

Возможности проточной цитометрии, ПЦР и секвенирования в ранней диагностике активности атеросклероза (обзор литературы)

А. П. Ройтман, Н. С. Маркина, В. В. Долгов

ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России

РЕЗЮМЕ

Атеросклероз (АС) является многофакторным заболеванием, приводящим к повышению сердечно-сосудистых рисков. В настоящее время диагностика АС сводится к визуализирующим методам оценки атеросклеротической бляшки и лабораторным методам диагностики дислипидемий, которые не дают понимания активности процессов, происходящих в атеросклеротической бляшке. Цель данного обзора: обсудить потенциальные лабораторные маркеры активности АС. Важная роль в атерогенезе отводится макрофагам. Макрофаги имеют несколько фенотипов, определяя которые можно сделать заключение об активности воспалительного процесса в бляшке. Не малую роль в развитии атеросклероза играют генетические маркеры, такие как микроРНК, кольцевые РНК и факторы, регулирующие их экспрессию. Перспективными для изучения данных маркеров являются методы проточной цитометрии, ПЦР и секвенирования. Маркеры активности атерогенеза являются необходимыми в диагностике, а также при выборе персонализированного лечения пациентов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: атеросклероз, макрофаги, микроРНК, кольцевые РНК, цитометрии, ПЦР, секвенирование.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Possibilities of flow cytometry, PCR and sequencing in early diagnosis of atherosclerosis activity

A. P. Roytman, N. S. Markina, V. V. Dolgov

Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

SUMMARY

Atherosclerosis (AS) is a multifactorial disease leading to increased cardiovascular risks. Currently, the diagnosis of AS is limited to imaging methods of atherosclerotic plaque assessment and laboratory methods of dyslipidemia diagnosis, which do not provide an understanding of the activity of processes occurring in the atherosclerotic plaque. The aim of this review: to generate potential markers of AS activity. Macrophages play an important role in atherogenesis. Macrophages have several phenotypes, determining which can be concluded about the activity of the inflammatory process in the plaque. Genetic markers, such as microRNAs, circular RNAs and factors regulating their expression, play an important role in the development of atherosclerosis. Methods of flow cytometry, PCR and sequencing are promising for studying these markers. Markers of atherogenesis activity are essential in diagnosis, as well as in the choice of personalized treatment of patients.

KEYWORDS: atherosclerosis, macrophages, microRNAs, circular RNAs, cytometry, PCR, sequencing.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare no conflict of interest.

Введение

Атеросклероз (АС) представляет собой изменения внутренней оболочки артерий (интимы), включающие накопление липидов, сложных углеводов, фиброзной ткани, компонентов крови, отложение солей кальция и сопутствующие изменения средней оболочки (медии) в артериальной стенке [1]. Артериальные кровеносные сосуды имеют 3 оболочки: внутренняя (*tunica intima*), средняя (*tunica media*) и наружная (*tunica adventicia*). В норме интима представлена одноклеточным эндотелиальным слоем, под которым находятся гладкомышечные клетки, погруженные в межклеточное вещество. Крупные сосуды имеют хорошо развитую адвентициальную оболочку и расположенные в ней сосуды сосудов (*vasa vasorum*) инервы сосудов (*nervi vasorum*) [2]. *Vasa vasorum* облегчают питание и оксигенацию крупным сосудам. В течение жизни с ростом организма человека растут и стенки сосудов. Особенностью крупных сосудов является диффузное утолщение интимы. У новорожденных детей стенка сосуда

полностью проницаема для поступления кислорода. К 5 годам оксигенация обеспечивается хуже, за счёт утолщения интимы, и появляются первые *vasa vasorum*, которые осуществляют оксигенацию адвентиции. К 25 годам интима диффузно утолщается и оксигенация осуществляется только в ней, *vasa vasorum* разрастаются более плотно в адвентиции, а в аорте прорастают и в медию [3]. Первые признаки АС в сосудах появляются у детей к 10 годам [4]. Существует множество теорий патогенеза АС: инфильтрационная, воспалительная, вирусная, аутоиммунная, гипергликемическая, теория дисфункции эндотелия и т.д. [5], подтверждая мультифакторность процесса.

В интимах сосудов липиды способны вступать в различные реакции, в основном: окисление и неферментативное гликирование, что изменяет их структуру. Модифицированные липиды становятся антигенами, способствуя запуску каскада активации иммунных клеток [6] и их миграции в сосудистую стенку. В попытке избежать

стенку сосудов от инфильтрации липидами макрофаги активируются и поглощают липиды, что приводит к незавершённому фагоцитозу и уменьшению подвижности макрофагов [3]. Вследствие чего выделяется ещё больше провоспалительных цитокинов, привлекая ещё больше иммунных клеток в очаг, образуя тем самым порочный круг. В связи с этими процессами возникает сдавление тканей сосудистой стенки, как липидными отложениями, так и местным отёком, вызванным воспалением. Сдавление сосудистой стенки так же вызывает сдавление *vasa vasorum*, питающих её [3]. В результате этого может ухудшаться кровоснабжение стенки сосуда и происходить неоваскуляризация [7]. При АС новообразованные сосуды *vasa vasorum* незрелые, хрупкие и склонные к излишней проницаемости сосудистой стенки, особенно среди сосудов, близких к атеросклеротическим бляшкам [8, 9].

Не существует отдельных клинических рекомендаций по лечению и диагностике АС. Как правило, АС упоминают в составе дислипидемий, ишемической болезни сердца и заболеваний крупных сосудов. В диагностике АС и нестабильности атеросклеротических бляшек, используются визуализирующие методы диагностики, такие как ультразвуковое исследование, сцинтиграфия, магнитно-резонансная томография и компьютерная томография, разрабатываются алгоритмы диагностики на основе этих методов [10, 11]. Визуализирующие методы, как правило, используются уже при наличии клинических проявлений и значительных размерах атеросклеротических бляшек. Однако, лабораторных методов диагностики активности АС как таковых не упоминается. На данный момент используются лабораторные методы исследований, направленные на диагностику дислипидемий (общий холестерин и его фракции, липопротеид (а), триглицериды, аполипопротеины), сосудистого воспаления (высокочувствительный СРБ, липопротеин А2, ассоциированная фосфолипаза) и сопутствующих заболеваний (например, сахарный диабет, гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца, церебральная микроангиопатия), которые не всегда коррелирует с тяжестью поражения сосудов и нестабильностью атеросклеротической бляшки [12]. Необходимы изучать и внедрять новые маркёры для исследования активности атеросклеротического процесса с использованием современных лабораторных технологий.

Цель: изучить новые потенциальные лабораторные биомаркеры активности АС.

Участие макрофагов в атерогенезе

Сформированные атеросклеротические бляшки подразделяют на стабильные и нестабильные [13, 14]. В состав атеросклеротических бляшек входят различные клетки иммунной системы. Макрофаги – важные компоненты врождённого иммунитета, имеющие различные фенотипы [15]. В зависимости от их поляризации различают М0, М1 и М2 макрофаги. В отсутствии стимулов макрофаги пребывают в состоянии М0 (неполяризованные, неактивные), являясь покоящимися клетками. Из М0 макрофагов путём активации появляются М1 и М2 поляризованные макрофаги. М1 макрофаги (поляризованные, классические,

провоспалительные) продуцируют провоспалительные цитокины, способствуя очищению очага воспаления. М2 макрофаги (поляризованные, альтернативные, прогенеративные, противовоспалительные) наоборот способствуют восстановлению тканей путём блокирования провоспалительных цитокинов [16–18]. Современные исследования показывают, что немалую роль играют не только макрофаги, но и Т-лимфоциты. В частности Т-регуляторные лимфоциты (Treg) являющиеся субпопуляцией Т-лимфоцитов, участвующих в регуляции иммунного ответа [19].

Нокдаун гена АпоЕ (АпоЕ^{-/-}) у мышей используется для моделирования АС, т.к. дефицит АпоЕ приводит к гиперхолестеринемии у мышей и быстрому развитию атеросклеротических изменений [20]. У мышей 10, 20, 30, 40, 50 и 60 недель при гиперхолестеринемии макрофаги проникают в артериальную стенку, что приводит к образованию жировых полос. Затем, в период между 30 и 40 недель, макрофаги активируются, что приводит к всплеску воспалительной активности, и в сочетании с быстрым накоплением эфиров холестерина в макрофагах приводит к формированию бляшек. Это является критическим шагом в атерогенезе, который может быть связан с плотностью макрофагов в артериальной стенке. При большой плотности макрофаги не только стимулируют себя (аутокринно), но также стимулируют друг друга (паракринно), что приводит к всплеску воспалительной активности и увеличению поглощения липидов [21].

Между нестабильными и стабильными бляшками наблюдается значительная разница в инфильтрации иммунными клетками [15]. Доля макрофагов М0, М1 и М2 значительно выше, а доля CD8⁺ Т-клеток и NK-клеток значительно ниже в нестабильных бляшках, чем в стабильных [22]. В моноцитах, инкубированных с Treg *in vitro*, увеличена (по сравнению с моноцитами, инкубированными с наивными Т-лимфоцитами) экспрессия мРНК и белков, способствующих разрешению воспаления и регрессии бляшек (например, Gpr18 и Fpr2) [23, 24]. В совокупности, это свидетельствует о том, что Treg усиливают способность макрофагов в бляшках разрешать воспаление, а так же о возможности регрессии атеросклеротических бляшек [22]. Для определения фенотипа клеточного состава периферической крови используется проточная цитометрия, которая позволяет выявить степень преобладания М1-подобного или М2-подобного типа моноцитов. М1/М2 соотношение выше у пациентов с активным АС. Преобладание М1 популяции моноцитов начинается уже при субклиническом течении заболевания [25, 26].

Атеросклеротическая бляшка является очагом местного воспаления сосудистой стенки. Риск будущих сердечно-сосудистых осложнений имеет корреляцию с С-реактивным белком (СРБ), измеренным высокочувствительным методом [27, 28]. СРБ оказывает своё действие, связываясь с рецепторами CD34 или CD64. При инкубировании моноцитов с СРБ и дальнейшей дифференцировке их в макрофаги, значительно превалирует уровень М1 макрофагов. Но в присутствии малой интерферирующей РНК к CD32/CD64 дифференцировки макрофагов в М1 фенотип не происходит [18]. СРБ также индуцирует высвобождение провоспалительных цитокинов из моноцитов

человека, активируя рецептор хемотаксиса моноцитов (C-chemokinerereceptortype 2) и повышает активность оксидазы восстановленного никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДФН-оксидаза). НАДФН-оксидаза является ферментным комплексом, находящимся в мембране моноцитов и макрофагов [29]. СРБ может индуцировать провоспалительное действие моноцитов человека, активируя провоспалительный фенотип M1 и предотвращая поляризацию к фенотипу M2 [18].

Генетические факторы, регулирующие активность АС

В последние несколько лет значительно возрос спрос на генетические исследования, с использованием методик секвенирования и полимеразной цепной реакции (ПЦР). Молекулы ДНК, РНК и их ферменты запускают каскады реакций для приспособления организма к меняющимся условиям среды. Исходя из этого поиск необходимых лабораторных маркёров для исследования активности АС расширяется до генетического уровня.

ДНК-гликозилаза является первым ферментом, инициирующим процесс распознавания поврежденного основания. Neilike DNA glycosylase 3 (Neil3) принадлежит к классу ДНК-гликозилаз, инициирующих первый этап репарации ДНК, поврежденной активными формами кислорода [30, 31]. Макрофаги мышей АпоЕ^{-/-} и Neil3^{-/-} проявляют повышенный пролиферативный ответ при стимуляции модифицированными липидами, что потенциально способствует увеличению макрофагов в атеросклеротических бляшках. Дефицит Neil3 снижает способность макрофагов к оттоку холестерина за счет подавления АТФ-связанных кассетных транспортеров (транспортёры ABC) [32], которые являются мембраносвязанными белками, осуществляющими перенос различных молекул, в том числе молекул липидов [33], через плазматические мембраны клеточной стенки и внутриклеточные мембраны эндоплазматического ретикулума, пероксисом и митохондрий [34]. У мышей с дефицитом Neil3 показано явное подавление генов митохондриального цикла трикарбоновых кислот и окислительного фосфорилирования, приводящее к нарушению нормального функционирования макрофагов в условиях гиперлипидемии. Таким образом образование атеросклеротических бляшек связано не с нарушением стабильности ДНК, а с изменениями митохондриальных функций в макроскопически неатеросклеротической грудной аорте и снижением числа копий митохондрий в атеросклеротических брахиоцефальных артериях [32].

МикроРНК (miR, miRNA) и кольцевые РНК (circRNA) относятся к некодирующим цепям РНК. МикроРНК регулируют экспрессию генов путём подавления трансляции матричной РНК (мРНК). Некодирующие РНК являются перспективными мишенями в качестве биомаркёров различных заболеваний. Главная сложность заключается в поиске специфичных для конкретного заболевания, из множества известных [35].

miR-155 типичная многофункциональная микроРНК, играющая важную роль в иммунных реакциях и воспалении. miR-155 принимает участие в воспалительных

реакциях макрофагов. Крупнель-подобный фактор 2 (KLF2) модулирует экспрессию микроРНК в некоторых типах клеток. Например, KLF2 связывается с промотором кластера генов miR-143/145, чтобы активировать экспрессию сосудистых защитных генов в эндотелиальных клетках. В экспериментах с клеточными культурами эндотелиальных клеток пупочной вены человека (HUVEC) уровень miR-155 значительно повышался при обработке окисленными ЛПНП. Но при обработке этих клеток KLF2 существенных различий в уровнях miR-155 обнаружено не было. В экспериментах на мышах анализ полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени показал, что экспрессия KLF2 была значительно ниже у мышей, получающих высококалорийную диету, чем у мышей, получавших стандартное питание. Так же у мышей с нокдауном АпоЕ, получавших высококалорийную диету, значительно повышался уровень miR-155, в отличие от мышей, получавших стандартное питание [36].

Кольцевые РНК (circRNA) действуют как «губки», которые связываются большим количеством микроРНК, вызывая повышение активности генов-мишеней [37, 38] circular (circ. при АС circRNA регулируют микроРНК в эндотелиальных клетках, обработанных окисленными ЛПНП. Клеточная пролиферация и миграция стимулируется Циклином D1, который является продуктом трансляции гена CCND1 [39]. Фактор транскрипции FOXO1 (forkheadboxprotein O1) может связываться с промоторной областью гена CCND1, повышая уровень его транскрипции, а значит продукция циклина D1 увеличивается. В свою очередь FOXO1 является геном-мишенью miR-370. А circ_0029589 является «губкой» miR-370. Таким образом, усиливается активность гена FOXO1 и как следствие клеточная миграция и пролиферация. Уровень белка циклина D1 повышается в ГМК, которым вводят окисленные липопротеины низкой плотности (ЛПНП), и снижается при нокдауне circ_0029589 [40].

Так же circ_0029589 активируется, а miR-424-5p подавляется в ГМК, обработанных окисленными ЛПНП. Нокдаун circ_0029589 ингибирует пролиферацию, миграцию и инвазию, но индуцирует апоптоз в ГМК, обработанных окисленными ЛПНП. микроРНК-424-5p является мишенью circ_0029589, и ее нокдаун обращает эффекты circ_0029589 на пролиферацию, миграцию, инвазию и апоптоз в ГМК [41].

Семейство генов 45 (GADD45), индуцированных остановкой роста и повреждением ДНК, кодирует небольшие белки. Члены семейства GADD45 могут быстро индуцироваться различными стрессами, такими как генотоксические агенты и воспалительные цитокины [42]. При сверхэкспрессии miR-15b-5p существенно снижается экспрессия белка GADD45G. Жизнеспособность клеток повышается, тогда как апоптоз, TNF-α, IL-6 и IL-1β значительно снижается. Кроме того, уровень miR-15b-5p снижен как в HUVEC, подвергшихся воздействию окисленных ЛПНП, так и у пациентов с АС. circ_0029589 напрямую регулирует экспрессию miR-15b-5p в HUVEC и, как следствие, пролиферацию, миграцию и инвазию ГМК [43]. Эти данные свидетельствуют о том, что circ_0029589 и miR-15b-5p может играть роль в развитии АС.

Заключение

На данный момент существует небольшое количество лабораторных методов для выявления атеросклероза, которые скорее можно отнести к диагностике дислипидемий. При диагностике дислипидемии невозможно оценить активность атеросклеротического процесса. Использование визуализирующих методов позволяет лишь увидеть размеры атеросклеротических изменений и лишь предположить происходящие в стенке сосуда события. Оценить активность клеток в атеросклеротической бляшке и на какие патогенетические механизмы заболевания необходимо воздействовать невозможно. Перспективными для изучения являются методы проточной цитометрии (определение различных классов макрофагов), ПЦР (определение специфических РНК) и секвенирования (определение предрасполагающих генетических факторов), которые, главным образом, могут потенциально отвечать на вопросы прогрессирования роста и нестабильности атеросклеротических бляшек. Предложенные исследования могут проводиться из венозной крови, что значительно может облегчить диагностику путём рутинного скрининга населения. Предложенные методы и вышеперечисленные мишени позволяют более детально понимать на какое звено патогенеза необходимо воздействовать у разных пациентов, что позволяет перейти к персонализированному подходу в лечении.

Список литературы/References

1. Кузнецов Д.Е., Скребов Р.В. Клиника, морфология атеросклероза аорты с разрывом. *Здравоохранение Югры: опыт и инновации*. 2018; (4): 66–8. <https://cyberleninka.ru/article/n/klinika-morfologiya-ateroskleroza-aorty-s-razyvom>
2. Кузнецов Д.Е., Скребов Р.В. Clinic, morphology of aortic atherosclerosis with rupture. *Healthcare of Ugra: experience and innovations*. 2018; (4): 66–8. <https://cyberleninka.ru/article/n/klinika-morfologiya-ateroskleroza-aorty-s-razyvom>
3. Кузнецов С.Н., Мушкваров Н.Н. Гистология, цитология и эмбриология. МИА (Медицинское информационное агентство); 2016: 640.
4. Kuznetsov S.N., Mushkambarov N.N. Histology, cytology and embryology. MIA (Medical Information Agency); 2016: 640.
5. Haverich A., Boyle E.C. Atherosclerosis Pathogenesis and Microvascular Dysfunction. *Cham: Springer Nature*; 2019. 130. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-20245-3>
6. Юрева Э.А., Сухоруков В.С., Воздвиженская Е.С., Новикова Н.Н. Атеросклероз: гипотезы и теории. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2014; 59(3): 6–16. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21649590>
7. Yuryeva E.A., Sukhorukov V.S., Vozdvizhenskaya E.S., Novikova N.N. Atherosclerosis: hypotheses and theories. *Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*. 2014; 59(3): 6–16. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21649590>
8. Орищенко А.К., Гавриченко Е.П., Райкова К.А. Современные теории этиологии и патогенеза атеросклероза. *Биюлетень медицинских интернет-конференций*. 2021; 11(3): 57–57. ID: 2021-03-6-T-19461
9. Orishchenko A.K., Gavrichenko E.P., Raikova K.A. Modern theories of the etiology and pathogenesis of atherosclerosis. *Bulletin of Medical Internet Conferences*. 2021; 11(3): 57–57. ID: 2021-03-6-T-19461
10. Слепцов А.А. Клеточная гетерогенность и клональный гемопоэз клеток иммунной системы при атеросклерозе. *Российский кардиологический журнал*. 2022; 27(10): 5228. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2022-5228>
11. Sleptsov A.A. Cellular heterogeneity and clonal hematopoiesis of immune system cells in atherosclerosis. *Russian Journal of Cardiology*. 2022; 27(10): 5228. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2022-5228>
12. Xu J., Lu X., Shi G.P. Vasa Vasorum in Atherosclerosis and Clinical Significance. *Int J Mol Sci*. 2015; 16(5): 11574–608. <https://doi.org/10.3390/ijms160511574>
13. Rademakers T., Douma K., Hackeng T.M., Post M.J., Sluimer J.C., Daemen J.P. Plaque-Associated Vasa Vasorum in Aged Apolipoprotein E-Deficient Mice Exhibit Proatherogenic Functional Features In Vivo. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2013; 33(2): 249–56. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.112.300087>
14. Евдокименко А.Н., Куличенкова К.Н., Гулевская Т.С., Танашян М.М. Особенности регуляции ангиогенеза в атеросклеротических бляшках каротидного синуса на поздних стадиях развития атеросклероза. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2022; 108(5): 649–66. <https://doi.org/10.31857/S0869813922050041>
15. Evdokimenko A.N., Kulichenkova K.N., Gulevskaya T.S., Tanashyan M.M. Features of the regulation of angiogenesis in atherosclerotic plaques of the carotid sinus at the late stages of atherosclerosis development. *Russian Physiological Journal named after I.M. Sechenov*. 2022; 108(5): 649–66. <https://doi.org/10.31857/S0869813922050041>
16. Порогова Н.В., Юферева Ю.М., Качанова Н.П., Метельская В.А., Колтунов И.Е., Воронина В.П., и др. Разработка алгоритма диагностики доклинического атеросклероза у пациентов из группы высокого риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. *Кардиология*. 2020; 60(2): 75–82. <https://doi.org/10.18087/cardio.2020.2.n964>
17. Pogosova N.V., Yufereva Yu. M., Kachanova N.P., Metelskaya V.A., Kolfunov I.E., Voronina V.P., et al. Development of an algorithm for diagnosing preclinical atherosclerosis in high-risk patients development of cardiovascular diseases. *Cardiology*. 2020; 60(2): 75–82. <https://doi.org/10.18087/cardio.2020.2.n964>
18. Олейников В.Э., Салымова А.И., Хромова А.А., Куприянова С.Н., Квасова О.Г., Ильясов И.Б. Прогнозирование коронарного атеросклероза у пациентов с ишемической болезнью сердца молодого возраста с использованием неинвазивного биомаркера. *Российский кардиологический журнал*. 2020; 25(12): 3924. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2020-3924>
19. Oleynikov V.E., Salyamova A.I., Khromova A.A., Kupriyanova S.N., Kvasova O.G., Ilyasov I.B. Prediction of coronary atherosclerosis in young patients with coronary heart disease using a non-invasive biomarker. *Russian Journal of Cardiology*. 2020; 25(12): 3924. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2020-3924>
20. Kukharuk V.V., Ezhov M.V., Sergienko I.V., Arabidze G.G., Balakhonova T.V., Gurevich V.S., и др. Eurasian association of cardiology (EAC)/ russian national atherosclerosis society (RNAS, russia) guidelines for the diagnosis and correction of dyslipidemia for the prevention and treatment of atherosclerosis (2020). *Evrozijski kardiologički žurnal*. 2020; (2): 6–29. <https://doi.org/10.38109/2225-1685-2020-2-6-29>
21. Abdulsalam M., Feng J. The composition of vulnerable plaque and its effect on arterial waveforms. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2021; 119: 104491. <https://doi.org/10.1016/j.jmbm.2021.104491>
22. Biscetti F., Tinelli G., Rando M.M., Nardella E., Cecchini A.L., Angelini F., и др. Correction to: Association between carotid plaque vulnerability and high mobility group box-1 serum levels in a diabetic population. *CardiovascDiabetol*. 2021; 20: 184. <https://doi.org/10.1186/s12933-021-01376-6>
23. Пигаревский П.В., Снегова В.А., Назаров П.Г. Макрофаги и их роль в дестабилизации атеросклеротической бляшки. *Кардиология*. 2019; 59(4): 88–91. <https://doi.org/10.18087/cardio.2019.4.10254>
24. Pigarevsky P.V., Snegova V.A., Nazarov P.G. Macrophages and their role in the destabilization of atherosclerotic plaque. *Cardiology*. 2019; 59(4): 88–91. <https://doi.org/10.18087/cardio.2019.4.10254>
25. Fadini G.P., Simoni F., Cappellari R., Vitturi N., Galasso S., Kreutzenberg S.V., и др. Pro-inflammatory monocyte-macrophage polarization imbalance in human hypercholesterolemia and atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2014; 237(2): 805–8. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2014.10.106>
26. Isaili I., McClellan P., R. Wong T., Cingreda S., Jain M., Anderson J., Hijaz A., Akk O. In Vivo Delivery of M0, M1, and M2 Macrophage Subtypes via Genipin-Cross-Linked Collagen Bio-textile. *Tissue Engineering*. 2022; Part A: 672–684. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2021.0203>
27. Devoraj S., Jialal I. CRP Polarizes Human Macrophages to a M1 Phenotype and Inhibits Transformation to the M2 Phenotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011; 31(6): 1397–402. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.111.225508>
28. Piekarska A., Pérès M., Toton M., Kulczycka M., Lewandowski K., Vergez F. Identification of circulating regulatory T lymphocytes with membrane markers – a new multiparameter flow cytometry protocol. *Folia Histochemica et Cytobiologica*. 2021; 59(2): 75–85. <https://doi.org/10.5603/FHC.a2021.0014>
29. Emini Veseli B., Perrotta P., De Meyer, Roth L., Van der Donck C., Martinet W., и др. Animal models of atherosclerosis. *European Journal of Pharmacology*. 2017; 816: 3–13. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.05.010>
30. Skogberg J., Lundström J., Kovacs A., Nilsson R., Noori P., Maleki S., и др. Transcriptional Profiling Uncovers a Network of Cholesterol-Responsive Atherosclerosis Target Genes. *PLoS Genet*. 2008; 4(3): e1000036. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000036>
31. Wang J., Kang Z., Liu Y., Li Z., Liu Y., Liu J. Identification of immune cell infiltration and diagnostic biomarkers in unstable atherosclerotic plaques by integrated bioinformatics analysis and machine learning. *Front Immunol*. 2022; 13: 956078. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.956078>
32. Bardina M., Pawelzik S.C., Lagrangea J., Mahdic A., Arnardottir H., Regnault V., Feved B., Lacomble P., Michela J.B., Merciera N., Back M. The resolvin D2 – GPR 18 axis is expressed in human coronary atherosclerosis and transduces atheroprotection in apolipoprotein E deficient mice – ScienceDirect. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2022.115075>
33. Petri M.H., Laguna-Fernández A., Gonzalez-Diez M., Paulsson-Berne G., Hansson G.K., Bäck M. The role of the FPR2/ALX receptor in atherosclerosis development and plaque stability. *Cardiovasc Res*. 2015; 105(1): 65–74. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvu224>
34. Arnold K.A., Blair J.E., Paul J.D., Shah A.P., Nathan S., Alenghat F.J. Monocyte and Macrophage Subtypes as Paired Cell Biomarkers for Coronary Artery Disease. *Exp Physiol*. 2019; 104(9): 1343–52. <https://doi.org/10.1113/EP087827>
35. Williams H., Cassola G., Persoulis N., Patel V., Vicaretti M., Marmash N., et al. Human classical monocytes display unbalanced M1/M2 phenotype with increased atherosclerotic risk and presence of disease – International Angiology 2017; 36(2): 145–55. <https://doi.org/10.23736/S0392-9590.16.03661-0>
36. Ridker P.M. From CRP to IL-6 to IL-1: Moving Upstream To Identify Novel Targets for Atheroprotection. *Circ Res*. 2016; 118(1): 145–56. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.115.306656>
37. Уткина Е.А., Афанасьева О.И., Покровский С.Н. С-реактивный белок: патогенетические свойства и возможная терапевтическая мишень. *Российский кардиологический журнал*. 2021; 26(6): 4138. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2021-4138>
38. Utkina E.A., Afanas'yeva O.I., Pokrovsky S.N. C-reactive protein: pathogenetic properties and a possible therapeutic target. *Russian Journal of Cardiology*. 2021; 26(6): 4138. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2021-4138>
39. Vlad M.L., Manea S.A., Lazar A.G., Raicu M., Muresan H., Simionescu M., и др. Histone Acetyltransferase-Dependent Pathways Mediate Upregulation of NADPH Oxidase 5 in Human Macrophages under Inflammatory Conditions: A Potential Mechanism of Reactive Oxygen Species Overproduction in Atherosclerosis. *Oxid Med Cell Longev*. 2019; 3201062. <https://doi.org/10.1155/2019/3201062>
40. Chen L., Huan X., Gao X.D., Yu W.H., Xiao G.H., Li T.F., и др. Biological Functions of the DNA Glycosylase NEIL3 and Its Role in Disease Progression Including Cancer. *Cancers (Basel)*. 2022; 14(23): 5722. <https://doi.org/10.3390/cancers14235722>
41. Liu M., Doublé S., Wallace S.S. Neil3, the final frontier for the DNA glycosylases that recognize oxidative damage. *Mutat Res*. 2013; 4–11. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmm.2012.12.003>
42. Skarpengland T., Holm S., Scheffler K., Gregersen I., Dahl T.B., Suganthan R., и др. Neil3-dependent base excision repair regulates lipid metabolism and prevents atherosclerosis in ApoE-deficient mice. *SciRep*. 2016; 6: 28337. <https://doi.org/10.1038/srep28337>
43. Котляров С.Н., Котлярова А.А. Участие ABC-транспортеров в липидном обмене и патогенезе атеросклероза. *Генный клетка*. 2020; 15(3): 22–8. <https://doi.org/10.23868/202011003>

- Kotlyarov S.N., Kotlyarova A.A. Participation of ABC transporters in lipid metabolism and the pathogenesis of atherosclerosis. *Genes and cells*. 2020; 15(3): 22–8. <https://doi.org/10.23868/202011003>
34. Павлович С.Л. АТФ-связывающие транспортные белки семейства abc (ATP-binding cassette transporters, abc). Номенклатура, структура, молекулярное разнообразие, функция, участие в функционировании системы биотрансформации ксенобиотиков. Труды Карельского научного центра Российской академии наук. 2020;(3):5–19. <http://dx.doi.org/10.17076/eb1044>
- Pavlovich S.L. ATP-binding cassette transporters (ATP-binding cassette transporters, abc) family proteins. Nomenclature, structure, molecular diversity, function, participation in the functioning of the xenobiotic biotransformation system. *Proceedings of the Karelian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*. 2020; (3): 5–19. <http://dx.doi.org/10.17076/eb1044>
35. Peeters L. J. F., Biesen E. A. L., Hohl M., Weber C., van der Vorst E. P. C., Santovito D. Small Things Matter: Relevance of MicroRNAs in Cardiovascular Disease. *Front Physiol*. 2020;11:793. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00793>
36. He S, Wu C, Xiao J, Li D, Sun Z, Li M. Endothelial extracellular vesicles modulate the macrophage phenotype: Potential implications in atherosclerosis. *Scand J Immunol*. 2018; 87: e12648. <https://doi.org/10.1111/sji.12648>
37. Panda A. C. Circular RNAs Act as miRNA Sponges. *Circular RNAs: Biogenesis and Functions*. Singapore: Springer. 2018: 67–79. https://doi.org/10.1007/978-981-13-1426-1_6
38. Alkan A. H., Akgül B. Endogenous miRNA Sponges. *miRNomics: MicroRNA Biology and Computational Analysis*. New York, NY: Springer US. 2022; 91–104. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1170-8_5
39. Montalto F. I., De Amicis F. Cyclin D 1 in Cancer: A Molecular Connection for Cell Cycle Control, Adhesion and Invasion in Tumor and Stroma. *Cells* 9. 2020;9(12):2648. <https://doi.org/10.3390/cells9122648>
40. Yang L, Yang F., Zhao H., Wang M., Zhang Y. Circular RNA circCHFR Facilitates the Proliferation and Migration of Vascular Smooth Muscle via miR-370/FOXO1/Cyclin D 1 Pathway. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2019;16:434–41. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2019.02.028>
41. Yu H., Zhao L., Zhao Y., Fei J., Zhang W. Circular RNA circ_0029589 regulates proliferation, migration, invasion, and apoptosis in ox-LDL-stimulated VSMCs by regulating miR-424-5p/IGF2 axis. *Vascular Pharmacology*. 2020;135:106782. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2020.106782>
42. Guo D., Zhao Y., Wang N., You N., Zhu W., Zhang P., и др. GADD45g acts as a novel tumor suppressor, and its activation suggests new combination regimens for the treatment of AML. *Blood*. 2021;138(6):464–79. <https://doi.org/10.1182/blood.2020088229>
43. Li Y., Wang B. Circular RNA circCHFR downregulation protects against oxidized low-density lipoprotein-induced endothelial injury via regulation of microRNA-15b-5p/growth arrest and DNA damage inducible gamma. *Bioengineered*. 2022; 13(2):4481–92. <https://doi.org/10.1080/21655979.2022.2032967>

Статья поступила / Received 20.02.24
Получена после рецензирования / Revised 15.03.24
Принята в печать / Accepted 15.03.24

Сведения об авторах

Ройтман Александр Польевич, д.м.н., профессор кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом лабораторной иммунологии.
E-mail: aroitman@mail.ru. ORCID: 0000-0003-2592-6857

Маркина Надежда Сергеевна, ординатор кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом лабораторной иммунологии.
E-mail: nadezda.s.markina@gmail.com. ORCID: 0000-0001-8458-9702

Долгов Владимир Владимирович, д.м.н., профессор кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом лабораторной иммунологии.
E-mail: vvdolgov@inbox.ru. ORCID: 0000-0003-1537-7444

ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России

Автор для переписки: Ройтман Александр Польевич. E-mail: aroitman@mail.ru

About authors

Roitman Alexander P., DM Sci (habil.), professor at Dept of Clinical Laboratory Diagnostics with a course in Laboratory Immunology. E-mail: a.roitman@mail.ru. ORCID:0000-0003-2592-6857.

Markina Nadezhda S., resident of Dept of Clinical Laboratory Diagnostics with a course in laboratory immunology. Email: nadezda. s. markina@gmail.com. ORCID: 0000-0001-8458-9702.

Dolgov Vladimir V., Doctor of Medical Sciences, professor at Dept of Clinical Laboratory Diagnostics with a course in Laboratory Immunology. E-mail: vvdolgov@inbox.ru. ORCID: 0000-0003-1537-7444

Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

Corresponding author: Roitman Alexander P. E-mail: a.roitman@mail.ru

Для цитирования: Ройтман А.П., Маркина Н.С., Долгов В.В. Возможности точной цитометрии, ПЦР и секвенирования в ранней диагностике активности атеросклероза (обзор литературы). *Медицинский алфавит*. 2024; (4): 7–11. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-4-7-11>

For citation: Roitman A.P., Markina N.S., Dolgov V.V. Possibilities of flow cytometry, PCR and sequencing in early diagnosis of atherosclerosis activity. *Medical alphabet*. 2024; (4): 7–11. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-4-7-11>

DOI: 10.33667/2078-5631-2024-4-11-17

Кальций-ассоциированные связи маркеров костного обмена на фоне гипокальциемии в персональных наблюдениях

А. В. Соломенников¹, С. Л. Богданова², А. И. Тюкавин¹, Н. А. Арсениев¹, А. А. Барыкина¹

¹ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, Санкт-Петербург

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской травматологии и ортопедии имени Г. И. Турнера» Минздрава России, Санкт-Петербург

РЕЗЮМЕ

Использование метода визуализации многомерных связей, как вспомогательного метода в анализе полученных персональных данных лабораторных исследований, существенно повышает их информативность. При этом возникает возможность выявления ведущих факторов, оказывающих влияние на общую структуру соотношений показателей выбранной панели и их «взаимоотношения» между собой. В настоящей работе представлены результаты обсуждения связей, полученных с использованием метода визуализации многомерных связей в панели соотношений электролитов, демонстрирующих возможности выявления функциональных связей показателей костного обмена и гипокальциемии. При этом авторами впервые, в том числе, приводятся персональные наблюдения, в которых на фоне нормальных показателей кальция фиксируются связи, свидетельствующие о выраженном торможении его функциональной активности. Авторы предполагают, что высоко значимое отрицательное (коэффициент корреляции) влияние кальция на панель соотношений электролитов свидетельствует о проявлении напряженной индивидуальной адаптивной перестройки в сети факторов, участвующих в поддержании физиологических значений иона. Предполагается, что продолжительное преобладание одной из реакций в межсистемных связях может приводить к возникновению тех или иных расстройств костного и кальциевого обмена. Делается заключение, что определение комплекса многомерных связей в индивидуальных случаях позволит не только перифицировать дифференциальную диагностику гипокальциемии, но и выбирать цели для таргетной терапии и последующего контроля эффективности проводимого лечения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гипокальциемия, лабораторные показатели остеобмена, визуализация многомерных связей

КОНФИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.