужчин с коронарным атеросклерозом и с неблагоприятным после операции КШ отдалённым пятилетним прогнозом до операции уровень остеокальцина в крови был выше в 1,2 раза ( $p = 0,035$ ), чем у мужчин, у которых был благоприятный пятилетний прогноз. У мужчин с коронарным атеросклерозом после операции КШ отдаленный неблагоприятный пятилетний прогноз прямо ассоциирован с возрастом (ОШ 1,139; 95 % ДИ 1,006–1,289); ( $p = 0,039$ ), окружностью талии (ОШ 1,097; 95 % ДИ 1,004–1,199); ( $p = 0,040$ ) и уровнем в крови остеокальцина (ОШ 1,095; 95 % ДИ 1,002–1,171); ( $p = 0,015$ ).

6. У 70 % (14 из 20) мужчин с коронарным атеросклерозом, имевших неблагоприятный отдалённый пятилетний прогноз после операции КШ, в образцах интимы-медии эндартерэктомии была выявлена по крайней мере одна нестабильная атеросклеротическая бляшка.

## **ПРАКТИЧЕСКАЯ РЕКОМЕНДАЦИЯ**

Мужчинам с атеросклерозом коронарных артерий после операции КШ для предупреждения развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в пятилетний период рекомендуется контролировать окружность талии и содержание в крови остеокальцина.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

АД	артериальное давление
АДМА	асимметричный диметиларгинаина
АУИ	адаптивное утолщение интимы
ВСУЗИ	внутрисосудистое ультразвуковое исследование
ГБ	гипертоническая болезнь
ГМК	гладкомышечные клетки
ДИ	доверительный 95 % интервал
ИБС	ишемическая болезнь сердца
ИЛ	интерлейкин
ИМ	инфаркт миокарда
ИМТ	индекс массы тела
ИФА	иммуноферментный анализ
КА	коронарный атеросклероз
КТ	компьютерная томография
КШ	коронарное шунтирование
ЛПВП	липопротеины высокой плотности
МГП	матриксный Gla протеин
ММП	матриксная металлопротеиназа
МСКТ	мультиспиральная компьютерная томография
ОКС	острый коронарный синдром
ПУИ	патологическое утолщение интимы
ХС	общий холестерин
ОК	остеокальцин
ОКТ	оптическая когерентная томография
ОН	остеонектин
ОПГ	остеопротегерин
ОПН	остеопонтин
ОТ	окружность талии



ОШ	отношение шансов
ПТГ	паратгормон
ПЭТ	позитронно-эмиссионная томография
РА	ревматоидный артрит
СКФ	скорость клубочковой фильтрации
СД	сахарный диабет
СПВ	скорость пульсовой волны
ССЗ	сердечно-сосудистые заболевания
ССС	сердечно-сосудистые события
ТИМП	тканевой ингибитор металлопротеиназ
ТГ	триглицериды
ТНЩФ	ткань-неспецифическая щелочная фосфатаза
ФАТП	фиброатерома с тонкой покрышкой
ФК	функциональный класс
ФНО	фактор некроза опухоли
ХБП	хроническая болезнь почек
ХС	холестерин
ХСН	хроническая сердечная недостаточность
ЧКВ	чрескожное коронарное вмешательство
ЭЖТ	эпикардальная жировая ткань
ANKH	гомолога белка анкилоза
ВМР	костный морфогенетический белок
СРБ	С-реактивный белок
ENPP-1	нуклеотидпирофосфатазой/фосфотрансферазой-1
eNOS	эндотелиальная синтаза оксида азота
Fc	кристаллизующийся фрагмент (иммуноглобулина)
ICAM	молекула межклеточной адгезии
Ig	иммуноглобулин
Lrp	рецептор липопротеинов низкой плотности
MCP	моноцитарно-хемоаттрактантный протеин

NF- $\kappa$ B	нуклеарный фактор- $\kappa$ B
Pit-1	натрий-фосфатного котранспортёр-1
PP	неорганический пирофосфат
PTX	пентраксин
RANK	активатор рецептора нуклеарного фактора $\kappa$ B
RANKL	лиганд активатора рецептора нуклеарного фактора $\kappa$ B
Runx2	Runt-связанный транскрипционный фактор 2
TGF	трансформирующий фактор роста
TNAP	ткань-неспецифическая щелочная фосфатаза
TRAF	фактор ассоциированный с рецептором фактора некроза опухоли
TTP	тристетрапролина
TWEAK	связанный с фактором некроза опухоли слабый индуктор апоптоза
VCAM	сосудистые молекулы клеточной адгезии

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Белок клото и сердечно-сосудистая система / И. Н. Тюренков, В. Н. Перфилова, А. А. Нестерова, Е. Ю. Глинка // Биохимия. – 2021. – Т. 86, № 2. – С. 158–174.
2. Вербовой, А. Ф. Взаимосвязь патогенеза атеросклероза и остеопороза / А. Ф. Вербовой, Е. В. Митрошина, А. В. Пашенцева // Ожирение и метаболизм. – 2016. – Т. 13, № 4. – С. 8–14.
3. Взаимосвязь экспрессии генов адипоцитокинов и кальцификации коронарных артерий у пациентов с ишемической болезнью сердца / О. В. Груздева, Е. В. Белик, Ю. А. Дылева [и др.] // Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины. – 2021. – Т. 36. – № 3. – С. 68–77.
4. Взаимосвязь эндогенного ингибитора внескостной кальцификации фетуина-а с кардиальной патологией и маркерами минерального и костного обмена у пациентов с СД1 / М. С. Арутюнова, А. М. Глазунова, И. И. Клефтортова [и др.] // Достижения персонализированной медицины сегодня – результат практического здравоохранения завтра : материалы науч.-практ. (Москва, 23 мая 2019 г.). – 2016. – С. 96–97.
5. Долженко, А. Кальцификация сосудов, атеросклероз и потеря костной массы (остеопороз): новые патофизиологические механизмы и перспективы развития медикаментозной терапии / А. Долженко, Т. Рихтер, С. Сагаловски // Альманах клинической медицины. – 2016. – Т. 44, № 4. – С. 513–534.
6. Драпкина, О. М. Матриксные металлопротеиназы в кардиологической практике / О. М. Драпкина, Б. Б. Гегенава // Журнал сердечная недостаточность. – 2014. – Т. 15, № 6. – С. 397–404.
7. Дрыгина, Л. Б. Клинико-лабораторные маркеры кальцифицирующего атеросклероза / Л. Б. Дрыгина, В. Н. Хирманов // Медицинский алфавит. – 2021. – Т. 1, № 30. – С. 43–47.

8. Дрыгина, Л. Б. Роль белков костного матрикса в регуляции сосудистой кальцификации / Л. Б. Дрыгина, Н. Е. Корсакова // Клинико-лабораторный консилиум. – 2009. – № 5. – С. 14–20.

9. Исследование биохимических факторов кальцификации стабильных и нестабильных бляшек в коронарных артериях человека / Ю. И. Рагино, Е. В. Каштанова, И. С. Мурашов [и др.]. – DOI: 10.18087/cardio.2020.2.n775. – Текст : электронный // Кардиология. – 2020. – Т. 60, № 2. – С. 83–88. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=42748805> (дата обращения: 12.08.2023).

10. Кашталап, В. В. Клиническая значимость коронарной кальцификации для оценки сердечно-сосудистого риска / В. В. Кашталап, О. Н. Хрячкова, О. Л. Барбараш // Атеросклероз и дислипидемии. – 2016. – № 1. – С. 5–14.

11. Каштанова, Е. В. Кальцификация и атеросклероз коронарных артерий / Е. В. Каштанова, Я. В. Полонская, Ю. И. Рагино // Терапевтический архив. – 2021. – Т. 93, № 1. – С. 84–86.

12. Клинико-биохимические маркеры прогрессирования коронарной кальцификации после планового коронарного шунтирования / О. Л. Барбараш, Д. Ю. Седых, В. В. Кашталап [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2021. – № 12. – С. 11–18.

13. Луста, К. А. Роль гладкомышечных клеток сосудистой стенки в атерогенезе / К. А. Луста, А. Н. Орехов // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2015. – № 2. – С. 50–61.

14. Маркеры кальцификации и отдаленные результаты развития коронарного атеросклероза после коронарного шунтирования / Е. М. Стахнёва, Е. В. Каштанова, А. В. Кургузов [и др.]. – DOI: 10.15829/1560-4071-2021-4450. – Текст : электронный // Российский кардиологический журнал. – 2021. – Т. 26, № 8. – С. 9–13. – URL: [https://www.elibrary.ru/download/elibrary\\_46493691\\_79882333.pdf](https://www.elibrary.ru/download/elibrary_46493691_79882333.pdf) (дата обращения: 12.08.2023).

15. Маслацов, Н. А. Биомаркеры кальцификации, их связь с заболеваниями сердечно-сосудистой системы и значение в клинической практике /

Н. А. Маслацов, Ю. И. Рагино. – DOI: 10.52727/2078–256X–2021–17–2–72–82. – Текст : электронный // Атеросклероз. – 2021. – Т. 17, № 2. – С. 12–21. – URL: [https://www.elibrary.ru/download/elibrary\\_46434454\\_23913857.pdf](https://www.elibrary.ru/download/elibrary_46434454_23913857.pdf) (дата обращения: 12.08.2023).

16. Маслацов, Н. А. Биохимические маркеры кальцификации атеросклеротических бляшек / Н. А. Маслацов, Ю. И. Рагино. – DOI: 10.15372/ATER20190408. – Текст : электронный // Атеросклероз. – 2019. – Т. 15, № 4. – С. 78–84. – URL: [https://www.elibrary.ru/download/elibrary\\_41831340\\_87131936.pdf](https://www.elibrary.ru/download/elibrary_41831340_87131936.pdf) (дата обращения: 12.08.2023).

17. Молекулярные механизмы сосудистой кальцификации / Д. А. Костина В. Е. Успенский, Д. С. Семенова [и др.] // Трансляционная медицина. – 2020. – Т. 7, № 1. – С. 6–21.

18. Особенности кальциноза коронарного и некоронарного сосудистого русла у больных мультифокальным атеросклерозом / А. Н. Коков, В. Л. Масенко, Е. Б. Малюта [и др.] // Радиология-практика. – 2013. – № 1. – С. 29–36.

19. Остеопротегерин – новый маркер сердечно–сосудистых заболеваний / А. Ф. Вербовой, И. А. Цанова, Е. В. Митрошина, Л. А. Шаронова // Терапевтический архив. – 2017. – Т. 89, № 4. – С. 91–94.

20. Потенциальная роль микроРНК при кальцинозе сосудов / А. Г. Ибрагимова, К. Р. Шахмаева, И. Е. Станишевская, А. В. Шиндяпина // Российский кардиологический журнал. – 2019. – № 10. – С. 118–125.

21. Роль металлопротеиназ и тканевых ингибиторов металлопротеиназ в развитии коронарного атеросклероза / Я. В. Полонская, Е. В. Каштанова, Е. М. Стахнева [и др.] // Атеросклероз. – 2021. – Т. 17, № 3. – С. 76–78.

22. Роль остеопротегерина как предиктора развития кардиоваскулярных событий у пациентов с метаболическим синдромом и сахарным диабетом (обзор литературы) / Т. П. Голивец, Д. О. Гагарина, Д. Г. Дубоносова, С. В. Ликризон // Актуальные проблемы медицины. – 2021. – Т. 44, № 1. – С. 57–67.

23. Связь биохимических маркеров метаболизма костной ткани, остеопенического синдрома и коронарного атеросклероза у мужчин со стабильной ишемической болезнью сердца / О. Л. Барбараш, Н. Б. Лебедева, А. Н. Коков [и др.] // Атеросклероз. – 2022. – Т. 11, № 2. – С. 5–13.

24. Связь концентрации остеопонтинина с тяжестью коронарного атеросклероза и остеопенического синдрома у мужчин со стабильной ишемической болезнью сердца / О. А. Барбараш, В. В. Кашталап, М. В. Зыков [и др.] // Атеросклероз и дислипидемии. – 2016. – № 4. – С. 40–48.

25. Связь нарушений липидного, фосфорно-кальциевого обмена, степени поражения коронарных артерий и остеопении у пациентов пожилого возраста с ишемической болезнью сердца / О. Л. Барбараш, В. В. Кашталап, М. В. Зыков [и др.] // Креативная кардиология. – 2016. – Т. 10, № 2. – С. 117–127.

26. Связь остеоонектина с воспалительными, окислительными и липидными биомаркерами при коронарном атеросклерозе и его осложнениях / Ю. И. Рагино, Е. В. Каштанова, А. М. Чернявский [и др.] // Атеросклероз и дислипидемии. – 2014. – № 4. – С. 20–24.

27. Связь остеоонектина с некоторыми биомаркерами при стенозирующем атеросклерозе и кальцинозе коронарных артерий / Ю. И. Рагино, Е. В. Каштанова, А. М. Чернявский [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2010. – № 4. – С. 20–23.

28. Сушков, С. А. Перициты как потенциальный источник неоангиогенеза / С. А. Сушков, Е. И. Лебедева, О. Д. Мяделец // Новости хирургии. – 2019. – Т. 27, № 2. – С. 212–221.

29. Сытая, Ю. С. Ключевые механизмы взаимосвязи витамина D и сердечно-сосудистой патологии / Ю. Сытая // Российский кардиологический журнал. – 2022. – Т. 27, № 1. – С. 95–103.

30. Талаева, Т. В. Сосудистая кальцификация: значимость в патогенезе, диагностике, клиническом течении и прогнозе исходов атеросклероза и ишемической болезни сердца / Т. В. Талаева, В. А. Шумаков, В. В. Братусь // Украинский кардиологический журнал. – 2017. – № 2. – С. 85–98.

31. Уровни маркеров кальцификации в атеросклеротических очагах и крови пациентов с верифицированным атеросклерозом / Я. В. Полонская, Е. В. Каштанова, Е. М. Стахнева [и др.] // Евразийский кардиологический журнал. – 2019. – № S1. – С. 175.

32. Фундаментальные и прикладные аспекты кальцификации коронарных артерий / О. Л. Барбараш, В. В. Кашталап, И. А. Шибанова, А. Н. Коков // Российский кардиологический журнал. – 2020. – № S3. – С. 40–49.

33. Шибанова, И. А. Использование биомаркеров фосфорно-кальциевого обмена для диагностики и риск-стратификации больных ишемической болезнью сердца / И. А. Шибанова, О. Н. Хрячкова // РМЖ. – 2017. – Т. 25, № 20. – С. 1409–1414.

34. Эпикардальная жировая ткань: патофизиология и роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний / Е. Г. Учасова, О. В. Груздева, Ю. А. Дылева, О. Е. Акбашева // Бюллетень сибирской медицины. – 2018. – Т. 17. – № 4. – С. 254–263.

35. A hypothesis for vulnerable plaque rupture due to stress-induced debonding around cellular microcalcifications in thin fibrous caps / Y. Vengrenyuk, S. Carlier, S. Xanthos // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. – 2006. – Vol. 103, N 40. – P. 14678–14683.

36. A novel biomarker of coronary atherosclerosis: serum DKK1 concentration correlates with coronary artery calcification and atherosclerotic plaques / K. I. Kim, K. U. Park, E. J. Chun [et al.] // J. Korean Med. Sci. – 2011. – Vol. 26, N 9. – P. 1178–1184.

37. A prospective natural-history study of coronary atherosclerosis / G. W. Stone, A. Maehara, A. J. Lansky [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2011. – Vol. 364, N 3. – P. 226–235.

38. Accelerated in vivo thrombin formation independently predicts the presence and severity of CT angiographic coronary atherosclerosis / J. I. Borissoff, I. A. Joosen, M. O. Versteulen [et al.] // JACC: Cardiovasc. Imaging. – 2012. – Vol. 5, N 12. – P. 1201–1210.

39. Activation of nuclear factor-kappa B accelerates vascular calcification by inhibiting ankylosis protein homolog expression / G. Zhao, J. Xu M., M. M. Zhao [et al.] // *Kidney Int.* – 2012. – Vol. 82, N 1. – P. 34–44.

40. Activation of vascular smooth muscle parathyroid hormone receptor inhibits Wnt/ $\beta$ -catenin signaling and aortic fibrosis in diabetic arteriosclerosis / S. L. Cheng, J. S. Shao, L. R. Halstead // *Circ. Res.* – 2010. – Vol. 107, N 2. – P. 271–282.

41. Admission Levels of DKK1 (Dickkopf-1) Are Associated With Future Cardiovascular Death in Patients With Acute Coronary Syndromes: Insights From the PLATO Trial / T. Ueland, A. Ekerblom, T. Ghukasyan [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2019. – Vol. 39, N 2. – P. 294–302.

42. Ahmed, S. Predictive value of osteoprotegerin for early detection coronary artery calcification in type 2 Diabetes Mellitus patients in correlation with extent of calcification detected by multidetector computed tomography / S. Ahmed, R. Sobh. – DOI: 10.2174/1871530319666190211122858. – Text : electronic // *Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets.* – 2019. – Vol. 19, N 6. – P. 845–851. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30747085/> (date of access: 25.08.2023).

43. Aldosterone induces C-reactive protein expression via MR–ROS–MAPK–NF- $\kappa$ B signal pathway in rat vascular smooth muscle cells / X. Zhang, J. Liu, X. Pang [et al.] // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2014. – Vol. 395, N 1–2. – P. 61–68.

44. An increased osteoprotegerin serum release characterizes the early onset of diabetes mellitus and may contribute to endothelial cell dysfunction / P. Secchiero, F. Corallini, A. Pandolfi [et al.]. – DOI: 10.2353/ajpath.2006.060398. – Text : electronic // *Am. J. Pathol.* – 2006. – Vol. 169, N 6. – P. 2236–2244. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17148684/> (date of access: 21.08.2023).

45. An investigation into the role of osteocalcin in human arterial smooth muscle cell calcification / S. A. Millar, S. G. John, C. W. McIntyre [et al.] // *Front. Endocr.* – 2020. – Vol. 11. – P 369.

46. Aortic calcification is associated with aortic stiffness and isolated systolic hypertension in healthy individuals / C. M. McEniery, B. J. McDonnell, A. So [et al.] // *Hypertension.* – 2009. – Vol. 53, N 3. – P. 524–531.



47. Association between homocysteine and vascular calcification incidence, prevalence, and progression in the MESA cohort / A. B. Karger, B. T. Steffen, S. O. Nomura [et al.] // *J. Am. Heart Assoc.* – 2020. – Vol. 9, N 3. – P. e013934.

48. Association of osteoprotegerin and lipid risk factors with severity of stenosis in coronary artery disease patients with diabetes mellitus / M. S. Firdouse, N. Nanda, S. Satheesh, M. R. Jasmine. – DOI: 10.51248/v40i1.96. – Text : electronic // *Biomedicine.* – 2020. – Vol. 40, N 1. – P. 32–35. – URL: <https://biomedicineonline.org/index.php/home/article/view/96> (date of access: 21.08.2023).

49. Association of plaque calcification pattern and attenuation with instability features and coronary stenosis and calcification grade / L. Pugliese, L. Spiritiglozzi, F. Di Tosto [et al.]. – DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2020.06.021. – Text : electronic // *Atherosclerosis.* – 2020. – Vol. 311. – P. 150–157. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32771265/> (date of access: 14.08.2023)

50. Association of progression or regression of coronary artery atherosclerosis with long-term prognosis / G. Ndrepepa, R. Iijima, S. Kufner [et al.]. – DOI: 10.1016/j.ahj.2016.03.016. – Text : electronic // *Am. Heart J.* – 2016. – Vol. 177. – P. 9–16. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27297844/> (date of access: 21.08.2023).

51. Association of the Serum Osteoprotegerin Level With Target Organ Damage in Patients at High Risk of Coronary Artery Disease / J. Chung, H. L. Kim, J. Pyo Lee [et al.]. – DOI: 10.1253/circj.CJ-20-0675. – Text : electronic // *Circ. J.* – 2020. – Vol. 85, N 1. – P. 69–76. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33250498/> (date of access: 25.08.2023).

52. Associations of pentraxin 3 with cardiovascular disease: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis / N. S. Jenny, R. S. Blumenthal, R. A. Kronmal [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2014. – Vol. 12, N 6. – P. 999–1005.

53. Atherosclerotic calcification: Wnt is the hint / I. Albanese, K. Khan, B. Barratt [et al.] // *J. Am. Heart Assoc.* – 2018. – Vol. 7, N 4. – P. e007356.

54. Atherosclerotic plaque metabolism in high cardiovascular risk subjects—A subclinical atherosclerosis imaging study with  $^{18}\text{F}$ -NaF PET-CT / M. de Oliveira-Santos, M. Castelo-Branco, R. Silva [et al.] // *Atherosclerosis*. – 2017. – Vol. 260. – P. 41–46.
55. Autophagy as a novel therapeutic target in vascular calcification / K. Phadwal, D. Feng, D. Zhu, V. E. MacRae. – DOI: 10.1016/j.pharmthera.2019.107430 – Text : electronic // *Pharmacol. Ther.* – 2020. – Vol. 206. – P. 107430. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31647975/> (date of access: 14.08.2023).
56. Azpiazu, D. Tissue non-specific alkaline phosphatase and vascular calcification: a potential therapeutic target / D. Azpiazu, S. Gonzalo, R. Villa-Bellosta // *Curr. Cardiol. Rev.* – 2019. – Vol. 15, N 2. – P. 91–95.
57. Baetta, R. Dkk (Dickkopf) Proteins: emerging new players in atherosclerosis / R. Baetta, C. Banfi // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2019. – Vol. 39, N 7. – P. 1330–1342.
58. Basic Pathology of Arterial and Valvular Calcification in Humans / A. Sakamoto, Y. Sato, A. V. Finn, R. Virmani // *Cardiovascular Calcification and Bone Mineralization*. – Humana : Cham, 2020. – P. 13–45.
59. Berezin, A. E. Circulating osteopontin as a marker of early coronary vascular calcification in type two diabetes mellitus patients with known asymptomatic coronary artery disease / A. E. Berezin, A. A. Kremzer // *Atherosclerosis*. – 2013. – Vol. 229, N 2. – P. 475–481.
60. Bisson, S. K. Role of the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway in renal osteodystrophy / S. K. Bisson, R. V. Ung, F. Mac-Way // *Int. J. Endocrinol.* – 2018. – Vol. 2018, N 5893514.
61. Blankesteyn, W. M. Wnt signaling in atherosclerosis / W. M. Blankesteyn, K. C. M. Hermans // *Eur. J. Pharmacol.* – 2015. – Vol. 763. – P. 122–130.
62. Bone like arterial calcification in femoral atherosclerotic lesions: prevalence and role of osteoprotegerin and pericytes / J. M. Davaine, T. Quillard, M. Chatelais [et al.] // *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* – 2016. – Vol. 51, N 2. – P. 259–267.

63. Bone metabolism regulators and arterial stiffness in postmenopausal women / A. Albu, D. Fodor, C. Bondor, A. M. Crăciun. – DOI: 10.1016/j.maturitas.2013.07.001. – Text : electronic // *Maturitas*. – 2013. – Vol. 76, N 2. – P. 146–10. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23916080/> (date of access: 27.06.2023).
64. Bone Morphogenetic Protein-2 and Osteopontin Gene Expression in Epicardial Adipose Tissue from Patients with Coronary Artery Disease Is Associated with the Presence of Calcified Atherosclerotic Plaques / M. Luna-Luna, S. Criales-Vera, D. Medina-Leyte [et al.]. – DOI: 10.2147/DMSO.S253632. – Text : electronic // *Diabetes Metab. Syndr. Obes.* – 2020. – N 13. – P. 1943–1951. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32606854/> (date of access: 21.08.2023).
65. Bone morphogenetic proteins: Relationship between molecular structure and their osteogenic activity / J. Yang, P. Shi, M. Tu [et al.] // *Food Sci. Human Wellness*. – 2014. – Vol. 3, N 3–4. – P. 127–135.
66. Boström, K. I. The regulation of valvular and vascular sclerosis by osteogenic morphogens / K. I. Boström, N. M. Rajamannan, D. A. Towler // *Circ. Res.* – 2011. – Vol. 109, N 5. – P. 564–577.
67. Bowman, H. M. A. Genetic pathways of vascular calcification / H. M. A. Bowman, E. M. McNally // *Trends Cardiovasc. Med.* – 2012. – Vol. 22. – P. 93–98.
68. Calcification biomarkers and vascular dysfunction in obesity and type 2 diabetes: influence of oral hypoglycemic agents / F. Schinzari, M. Tesauro, A. Bertoli [et al.]. – DOI: 10.1152/ajpendo.00204.2019. – Text : electronic // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2019. – Vol. 317. – P. 658–666. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31408377/> (date of access: 21.08.2023).
69. Calcification in atherosclerotic plaque vulnerability: friend or foe? / X. Shi, J. Gao, Q. Lv [et al.] // *Front. Physiol.* – 2020. – Vol. 11. – P. 56.
70. Calcification of coronary intima and media: immunohistochemistry, backscatter imaging, and X-ray analysis in renal and nonrenal patients / M. L. Gross,

H. P. Meyer, H. Ziebart // Clin. J. Am. Soc. Nephrol. – 2007. – Vol. 2, N 1. – P. 121–134.

71. Calcified atherosclerosis in different vascular beds and the risk of mortality / M. A. Allison, S. Hsi, C. L. Wassel. – DOI: 10.1161/ATVBAHA.111.235234. – Text : electronic // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2012. – Vol. 32, N 1. – P. 140–146. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22034514/> (date of access: 14.08.2023).

72. Calcified plaques in patients with acute coronary syndromes / T. Sugiyama, E. Yamamoto, F. Fracassi [et al.]. – DOI: 10.1016/j.jcin.2018.12.013. – Text : electronic // JACC: Cardiovasc. Interv. – 2019. – Vol. 12, N 6. – P. 531–540. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30898249/> (date of access: 14.08.2023).

73. Calcium deposition within coronary atherosclerotic lesion: Implications for plaque stability / H. Jinnouchi, Y. Sato, A. Sakamoto [et al.]. – DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2020.05.017. – Text : electronic // Atherosclerosis. – 2020. – Vol. 306. – P. 85–95. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32654790/> (date of access: 14.08.2023).

74. Cardiovascular event prediction and risk reclassification by coronary, aortic, and valvular calcification in the Framingham Heart Study / U. Hoffmann, J. M. Massaro, R. B. D'Agostino // J. Am. Heart Assoc. – 2016. – Vol. 5, N 2. – P. e003144.

75. CD137 signaling promotes the formation of plaque calcification via inhibiting the fusion of autophagy and lysosomal in Apo E(–/–) mice / X. Y. Li, R. Chen, W. Zhong [et al.]. – DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253–3758.2017.12.013. – Text : electronic // Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi. – 2017. – Vol. 45, N 12. – P. 1078–1085. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29325369/> (date of access: 25.08.2023).

76. Cell adhesion molecules in coronary artery disease / Y. Jang, A. M. Lincoff, E. F. Plow, E. J. Topol. – DOI: 10.1016/0735–1097(94)90162–7. – Text : electronic // J. Am. Coll. Cardiol. – 1994. – Vol. 24. – P. 1591–1601. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7963103/> (date of access: 21.08.2023).

77. Cell-specific effects of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  on alkaline phosphatase: implication for syndesmophyte formation and vascular calcification / P. Lencel, S. Delplace, P. Pilet [et al.] // *Lab. Invest.* – 2011. – Vol. 91, N 10. – P. 1434–1442.

78. Chronic dysfunction of the endothelium is associated with mortality in acute coronary syndrome patients / A. Hyseni, M. Roest, S. L. Braun [et al.]. – DOI: 10.1016/j.thromres.2012.12.001. – Text : electronic // *Thromb. Res.* – 2013. – Vol. 131, N 3. – P. 198–203. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23273402/> (date of access: 21.08.2023).

79. Circulating adhesion molecules and severity of coronary atherosclerosis / Y. Oishi, T. Wakatsuki, A. Nishikado [et al.] // *Coron. Artery Dis.* – 2000. – Vol. 11, N 1. – P. 77–81.

80. Circulating osteogenic proteins are associated with coronary artery calcification and increase after myocardial infarction / A. E. Pesaro, M. Katz, M. Liberman [et al.] // *Plos One.* – 2018. – Vol. 13, N 8. – P. e0202738.

81. Circulating osteoprotegerin is increased in the metabolic syndrome and associates with subclinical atherosclerosis and coronary arterial calcification / C. P. de Ciriza, M. Moreno, P. Restituto [et al.]. – DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2014.09.004. – Text : electronic // *Clin. Biochem.* – 2014. – Vol. 47, N 18. – P. 272–278. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25218813/> (date of access: 25.08.2023).

82. CKD-induced wingless/Integrin1 inhibitors and phosphorus cause the CKD-mineral and bone disorder / Y. Fang, C. Ginsberg, M. Seifert [et al.] // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2014. – Vol. 25, N 8. – P. 1760–1773.

83. Co-localization of plaque macrophages with calcification is associated with a more vulnerable plaque phenotype and a greater calcification burden in coronary target segments as determined by OCT / M. Burgmaier, A. Milzi, R. Dettori [et al.]. – DOI: 10.1371/journal.pone.0205984. – Text : electronic // *PLoS One.* – 2018. – Vol. 13, N 10. – P. e0205984. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30356326/> (date of access: 27.06.2023).

84. Combination of biomarkers of vascular calcification and sTWEAK to predict cardiovascular events in chronic kidney disease / M. Bozic, N. Mendez-Barbero, C. Gutierrez-Mucoz [et al.]. – DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2018.01.011. – Text : electronic // *Atherosclerosis*. – 2018. – Vol. 270. – P. 13–20. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29407881/> (date of access: 21.08.2023).

85. Comparison of long-term outcomes of young patients after a coronary event associated with familial hypercholesterolemia / X. Wang, G. Cai, Y. Wang [et al.]. – DOI: 10.1186/s12944-019-1074-8. – Text : electronic // *Lipids Health Dis*. – 2019. – Vol. 18, N 1. – P. 131. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31153370/> (date of access: 21.08.2023).

86. Complex regulation and function of the inflammatory smooth muscle cell phenotype in atherosclerosis / A. W. Orr, N. E. Hastings, B. R. Blackman, B. R. Wamhoff // *J. Vasc. Res*. – 2010. – Vol. 47, N 2. – P. 168–180.

87. Computed Histological Quantification of Atherosclerotic Plaque Microcalcifications / J. S. H. Danial, F. Murad, A. J. G. Saez [et al.]. – DOI: 10.1177/0003319720939466. – Text : electronic // *Angiology*. – 2020. – Vol. 71, N 10. – P. 916–919. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32633543/> (date of access: 13.07.2023).

88. Contribution of intimal smooth muscle cells to cholesterol accumulation and macrophage-like cells in human atherosclerosis / S. Allahverdian, A. C. Chehroudi, B. M. McManus [et al.] // *Circulation*. – 2014. – Vol. 129, N 15. – P. 1551–1559.

89. Coronary artery calcification and cardiovascular risk: the role of RANKL/OPG signalling / A. Quercioli, F. Montecucco, M. Bertolotto [et al.]. – DOI: 10.1111/j.1365-2362.2010.02308.x. – Text : electronic // *Eur. J. Clin. Invest*. – 2010. – Vol. 40, N 7. – P. 645–654. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20497460/> (date of access: 25.08.2023).

90. Coronary artery calcification and its progression: what does it really mean? / H. Mori, S. Torii, M. Kutyna [et al.] // *JACC: Cardiovasc. Imaging*. – 2018. – Vol. 11, N 1. – P. 127–142.

91. Coronary artery calcification: from crystal to plaque rupture / L. Panh, O. Lairez, J. B. Ruidavets [et al.] // *Arch. Cardiovasc. Dis.* – 2017. – Vol. 110, N 10. – P. 550–561.
92. Coronary artery calcification: from mechanism to molecular imaging / T. Nakahara, M. R. Dweck, N. Narula [et al.] // *JACC: Cardiovasc. Imaging.* – 2017. – Vol. 10, N 5. – P. 582–593.
93. Coronary artery calcium score and bone metabolism: a pilot study in postmenopausal women / P. Salari, A. Keshtkar, S. Shirani, L. Mounesan [et al.]. – DOI: 10.11005/jbm.2017.24.1.15. – Text : electronic // *J. Bone Metab.* – 2017. – Vol. 24. – P. 15–21. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28326297/> (date of access: 21.08.2023).
94. Coronary artery calcium scoring: is it time for a change in methodology? / M. J. Blaha, M. B. Mortensen, S. J. Kianoush [et al.] // *Am. Coll. Cardiol. Img.* – 2017. – Vol. 10, N 8. – P. 923–937.
95. Coronary calcification identifies the vulnerable patient rather than the vulnerable Plaque / A. Mauriello, F. Servadei, G. B. Zoccai [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2013. – Vol. 229. – P. 124–129.
96. Correlation between osteocalcin-positive endothelial progenitor cells and spotty calcification in patients with coronary artery disease / H. Zhang, L. J. Wang, D. L. Si [et al.]. – DOI: 10.1111/1440–1681.12366. – Text : electronic // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2015. – Vol. 42, N 7. – P. 734–739. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25644945/> (date of access: 27.06.2023).
97. Demer, L. L. Inflammatory, metabolic, and genetic mechanisms of vascular calcification / L. L. Demer, Y. Tintut // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2014. – Vol. 34, N 4. – P. 715–723.
98. Demer, L. L. The leading edge of vascular calcification / L. L. Demer, Y. Tintut. – *Trends Cardiovasc. Med.* – 2015. – Vol. 25, N 4. – P. 275–277.
99. Determinants of endothelial function in a cohort of patients with peripheral artery disease / J. Golledge, A. S. Leicht, R. G. Crowther [et al.]. – DOI: 10.1159/000113428. – Text : electronic // *Cardiology.* – 2008. – Vol. 111, N 1. –

P. 51–56. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18239393/> (date of access: 21.08.2023).

100. Differential expression of osteopontin, and osteoprotegerin mRNA in epicardial adipose tissue between patients with severe coronary artery disease and aortic valvular stenosis: association with HDL subclasses / M. Luna-Luna, D. Cruz-Robles, N. Bvila-Vanzzini [et al.]. – DOI: 10.1186/s12944-017-0550-2. – Text : electronic // *Lipids Health Dis.* – 2017. – Vol. 16, N 1. – P. 156. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28821297/> (date of access: 21.08.2023).

101. Distribution of alkaline phosphatase, osteopontin, RANK ligand and osteoprotegerin in calcified human carotid atheroma / C. L. Higgins, S. Isbilir, P. Basto [et al.]. – DOI: 10.1007/s10930-015-9620-3. – Text : electronic // *Protein J.* – 2015. – Vol. 34, N 5. – P. 315–328. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26307009/> (date of access: 27.06.2023).

102. Elevated circulating osteoprotegerin levels in the plasma of hemodialyzed patients with severe artery calcification / M. Krzanowski, K. Krzanowska, P. Dumnicka [et al.]. – DOI: 10.1111/1744-9987.12681. – Text : electronic // *Ther. Apher. Dial.* – 2014. – Vol. 22, N 5. – P. 519–529. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29974642/> (date of access: 25.08.2023).

103. Elevated Osteoprotegerin Concentration Predicts Increased Risk of Cardiovascular Mortality in Patients with Chronic Kidney Disease: A Systematic Review and Meta Analysis / Q. X. Huang, J. B. Li, N. Huang [et al.]. – DOI: 10.1159/000508978. – Text : electronic // *Kidney Blood Press. Res.* – 2020. – Vol. 45. – P. 565–575. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32721972/> (date of access: 21.08.2023).

104. Endogenous calcification inhibitors in the prevention of vascular calcification: a consensus statement from the COST action EuroSoftCalcNet / M. Bäck, T. Aranyi, M. L. Cancela [et al.] // *Front. Cardiovasc. Med.* – 2019. – N 5. – P. 196.

105. Endothelial injury is closely related to osteopontin and TNF receptor-mediated inflammation in end-stage renal disease / K. Batko, M. Krzanowski, M. Gajda [et al.]. – DOI: 10.1016/j.cyto.2019.05.016. – Text : electronic // *Cytokine.* – 2019. –



Vol. 121, N 154729. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31153055/> (date of access: 21.08.2023).

106. Estrogen regulates bone turnover by targeting RANKL expression in bone lining cells / C. Streicher, A. Heyny, O. Andrukhova [et al.] // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 7, N 1. – P. 6460.

107. Evaluation of RANKL/OPG serum concentration ratio as a new biomarker for coronary artery calcification: A Pilot Study / A. H. Mohammadpour, J. Shamsara, S. Nazemi [et al.]. – DOI: 10.1155/2012/306263. – Text : electronic // *Thrombosis.* – 2012. – Vol. 12. – N 306263. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22577539/> (date of access: 25.08.2023).

108. Expression of bone-related proteins in vascular calcification and its serum correlations with coronary artery calcification score / M. Oštrić, M. Kukuljan, D. Markić [et al.] // *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.* – 2019. – Vol. 33, N 1. – P. 29–38.

109. Expression of osteopontin messenger RNA by macrophages in atherosclerotic plaques. A possible association with calcification / S. Hirota, M. Imakita, K. Kohri [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 1993. – Vol. 143, N 4. – P. 1003.

110. Fetuin-A is inversely associated with coronary artery calcification in community-living persons: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis / J. H. Ix, R. Katz, I. H. de Boer [et al.] // *Clin. Chem.* – 2012. – Vol. 58, N 5. – P. 887–895.

111. Genesis and growth of extracellular-vesicle derived microcalcification in atherosclerotic plaques / J. D. Hutcheson, C. Goettsch, S. Bertazzo [et al.] // *Nat. Mater.* – 2016. – Vol. 15, N 3. – P. 335–343.

112. Genome-Wide Association Study for Coronary Artery Calcification With Follow-Up in Myocardial Infarction / C. J. O'Donnell, M. Kavousi, A. V. Smith [et al.]. – DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.974899. – Text : electronic // *Circulation.* – 2011. – Vol. 124, N 25. – P. 2855–2864. – <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22144573/> (date of access: 21.08.2023).

113. Guzman, L. F. E. Pathophysiological and genetic aspects of vascular calcification / L. F. E. Guzman, C. A. E. Guzman, N. H. M. Lopes // *Cardiol. Res. Pract.* – 2020. – Vol. 2020. – P. 5169069.

114. Harshman, S. G. The role of vitamin K in chronic aging diseases: inflammation, cardiovascular disease, and osteoarthritis / S. G. Harshman, M. Shea // *Curr. Nutr. Rep.* – 2016. – Vol. 5, N 2. – P. 90–98.

115. Has our understanding of calcification in human coronary atherosclerosis progressed? / F. Otsuka, K. Sakakura, K. Yahagi [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2014. – Vol. 34, N 4. – P. 724–736.

116. Hemoglobin a1c and the progression of coronary artery calcification among adults without diabetes / A. P. Carson, M. W. Steffes, J. J. Carr [et al.] // *Diabetes Care.* – 2015. – Vol. 38, N 1. – P. 66–71.

117. High iliac calcium score is associated with increased severity and complexity of peripheral arterial disease and predicts global atherosclerotic burden / Z. Jeremias, N. Rat, I. Benedek [et al.]. – DOI: 10.1024/0301–1526/a000718. – Text : electronic // *Vasa.* – 2018. – Vol. 47, N 5. – P. 377–386. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29897296/> (date of access: 27.06.2023).

118. High phosphorus level leads to aortic calcification via  $\beta$ -catenin in chronic kidney disease / L. Yao, Y. Sun, W. Sun [et al.] // *Am. J. Nephrol.* – 2015. – Vol. 41, N 1. – P. 28–36.

119. Histopathologic characteristics of atherosclerotic coronary disease and implications of the findings for the invasive and noninvasive detection of vulnerable plaques / J. Narula, M. Nakano, R. Virmani [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2013. – Vol. 61, N 10. – P. 1041–1051.

120. Hortells, L. Cell Phenotype Transitions in Cardiovascular Calcification / L. Hortells, S. Sur, C. St. Hilaire. – DOI: 10.3389/fcvm.2018.00027. – Text : electronic // *Front. Cardiovasc. Med.* – 2018. – Vol. 5, N 27. – P. 1–9. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29632866/> (date of access: 14.08.2023).

121. Huang, X. Coronary artery calcification: More than meets the eye / X. Huang, J. D’Addabbo, P. K. Nguyen. – DOI: 10.1007/s12350–020–02058–8. –

Text : electronic // J. Nucl. Cardiol. – 2021. – Vol. 28, N 5. – P. 2215–2219. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32170644/> (date of access: 13.07.2023).

122. Icer, M. A. The multiple functions and mechanisms of osteopontin / M. A. Icer, M. Gezmen-Karadag. – DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2018.07.003. – Text : electronic // Clin. Biochem. – 2018. – Vol. 59. – P. 17–24. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30003880/> (date of access: 25.08.2023).

123. IL 6 but not TNF is linked to coronary artery calcification in patients with chronic kidney disease / J. Kamińska, Stopiński, K. Mucha [et al.] // Cytokine. – 2019. – Vol. 120. – P. 9–14.

124. Impact of age on coronary artery plaque progression and clinical outcome: A PARADIGM substudy / M. Kim, S. P. Lee, S. Kwak [et al.]. – DOI: 10.1016/j.jcct.2020.09.009. – Text : electronic // J. Cardiovasc. Comput. Tomogr. – 2020/ – Vol. 15, N 3. – P. 232–239. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33032975/> (date of access: 14.08.2023).

125. Impact of C-reactive protein on osteo-/chondrogenic transdifferentiation and calcification of vascular smooth muscle cells / L. A. Henze, T. Luong, B. Boehme [et al.]. – DOI: 10.18632/aging.102130. – Text : electronic // Aging (Albany NY). – 2019. – Vol. 11, N 5. – P. 5445. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31377747/> (date of access: 25.07.2023).

126. Inaba, M. Vascular Calcification-Pathological Mechanism and Clinical Application. The significance of arterial calcification in unstable plaques / M. Inaba, M. Ueda // Clin. Calcium. – 2015. – Vol. 25, N 5. – P. 679–686.

127. Increased calcification in osteoprotegerin-deficient smooth muscle cells: Dependence on receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand and interleukin 6 / A. Callegari, M. L. Coons, J. L. Ricks [et al.]. – DOI: 10.1159/000358920. – Text : electronic // J. Vasc. Res. – 2014. – Vol. 51, N 2. – P. 118–131. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24642764/> (date of access: 21.08.2023).

128. Independent relationship of osteoprotegerin concentrations with endothelial activation and carotid atherosclerosis in patients with severe rheumatoid arthritis / P. H. Dessen, R. Lypez-Mejias, C. Gonzalez-Juanatey [et al.]. –

DOI: 10.3899/jrheum.131037. – Text : electronic // J. Rheumatol. – 2014. – Vol. 41, N 3. – P. 429–436. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24488413/> (date of access: 21.08.2023).

129. Inflammation induces endothelial-to-mesenchymal transition and promotes vascular calcification through downregulation of BMP2 / G. Sanchez-Duffhues, A. García de Vinuesa, V. van de Pol [et al.]. – DOI: 10.1002/path.5193. – Text : electronic // J. Pathol. – 2019. – Vol. 247, N 3. – P. 333–346. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30430573/> (date of access: 14.08.2023).

130. Inflammation induces endothelial - to - mesenchymal transition and promotes vascular calcification through downregulation of BMP2 / G. Sánchez-Duffhues, A. García de Vinuesa, V. van de Pol [et al.] // J. Pathol. – 2019. – Vol. 247, N 3. – P. 333–346.

131. Kanazawa, I. Osteocalcin as a hormone regulating glucose metabolism / I. Kanazawa // World J. Diabetes. – 2015. – Vol. 6, N 18. – P. 1345.

132. Kang, J. H. Association of serum osteocalcin with insulin resistance and coronary atherosclerosis / J. H. Kang // J. Bone Metab. – 2016. – Vol. 23, N 4. – P. 183–190.

133. Kapustin, A. N. Calcium regulation of vascular smooth muscle cell-derived matrix vesicles / A. N. Kapustin, C. M. Shanahan // Trends Cardiovasc. Med. – 2012. – Vol. 22, N 5. – P. 133–137.

134. Kay, A. M. The role of AGE/RAGE signaling in diabetes-mediated vascular calcification / A. M. Kay, C. L. S. Simpson, J. A. Stewart // J. Diabetes Res. – 2016. – Vol. 2016. – N 6809703.

135. Kremzer, A. A. Plasma osteoprotegerin as a marker of documented coronary atherosclerosis in type two diabetes mellitus patients / A. A. Kremzer // Biol. Markers Fund. Clin. Med. (Sci. J.). – 2019. – Vol. 3, N 1. – P. 100–101.

136. Kunutsor, S. K. Soluble Vascular Cell Adhesion Molecules May be Protective of Future Cardiovascular Disease Risk: Findings from the PREVEND Prospective Cohort Study / S. K. Kunutsor, S. J. L. Bakker, R. P. F. Dullaart. – DOI: 10.5551/jat.38836. – Text : electronic // J. Atheroscler. Thromb. – 2017. –

Vol. 24, N 8. – P. 804–818. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28202840/> (date of access: 21.08.2023).

137. Kurabayashi, M. Bone and calcium update; diagnosis and therapy of bone metabolism disease update. Calcification of atherosclerotic plaques: mechanism and clinical significance / M. Kurabayashi. – DOI: CliCa111217931800. – Text : electronic // Clin. Calcium. – 2011. – Vol. 21, N 12. – P. 43–50. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22133823/> (date of access: 13.07.2023).

138. Kuro-o, M. Klotho, phosphate and FGF-23 in ageing and disturbed mineral metabolism / M. Kuro-o // Nat. Rev. Nephrol. – 2013. – Vol. 9, N 11. – P. 650–660.

139. Lee, S. J. Vascular Calcification-New Insights into Its Mechanism / S. J. Lee, I. K. Lee, J. H. Jeon. – DOI: 10.3390/ijms21082685. – Text : electronic // Int. J. Mol. Sci. – 2020. – Vol. 21, N 8. – P. 2685. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32294899/> (date of access: 14.08.2023).

140. Lok, Z. S. Y. Osteopontin in Vascular Disease: Friend or Foe? / Z. S. Y. Lok, A. N. Lyle. – DOI: 10.1161/ATVBAHA.118.311577. – Text : electronic // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2019. – Vol. 39, N 4. – P. 613–622. – URL: <https://www.researchgate.net/publication/330935531> (date of access: 25.08.2023).

141. Low serum osteocalcin levels are correlated with left ventricular systolic dysfunction and cardiac death in Chinese men / X. Zhang, Y. Shen, X. J. Ma [et al.] // Acta Pharmacol. Sin. – 2019. – Vol. 40, N 4. – P. 486–491.

142. Macrophage-derived matrix vesicles: an alternative novel mechanism for microcalcification in atherosclerotic plaques / S. E. New, C. Goettsch, M. Aikawa [et al.] // Circ. Res. – 2013. – Vol. 113, N 1. – P. 72–77.

143. Macrophage-derived matrix vesicles: an alternative novel mechanism for microcalcification in atherosclerotic plaques / S. E. P. New, C. Goettsch, M. Aikawa [et al.] // Circ. Res. – 2013. – Vol. 113, N 1. – P. 72–77.

144. Morphometric and Mechanical Analyses of Calcifications and Fibrous Plaque Tissue in Carotid Arteries for Plaque Rupture Risk Assessment / F. J. H. Gijzen, B. Vis, H. E. Barrett [et al.]. – DOI: 10.1109/TBME.2020.3038038. – Text : electronic

// IEEE Trans. Biomed. Eng. – 2020. – Vol. 68, N 4. – P. 1429–1438. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33186100/> (date of access: 13.07.2023).

145. Multinucleated giant cells in atherosclerotic plaques of human carotid arteries: Identification of osteoclast-like cells and their specific proteins in artery wall / J. H. Qiao, V. Mishra, M. C. Fishbein [et al.] // *Exp. Mol. Pathol.* – 2015. – Vol. 99, N 3. – P. 654–662.

146. Nakagawa, K. Pathologic intimal thickening in human atherosclerosis is formed by extracellular accumulation of plasma-derived lipids and dispersion of intimal smooth muscle cells / K. Nakagawa, Y. Nakashima // *Atherosclerosis.* – 2018. – Vol. 274. – P. 235–242.

147. Nano-analytical electron microscopy reveals fundamental insights into human cardiovascular tissue calcification / S. Bertazzo, E. Gentleman, K. L. Cloyd [et al.] // *Nat. Mater.* – 2013. – Vol. 12, N 6. – P. 576–583.

148. Natural progression of atherosclerosis from pathologic intimal thickening to late fibroatheroma in human coronary arteries: a pathology study / F. Otsuka, M. C. Kramer, P. Woudstra [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2015. – Vol. 241, N 2. – P. 772–782.

149. Ngai, D. Cell-matrix interactions and matricrine signaling in the pathogenesis of vascular calcification / D. Ngai, M. Lino, M. P. Bendeck // *Front. Cardiovasc. Med.* – 2018. – N 5. – P. 174.

150. Nicoll, R. Arterial calcification: A new perspective? / R. Nicoll, M. Henein. – DOI: 10.1016/j.ijcard.2016.11.099. – Text : electronic // *Int. J. Cardiol.* – 2017. – Vol. 228. – P. 11–22. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27863350/> (date of access: 14.08.2023).

151. Niveditha Devi, R. A Study of Osteoprotegerin as a Predictor of Myocardial Infarction in Type 2 Diabetes Mellitus Patients : Masters thesis / R. Niveditha Devi – Madras Medical College, Chennai, 2019.

152. O'Donnell, C. J. Genomics of cardiovascular disease / C. J. O'Donnell, E. G. Nabel // *N. Engl. J. Med.* – 2011. – Vol. 365, N 22. – P. 2098–2109.

153. Oestrogen inhibits arterial calcification by promoting autophagy / Y. Q. Peng, D. Xiong, X. Lin [et al.] // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 7, N 1. – P. 3549.

154. Osteocalcin and vascular calcification in hemodialysis patients: an observational cohort study / H. K. H. Keryakos, N. I. Okaily, M. A. Y. Boulis, A. M. S. Salama. – DOI: 10.1007/s11255-020-02753-y. – Text : electronic // *Int. Urol. Nephrol.* – 2021. – Vol. 53, N 5. – P. 1015–1023. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33433789/> (date of access: 21.08.2023).

155. Osteocalcin Regulates Arterial Calcification Via Altered Wnt Signaling and Glucose Metabolism / N. A. Rashdan, A. M. Sim, L. Cui [et al.]. – DOI: 10.1002/jbmr.3888. – Text : electronic // *J. Bone Miner. Res.* – 2020. – Vol. 35, N 2. – P. 357–367. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31596966/> (date of access: 21.08.2023).

156. Osteonectin (SPARC) expression in vascular calcification: in vitro and ex vivo studies / P. Ciceri, F. Elli, L. Cappelletti [et al.] // *Calcif. Tissue Int.* – 2016. – Vol. 99, N 5. – P. 472–480.

157. Osteopontin and osteoprotegerin in atherosclerotic plaque- are they significant markers of plaque vulnerability? / C. Strobescu-ciobanu, S. E. Giușcă, I. D. Căruntu [et al.]. – DOI: 10.47162/RJME.61.3.y. – Text : electronic // *Rom. J. Morphol. Embryol.* – 2020. – Vol. 61, N 3. – P. 793–801. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33817720/> (date of access: 27.06.2023).

158. Osteopontin is BMI-independently Related to Early Endothelial Dysfunction in Children / M. Schreier, J. T. Schwartz, K. Landgraf [et al.]. – DOI: 10.1210/jc.2016-2238. – Text : electronic // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2016. – Vol. 101, N 11. – P. 4161–4169. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27571184/> (date of access: 21.08.2023).

159. Osteopontin regulates macrophage activation and osteoclast formation in hypertensive patients with vascular calcification / Q. Ge, C. C. Ruan, Y. Ma [et al.]. – DOI: 10.1038/srep40253. – Text : electronic // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 7, N 40253. – P. 1–9. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28091516/> (date of access: 21.08.2023).

160. Osteoprotegerin and osteopontin levels, but not gene polymorphisms, predict mortality in cardiovascular diseases / J. F. Lin, S. Wu, J. M. J. Juang [et al.]. – DOI: 10.2217/bmm-2018-0458. – Text : electronic // *Biomark. Med.* – 2019. – Vol. 13, N 9. – P. 751–760. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31157557/> (date of access: 21.08.2023).

161. Osteoprotegerin and Osteopontin Serum Levels are Associated with Vascular Function and Inflammation in Coronary Artery Disease Patients / K. Maniatis, G. Siasos, E. Oikonomou [et al.]. – DOI: 10.2174/1570161117666191022095246. – Text : electronic // *Curr. Vasc. Pharmacol.* – 2020. – Vol. 18, N 5. – P. 523–530. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31642412/> (date of access: 27.06.2023).

162. Osteoprotegerin Assessment Improves Prediction of Mortality in Stroke Patients / J. Wajda, M. Świat, A. J. Owczarek [et al.]. – DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2019.01.006. – Text : electronic // *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* – 2019. – Vol. 28, N 5. – P. 1160–1167. – URL: [https://www.strokejournal.org/article/S1052-3057\(19\)30006-0/fulltext](https://www.strokejournal.org/article/S1052-3057(19)30006-0/fulltext) (date of access: 21.08.2023).

163. Osteoprotegerin Induces Endothelial Dysfunction and Is Associated with Vascular Complications In Type 2 Diabetes / E. Maddaloni, K. Park, M. Di Guida [et al.] // *Diabetes.* – 2020. – Vol. 69, N 1. – P. 570–583.

164. Osteoprotegerin is a better serum biomarker of coronary artery calcification than osteocalcin in type 2 diabetes / R. E. Maser, M. J. Lenhard, M. B. Sneider, R. T. Pohlig // *Endocr. Pract.* – 2015. – Vol. 21, N 1. – P. 14–22.

165. Osteoprotegerin is Associated With Endothelial Function and Predicts Early Carotid Atherosclerosis in Patients With Coronary Artery Disease / T. Morisawa, A. Nakagomi, K. Kohashi [et al.]. – DOI: 10.1536/ihj.15-150. – Text : electronic // *Int. Heart J.* – 2015. – Vol. 56, N 6. – P. 605–612. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26549398/> (date of access: 27.06.2023).

166. Osteoprotegerin is better predictor for cardiovascular and all-cause mortality than vascular calcification in patients on peritoneal dialysis / M. A. Diaz, M. D. C. Prado, C. Mora [et al.]. – DOI: 10.1093/ndt/gfz106.FP618. – Text : electronic



// Nephrol. Dial. Transplant. – 2019. – Vol. 34, N 1. – P. 618–626. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35454141/> (date of access: 21.08.2023).

167. Osteoprotegerin, pericytes and bone-like vascular calcification are associated with carotid plaque stability / J. M. Davaine, T. Quillard, R. Brion [et al.]. – DOI: 10.1371/journal.pone.0107642. – Text : electronic // PLoS One. – 2014. – Vol. 9, N 9. – P. e107642. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25259713/> (date of access: 14.08.2023).

168. Overexpression of c-Fos reverses osteoprotegerin-mediated suppression of osteoclastogenesis by increasing the Beclin1-induced autophag / X. Tong, M. Chen, R. Song [et al.]. – DOI: 10.1111/jcmm.16152. – Text : electronic // J. Cell. Mol. Med. – 2021. – Vol. 25, N 2. – P. 937–945. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33277741/> (date of access: 25.08.2023).

169. Pathogen recognition by the long pentraxin PTX3 / F. Moalli, S. Jaillon, A. Inforzato [et al.] // J. Biomed. Biotechnol. – 2011. – Vol. 2011. – P. 830421.

170. Plasma Osteoprotegerin Correlates with Stroke Severity and the Occurrence of Microembolic Signals in Patients with Acute Ischemic Stroke / Y. Cao, C. Cui, H. Zhao [et al.]. – DOI: 10.1155/2019/3090364. – Text : electronic // Hindawi Dis. Markers. – 2019. – Vol. 2019, N 090364. – P. 1–7. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31191747/> (date of access: 27.06.2023).

171. Potential Role for Osteocalcin in the Development of Atherosclerosis and Blood Vessel Disease / A. Tacey, T. Qaradakhi, T. Brennan-Speranza [et al.]. – DOI: 10.3390/nu10101426. – Text : electronic // Nutrients. – 2018. – Vol. 10, N 10. – P. 1426. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30287742/> (date of access: 21.08.2023).

172. RANKL expression is increased in circulating mononuclear cells of patients with calcific aortic stenosis / M. Rattazzi, E. Faggin, E. Bertacco [et al.]. – DOI: 10.1007/s12265-018-9804-2. – Text : electronic // J. Cardiovasc. Transl. Res. – 2018. – Vol. 11, N 4. – P. 329–338. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29777507/> (date of access: 25.08.2023).

173. RANKL Increases Vascular Smooth Muscle Cell Calcification Through a RANK-BMP4-Dependent Pathway / S. Panizo, A. Cardus, M. Encinas [et al.] // *Circ. Res.* – 2009. – Vol. 104, N 9. – P. 1041–1048.

174. Receptor activator of nuclear factor kappa B ligand/osteoprotegerin pathway is a promising target to reduce atherosclerotic plaque calcification / A. Quercioli, G. Luciano Viviani, F. Dallegri [et al.] // *Crit. Pathways Cardiol.* – 2010. – Vol. 9, N 4. – P. 227–230.

175. Relation between superficial calcifications and plaque rupture: an optical coherence tomography study / Y. Zhan, Y. Zhang, J. Hou [et al.] // *Can. J. Cardiol.* – 2017. – Vol. 33, N 8. – P. 991–997.

176. Revised microcalcification hypothesis for fibrous cap rupture in human coronary arteries / A. Kelly-Arnold, N. Maldonado, D. Laudier [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* – 2013. – Vol. 110, N 26. – P. 10741–10746.

177. Risk factor burden and long-term prognosis of patients with premature coronary artery disease / M. Zeitouni, R. M. Clare, K. Chiswell [et al.]. – DOI: 10.1161/JAHA.120.017712. – Text : electronic // *J. Am. Heart Assoc.* – 2020. – Vol. 9, N 24. – P. e017712. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33287625/> (date of access: 21.08.2023).

178. Risk factors for long-term coronary artery calcium progression in the multi-ethnic study of atherosclerosis / A. J. Gasset, L. Sheppard, R. L. McClelland [et al.] // *J. Am. Heart Assoc.* – 2015. – Vol. 4, N 8. – P. e001726.

179. Role of the OPG/RANK/RANKL triad in calcifications of the atheromatous plaques: comparison between carotid and femoral beds / M. F. Heymann, F. Herisson, J. M. Davaine [et al.]. – DOI: 10.1016/j.cyto.2012.02.004. – Text : electronic // *Cytokine.* – 2012. – Vol. 58, N 2. – P. 300–306. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22402034/> (date of access: 25.08.2023).

180. Role of vitamin D in atherosclerosis / E. Kassi, C. Adamopoulos, E. K. Basdra, A. G. Papavassiliou // *Circulation.* – 2013. – Vol. 128, N 23. – P. 2517–2531.

181. Rosset, E. M. SPARC/osteonectin in mineralized tissue / E. M. Rosset, A. D. Bradshaw. – DOI: 10.1016/j.matbio.2016.02.001. – Text : electronic // Matrix Biol. – 2016. – N 52–54. – P. 78–87. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26851678/> (date of access: 27.06.2023).

182. Rutkovskiy, A. Osteoblast differentiation at a glance Rutkovskiy / A. Rutkovskiy, K. O. Stensl ukken, I. J. Vaage // Med. Sci. Monitor Basic Res. – 2016. – Vol. 22. – P. 95.

183. Scatena, M. Osteopontin: a multifunctional molecule regulating chronic inflammation and vascular disease / M. Scatena, L. Liaw, C. M. Giachelli. – DOI: 10.1161/ATVBAHA.107.144824. – Text : electronic // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2007. – Vol. 27, N 11. – P. 2302–2309. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17717292/> (date of access: 27.06.2023).

184. Sclerostin: another bone-related protein related to all-cause mortality in haemodialysis? / L. Viaene, G. J. Behets, K. Claes [et al.] // Nephrol. Dial. Transplant. – 2013. – Vol. 28, N 12. – P. 3024–3030.

185. Seidu, S. Association of circulating osteocalcin with cardiovascular disease and intermediate cardiovascular phenotypes: systematic review and meta-analysis / S. Seidu, S. K. Kunutsor, K. Khunti. – DOI: 10.1080/14017431.2019.1655166. – Text : electronic // Scand. Cardiovasc. J. – 2019. – Vol. 53, N 6. – P. 286–295. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31397589/> (date of access: 27.06.2023).

186. Senba, M. Pathogenesis of metastatic calcification and acute pancreatitis in adult T-cell leukemia under hypercalcemic state / M. Senba, K. Kawai, N. Mori. – DOI: 10.1155/2012/128617. – Text : electronic // Leukemia Res. Treat. – 2012. – Vol. 2012. – P. 128617. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23198151/> (date of access: 14.08.2023).

187. Serum osteoprotegerin and osteopontin levels are associated with arterial stiffness and the presence and severity of coronary artery disease / D. Tousoulis, G. Siasos, K. Maniatis [et al.]. – DOI: 10.1016/j.ijcard.2012.05.001. – Text : electronic // Int. J. Cardiol. – 2013. – Vol. 167, N 5. – P. 1924–1928. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22640692/> (date of access: 27.06.2023).

188. Serum osteoprotegerin is associated with arterial stiffness assessed according to the cardio-ankle vascular index in hypertensive patients / C. J. Lee, J. H. Wang, M. L. Chen [et al.]. – DOI: 10.5551/jat.25882. – Text : electronic // J. Atheroscler. Thromb. – 2015. – Vol. 22, N 3. – P. 304–312. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25318352/> (date of access: 27.06.2023).

189. Serum osteoprotegerin is associated with calcified carotid plaque: a Strobe-Compliant Observational Study / A. Kwon, Y. S. Choi, Y. W. Choi [et al.]. – DOI: 10.1097/MD.0000000000003381. – Text : electronic // Medicine. – 2016. – Vol. 95, N 15. – P. e3381. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27082605/> (date of access: 25.08.2023).

190. Shaw, L. J. The never-ending story on coronary calcium: is it predictive, punitive, or protective? / L. J. Shaw, J. Narula, Y. Chandrashekar // J. Am. Coll. Cardiol. – 2015. – Vol. 65, N 13. – P. 1283–1285.

191. Shioi, A. Plaque calcification during atherosclerosis progression and regression / A. Shioi, Y. Ikari // J. Atheroscler. Thromb. – 2018. – Vol. 25, N 4. – P. 294–303.

192. Signaling pathways involved in vascular smooth muscle cell calcification during hyperphosphatemia / J. Voelkl, F. Lang, K. U. Eckardt [et al.] // Cell. Mol. Life Sci. – 2019. – Vol. 76, N 11. – P. 2077–2091.

193. Smooth muscle cell fate and plasticity in atherosclerosis / S. Allahverdian, C. Chaabane, K. Boukais [et al.] // Cardiovasc. Res. – 2018. – Vol. 114, N 4. – P. 1–26.

194. Statins Disrupt Macrophage Rac1 Regulation Leading to Increased Atherosclerotic Plaque Calcification / A. Healy, J. M. Berus, J. L. Christensen [et al.]. – DOI: 10.1161/ATVBAHA.119.313832. – Text : electronic // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2020. – Vol. 40. – P. 714–732. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31996022/> (date of access: 14.08.2023).

195. Suryavanshi, S. V. NF- $\kappa$ B: a potential target in the management of vascular complications of diabetes / S. V. Suryavanshi, Y. A. Kulkarni // Front. Pharmacol. – 2017. – N 8. – P. 798.

196. sVCAM-1 concentration and carotid IMT values in patients with acute myocardial infarction – Atherosclerotic markers of the presence, progress and prognosis / A. Lisowska, E. Siergiejko, A. Tycińska [et al.]. – DOI: 10.1016/j.advms.2015.01.002. – Text : electronic // *Adv. Med. Sci.* – 2015. – Vol. 60, N 1. – P. 101–106. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25638707/> (date of access: 21.08.2023).

197. The correlation between calcification in carotid plaque and stroke: calcification may be a risk factor for stroke / Y. Kan, W. He, B. Ning // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* – 2019. – Vol. 12, N 3. – P. 750–758.

198. The Influence of Calcification Factors and Endothelial-Dysfunction Factors on the Development of Unstable Atherosclerotic Plaques / Ya. V. Polonskaya, E. V. Kashtanova, I. S. Murashov [et al.]. – DOI: 10.3390/diagnostics10121074. – Текст : электронный // *Diagnostics.* – 2020. – Vol. 10, N 12. – P. 1074. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33322310/> (дата обращения: 15.08.2023).

199. The inhibitory roles of vitamin K in progression of vascular calcification / A. Shioi, T. Morioka, T. Shoji, M. Emoto // *Nutrients.* – 2020. – Vol. 12, N 2. – P. 583.

200. The role of matrix Gla protein (MGP) in vascular calcification / G. Bjørklund, E. Svanberg, M. Dadar [et al.] // *Curr. Med. Chem.* – 2020. – Vol. 27, N 10. – P. 1647–1660.

201. The role of osteoprotegerin and its ligands in vascular function / L. Rochette, A. Meloux, E. Rigal [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20, N 3. – P. 705.

202. The role of osteoprotegerin in the crosstalk between vessels and bone: Its potential utility as a marker of cardiometabolic diseases / L. Rochette, A. Meloux, E. Rigal Bertacco [et al.]. – DOI: 10.1016/j.pharmthera.2017.08.015. – Text : electronic. // *Pharmacol. Ther.* – 2018. – Vol. 182. – P. 115–132. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28867452/> (date of access: 25.08.2023).

203. The role of osteoprotegerin in vascular calcification and bone metabolism: The basis for developing new therapeutics / L. Rochette, A. Meloux, E. Rigal [et al.]. – DOI: 10.1007/s00223-019-00573-6. – Text : electronic // *Calcif. Tissue Int.* – 2019. – Vol. 105, N 3. – P. 239–251. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31197415/> (date of access: 25.08.2023).

204. The Role of Vascular Smooth Muscle Cells in Arterial Remodeling: Focus on Calcification-Related Processes / A. Jaminon, K. Reesink, A. Kroon, L. Schurgers. – DOI: 10.3390/ijms20225694. – Text : electronic // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20, N 22. – P. 5694. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31739395/> (date of access: 14.08.2023).

205. TNAP stimulates vascular smooth muscle cell trans-differentiation into chondrocytes through calcium deposition and BMP-2 activation: Possible implication in atherosclerotic plaque stability / M. Fakhry, M. Roszkowska, A. Briolay [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta (BBA) – Mol. Basis of Dis.* – 2017. – Vol. 1863, N 3. – P. 643–653.

206. TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  inhibit RUNX2 and collagen expression but increase alkaline phosphatase activity and mineralization in human mesenchymal stem cells / J. Ding, O. Ghali, P. Lencel [et al.] // *Life Sci.* – 2009. – Vol. 84, N 15–165. – P. 499–504.

207. Torres, P. A. Origin of the mediocalcosis in kidney failure / P. A. Torres. – DOI: 10.1016/j.jmv.2009.02.002. – Text : electronic // *J. Mol. Vasc.* – 2009. – Vol. 34, N 3. – P. 204–210. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19345526/> (date of access: 21.08.2023).

208. Transgenic overexpression of tissue-nonspecific alkaline phosphatase (TNAP) in vascular endothelium results in generalized arterial calcification / A. Y. Savinov, M. Salehi, M. C. Yadav [et al.] // *J. Am. Heart Assoc.* – 2015. – Vol. 4, N 12. – P. e002499.

209. Vascular calcification: from pathophysiology to biomarkers / S. Evrard, P. Delanaye, S. Kamel [et al.] // *Clin. Chim. Acta.* – 2015. – Vol. 438. – P. 401–414.

210. Vascular Calcification: The Evolving Relationship of Vascular Calcification to Major Acute Coronary Events / H. W. Strauss, T. Nakahara, N. Narula, J. Narula. – DOI: 10.2967/jnumed.119.230276. – Text : electronic // *Q. J. Nucl. Med.* – 2019. – Vol. 60, N 9. – P. 1207–1212. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31350320/> (date of access: 14.08.2023).

211. Vitamin D in Vascular Calcification: A Double-Edged Sword? / J. Wang, J. J. Zhou, G. R. Robertson, V. W. Lee. – DOI: 10.3390/nu10050652. – Text : electronic // Nutrients. – 2018. – Vol. 10, N 5. – P. 652. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29786640/> (date of access: 14.08.2023).

212. Vitamin D-regulated osteocytic sclerostin and BMP2 modulate uremic extraskeletal calcification / L. Nguyen-Yamamoto, K. I. Tanaka, R. St-Arnaud, D. Goltzman // JCI Insight. – 2019. – Vol. 4, N 13. – P. e126467.

213. Waksman, R. Handbook of the Vulnerable Plaque / R. Waksman, P. W. Seruys. – London, 2004. – P. 1–48. – ISBN 0–203–48989–6.

214. Wang, H. H. Changes of plasma concentration of osteoprotegerin and its association with endothelial dysfunction before and after hypouricemic therapy in patients with hyperuricemia / H. H. Wang, G. D. Xiang. – DOI: 10.3109/14397595.2014.926852. – Text : electronic // Mod. Rheumatol. – 2015. – Vol. 25, N 1. – P. 123–127. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24947824/> (date of access: 21.08.2023).

215. Wnt pathway activation, cell migration, and lipid uptake is regulated by low-density lipoprotein receptor-related protein 5 in human macrophages / M. Borrell-Pages, J. C. Romero, O. Juan-Babot, L. Badimon // Eur. Heart J. – 2011. – Vol. 32, N 22. – P. 2841–2850.

216. WNT signaling in cardiac and vascular disease / S. Foulquier, E. P. Daskalopoulos, G. Lluri [et al.] // Pharmacol. Rev. – 2018. – Vol. 70, N 1. – P. 68–141.

217. WNT/ $\beta$ -catenin signaling promotes VSMCs to osteogenic transdifferentiation and calcification through directly modulating Runx2 gene expression / T. Cai, D. Sun, Y. Duan [et al.] // Exp. Cell Res. – 2016. – Vol. 345, N 2. – P. 206–217.

218. Wookey, P. J. The elevated expression of calcitonin receptor by cells recruited into the endothelial layer and neo-intima of atherosclerotic plaque / P. J. Wookey, A. Zulli, D. L. Hare // Histochem. Cell Biol. – 2009. – Vol. 132, N 2. – P. 181–189.

219. Wu, M. Vascular calcification: an update on mechanisms and challenges in treatment / M. Wu, C. Rementer, C. M. Giachelli // *Calcif. Tissue Int.* – 2013. – Vol. 93, N 4. – P. 365–373.

220. Zaker, B. Vascular calcification; Stony bridge between kidney and heart / B. Zaker, M. Ardalan. – DOI: 10.34172/jcvtr.2020.29. – Text : electronic // *J. Cardiovasc. Thorac. Res.* – 2020. – Vol. 12, N 3. – P. 165–171. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33123321/> (date of access: 14.08.2023).



## СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

1. Рисунок 1 – Рисунок 1 – Связь типа атеросклеротического поражения с гистологической картиной кальцификации (Mori H. et al., 2018). . . . . С. 20
2. Рисунок 2 – Механизмы клеточной дифференцировки ГМК и сосудистой кальцификации (Guzman L.F.E. et al., 2020). . . . . С. 28
3. Рисунок 3 – Ингибиторы и факторы кальцификации в ГМК (Nakahara T. et al., 2017). . . . . С. 32
4. Рисунок 4 – Дизайн исследования. . . . . С. 47
5. Рисунок 5 – Атеросклеротические бляшки коронарных сосудов: А) стабильная фиброзная бляшка с кальцификацией; Б) нестабильная атеросклеротическая бляшка. Ув. × 100. Окраска гематоксилин-эозином. . . . . С. 50
6. Рисунок 6 – Атеросклеротические бляшки с разной степенью кальцификации: А) без кальцификатов, стабильная фиброзная бляшка с началом атероматоза; Б) с мелкими кальцификатами, нестабильная атеросклеротическая бляшка; В) с крупными кальцификатами, нестабильная атеросклеротическая бляшка. Ув. × 100. Окраска гематоксилин-эозином. . . . . С. 52
7. Рисунок 7 – Клинические характеристики мужчин с коронарным атеросклерозом. . . . . С. 58
8. Рисунок 8 – Характеристика атеросклеротических бляшек по наличию кальцификатов. . . . . С. 59
9. Рисунок 9 – Биохимические маркеры эндотелиальной дисфункции в стабильных и нестабильных атеросклеротических бляшках. . . . . С. 60
10. Рисунок 10 – Маркеры кальцификации в стабильных и нестабильных атеросклеротических бляшках. . . . . С. 61
11. Рисунок 11 – Маркеры эндотелиальной дисфункции в гомогенатах

- интимы-медии коронарных артерий исходя из гистологической характеристики степени кальцификации. . . . . С. 63
12. Рисунок 12 – Маркеры кальцификации в атеросклеротических бляшках коронарных артерий в зависимости от гистологической оценки степени кальцификации. . . . . С. 64
13. Рисунок 13 – Корреляционные связи между маркерами эндотелиальной дисфункции и кальцификации в атеросклеротических бляшках коронарных артерий. . . . . С. 65
14. Рисунок 14 – Биохимические маркеры кальцификации и эндотелиальной дисфункции в крови мужчин с коронарным атеросклерозом в зависимости от типа бляшки в коронарной артерии. . . . . С. 68
15. Рисунок 15 – Показатели маркеров эндотелиальной дисфункции в крови мужчин с коронарным атеросклерозом. . . . . С. 69
16. Рисунок 16 – Показатели биохимических маркеров кальцификации в крови мужчин с коронарным атеросклерозом в зависимости от выявления очагов кальцификации в бляшках. . . . . С. 70
17. Рисунок 17 – Показатели маркеров эндотелиальной дисфункции в крови мужчин с коронарным атеросклерозом в зависимости от выявления очагов кальцификации в бляшках. . . . . С. 71
18. Рисунок 18 – Сравнительные данные концентраций биомолекул кальцификации в крови между подгруппами мужчин с коронарным атеросклерозом с разным отдалённым прогнозом после КШ. . . . . С. 74
19. Рисунок 19 – Сравнительные данные концентраций в крови показателей эндотелиальной дисфункции между подгруппами мужчин с коронарным атеросклерозом с разным отдалённым прогнозом после КШ. . . . . С. 74
20. Рисунок 20 – Результаты многофакторного регрессионного анализа ассоциации клинических и биохимических показателей с

- риском неблагоприятного прогноза после КШ. . . . . С. 76
21. Таблица 1 – Сравнительная клиническая характеристика мужчин с коронарным атеросклерозом с наличием и отсутствием нестабильных атеросклеротических бляшек в коронарных артериях . . . . . С. 57
22. Таблица 2 – Характеристика атеросклеротических бляшек по наличию кальцификатов. . . . . С. 59
23. Таблица 3 – Биохимические маркеры эндотелиальной дисфункции в стабильных и нестабильных атеросклеротических бляшках (Ме [25 %; 75 %]). . . . . С. 60
24. Таблица 4 – Маркеры кальцификации в стабильных и нестабильных атеросклеротических бляшках (Ме [25 %; 75 %]). . . . С. 61
25. Таблица 5 – Маркеры эндотелиальной дисфункции в гомогенатах интимы-медии коронарных артерий исходя из гистологической характеристики степени кальцификации (Ме [25 %; 75 %]). . . . . С. 62
26. Таблица 6 – Маркеры кальцификации в атеросклеротических бляшках коронарных артерий в зависимости от гистологической оценки степени кальцификации (Ме [25 %; 75 %]). . . . . С. 63
27. Таблица 7 – Корреляционные связи между маркерами эндотелиальной дисфункции и кальцификации в атеросклеротических бляшках коронарных артерий. . . . . С. 65
28. Таблица 8 – Биохимические маркеры кальцификации и эндотелиальной дисфункции в крови мужчин с коронарным атеросклерозом в зависимости от типа бляшки в коронарной артерии (Ме [25 %; 75 %]). . . . . С. 68
29. Таблица 9 – Биохимические маркеры кальцификации и эндотелиальной дисфункции в крови мужчин с коронарным атеросклерозом в зависимости от выявления очагов кальцификации в бляшках (Ме [25 %; 75 %]). . . . . С. 70

30. Таблица 10 – Сравнение концентрации в крови биомолекул кальцификации между подгруппами мужчин с разным отдаленным прогнозом после КШ (Me [25; 75]) ..... С. 73
31. Таблица 11 – Результаты многофакторного регрессионного анализа ассоциации клинических и биохимических показателей с риском неблагоприятного прогноза развития коронарного атеросклероза после операции КШ. .... С. 75