



<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2019-34-3-66-72>
УДК 616.126.52-007.271:616-092.18



Молекулярные аспекты патологической активации и дифференцировки вальвулярных интерстициальных клеток при развитии кальцинирующего аортального стеноза

А.Е. Костюнин

Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний,
650002, Российская Федерация, Кемерово, Сосновый бульвар, 6

Аннотация

Кальцинирующий аортальный стеноз (КАС) является самым распространенным пороком сердца. Патогенез этого заболевания сходен с атеросклеротическим процессом в сосудах. Известно, что главной движущей силой фиброзного ремоделирования и минерализации тканей аортального клапана (АК) являются активация и последующая дифференцировка клапанных интерстициальных клеток в остео- и миофибробластоподобные клетки. Тем не менее, стоящие за этими процессами молекулярные механизмы до сих пор слабо изучены. В настоящей статье собрана и проанализирована современная информация по данному вопросу, рассмотрены основные молекулярные пути, опосредующие патологическую дифференцировку клеток клапана, причины их активации.

Ключевые слова:

аортальный стеноз, клетки, сигнальные пути, дифференцировка.

Конфликт интересов:

авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Прозрачность финансовой деятельности:

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

Для цитирования:

Костюнин А.Е. Молекулярные аспекты патологической активации и дифференцировки вальвулярных интерстициальных клеток при развитии кальцинирующего аортального стеноза. *Сибирский медицинский журнал*. 2019;34(3):66–72. <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2019-34-3-66-72>.

Molecular aspects of the pathological activation and differentiation of valvular interstitial cells during the development of calcific aortic stenosis

Alexander E. Kostyunin

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases,
6, Sosnoviy blvd., Kemerovo, 650000, Russian Federation

Abstract

Calcific aortic stenosis is the most common valvular heart disease. The pathogenesis of this disease is complex and resembles the atherosclerotic process in the blood vessels. It is known that valvular interstitial cell activation and subsequent differentiation

✉ Костюнин Александр Евгеньевич, e-mail: rhabdophis_tigrina@mail.ru.

into osteoblast- and myofibroblast-like cells is the main driving force of fibrous and calcified aortic valve tissue. However, the molecular mechanisms behind these processes are still not fully understood. Current information on this issue is collected and analyzed in this article. The main molecular pathways mediating the pathological differentiation of the valvular interstitial cells and the reasons for their activation are considered.

Keywords:	aortic stenosis, cells, signaling pathways, cellular differentiation.
Conflict of interest:	the authors do not declare a conflict of interest.
Financial disclosure:	the study was performed in a framework of the integrated program for basic research of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences according to the fundamental theme of the Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases No. 0546-2015-0011 titled "Pathogenetic justification of the development of biocompatible material-based implants for cardiovascular surgery with implementation of a patient-centered approach using mathematical modelling, tissue engineering, and genomic predictors".
For citation:	Kostyunin A.E. Molecular aspects of the pathological activation and differentiation of valvular interstitial cells during the development of calcific aortic stenosis. <i>The Siberian Medical Journal</i> . 2019;34(3):66–72. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2019-34-3-66-72 .

Введение

Аортальный стеноз представляет собой часто встречающийся клапанный порок сердца. Его наиболее распространенной формой является кальцинирующий аортальный стеноз (КАС), поражающий преимущественно лиц пожилого и старческого возраста и особенно часто выявляемый среди жителей развитых стран [1]. Данное состояние вызывается патологическим фиброзным утолщением и кальцификацией створок аортального клапана (АК), которое приводит к прогрессирующему стенозу и, как следствие, к хронической сердечной недостаточности [1]. Согласно современным оценкам, распространенность этого заболевания у пациентов в возрасте ≥ 75 лет составляет порядка 4,9 млн в Европе и 2,7 млн в Северной Америке [2]. В ближайшие десятилетия прогнозируется рост количества больных КАС, что связывается с увеличением продолжительности жизни и старением населения [2–4]. В соответствии с приведенной статистикой, КАС является основной причиной для замены АК в Европе и США [5]. Сегодня единственными способами лечения КАС являются или традиционное хирургическое протезирование АК, или щадящая транскатетерная замена методом TAVR, тогда как медикаментозная терапия неэффективна [6]. Таким образом, в современных руководствах нет рекомендаций по фармакотерапии пациентов с КАС, за исключением предписаний по лечению сопутствующей артериальной гипертензии [5, 7]. Тем не менее в настоящее время ведутся исследования, направленные на поиск способа неинвазивного лечения КАС.

Важно отметить, что понимание этиопатогенеза КАС существенно изменилось за последние 20 лет. Теперь КАС уже не рассматривается как чисто дегенеративное возрастное заболевание, связанное исключительно с изнашиванием и дистрофической кальцификацией створок АК. Многочисленные исследования показывают, что в основе патофизиологии КАС лежит сложный атеросклерозоподобный процесс [1]. Хотя клинические особенности рассматриваемой болезни давно установлены,

молекулярные и клеточные механизмы, стоящие за ее развитием, все еще не до конца понятны. Тем не менее совершенно ясно, что центральную роль в развитии и прогрессировании этого заболевания играют процессы активации, остео- и миофибробластной дифференцировки клапанных, или вальвулярных интерстициальных клеток (ВИК), отвечающих за продукцию и разрушение клапанного внеклеточного матрикса [1]. Современный прорыв в понимании патофизиологии КАС закономерно увеличил интерес к изучению биологии ВИК, поскольку управление процессами их патологической активации и дифференцировки потенциально может замедлить или повернуть вспять прогрессирование болезни. Таким образом, настоящий обзор сконцентрирован на рассмотрении молекулярных механизмов, ответственных за патологическую дифференцировку ВИК, причинах их активации при развитии кальцинирующего поражения АК.

Краткая характеристика ВИК

ВИК представляют собой пластичную гетерогенную популяцию клеток, преобладающих в тканях АК [8, 9]. Они играют ключевую роль в клапанном гомеостазе, поддерживая оптимальный биохимический состав и нормальную структуру тканей, а также обеспечивая процессы репарации матрикса за счет сбалансированной и строго регулируемой продукции матриксных компонентов и протеолитических ферментов [8]. В обычных условиях в АК взрослых людей до 95–98% ВИК неактивны и не проявляют выраженной литической или синтетической активности в отношении матрикса [8]. Покоящиеся ВИК имеют фибробластоподобный фенотип, характеризующийся высокой экспрессией виментина и умеренной экспрессией миозина гладкой мускулатуры (SMM) и альфа гладкомышечного актина (α -SMA) [9]. В отличие от эндотелиальных клеток (ЭК), образующих монослой на поверхности створок, ВИК не экспрессируют кадгерин сосудистого эндотелия (VE-кадгерина, CD144), белок PECAM1 (CD31) и фактор фон Виллебранда [9]. Впрочем,

в толще матрикса могут встречаться единичные клетки, ко-экспрессирующие эндотелиальные и мезенхимальные маркеры, например, CD31 и α -SMA [9]. Природа этого явления не до конца понятна, предполагается, что оно может быть связано с эндотелиально-мезенхимальной трансформацией ЭК [9–11].

В свою очередь, присутствующие в тканях здоровых АК немногочисленные активированные ВИК фенотипически близки к миофибробластам и гладкомышечным клеткам (ГМК) благодаря высокому уровню экспрессии α -SMA и других компонентов сократительного аппарата [12]. Стоит отметить, что современные исследования демонстрируют присутствие в вентрикулярном слое АК небольшой популяции ГМК (менее 5% общей клеточной популяции клапана), которые могут быть дифференцированы от активированных ВИК по экспрессии тяжелой цепи миозина гладкой мускулатуры (SM-MHC) и смутелина [13].

Важной особенностью ВИК является большая фенотипическая пластичность [14], позволяющая им адаптироваться к различным физиологическим условиям [15]. Благодаря этому ВИК обеспечивают адекватный компенсаторно-приспособительный ответ тканей АК на изменение условий микро среды, поддерживая его нормальное функционирование [15]. Тем не менее чрезмерная активация ВИК является главной причиной гистопатологических изменений, характерных для патогенеза КАС, и предшествующего ему аортального склероза [1, 8]. Появление большого количества активных миофибробластоподобных клеток в створках АК ведет к дезорганизации процессов синтеза и разрушения матрикса, сопровождаемой перепродукцией коллагена и других матричных компонентов. Результатом нарушения обмена внеклеточного матрикса являются накопление фиброзной ткани и ее последующая дистрофическая кальцификация.

На поздних стадиях КАС отдельные популяции ВИК могут проявлять фенотип, близкий к фенотипу остеобластов, принимая активное участие в формировании кальциевых депозитов в клапане, причем этот процесс во многом напоминает репарацию костной ткани [16, 17]. Остеобластная дифференцировка ВИК выявляется по экспрессии специфических маркеров, включающих костные морфогенетические белки (BMP), щелочную фосфатазу (ALP), неколлагеновые белки костного матрикса (остеопонтин, остеокальцин и костный сиалопротейн), а также ядерные транскрипционные факторы, такие как RUNX2 и MSX2 [1, 18]. Стоит отметить, что уровни экспрессии остеогенных маркеров в этих популяциях ВИК все же далеки от таковых в истинных костных остеобластах [18].

Триггеры активации и патологической дифференцировки ВИК

В соответствии с современными представлениями, главным триггером фиброза и кальцификации АК является хроническое асептическое воспаление, возникающее в его створках на ранних стадиях заболевания и провоцирующее активацию ВИК [1]. Известно, что в этот процесс вовлечены липопротеины низкой плотности (ЛПНП), а также ряд связанных с ними ферментов (например, ли-

попротеин-ассоциированная фосфолипаза A2 и аутоксин), компоненты ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и иммунные клетки, в первую очередь макрофаги [1, 16, 19]. При этом окисленные ЛПНП, ангиотензин II, а также выделяемые клетками цитокины, такие как IL-1/2/6, TNF α , TGF- β 1, Wnt3a, RANKL способствуют активации различных сигнальных путей (например, NF- κ B, Smad, p38 MAPK, cAMP/PKA, Wnt) в ВИК, индуцирующих воспалительные, остео- и фиброгенные ответы [1, 16, 19].

По-видимому, воспалительная реакция в АК с последующим фиброзом и кальцификацией развивается в ответ на дисфункцию и/или повреждение эндотелиальной выстилки створок [16]. Целостность эндотелия, а также сохранение его нормального секреторного профиля являются обязательным условием для адекватного функционирования ВИК [16]. Здоровый эндотелий выполняет барьерную функцию, предотвращая отложение ЛПНП и других воспалительных агентов в матриксе, а также препятствует инфильтрации тканей АК иммунными клетками. Более того, ЭК могут контролировать функции ВИК посредством паракринной сигнализации, в частности, они препятствуют массовой активации и патологической дифференцировке последних, продуцируя высокие уровни оксида азота [20] и натрийуретического пептида С-типа [21]. Таким образом, нарушение барьерной и регуляторной функций эндотелия служит главным триггером опосредуемой воспалением чрезмерной активации и последующей дифференцировки ВИК в остео- и миофибробластоподобные клетки.

Основные молекулярные пути остео- и миофибробластной дифференцировки ВИК

Дифференцировка ВИК в миофибробластоподобные и остеогенные клетки может происходить при участии нескольких независимых механизмов. Нами будут кратко рассмотрены лишь наиболее изученные из них.

Активация пути Wnt и остеогенез. Канонический сигнальный путь Wnt является одним из важнейших молекулярных каскадов, активация которого необходима как для остеобластной [22], так и для миофибробластной [23] дифференцировки ВИК. Накопление в тканях клапана окисленных ЛПНП и активация ангиотензина II вызывает повышение оксидативного стресса, который способствует секреции белка Wnt3a клапанными ЭК [22]. Wnt3a связывается с рецепторами Lrp5 и Frizzled на поверхности ВИК, что предотвращает убиквитинирование и протеасомную деградацию β -катенина в цитоплазме последних. Стабилизация и накопление β -катенина в цитозоле с последующей его транслокацией в ядро приводит к активации транскрипционных факторов Lef/Tcf, индуцирующих экспрессию различных генов [24], включая RUNX2, который является основным регулятором остеогенной дифференцировки и остеогенеза [22].

Каскады TGF- β 1/Smad и Wnt3A/ β -катенин в дифференцировке миофибробластов. Экспериментально установлено, что сигнальный путь TGF- β 1/Smad играет ключевую роль в активации и миофибробластной диффе-

ренцировке ВИК [23]. Связывание TGF- β 1 с соответствующими ему рецепторами TGF- β R1 и TGF- β R2 приводит к активации белков Smad2/3, которые транслоцируются в ядро, где модулируют экспрессию ряда генов, в первую очередь, активируя гены α -SMA и SM22 α [23]. Важно отметить, что критическое значение в этом процессе играет эффектор пути Wnt β -катенин, в отсутствие которого переход ВИК в миофибробласты ингибируется [23]. Сигналы TGF- β 1 и Wnt3a способствуют транслокации β -катенина в клеточное ядро независимо друг от друга, но в отличие от сигналов Wnt активация Smad2/3 не повышает его цитозольную концентрацию [23]. Однако при синергическом действии TGF- β 1 и Wnt3a наблюдается значительное увеличение концентрации β -катенина в цитоплазме ВИК, а его транслокация в клеточное ядро резко повышается по сравнению с независимой активацией этих сигналов [23].

Механизм, с помощью которого TGF- β 1 индуцирует транслокацию β -катенина в ядро, изучен слабо. Основываясь на данных *in vitro*, полученных на клеточных культурах мезенхимальных стволовых клеток [25] и хондроцитов [26], можно предположить, что белки Smad (главным образом Smad3) могут взаимодействовать с β -катенином и образовывать белковый комплекс, защищающий β -катенин от деградации в протеосомах и облегчающий его транслокацию в ядро клетки. Внутри ядра белки Smad2/3 и β -катенин взаимодействуют с соответствующими сайтами связывания, при этом их совместная транскрипционная активность отличается от таковой, наблюдаемой при их независимом связывании [27]. Индукция миофибробластной дифференцировки и подавление остеогенной программы происходит только при синергическом действии Wnt3a и TGF- β 1, однако в отсутствие TGF- β 1 активация пути Wnt индуцирует экспрессию RUNX2 [27]. Примечательно, что иммуногистохимическое окрашивание пораженных АК свиней демонстрирует совместную локализацию миофибробластов с белками TGF- β 1, Smad2/3, Wnt3a и β -катенином [23].

Важно отметить, что индуцированная TGF- β 1 миофибробластная дифференцировка ВИК *in vitro* происходит только на достаточно жестких или испытывающих значительное растяжение матрицах, имитирующих фиброзу или склеротическую ткань [23, 28], тогда как снижение жесткости подложки может обращать дифференцировку миофибробластов вспять [29]. ВИК, культивируемые на мягких матрицах с модулями упругости менее 11 кПа, не реагируют на экзогенный TGF- β 1, что отчасти объясняется низкой экспрессией его рецепторов в таких условиях [28]. Кроме того, взаимосвязь между жесткостью матрикса и TGF- β 1-зависимой миофибробластной дифференцировкой ВИК может объясняться активацией TGF- β 1 через интегрин-зависимый механизм [30]. TGF- β 1 высвобождается клетками в неактивной форме в составе латентного комплекса, в котором он соединен с латентным TGF- β -связывающим белком и латентно-ассоциированным пептидом [31]. Механизм активации TGF- β 1 основан на том, что создаваемые клетками тяговые силы изменяют конфигурацию белков, входящих в состав дан-

ного комплекса, который связан с матриксом и клеточной мембраной. Это приводит к высвобождению активного TGF- β 1, что делает его доступным для взаимодействия с рецепторами клеточных мембран [30, 31]. Данный механизм возможен только на достаточно жесткой подложке, так как мягкие матрицы с модулем упругости менее 5 кПа не обладают достаточным сопротивлением создаваемому клетками напряжению и легко деформируются, в то время как латентный комплекс остается «закрытым» [30].

Активация системы OPG/RANKL/RANK. Лиганд-рецепторная система, состоящая из остеопротегерина (OPG), рецептора ядерного активатора каппа- β (RANK) и его лиганда (RANKL), является важнейшим регулятором процессов созревания остеокластов и костной резорбции [32]. Ее основным биоактивным эффектором является цитокин RANKL, активность которого регулируется остеопротегерином. Последний представляет собой рецептор «ловушку» для RANKL и препятствует его взаимодействию с RANK.

В настоящее время имеются основания полагать, что система OPG/RANKL/RANK вовлечена в патогенез КАС [22]. Более того, ее участие в процессах сердечно-сосудистой кальцификации отчасти объясняет так называемый кальцификационный парадокс, заключающийся в обратной зависимости между уровнем минерализации костей и степенью кальцификации клапанов и сосудов [33]. RANKL передает сигнал для созревания остеокластов в костях, что провоцирует резорбцию костной ткани [32], однако в клапанах и сосудах данный цитокин действует с точностью до наоборот, индуцируя остеогенную дифференцировку ВИК и способствуя формированию кальциевых депозитов [34]. Таким образом, дисрегуляция системы OPG/RANKL/RANK и увеличение уровней RANKL в организме может вызывать одновременно и резорбцию костей скелета, и кальцификацию АК. Примечательно, что ранняя кальцификация АК и сосудов обнаруживается у мышей с дефицитом OPG [35], а введение экзогенного OPG гиперхолестеринемичным мышам, подверженным развитию КАС, значительно снижает экспрессию моноцитарного хемотаксического белка-1 (MCP-1/CCL2) и остеокальцина в пораженных АК, уменьшая воспаление и замедляя кальцификацию [36]. Кроме того, в стенозированных АК человека по сравнению со здоровыми клапанами наблюдается повышенная экспрессия RANKL, тогда как экспрессия OPG снижена [34].

Роль BMPs в остеогенной трансформации ВИК. BMP представляют собой мощные индукторы остеогенной дифференцировки и играют центральную роль в формировании и регенерации костной ткани [37]. Они стимулируют дифференцировку остеобластов и хондроцитов путем активации сигналов Smad1/5/8, что приводит к увеличению экспрессии нескольких транскрипционных факторов, включая RUNX2, Osterix, MSX2 и DIX5/6 [37]. Показано, что добавление в культуру ВИК BMP-2/4/7 провоцирует их остеогенную дифференцировку через пути Smad1 и ERK1/2, определяемую экспрессией RUNX2, ALP и остеопонтина [38]. Примечательно, что высокая экспрессия BMP-2 и BMP-4 наблюдается лишь в

кальцинированных областях АК, а ВИК, выделенные из этих областей, продуцируют более высокие уровни BMP-2 по сравнению с клетками из здоровых клапанов [38]. Согласно результатам экспериментов *in vivo*, у мышей с дефицитом корцептора FGF-23 Klotho, отличающихся спонтанным развитием КАС, еще до обнаруживаемой болезни выявляется высокое содержание фосфорилированных Smad1/5/8 и BMP-2/4 в кальцифицированных областях АК, что не наблюдается у мышей дикого типа [39]. Механизмы, ведущие к увеличению продукции BMP в пораженных АК, разнообразны и связаны с воздействием ангиотензина II, окисленных ЛПНП и вызываемого ими оксидативного стресса, различных цитокинов и прочих факторов воспаления.

Двойной вклад сигнального каскада Notch. Сигнальный путь Notch включает четыре типа трансмембранных рецепторов Notch1/2/3/4 и их соответствующие лиганды: Jagged-1/2 и DLL1/3/4 [19]. Связывание рецепторов Notch с лигандами приводит к активации γ -секретазного комплекса, который высвобождает внутриклеточный домен Notch (NICD). Последний ингибирует ядерную транслокацию β -катенина, подавляя экспрессию RUNX2 [19]. Таким образом, считается, что сигнальный путь Notch противодействует каскаду Wnt, предотвращая остеогенную дифференцировку ВИК [19, 40]. Результаты ряда оригинальных исследований доказывают эту точку зрения. Так, фармакологическое ингибирование Notch в культурах ВИК овцы увеличивало экспрессию BMP-2, RUNX2, ALP и остеопонтина, способствуя образованию кальцифицированных узелков [41]. Кроме того, мыши линии Notch1 +/- на диете с высоким содержанием липидов демонстрировали более высокую степень кальцификации АК и увеличенную экспрессию BMP-2 по сравнению с мышами дикого типа [41]. Сходные результаты получены в ходе другого исследования, согласно которому обработка культур ВИК свиньи ингибиторами Notch приводила к усилению кальцификации и активации остеогенных маркеров BMP-2, RUNX2, ALP и остеокальцина [42]. В том же исследовании показано, что у мутантных гетерозиготных мышей RBPJk +/- (RBPJk – основной ядерный эффектор сигнального пути Notch) и Notch1 +/- при содержании на западной диете развивается воспаление и фиброз АК [42]. Еще одно исследование демонстрирует, что для кальцинированных областей АК характерна более низкая экспрессия NICD по сравнению с интактными сегментами одного и того же клапана [43]. В свою очередь, клинические исследования показывают, что гетерозиготные мутации в гене Notch1 у людей приводят к нарушению регуляции RUNX2 и связаны не только с минерализацией АК, но и с развитием других нарушений, например, врожденным двустворчатым АК [44, 45].

Вышеприведенные доказательства свидетельствуют о важной роли сигналов Notch в противодействии кальцификации, однако имеются данные, указывающие на обратный эффект, связанный с активацией этого каскада. Так, воздействие липополисахарида усиливает экспрессию BMP-2 и ALP в ВИК человека посредством передачи сигналов TLR4 одновременно с повышением экспрессии

Notch1 [46]. Фармакологическое ингибирование или молчание гена Notch1 снижает экспрессию BMP-2 и ALP, а также передачу сигналов ERK1/2 и NF- κ B в ВИК, выделенных из кальцифицированных АК, тогда как Jagged1 обладает обратным эффектом в культурах ВИК, полученных из здоровых клапанов [46]. Другое исследование той же группы показало, что стимуляция липополисахаридом культур ВИК вызывает активацию Notch1 и высвобождение Jagged-1, а также увеличение экспрессии IL-8, MCP-1 и ICAM-1 [47]. В то же время фармакологическое ингибирование или подавление экспрессии гена Notch1 уменьшает цитокиновый ответ при добавлении липополисахарида [47]. Кроме того, после обработки культур ВИК ингибитором γ -секретазы наблюдалось выравнивание уровней активации NF- κ B между ВИК, выделенными из стенотических и здоровых АК [47]. Наконец, еще одно исследование демонстрирует, что активация каскада Notch связана с лигированием ICAM-1 и может усиливать экспрессию BMP-2 в ВИК человека через активацию пути NF- κ B [48]. Таким образом, приведенные выше исследования показывают контекст-специфическую функцию Notch1 в регуляции передачи сигналов NF- κ B, особенно в условиях активации TLR4.

Заключение

Многочисленные исследования последних 20 лет предоставили убедительные доказательства в пользу теории, что КАС является многофакторным и многоэтапным атеросклерозоподобным процессом, главной движущей силой которого является чрезмерная активация клеток АК. Благодаря изучению иссеченных клапанов, первичных культур ВИК и экспериментов с нокаутными мышами были выявлены разнообразные межклеточные взаимодействия и молекулярные пути, опосредующие патологическую активацию и дифференцировку ВИК. В частности, было установлено, что главную роль в этих процессах играют цитокины Wnt3a, TGF- β 1, BMP, RANKL, через которые осуществляется передача сигналов Wnt, Smad, NF- κ B, JNK, активирующих экспрессию генов остеомиофибробластов в клапанных клетках. К сожалению, в настоящее время известны далеко не все аспекты, связанные с активацией этих каскадов, а также перекрестные взаимодействия между ними. Например, как показывают исследования, изучавшие роль сигнального пути Notch в процессах дифференцировки ВИК, эффекты от активации данного каскада могут быть диаметрально противоположны и сильно зависеть от молекулярного контекста.

Важно отметить, что хотя новые открытия способствовали пересмотру давней концепции этиопатогенеза КАС как простого дегенеративного расстройства, пока они не дали значительных терапевтических преимуществ пациентам с данным заболеванием. Фармакологическое ингибирование патологической дифференцировки ВИК все еще остается перспективным направлением в разработке неинвазивного лечения КАС, которое потенциально способно замедлить или остановить развитие фиброза и минерализации тканей АК, однако этот подход встречает

существенные трудности. Последние связаны с тем, что белки Wnt3a, TGF- β 1, BMP, RANKL, Jagged-1/2, DLL1/3/4 и активируемые ими сигнальные каскады задействованы не только в патогенезе кальцинирующей болезни клапанов сердца, но и в регуляции нормальных физиологических процессов во многих других тканях. Поскольку в настоящее время не разработано способов локальной доставки лекарств к пораженным клапанам, остается лишь системное ингибирование вышеупомянутых молекулярных агентов, которое может иметь серьезные побочные реакции.

В целом проведенные к настоящему моменту фундаментальные исследования уже позволяют обозначить

главную терапевтическую мишень для разработки фармакотерапии КАС. Наиболее перспективным кажется применение ингибитора RANKL деносумаба, который уже используется для лечения и профилактики остеопороза. К сожалению, результаты клинического испытания (NCT02132026), тестирующего эффективность данного препарата в замедлении кальцификации АК у больных с КАС, до сих пор не опубликованы. В свою очередь, чтобы определить, подходят ли другие молекулярные агенты остео- и фиброгенной дифференцировки ВИК на роль мишеней фармакотерапии, необходимы дополнительные фундаментальные изыскания.

Литература / References

- Lindman B.R., Clavel M.A., Mathieu P., Lung B., Lancellotti P., Otto C.M. et al. Calcific aortic stenosis. *Nat. Rev. Dis. Primers*. 2016;3(2):16006. DOI: 10.1038/nrdp.2016.6.
- Osnabrugge R.L., Mylotte D., Head S.J., van Mieghem N.M., Nkomo V.T., LeReun C.M. et al. Aortic stenosis in the elderly: disease prevalence and number of candidates for transcatheter aortic valve replacement: a meta-analysis and modeling study. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2013;62(11):1002–1012. DOI: 10.1016/j.jacc.2013.05.015.
- D'Arcy J.L., Prendergast B.D., Chambers J.B., Ray S.G., Bridgewater B. Valvular heart disease: the next cardiac epidemic. *Heart*. 2011;97(2):91–93. DOI: 10.1136/hrt.2010.205096.
- Thaden J.J., Nkomo V.T., Enriquez-Sarano M. The global burden of aortic stenosis. *Prog. Cardiovasc. Dis*. 2014;56(6):565–571. DOI: 10.1016/j.pcad.2014.02.006.
- Baumgartner H., Falk V., Bax J.J., De Bonis M., Hamm C., Holm P.J. et al. 2017 ESC/EACTS Guidelines for the management of valvular heart disease. *Eur. Heart J*. 2017;38(36):2739–2791. DOI: 10.1093/eurheartj/ehx391.
- Marquis-Gravel G., Redfors B., Leon M.B., G n reux P. Medical treatment of aortic stenosis. *Circulation*. 2016;134(22):1766–1784. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.023997.
- Nishimura R.A., Otto C.M., Bonow R.O., Carabello B.A., Erwin J.P., Fleisher L.A. et al. 2017 AHA/ACC focused update of the 2014 AHA/ACC guideline for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology American Heart Association task force on clinical practice guidelines. *Circulation*. 2017;135(25):e1159–e1195. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000503.
- Schoen F.J. Evolving concepts of cardiac valve dynamics: the continuum of development, functional structure, pathobiology, and tissue engineering. *Circulation*. 2008;118(18):1864–1880. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.805911.
- Rutkovskiy A., Malashicheva A., Sullivan G., Bogdanova M., Kostareva A., Stensl kken K.O. et al. Valve interstitial cells: the key to understanding the pathophysiology of heart valve calcification. *J. Am. Heart Assoc*. 2017;6(9):e006339. DOI: 10.1161/JAHA.117.006339.
- Hortells L., Sur S., Hilaire C. Cell phenotype transitions in cardiovascular calcification. *Front. Cardiovasc. Med*. 2018;5:27. DOI: 10.3389/fcvm.2018.00027.
- Mahler G.J., Farrar E.J., Butcher J.T. Inflammatory cytokines promote mesenchymal transformation in embryonic and adult valve endothelial cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2013;33(1):121–130. DOI: 10.1161/ATVBAHA.112.300504.
- Witt W., Jannasch A., Burkhard D., Christ T., Ravens U., Brunssen C. et al. Sphingosine-1-phosphate induces contraction of valvular interstitial cells from porcine aortic valves. *Cardiovasc. Res*. 2012;93(3):490–497. DOI: 10.1093/cvr/cvs002.
- Latif N., Sarathchandra P., Chester A.H., Yacoub M.H. Expression of smooth muscle cell markers and co-activators in calcified aortic valves. *Eur. Heart J*. 2015;36(21):1335–1345. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz547.
- Yip C.Y., Simmons C.A. The aortic valve microenvironment and its role in calcific aortic valve disease. *Cardiovasc. Pathol*. 2011;20(3):177–182. DOI: 10.1016/j.carp.2010.12.001.
- Aikawa E., Whittaker P., Farber M., Mendelson K., Padera R.F., Aikawa M. et al. Human semilunar cardiac valve remodeling by activated cells from fetus to adult: implications for postnatal adaptation, pathology, and tissue engineering. *Circulation*. 2006;113:1344–1352. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.591768.
- Mathieu P., Boulanger M.C. Basic mechanisms of calcific aortic valve disease. *Can. J. Cardiol*. 2014;30(9):982–993. DOI: 10.1016/j.cjca.2014.03.029.
- Liu X., Xu Z. Osteogenesis in calcified aortic valve disease: from histopathological observation towards molecular understanding. *Prog. Biophys. Mol. Biol*. 2016;122(2):156–161. DOI: 10.1016/j.pbiomolbio.2016.02.002.
- Monzack E.L., Masters K.S. Can valvular interstitial cells become true osteoblasts? A side-by-side comparison. *J. Heart Valve Dis*. 2011;20(4):449–463.
- Mathieu P., Boulanger M.C., Bouchareb R. Molecular biology of calcific aortic valve disease: towards new pharmacological therapies. *Expert. Rev. Cardiovasc. Ther*. 2014;12(7):851–862. DOI: 10.1586/14779072.2014.923756.
- Bosse K., Hans C.P., Zhao N., Koenig S.N., Huang N., Guggilam A. et al. Endothelial nitric oxide signaling regulates Notch1 in aortic valve disease. *J. Mol. Cell. Cardiol*. 2013;60:27–35. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2013.04.001.
- Yip C.Y., Blaser M.C., Mirzaei Z., Zhong X., Simmons C.A. Inhibition of pathological differentiation of valvular interstitial cells by C-type natriuretic peptide. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2011;31(8):1881–1889. DOI: 10.1161/ATVBAHA.111.223974.
- Parisi V., Leosco D., Ferro G., Bevilacqua A., Pagano G., de Lucia C. et al. The lipid theory in the pathogenesis of calcific aortic stenosis. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis*. 2015;25(6):519–525. DOI: 10.1016/j.numecd.2015.02.001.
- Chen J.H., Chen W.L., Sider K.L., Yip C.Y., Simmons C.A. β -catenin mediates mechanically regulated, transforming growth factor- β 1-induced myofibroblast differentiation of aortic valve interstitial cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2011;31(3):590–597. DOI: 10.1161/ATVBAHA.110.220061.
- Cadigan K.M. TCFs and Wnt/ β -catenin signaling: more than one way to throw the switch. *Curr. Top. Dev. Biol*. 2012;98:1–34. DOI: 10.1016/B978-0-12-386499-4.00001-X.
- Jian H., Shen X., Liu L., Semenov M., He X., Wang X.F. Smad3-dependent nuclear translocation of β -catenin is required for TGF- β 1-induced proliferation of bone marrow-derived adult human mesenchymal stem cells. *Genes Dev*. 2006;20(6):666–674. DOI: 10.1101/gad.1388806.
- Zhang M., Wang M., Tan X., Li T.F., Zhang Y.E., Chen D. Smad3 prevents β -catenin degradation and facilitates β -catenin nuclear translocation in chondrocytes. *J. Biol. Chem*. 2010;285(12):8703–8710. DOI: 10.1074/jbc.M109.093526.
- Shafer S.L., Towler D.A. Transcriptional regulation of SM22 α by Wnt3a: convergence with TGF β (1)/Smad signaling at a novel regulatory element. *J. Mol. Cell. Cardiol*. 2009;46(5):621–635. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2009.01.005.
- Yip C.Y., Chen J.H., Zhao R., Simmons C.A. Calcification by valve interstitial cells is regulated by the stiffness of the extracellular matrix. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2009;29(6):936–942. DOI: 10.1161/ATVBAHA.108.182394.

29. Wang H., Haeger S.M., Kloxin A.M., Leinwand L.A., Anseth K.S. Redirecting valvular myofibroblasts into dormant fibroblasts through light-mediated reduction in substrate modulus. *PLoS One*. 2012;7(7):e39969. DOI: 10.1371/journal.pone.0039969.
30. Wells R.G., Discher D.E. Matrix elasticity, cytoskeletal tension, and TGF- β : the insoluble and soluble meet. *Sci. Signal*. 2008;1(10):13. DOI: 10.1126/stke.110pe13.
31. Wipff P.J., Rifkin D.B., Meister J.J., Hinz B. Myofibroblast contraction activates latent TGF- β 1 from the extracellular matrix. *J. Cell Biol.* 2007;179(6):1311–1323. DOI: 10.1083/jcb.200704042.
32. Liu W., Zhang X. Receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) / RANK / osteoprotegerin system in bone and other tissues (Review). *Mol. Med. Rep.* 2015;11(5):3212–3218. DOI: 10.3892/mmr.2015.3152.
33. Persy V., D'Haese P. Vascular calcification and bone disease: the calcification paradox. *Trends Mol. Med.* 2009;15(9):405–416. DOI: 10.1016/j.molmed.2009.07.001.
34. Kaden J.J., Bickelhaupt S., Grobholz R., Haase K.K., Sarikoç A., Kiliç R. et al. Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin regulate aortic valve calcification. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2004;36(1):57–66.
35. Bucay N., Sarosi I., Dunstan C.R., Morony S., Tarpley J., Capparelli C. et al. Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes. Dev.* 1998;12(9):1260–1268.
36. Weiss R.M., Lund D.D., Chu Y., Brooks R.M., Zimmerman K.A., Accaoui R.E. et al. Osteoprotegerin inhibits aortic valve calcification and preserves valve function in hypercholesterolemic mice. *PLoS One*. 2013;8(6):e65201. DOI: 10.1371/journal.pone.0065201.
37. Nishimura R., Hata K., Matsubara T., Wakabayashi M., Yoneda T. Regulation of bone and cartilage development by network between BMP signaling and transcription factors. *J. Biochem.* 2012;151(3):247–254. DOI: 10.1093/jb/mvs004.
38. Yang X., Meng X., Su X., Mauchley D.C., Ao L., Cleveland J.C. Jr. et al. Bone morphogenetic protein 2 induces Runx2 and osteopontin expression in human aortic valve interstitial cells: role of Smad1 and extracellular signal-regulated kinase 1/2. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2009;138(4):1008–1015. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2009.06.024.
39. Gomez-Stallons M.V., Wirrig-Schwendeman E.E., Hassel K.R., Conway S.J., Yutzey K.E. Bone morphogenetic protein signaling is required for aortic valve calcification. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2016;36(7):1398–1405. DOI: 10.1161/ATVBAHA.116.307526.
40. Deregowski V., Gazzerro E., Priest L., Rydzziel S., Canalis E. Notch 1 overexpression inhibits osteoblastogenesis by suppressing Wnt/beta-catenin but not bone morphogenetic protein signaling. *J. Biol. Chem.* 2006;281(10):6203–6210. DOI: 10.1074/jbc.M508370200.
41. Nigam V., Srivastava D. Notch1 represses osteogenic pathways in aortic valve cells. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2009;47(6):828–834. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2009.08.008.
42. Nus M., MacGrogan D., Martínez-Poveda B., Benito Y., Casanova J.C. et al. Diet-induced aortic valve disease in mice haploinsufficient for the Notch pathway effector RBPK/CSL. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2011;31(7):1580–1588. DOI: 10.1161/ATVBAHA.111.227561.
43. Acharya A., Hans C.P., Koenig S.N., Nichols H.A., Galindo C.L., Garner H.R. et al. Inhibitory role of Notch1 in calcific aortic valve disease. *PLoS One*. 2011;6(11):e27743. DOI: 10.1371/journal.pone.0027743.
44. Ducharme V., Guauque-Olarte S., Gaudreault N., Pibarot P., Mathieu P., Bossé Y. NOTCH1 genetic variants in patients with tricuspid calcific aortic valve stenosis. *J. Heart Valve Dis.* 2013;22(2):142–149.
45. Garg V., Muth A.N., Ransom J.F., Schluterman M.K., Barnes R., King I.N. et al. Mutations in NOTCH1 cause aortic valve disease. *Nature*. 2005;437(7056):270–274. DOI: 10.1038/nature03940.
46. Zeng Q., Song R., Ao L., Weyant M.J., Lee J., Xu D. et al. Notch1 promotes the pro-osteogenic response of human aortic valve interstitial cells via modulation of ERK1/2 and nuclear factor- κ B activation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2013;33(7):1580–1590. DOI: 10.1161/ATVBAHA.112.300912.
47. Zeng Q., Jin C., Ao L., Cleveland J.C. Jr., Song R., Xu D. et al. Cross-talk between the Toll-like receptor 4 and Notch1 pathways augments the inflammatory response in the interstitial cells of stenotic human aortic valves. *Circulation*. 2012;126:S222–S230. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.083675.
48. Wang D., Zeng Q., Song R., Ao L., Fullerton D.A., Meng X. Ligation of ICAM-1 on human aortic valve interstitial cells induces the osteogenic response: a critical role of the Notch1-NF- κ B pathway in BMP-2 expression. *Biochim. Biophys. Acta*. 2014;1843(11):2744–2753. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2014.07.017.

Сведения об авторе

Костюнин Александр Евгеньевич, канд. биол. наук, младший научный сотрудник, отдел экспериментальной и клинической кардиологии, лаборатория новых биоматериалов, Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний. ORCID 0000-0001-6099-0315.

E-mail: rhabdophis_tigrina@mail.ru.

Костюнин Александр Евгеньевич, e-mail: rhabdophis_tigrina@mail.ru.

Information about the author

Alexander E. Kostyunin, Cand. Sci. (Biol.), Junior Researcher, Department of Experimental and Clinical Cardiology, Laboratory of New Biomaterials, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases. ORCID 0000-0001-6099-0315.

E-mail: rhabdophis_tigrina@mail.ru.

Alexander E. Kostyunin, e-mail: rhabdophis_tigrina@mail.ru.

Поступила 25.06.2019

Received June 25, 2019