

11. Yerly P, Rodondi N, Viswanathan B, Riesen W, Vogt P, Bovet P. Association between conventional risk factors and different ultrasound-based markers of atherosclerosis at carotid and femoral levels in a middle-aged population. *Int. J. Cardiovasc. Imaging*. 2013; 29:589-99.
12. Spence J.D. Measurement of carotid plaque burden. *JAMA Neurol*. 2015; 72(4):383-4.
13. Vasyuk YuA, Ivanova SV, Shkolnik EL, Kotovskaya YuV., Milyagin VA, Oleynikov VE, Orlova YaA, Sumin AN, Baranov AA, Boytsov SA, Galyavich AS, Kobalava ZhD, Kozhevnikova OV, Konradi AO, Lopatin YuM, Mareev VYu, Novikova DS, Oganov RG, Rogoza AN, Rotar OP, Sergatskaya NV, Skibitsky VV. Consensus of Russian experts on the evaluation of arterial stiffness in clinical practice. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2016; 15(2):4-19. Russian. (Васюк Ю.А., Иванова С.В., Школьник Е.Л., Котовская Ю.В., Мильягин В.А., Олейников В.Э., Орлова Я.А., Сумин А.Н., Баранов А.А., Бойцов С.А., Галевич А.С., Кобалава Ж.Д., Кожевникова О.В., Конради А.О., Лопатин Ю.М., Мареев В.Ю., Новикова Д.С., Оганов Р.Г., Рогоза А.Н., Ротарь О.П., Сергацкая Н.В., Скибицкий В.В. Согласованное мнение российских экспертов по оценке артериальной жесткости в клинической практике. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2016; 15(2):4-19).
14. Pierce GL. Mechanisms and Subclinical Consequences of Aortic Stiffness. *Hypertension*. 2017; 70(5):848-53.
15. Hetzer S, Birr P, Fehlner A, Hirsch S, Dittmann F, Barnhill E, Braun J, Sack I. Perfusion alters stiffness of deep gray matter. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2018; 38(1):116-25.
16. Muela HCS, Costa-Hong VA, Yassuda MS, Moraes NC, Memyria CM, Machado MF, Bor-Seng-Shu E, Nogueira RC, Mansur AJ, Massaro AR, Nitrini R, Macedo TA, Bortolotto LA. Higher arterial stiffness is associated with lower cognitive performance in patients with hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2018; 20(1):22-30.
17. Pase MP, Himali JJ, Mitchell GF, Beiser A, Maillard P, Tsao C, Larson MG, DeCarli C, Vasan RS, Seshadri S. Association of aortic stiffness with cognition and brain aging in young and middle-aged adults: the Framingham Third Generation Cohort Study. *Hypertension*. 2016; 67:513-9.
18. Hashimoto J, Ito S. Aortic blood flow reversal determines renal function: potential explanation for renal dysfunction caused by aortic stiffening in hypertension. *Hypertension*. 2015; 66:61-7.
19. Hajjar I, Goldstein FC, Martin GS, Quyyumi AA. Roles of arterial stiffness and blood pressure in hypertension-associated cognitive decline in healthy adults. *Hypertension*. 2016; 67:171-5.
20. Woodard T, Sigurdsson S, Gotlib JD, Torjesen AA, Inker LA, Aspelund T, Eiriksdottir G, Gudnason V, Harris TB, Launer LJ, Levey AS, Mitchell GF. Mediation analysis of aortic stiffness and renal microvascular function. *J Am Soc Nephrol*. 2015; 26:1181-7.
21. Song Y, Xu B, Xu R, Tung R, Frank E, Tromble W, Fu T, Zhang W, Yu T, Zhang C, Fan F, Zhang Y, Li J, Bao H, Cheng X, Qin X, Tang G, Chen Y, Yang T, Sun N, Li X, Zhao L, Hou FF, Ge J, Dong Q, Wang B, Xu X, Huo Y. Independent and joint effect of Brachial-Ankle pulse wave velocity and blood pressure control on incident stroke in hypertensive adults. *Hypertension*. 2016; 68:46-53.
22. Ueki Y, Miura T, Minamisawa M, Abe N, Nishimura H, Hasbizume N, Mochidome T, Harada M, Shimizu K, Oguchi Y, Yoshie K, Shoin W, Ebisawa S, Motoki H, Koyama J, Ikeda U. The usefulness of brachial-ankle pulse wave velocity in predicting long-term cardiovascular events in younger patients. *Heart Vessels*. 2017; 32:660-7.
23. Park HW, Kang MG, Kim K, Kob JS, Park JR, Hwang SJ, Jeong YH, Ahn JH, Jang JY, Kwak CH, Park Y, Hwang JY. Prognostic value of brachial-ankle pulse wave velocity in patients with non-ST-elevation myocardial infarction. *Coron Artery Dis*. 2017; 28:642-8.
24. Ahn KT, Jeong JO, Jin SA, Kim M, Oh JK, Choi UL, Seong SW, Kim JH, Choi SW, Jeong HS, Song HJ, Kim J, Seong IW. Brachial-ankle PWV for predicting clinical outcomes in patients with acute stroke. *Blood Press*. 2017; 26:204-10.
25. Doumas M, Imprialos KP, Stavropoulos K, Athyros VG. Peripheral arterial stiffness as a surrogate of central hemodynamics: A new era for cardiovascular risk estimation? *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2018 Jan 25. doi: 10.1111/jch.13204. [Epub ahead of print]
26. AlGhatrif M, Strait JB, Morrell CH, Canepa M, Wright J, Elango P, Scuteri A, Najjar SS, Ferrucci L, Lakatta EG. Longitudinal trajectories of arterial stiffness and the role of blood pressure: the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Hypertension*. 2013; 62(5):934-41.
27. Meani P, Maloberti A, Sormani P, Colombo G, Giupponi L, Stucchi M, Varrenti M, Vallerio P, Facchetti R, Grassi G, Mancia G, Giannattasio C. Determinants of carotid-femoral pulse wave velocity progression in hypertensive patients over a 3.7 years follow-up. *Blood Press*. 2018; 27(1):32-40.
28. Moh MC, Sum CF, Tavintharan S, Ang K, Lee SBM, Tang WE, Lim SC. Baseline predictors of aortic stiffness progression among multi-ethnic Asians with type 2 diabetes. *Atherosclerosis*. 2017; 260:102-9.

Токсическое действие кальций-фосфатных бионов на адвентицию брюшной аорты крыс

Д. К. Шиншкова, Е. А. Великанова, Е. О. Кривкина, А. В. Миронов, Ю. А. Кудрявцева, А. Г. Кутихин
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово

Абстракт

Цель исследования: изучить связь токсического действия бионов с развитием воспаления в адвентиции. **Материал и методы.** Токсичность сферических кальций-фосфатных бионов (СКФБ), игольчатых кальций-фосфатных бионов (ИКФБ) и магниевых-фосфатных бионов (МФБ) на интиму брюшной аорты крыс линии Wistar оценивали путем их однократного внутривенного введения после баллонной ангиопластики с последующей эксплантацией аорт через пять недель. Биоптаты после стандартной гистологической подготовки окрашивали гематоксилин-эозином с последующей визуализацией при помощи световой микроскопии.

Результаты. В отличие от СКФБ и ИКФБ, МФБ не вызывали гипертрофию интимы брюшной аорты крыс. Формирование неинтимы в аорте связано с механическим повреждением эндотелия баллоном и с токсическим действием КФБ. В результате действия этих повреждающих факторов запускается каскад провоспалительных событий как со стороны просвета сосуда, так и с адвентиции, что выражается в увеличении количества адвентициальных лимфатических фолликулов.

Выводы. Внутривенное введение КФБ при индуцированном повреждении брюшной аорты вызывало развитие гипертрофии интимы и стимулировало образование адвентициальных лимфатических фолликулов, что доказывает взаимосвязь между эндотелиотоксическим действием КФБ и повышенной воспалительной реакцией адвентиции.

Ключевые слова: атеросклероз, бионы, наночастицы, токсичность, эндотелий, гипертрофия интимы.

Toxicity of calcium phosphate bions for aortic adventitia in rats

D. K. Shishkova, E. A. Velikanova, E. O. Krivkina, A. V. Mironov, Yu. A. Kudryavtseva, A. G. Kutikhin
Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia

Abstract

Aim: To investigate whether calcium phosphate bions (CPB) induce adventitial inflammation.

Material and Methods. Toxicity of spherical calcium phosphate bions (CPBS), needle-shaped calcium phosphate bions (CPBN), and magnesium phosphate bions (MPB) for aortic intima of Wistar rats was assessed by intravenous administration immediately upon the angioplasty. After 5 weeks, rats were sacrificed, and injured aortic segments were then examined utilizing hematoxylin and eosin staining.

Results. In contrast to CPBS and CPBN, MPB did not provoke intimal hyperplasia. Neointima formation was induced by both mechanical injury and endothelial toxicity of CPB. This also triggered adventitial inflammation as demonstrated by an increased count of lymphoid-like follicles.

Conclusion. Intravenous administration of CPB after the balloon injury caused intimal hyperplasia of rat abdominal aortas and stimulated the formation of adventitial lymphoid-like follicles. This points on the association between CPB endothelial toxicity and adventitial inflammation.

Keywords: atherosclerosis, bions, nanoparticles, toxicity, endothelium, intimal hyperplasia.

Введение

Из эпидемиологических исследований известно, что ишемическая болезнь сердца, острое нарушение мозгового кровообращения по ишемическому типу и заболевания периферических артерий, являющиеся клиническими проявлениями атеросклероза, ассоциированы с перенасыщением крови ионами кальция и фосфора [1–5]. В качестве одного из механизмов поддержания минерального баланса крови выступает образование кальций-фосфатных бионов (КФБ) – сферических частиц губчатой структуры диаметром ≤ 500 нм, состоящих из гидроксиапатита, карбонат-гидроксиапатита и ряда белков, включая ключевые ингибиторы кальцификации – альбумин и фетун-А. В то же время, защищая организм от массивной эктопической кальцификации, КФБ, тем не менее, повреждают здоровый эндотелий, запускают процесс апоптоза по внутреннему пути, индуцируют секрецию провоспалительных цитокинов и развитие гипертрофии интимы брюшной аорты крыс [6–8]. КФБ были выделены из 75% атеросклеротических бляшек крупных артерий человека [6, 9] и могут быть синтезированы искусственно для экспериментального моделирования атеросклероза. Ранее в эксперименте было показано, что при умеренном перенасыщении сывороточной среды ионами кальция и фосфора образуются КФБ сферической формы (СКФБ), а при сильном перенасыщении – КФБ игольчатой формы (ИКФБ) [10].

Однако неясно, специфично ли эндотелиотоксическое действие только для КФБ, или же подобный эффект может оказать любой тип наночастиц, обладающих корпускулярной природой. Для ответа на данный вопрос нашей группой были искусственно синтезированы магний-фосфатные бионы (МФБ), идентичные КФБ по размерности, форме и органическому составу, однако имеющие другой минеральный состав (магния фосфат гидрат вместо гидроксиапатита и карбонат-гидроксиапатита). Важно отметить, что МФБ не образуются в организме человека, поскольку их формирование в организме требует превышения физиологической концентрации ионов магния в 10–20 раз, что несовместимо с жизнью [9]. Поэтому было предположено, что МФБ подходят для оценки специфичности токсического действия КФБ в эксперименте.

При повреждении стенки сосуда со стороны просвета различными агентами первичный клеточный ответ поступает, в том числе, со стороны адвентиции [11]. В результате воздействия различных провоспалительных молекул [12], поступающих из системного кровотока посредством парацеллюлярного транспорта к vasa vasorum и лимфатическим сосудам адвентиции [12, 13], осуществляется активация адвентициальных фибробластов с формированием синтетически активных миофибробластов, пролиферация миофибробластов и их миграция из адвентиции в сторону просвета сосуда [14, 15],

а также увеличивается количество макрофагов, лимфоцитов [16, 17] и vasa vasorum (система сосудов, ответственная за кровоснабжение стенки основного сосуда) [18], что в конечном счете ведет к образованию неоинтимы. Также стоит отметить, что большое скопление лимфоцитов в адвентиции при воспалении вызывает образование лимфатических фолликулов [11]. Увеличение количества vasa vasorum влечет за собой повышенную секрецию эндотелиальными клетками провоспалительных цитокинов и молекул клеточной адгезии, способствующих прикреплению моноцитов к эндотелию и их миграции в интиму с последующей дифференцировкой в макрофаги и образованием пенстых клеток [11].

Целью данного исследования было изучить связь токсического действия бионов с развитием воспаления в адвентиции.

Материал и методы

СКФБ синтезированы путем последовательного добавления 9,9 мкл 0,5М CaCl₂ (Sigma-Aldrich) и 21,5 мкл 0,2М Na₂HPO₄ в 1319 мкл среды DMEM, содержащей 150 мкл (10% от общего объема) фетальной телячьей сыворотки. ИКФБ синтезированы при помощи последовательного добавления 16,5 мкл 0,5М CaCl₂ и 37,5 мкл 0,2М Na₂HPO₄ в 936 мкл среды DMEM, содержащей 10 мкл (1% от общего объема) фетальной телячьей сыворотки. МФБ синтезированы при помощи последовательного добавления 100 мкл 0,2М MgCl₂ (Sigma-Aldrich) и 100 мкл 0,2М Na₂HPO₄ (Sigma-Aldrich) в 700 мкл среды Игла, модифицированной по Дульбекко (Dulbecco's Modified Eagle's Medium, DMEM, Gibco), содержащей 100 мкл (10% от общего объема) фетальной телячьей сыворотки (fetal calf serum, Gibco). Контроль pH осуществляли путем предварительного добавления 5 мл буфера HEPES (N-2-гидроксиэтилпиперазин-N-2-этансульфонокислота, N-2-hydroxyethylpiperazine-N-2-ethane sulfonic acid, Gibco) к 495 мл культуральной среды DMEM (финальная концентрация HEPES-буфера в среде – 1%).

После кратковременного перемешивания на вортексе пробирки объемом 1,5 мл (Eppendorf) с реагентами для синтеза бионов инкубировали при +37 °С, 5% CO₂ и 90% влажности (МСО-18А1С, Sanyo) в течение 24 часов с дальнейшим центрифугированием при 200,000 x g и 4 °С в течение 1 часа (Optima MAX-XP, Beckman Coulter). С целью получения рабочей суспензии для инъекции в хвостовую вену крыс осадок СКФБ растворяли в 300 мкл, осадок ИКФБ – в 1500 мкл, а осадок МФБ – в 500 мкл 0,9% раствора NaCl, что позволяло достичь мутности суспензии в 0,5 стандарта МакФарланда (МкФ), эквивалентной оптической плотности на длине волны 650 нм 0,08–0,10. Данные значения соответствуют минимально измеримой и патофизиологически релевантной концентрации бионов в растворе. Все вышеуказанные процедуры проводились в стерильных условиях.

Эксперименты проводили на самцах крыс линии Wistar (n=40) весом 200–300 г, используя модель ангиопластики брюшной аорты баллоном для коронарной ангиопластики [19]. После введения в анестезию 3% изофлураном, все животные получали ингаляционную анестезию 2% изофлураном в течение всего времени операции. Животное фиксировали в положении лежа на спине, состригали с поверхности брюшной стенки шерсть и обрабатывали операционное поле 70% этанолом. Затем выполняли полную срединную лапаротомию. После изолирования полости брюшины салфетками, петли кишечника отводили вправо и заворачивали в предварительно увлажненную и согретую салфетку. Вдоль корня брыжейки вскрывали задний листок брюшины и выделяли аорту от уровня почечных артерий до бифуркации. На аорту дистальнее почечных артерий и на уровне бифуркации аорты накладывали два сосудистых зажима типа «бульдог». При этом одновременно пережимали аорту и нижнюю полую вену. На 3 мм проксимальнее бифуркации аорты аорту пунктировали в проксимальном направлении иглой 21G и в просвет сосуда заводили баллон для коронарной баллонной ангиопластики. Затем проводили ангиопластику давлением инфляции 6 атм в течение 30 с. После этого баллон извлекали, просвет аорты промывали 0,9% NaCl, накладывали П-образный шов (Prolene 8–0). Место повреждения эндотелия после проведения ангиопластики находилось на 4 мм проксимальнее П-образного шва. Петли кишечника укладывали в брюшную полость, переднюю брюшную стенку послойно ушивали непрерывным обвивным швом (Лавсан 4–0). Непосредственно перед ушиванием брюшную полость заполняли подогретым до 37 °С 0,9% NaCl. Для изучения токсического действия бионов на интиму аорты крыс суспензию СКФБ, ИКФБ или МФБ (900 мкл, 0,5 МкФ) или такой же объем стерильного 0,9% NaCl однократно вводили в хвостовую вену (по 10 животных на группу). Все процедуры проводились в стерильных условиях. После операции животных помещали в клетку на теплую подстилку. Осмотр крыс проводился ежедневно. Все процедуры осуществлялись в соответствии с руководством по уходу и использованию лабораторных животных [20].

Вывод животных из эксперимента после оперативного вмешательства проходил через пять недель с последующей эксплантацией поврежденного участка брюшной аорты, который фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине в течение 24 ч при 4 °С с последующей заливкой в парафин. Для изучения эксплантированных аорт делали циркулярные срезы толщиной 8 мкм (12 серийных срезов, равномерно распределенных по всей длине соответствующего сегмента аорты, на стекло) и окрашивали гематоксилин-эозином с последующей визуализацией при помощи световой микроскопии (AxioImager.A1, Carl Zeiss). Оценивали наличие или отсутствие гипертрофии

интимы, а также соотношение количества и общей площади лимфатических фолликулов между группами в программе ImageJ (National Institutes of Health).

Статистическую обработку полученных данных выполняли при помощи программы GraphPad Prism 6 (GraphPad Software). Межгрупповое сравнение проводили посредством однофакторного дисперсионного анализа, в случае выявления статистически значимых различий между группами осуществляли последующее попарное сравнение групп с использованием критерия Тьюки. Различия между группами признавали статистически значимыми при вероятности отвергнуть верную нулевую гипотезу $p \leq 0,05$.

Результаты

Через пять недель после введения бионов в хвостовую вену крыс, в предварительно поврежденных баллоном участках брюшных аорт, при окрашивании гематоксилин-эозином визуализировалась гипертрофия интимы в группах крыс, которым вводили СКФБ и ИКФБ. Именно в этих двух группах было идентифицировано большое количество лимфатических фолликулов, расположенных в адвентиции вдоль брюшной аорты. Экспозиция МФБ не оказала значимого токсического действия на брюшную аорту крыс, о чем свидетельствует отсутствие выраженного ремоделирования сосуда, а также сопоставимое с контрольной группой (0,9% NaCl) количество лимфатических фолликулов (рис. 1).

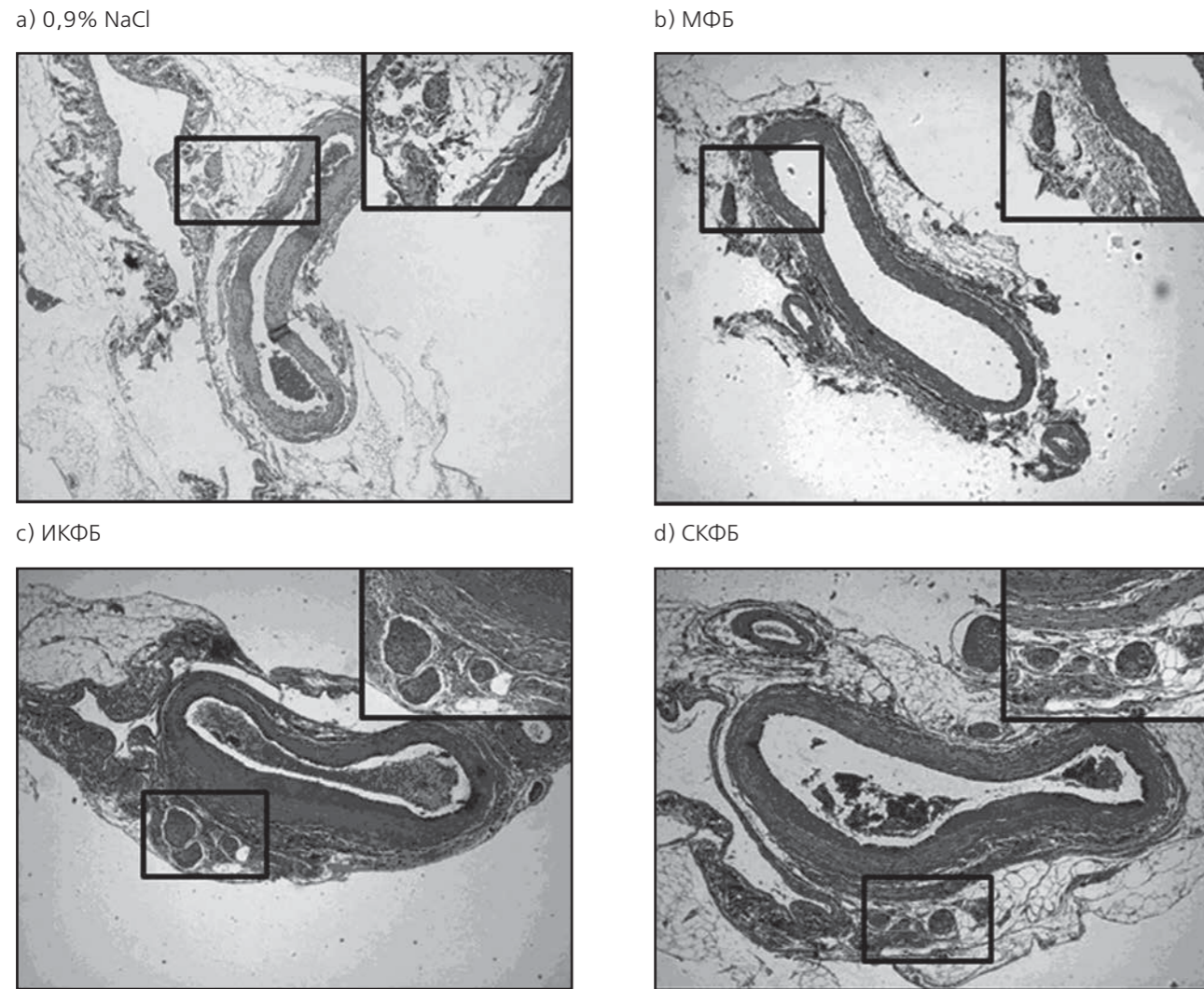
Выявлено, что экспозиция СКФБ и ИКФБ вызывает повышенную воспалительную реакцию в адвентиции посредством образования большого количества лимфатических фолликулов, причем их общая площадь существенно выше в сравнении с таковой в аортах, экспонированных МФБ или 0,9% раствору NaCl. В то же время количество и общая площадь лимфатических фолликулов адвентиции при экспозиции МФБ статистически значимо не отличались от контрольной группы, что свидетельствовало об отсутствии выраженного воспаления адвентиции (рис. 2).

Обнаружено, что при наличии гипертрофии интимы количество и площадь лимфатических фолликулов в адвентиции увеличивается независимо от типа бионов (рис. 3).

Обсуждение

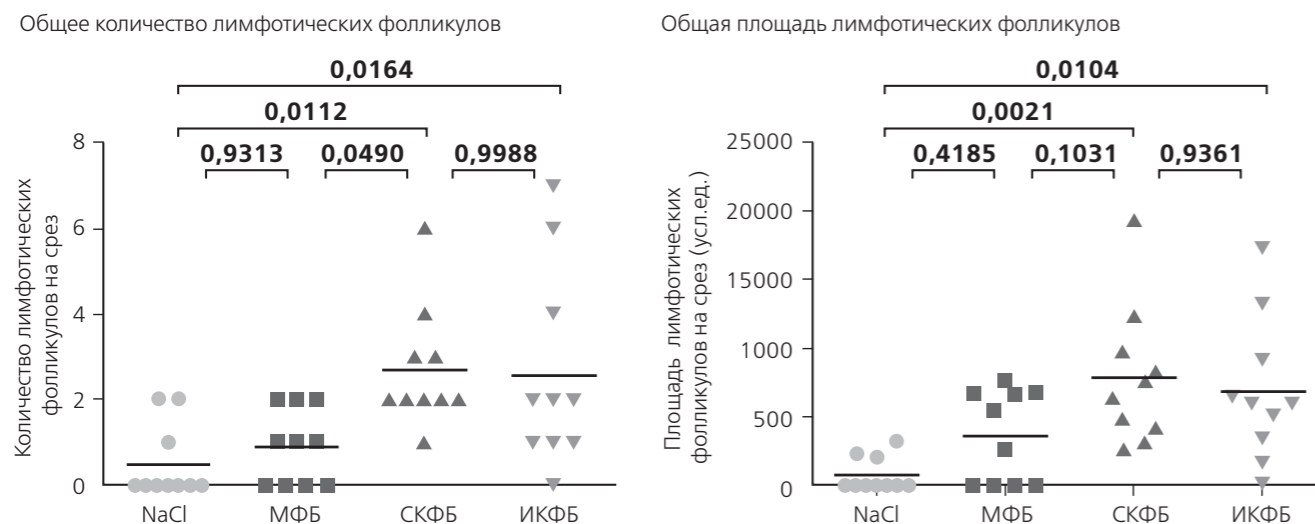
Наблюдения ряда авторов указывают на то, что КФБ оказывают как цитотоксическое [6, 21, 22], так и эндотелиотоксическое действие [6], однако природа их токсического действия остается неизвестной: неясно, специфично оно только для данного типа бионов или же для всех типов корпускулярных наночастиц. Ответ на данный вопрос позволит улучшить понимание механизмов триггерной роли КФБ в развитии атеросклероза, что

Рис. 1. Гистологический препарат брюшных аорт крыс, окрашенный гематоксилин-эозином, репрезентативные снимки (увеличение x50, вставки в правом верхнем углу – x200)



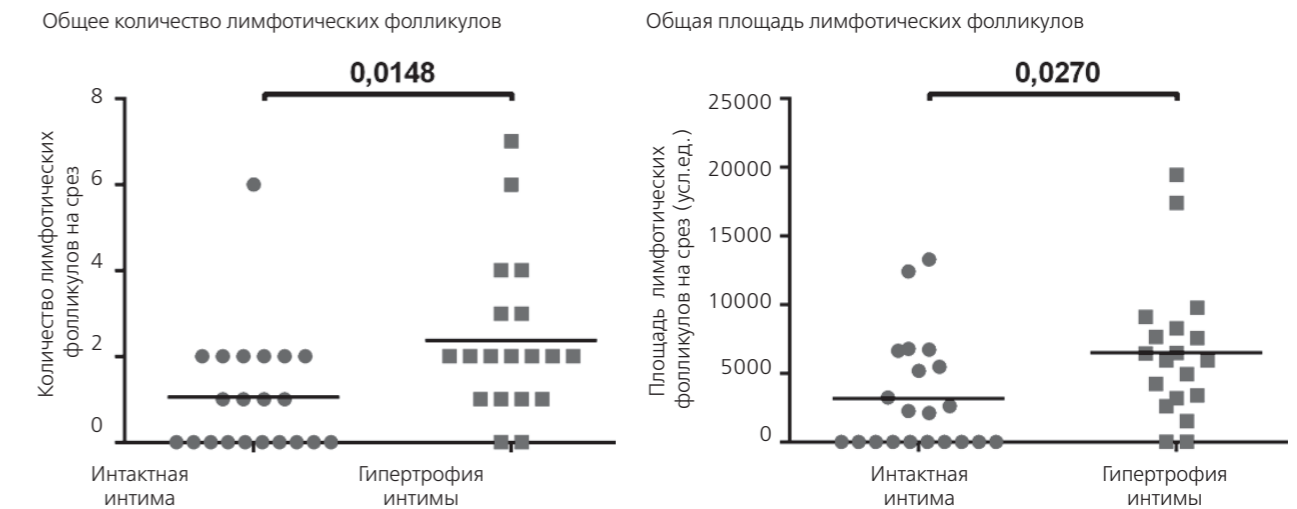
Примечание: а) 0,9% NaCl – физиологический раствор, б) МФБ – магний-фосфатные бионы, с) СКФБ – сферические кальций-фосфатные бионы, д) ИКФБ – игольчатые кальций-фосфатные бионы.

Рис. 2. Анализ количества и общей площади лимфатических фолликулов в адвентиции в зависимости от типа бионов



Примечание: NaCl – 0,9% раствор NaCl, МФБ – магний-фосфатные бионы, СКФБ – сферические кальций-фосфатные бионы, ИКФБ – игольчатые кальций-фосфатные бионы.

Рис. 3. Анализ количества и общей площади лимфатических фолликулов в адвентиции сосудов с интактной интимой и гипертрофией интимы независимо от типа бионов



в свою очередь может поспособствовать разработке новых средств антикальцифицирующей терапии, которая может быть применена в профилактике и лечении этой патологии [23, 24]. Для оценки специфичности эндотелиотоксического действия КФБ в качестве группы сравнения были искусственно синтезированы МФБ, имеющие аналогичные форму, диаметр, элементный состав (за исключением наличия магния икратно более низкого содержания кальция), функциональные группы и органический состав, однако характеризующиеся другой химической формулой соединения (магния фосфат гидрат вместо гидроксиапатита и карбонат-гидроксиапатита).

Целостность и функциональная активность эндотелия играют ключевую роль в его устойчивости к атерогенезу [7, 8, 25, 26]. Существуют два основных механизма возникновения гипертрофии интимы. Первый механизм предполагает, что факторы сердечно-сосудистого риска инициируют повреждение эндотелия и каскад провоспалительных событий, что приводит к инфильтрации интимы моноцитами, впоследствии дифференцирующимися в макрофаги, которые поглощают окисленные липопротеины низкой плотности, образуя пенистые клетки [7, 8, 25, 26]. В дальнейшем происходит деградация базальной мембраны вследствие действия матриксдеградирующих ферментов; поврежденный эндотелий и макрофаги синтезируют множество хемокинов и факторов роста, которые индуцируют миграцию гладкомышечных клеток из меди и фибробластов из адвентиции в интиму с их дальнейшей пролиферацией и постепенным переходом на синтетический фенотип, сопровождающийся активным синтезом ими белков экстрацеллюлярного матрикса, что в конечном счете приводит к образованию неоинтимы [8, 26, 27]. По второму механизму воспаление сосуда начинается с адвентиции и постепенно переходит на

медию и интиму. В пользу второго механизма свидетельствует значительное количество макрофагов и лимфоцитов, локализованных в адвентиции [28]. В ряде экспериментальных исследований стимулирование ангиогенными факторами приводило к разветвлению и истончению vasa vasorum по типу опухолевой микрососудистой сети и, соответственно, к формированию неоинтимы даже при отсутствии механического повреждения эндотелия; при этом ингибирование синтеза факторов роста приводило к нормализации микрососудистой сети [29, 30]. Увеличение количества vasa vasorum адвентиции обеспечивает эндотелиальный субстрат для эндотелиально-мезенхимального перехода. Благодаря этому процессу происходит миграция и накопление гладкомышечных клеток, что приводит к отложению экстрацеллюлярного матрикса, а также накоплению лейкоцитов и тромбоцитов из-за экспрессии различных молекул адгезии.

Визуализируемые в нашем эксперименте лимфатические фолликулы, расположенные в адвентиции, выступают в качестве депо лимфоцитов, ответственных за воспалительный ответ. Единичное присутствие лимфатических фолликулов в адвентиции крыс, которым внутривенно вводили 0,9% раствор NaCl и МФБ, можно объяснить механическим повреждением эндотелия в процессе баллонной ангиопластики. В то же время в адвентиции крыс, брюшные аорты которых экспонировались СКФБ и ИКФБ, визуализировались выраженные скопления лимфатических фолликулов. Заметно достоверное увеличение общей площади самих фолликулов в этих группах, что, вероятнее всего, связано с дополнительным к механическому повреждению токсическим действием КФБ на сосуд. Так например, при баллонной ангиопластике коронарных артерий свиней было показано, что именно адвентиция является основным местом для развития острого воспаления после механического повреждения

сосуда [31]. В клинической практике, у пациентов с тяжелым коронарным атеросклерозом, воспалительная клеточная инфильтрация начинается с адвентиции и постепенно переходит на гипертрофированный участок интимы с параллельным формированием адвентициальных лимфатических фолликулов, содержащих плазматические клетки [32].

Выводы

Внутривенное введение СКФБ и ИКФБ при индуцированном повреждении брюшной аорты вызывает развитие гипертрофии интимы и ассоциированную с ней выраженную воспалительную реакцию адвентиции (формирование лимфатических фолликулов), что сопровождается развитием атеросклероза. В то же время внутривенное вве-

дение МФБ не вызывало подобных патологических изменений в аорте, что доказывает взаимосвязь эндотелиотоксического действия КФБ с развитием воспаления в адвентиции.

Источник финансирования

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ) в рамках научного проекта № 17-04-00570 «Оценка специфичности токсического действия кальций-фосфатных бионов на эндотелий».

Конфликт интересов

Конфликт интересов отсутствует.

Список литературы

- Lind L, Skarfors E, Berglund L, Lithell H, Ljunghall S. Serum calcium: a new, independent, prospective risk factor for myocardial infarction in middle-aged men followed for 18 years. *J Clin Epidemiol.* 1997;50(8):967-73. doi: 10.1016/S0895-4356(97)00104-2;
- Foley RN, Collins AJ, Isbani A, Kalra PA. Calcium-phosphate levels and cardiovascular disease in community-dwelling adults: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am Heart J.* 2008;156(3):556-63. doi: 10.1016/j.ahj.2008.05.016;
- Larsson TE, Olauson H, Hagström E, Ingelsson E, Arnlöv J, Lind L, Sundström J. Conjoint effects of serum calcium and phosphate on risk of total, cardiovascular, and noncardiovascular mortality in the community. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30(2):333-9. doi: 10.1161/ATVBAHA.109.196675;
- Danesh J, Collins R, Appleby P, Peto R. Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease: meta-analyses of prospective studies. *JAMA.* 1998;279(18):1477-82. doi: 10.1001/jama.279.18.1477;
- Sun ZL, Xie QY, Guo GL, Ma K, Huang YY. Serum fetuin-A levels in patients with cardiovascular disease: a meta-analysis. *Biomed Res Int.* 2014; 2014:691540. doi: 10.1155/2014/691540;
- Kutikbin AG, Velikanova EA, Mukhamdiyarov RA, Glushkova TV, Borisov VV, Matveeva VG, Antonova LV, Filip'ev DE, Golovkin AS, Shishkova DK, Burago AY, Frolov AV, Dolgov VYu, Efimova OS, Popova AN, Malysheva VYu, Vladimirov AA, Sozinov SA, Ismagilov ZR, Russakov DM, Lomzov AA, Pysbnyi DV, Gutakovskiy AK, Zbivodkov YA, Demidov EA, Peltek SE, Dolganyuk VF, Babich OO, Grigoriev EV, Brusina EB, Barbarash OL, Yuzhalin AE. Apoptosis-mediated endothelial toxicity but not direct calcification or functional changes in anti-calcification proteins defines pathogenic effects of calcium phosphate bions. *Sci. Rep.* 2016; 6:27255. doi: 10.1038/srep27255;
- Cabill PA, Redmond EM. Vascular endothelium - Gatekeeper of vessel health. *Atherosclerosis.* 2016;248:97-109. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.03.007;
- Gimbrone MA, Garcia-Cardena G. Endothelial Cell Dysfunction and the Pathobiology of Atherosclerosis. *Circ. Res.* 2016;118(4):620-636. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306301;
- Wu CY, Young L, Young D, Martel J, Young JD. Bions: a family of biomimetic mineralo-organic complexes derived from biological fluids. *PLoS One.* 2013; 8(9):e75501. doi: 10.1371/journal.pone.0075501;
- Young JD, Martel J, Young D, Young A, Hung CM, Young L, Chao YJ, Young J, Wu CY. Characterization of granulations of calcium and apatite in serum as pleomorphic mineralo-protein complexes and as precursors of putative nanobacteria. *PLoS One.* 2009;4(5):e5421. doi: 10.1371/journal.pone.0005421;
- Mulligan-Keboe MJ, Simons M. Vasa Vasorum in Normal and Diseased Arteries. *Circulation.* 2014;129:2557-66. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.007189.
- Michel JB, Thauat O, Houard X, Meilbac O, Caligiuri G, Nicoletti A. Topological determinants and consequences of adventitial responses to arterial wall injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27:1259-68. doi: 10.1161/ATVBAHA.106.137851;
- Gxssl M, Malyar NM, Rosol M, Beighley PE, Ritman EL. Impact of coronary vasa vasorum functional structure on coronary vessel wall perfusion distribution. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003;285:H2019-26. doi: 10.1152/ajpheart.00399.2003;
- Sbi Y, O'Brien JE, Fard A, Mannion JD, Wang D, Zalewski A. Adventitial myofibroblasts contribute to neointimal formation in injured porcine coronary arteries. *Circulation.* 1996; 94:1655-1664. doi: 10.1161/01.CIR.94.7.1655;
- Sbi Y, Pieniek M, Fard A, O'Brien J, Mannion JD, Zalewski A. Adventitial remodeling after coronary arterial injury. *Circulation.* 1996;93:340-8. doi: 10.1161/01.CIR.93.2.340;
- Jabs A, Okamoto E, Vinten-Jobansen J, Bauriedel G, Wilcox JN. Sequential patterns of chemokine- and chemokine receptor-synthesis following vessel wall injury in porcine coronary arteries. *Atherosclerosis.* 2007;192:75-84. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2006.05.050;
- Moos MP, John N, Gröbner R, Nossmann S, Götter B, Vollandt R, Funk CD, Kaiser B, Habenicht AJ. The lamina adventitia is the major site of immune cell accumulation in standard chow-fed apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25:2386-91. doi: 10.1161/01.ATV.0000187470.31662.fe;
- Herrmann J, Lerman LO, Rodriguez-Porcel M, Holmes DR, Richardson DM, Ritman EL, Lerman A. Coronary vasa vasorum neovascularization precedes epicardial endothelial dysfunction in experimental hypercholesterolemia. *Cardiovasc Res.* 2001;51:762-6. doi: 10.1016/S0008-6363(01)00347-9;
- Sin'kov MA, Filip'ev DE, Sevost'yanova VV, Velikanova EA, Golovkin AS, Burago AY, Ganyukov VI. Experimental model of rat aorta angioplasty with a paclitaxel releasing balloon catheter. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2013;156(9):392-5. doi: 10.1007/s10517-014-2361-z;
- Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 8th edition. National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011. doi: 10.17226/12910;
- Aghagolzadeh P, Bachler M, Bijarnia R, Jackson C, Smith ER, Odermatt A, Radpour R, Pasch A. Calcification of vascular smooth muscle cells is induced by secondary calcium protein particles and enhanced by tumor necrosis factor- α . *Atherosclerosis.* 2016; 251:404-14. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.05.044;
- Peng HH, Wu CY, Young D, Martel J, Young A, Ojcius DM, Lee YH, Young JD. Physicochemical and biological properties of biomimetic mineralo-protein nanoparticles formed spontaneously in biological fluids. *Small.* 2013; 9(13):2297-307. doi: 10.1002/sml.201202270;
- Escolar E, Lamas GA, Mark DB, Boineau R, Goertz C, Rosenberg Y, Nabin RL, Ouyang P, Rozema T, Magaziner A, Nabas R, Lewis EF, Lindblad L, Lee KL. The effect of an EDTA-based chelation regimen on patients with diabetes mellitus and prior myocardial infarction in the Trial to Assess Chelation Therapy (TACT). *Circ Cardiovasc Qual Outcomes.* 2014;7(1):15-24. doi: 10.1161/CIRCOUTCOMES.113.000663;
- Peguero JG, Arenas I, Lamas GA. Chelation therapy and cardiovascular disease: connecting scientific silos to benefit cardiac patients. *Trends Cardiovasc Med.* 2014;24(6):232-40. doi: 10.1016/j.tcm.2014.06.002;
- Jensen HA, Mehta JL. Endothelial cell dysfunction as a novel therapeutic target in atherosclerosis. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2016; 14(9):1021-33. doi: 10.1080/14779072.2016.1207527;
- Yurdagul A, Finney AC, Woolard MD, Orr AW. The arterial microenvironment: the where and why of atherosclerosis. *Biochem J.* 2016;473(10):1281-95. doi: 10.1042/BJ20150844;
- Xu J, Shi GP. Vascular wall extracellular matrix proteins and vascular diseases. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1842(11):2106-19. doi:10.1016/j.bbdis.2014.07.008;
- Galkina E, Kadl A, Sanders J, Varughese D, Sarembock IJ, Ley K. Lymphocyte recruitment into the aortic wall before and during development of atherosclerosis is partially L-selectin dependent. *J Exp Med.* 2006;203(5):1273-82. doi: 10.1084/jem.20052205;
- Khurana R, Zhuang Z, Bhardwaj S, Murakami M, De Muinck E, Yla-Herttuala S, Ferrara N, Martin JF, Zachary I, Simons M. Angiogenesis-dependent and independent phases of intimal hyperplasia. *Circulation.* 2004;110:2436-43. doi: 10.1161/01.CIR.0000145138.25577.F1;
- Koga J, Matoba T, Egashira K, Kubo M, Miyagawa M, Iwata E, Sueishi K, Shibuya M, Sunagawa K. Soluble Flt-1 gene transfer ameliorates neointima formation after wire injury in flt-1 tyrosine kinase-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009;29:458-64. doi: 10.1161/ATVBAHA.109.183772;
- Okamoto E, Couse T, De Leon H, Vinten-Jobansen J, Goodman RB, Scott NA, Wilcox JN. Perivascular inflammation after balloon angioplasty of porcine coronary arteries. *Circulation.* 2001;104:2228-35. doi: 10.1161/hc4301.097195;
- Watanabe M, Sangawa A, Sasaki Y, Yamashita M, Tanaka-Shintani M, Shintaku M, Isbikawa Y. Distribution of inflammatory cells in adventitia changed with advancing atherosclerosis of human coronary artery. *J Atheroscler Thromb.* 2007;14:325-31. doi: 10.5551/jat.E489.