

На правах рукописи

Фролов Алексей Витальевич

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ СИСТЕМА КОНДУИТ-АРТЕРИЯ:
КЛИНИКО-ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ КОНЦЕПЦИЯ
КАК ОСНОВА ЭФФЕКТИВНОСТИ
АУТОАРТЕРИАЛЬНОГО КОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ**

3.3.3. Патологическая физиология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Омск – 2024

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово

Научный консультант –
доктор медицинских наук

Кутихин Антон Геннадьевич

Официальные оппоненты:

Нарыжная Наталья Владимировна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальной кардиологии Научно-исследовательского института кардиологии – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»

Салмина Алла Борисовна, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник и заведующая лабораторией нейробиологии и тканевой инженерии, заведующая отделом молекулярных и клеточных механизмов нейропластичности Института мозга Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр неврологии»

Чумакова Светлана Петровна, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры патологической физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «02» апреля 2024 года в 10.00 часов на заседании диссертационного совета 21.2.048.03 при ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России по адресу: 644099, г. Омск, ул. Ленина, 12.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России и на сайте www.omsk-osma.ru

Автореферат разослан « ____ » _____ 2024 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, доцент

Корпачева
Ольга Валентиновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

В настоящее время для лечения ишемической болезни сердца (ИБС) широко и рутинно используется прямая реваскуляризация миокарда в виде коронарного шунтирования (КШ). Среди нерешённых вопросов, касающихся данной процедуры, стоит проблема выбора сосудистого графта или кондуита. Известно, что в качестве изыскания материала для будущих шунтов предложено несколько направлений, а именно, применение аутологичных графтов (внутренняя грудная артерия (ВГА), большая подкожная вена (БПВ), лучевая артерия (ЛА), правая желудочно-сальниковая артерия (ПЖСА), нижняя надчревная артерия (ННА)), гомологичных графтов или аллографтов (донорская БПВ, донорская артерия и вена пуповины новорождённого), ксенографтов или гетерографтов (бычья ВГА), синтетических графтов (протезы из политетрафторэтилена, полиэтилентерефталата, полиуретана), а также биоинженерных сосудистых графтов [Gharibeh L. с соавт., 2021; Caliskan E. с соавт., 2020; Lampridis S. с соавт., 2020; Herrmann F. E. M. с соавт., 2019; Taggart D. P. с соавт., 2019; Gaudino M. с соавт., 2017; Pashneh-Tala S. с соавт., 2016; Suma H., 2016; Desai M. с соавт., 2011; Puig L. V. с соавт., 1997].

Несмотря на представленное разнообразие материала, наиболее часто используются аутологичные графты – аутоартерии и аутовены, то есть сосудистые кондуиты, взятые и имплантируемые у одного и того же человека. Преимущества их очевидны: они относительно легко получаемы, иммунологически инертны, обладают большей долговременной состоятельностью, а потому и безопасны для пациента. В этом смысле особенно надёжными кондуитами считаются аутоартерии, проходимость которых после КШ, по сравнению с аутовенами, существенно выше, в виду биофизических, гистологических и метаболических свойств, и составляет для ВГА в течение 1 года – 93-96%, на 5-7 год – 88-98%, свыше 10 лет – 85-95%, для ЛА – 89-92%, 90-98%, 89-91%, для ПЖСА – 92-97%, 80-90%, 62%, для ННА – 57-97%, 75-86%, 87%, в то время как для БПВ – 81-98%, 75-86% и 50-60% соответственно [Bandara E. M. S. с соавт., 2022; Kraler S. с соавт., 2021; Xenogiannis I. с соавт., 2021; Gaudino M. с соавт., 2017; Martínez-González V. с соавт., 2017; Borović M. M. L. с соавт., 2015; Aydin S. с соавт., 2013; Kitamura S., 2011; Puig L. V. с соавт., 1997]. Вместе с тем до сих пор сохраняется большая дискуссия о том, какой именно кондуит среди этой группы и почему является

оптимальным, то есть предпочтительным и наиболее благоприятным в отношении последующего послеоперационного периода. При этом частота применения аутоартериальных кондуитов, несмотря на все их преимущества, а также связанные с ними лучшие, по сравнению с аутовенозными, отдалённые клинические результаты, парадоксально низкая, и составляет, например, для обеих ВГА в виде бимаммарного КШ (БиМКШ) в США – 4,1%, Европе – 12%, Австралии – 12,6%, Японии – 30%, а в России – 13,1% соответственно [Бокерия Л. А. с соавт., 2022; Dimeling G. с соавт., 2021; Dreifaldt M. с соавт., 2021; Gaudino M. с соавт., 2021; McNichols B. с соавт., 2021; Nappi F. с соавт., 2021; Royses A. G. с соавт., 2021; Bayer N. с соавт., 2020; Caliskan E. с соавт., 2020; Ruttman E. с соавт., 2019; Taggart D. P. с соавт., 2019; Жбанов И. В. с соавт., 2018].

На сегодняшний день одним из объяснений такого низкого процента использования аутоартерий является недостаток доказательной базы, и в решении этого вопроса активное участие принимают не только клиницисты, но и исследователи в области фундаментальной науки, касающейся морфологии и биомеханики, генетики и молекулярной биологии, гистологии и цитологии [Kostelnik C. J. с соавт., 2021; Pashova A. с соавт., 2020; Wu W. с соавт., 2020; Nawrocki M. J. с соавт., 2019; Gooch K. J. с соавт., 2018; Martínez-González V. с соавт., 2017; Nazarenko M. S. с соавт., 2015]. В ходе рассмотрения функционирования аутологичных аутоартериальных и аутовенозных шунтов особое внимание отводится целевой коронарной артерии (КА), которая играет принципиально важную роль в судьбе используемых кондуитов, находящихся в новых гемодинамических условиях, особенно когда речь идёт о БПВ [Doenst T. с соавт., 2022; Hwang H. Y. с соавт., 2021; Limanto D. H. с соавт., 2021; Bakaeen F. G. с соавт., 2020; Spadaccio C. с соавт., 2020; Ruitter M. S. с соавт., 2018; Jung Y. с соавт., 2016; Muto A. с соавт., 2010; Desai N. D. с соавт., 2007]. В связи с этим относительно недавно была выдвинута гипотеза о существовании морфофункциональной системы (МФС) кондуит-артерия, которая формируется тотчас после наложения хирургического анастомоза между выбранным сосудистым кондуитом и целевой КА и представляет собой сложный структурный и функциональный комплекс, элементы которого оказывают взаимное влияние друг на друга [Фролов А. В., 2019]. В подобной искусственно созданной структуре любые изменения КА или шунта демонстрируют обоюдный и системный характер взаимодействия, определяя, в конечном счете, качество КШ и вероятность развития дальнейших сердечно-сосудистых

событий, указывая тем самым на научно-практическую основу для всестороннего исследования МФС конduit-артерия, особенно в контексте аутоартериальной реваскуляризации миокарда.

Степень разработанности темы исследования

Учитывая, что ранее такая система в границах её представления не была изучена, в настоящее время можно говорить лишь о многочисленных, но разобщённых исследованиях, посвящённых или шунтам, или шунтируемым ими целевым КА. Вместе с тем именно такие исследования позволили косвенно объективизировать существование МФС конduit-артерия, а также показать её важное прикладное значение. В целом указанная система есть результат взаимодействия между аутологичными элементами, которыми являются конduit-донор, КА-реципиент, а также кровь, при этом системообразующим фактором выступает сам хирургический анастомоз между двумя кровеносными сосудами. В пользу функционирования МФС конduit-артерия говорят два существенных факта, показанных в различных исследованиях: с одной стороны, это продукция вазоактивных веществ конduitом-донором, влияющих на КА-реципиента, и, собственно оксигенация миокарда, с другой – прогрессирование атеросклероза (АС) не только в КА-реципиенте, но и его появление в выбранном кондуите-доноре, а также связанные с особенностями коронарной гемодинамики, дегенеративные изменения в нём.

В силу известной секреторной способности эндотелиального слоя кровеносных сосудов, включающую выработку оксида азота (NO), простаглицлина, ангиотензина, тромбоксана, фактора фон Виллебранда, P-селектина, эндотелина, молекул межклеточной и васкулярной адгезии, E-селектина, тканевого активатора плазминогена, тромбомодулина, эндотелиального рецептора протеина С, ряд исследований освещает вопрос касательно способности шунтов продуцировать эти вещества и транспортировать их в КА, где в дальнейшем происходят соответствующие им изменения [Shadrin I. Y. с соавт., 2023; Кутихин А. Г. с соавт., 2022; Tran N. с соавт., 2022; Medina-Leyte D. J. с соавт., 2021; Степанова Т. В. с соавт., 2019; Vochenek M. L. с соавт., 2019; Krüger-Genge A. с соавт., 2019; Tejero J. с соавт., 2019; Eelen G. с соавт., 2018; Wang M. с соавт., 2018; Gimbrone Jr. M. A. с соавт., 2016; Aydin S. с соавт., 2013]. Так, именно на этих данных было основано понимание коронаропротективного действия аутоартериальных кондуитов, по сравнению с аутовенами, заключающееся в способности указанных сосудов повышать резистентность КА к прогрессированию АС, о

чём свидетельствуют некоторые работы, а также известные исследования CASS (Coronary Artery Surgery Study) и RAPCO (Radial Artery Patency and Clinical Outcomes) [Yoon S. H. с соавт., 2017; Valooran G. J. с соавт., 2016; Zhang M. с соавт., 2016; Dodic S. с соавт., 2015; Zhu Y. Y. с соавт., 2014; Dimitrova K. R. с соавт., 2012; Shiga Y. с соавт., 2012; Loop F. D., 1996; Alderman E. L. с соавт., 1993]. Вместе с тем такое свойство аутоартерий сводится не только к их способности замедлять и даже редуцировать АС коронарного русла, но и в отношении самих себя они демонстрируют, так называемое, шунтопротективное действие, с которым связана низкая частота их атеросклеротического поражения. Например, как было показано ранее, явные признаки АС ВГА встречаются крайне редко и составляют порядка 2,5% [Borović M. M. L. с соавт., 2015]. Наряду с защитным свойством аутоартериальных кондуитов, большую роль в поддержании атеростаза может играть сама структура сосудистой стенки, которая во многом схожа между шунтом и КА. Гистологические, клеточные и даже молекулярные исследования подтверждают биологическую конгруэнтность, то есть высокое сродство двух соединяемых артериальных сосудов в виду их исходно единой природы, но такие работы немногочисленны [Gharibeh L. с соавт., 2021; Wolf K. с соавт., 2019; Martínez-González V. с соавт., 2017; Dreifaldt M. с соавт., 2013].

С другой стороны, степень стеноза и прогрессирование АС шунтируемых КА, различные гемодинамические факторы в виде наличия развитой коллатеральной коронарной сети, типа коронарного кровотока оказывают влияние на используемые кондуиты и вызывают в них соответствующие изменения. Исследования коронарного АС показывают, что недооцененный умеренный стеноз КА может приводить к дисфункции и дегенерации аутоартериального шунта за счёт развития конкурентного кровотока, и, как следствие, появлению морфологических феноменов “disuse atrophy”, “string-sign”, “thinning-down phenomenon” [Doenst T. с соавт., 2022; Spadaccio C. с соавт., 2020; Dogan P. с соавт., 2017; He G. W. с соавт., 2016, 2006; Țintoiu I. C. с соавт., 2016; Meng X. с соавт., 2013; Puig L. B. с соавт., 1997]. Вместе с тем иная картина характерна для БПВ, которая в условиях выраженного и диффузного АС КА подвергается изменениям в силу своей чувствительности к значительному сопротивлению и перерастяжению от создаваемого высокого перфузионного давления, запускающих провоспалительный и протромботический каскады, которые приводят к развитию АС аутовены, вплоть до её окклюзии [Xenogiannis I. с соавт., 2021; Spadaccio C. с соавт., 2020;

Ruiter M. S. с соавт., 2018; Gaudino M. с соавт., 2017; Ward A. O. с соавт., 2017; Tintoiu I. C. с соавт., 2016; Davies M. G. с соавт., 1995]. Кроме этого, некоторые единичные экспериментальные работы, посвящённые артериовенозной фистуле, косвенно говорят в пользу того, что процесс АС аутовенозного шунта может быть инициирован самой КА, которая в условиях анастомоза становится главным источником гладкомышечных клеток, порождающим начальные атеросклеротические изменения в виде гиперплазии интимы [Gameiro J. с соавт., 2020; Sadaghianloo N. с соавт., 2019; Liang M. с соавт., 2015].

Таким образом, неизученность МФС кондуит-артерия в её цельном и едином виде, в контексте нормального функционирования, а также при патологических изменениях, требует её концептуализации с последующим практическим применением в ходе персонифицированного выбора наиболее оптимального кондуита у пациентов, идущих на операцию КШ.

Цель исследования – формирование концепции МФС кондуит-артерия как универсальной категории, обосновывающей высокую эффективность аутоартериального КШ.

Задачи исследования:

1. Охарактеризовать постоперационный саногенетический эффект пролонгированного протективного действия КШ с использованием нескольких аутоартериальных кондуитов с точки зрения клинических результатов и прогрессирования коронарного АС.

2. Оценить структурные изменения МФС кондуит-артерия в раннем и среднем постимплантационных периодах методом оптико-когерентной томографии (ОКТ), а также дать характеристику частоты и причин её дисфункций в сроки свыше 10 лет после КШ.

3. Определить наиболее эффективную модель отдалённого прогноза с применением машинного обучения у пациентов после формирования различных вариантов МФС кондуит-артерия в ходе КШ.

4. Определить сравнительное патогенетическое влияние исходного адвентициального и периваскулярного микроциркуляторного русла в предимплантационном периоде на формирование неоинтимы как фактора, предрасполагающего к дисфункции аутоартериальных и аутовенозных шунтов.

5. Охарактеризовать паракринные факторы артериальных и венозных ЭК, участвующие в патогенезе дисфункции и поддержании проходимости

коронарных шунтов после реваскуляризации миокарда при моделировании *in vitro* эндотелиальных взаимодействий в МФС кондуит-артерия.

б. Дать сравнительную оценку протеома и транскриптома ЭК КА и ВГА с последующим моделированием интерактома *in silico* для обоснования структурно-функциональной конгруэнтности артерио-артериального континуума в МФС кондуит-артерия.

Научная новизна исследования

Показано, что КШ с использованием двух ВГА обладает выраженным постоперационным саногенетическим эффектом, который проявляется в виде кардиопротективного и коронаропротективного действий.

Обнаружено, что при исходно равной степени атеросклеротического поражения коронарного русла, в отдалённые сроки после КШ МФС кондуит-артерия с применением ВГА значительно повышает резистентность КА к АС.

Продемонстрировано, что наиболее важным ранним структурным изменением, ассоциированным с последующей дисфункцией МФС кондуит-артерия, является отношение диаметров шунт/КА > 2 , определяемого методом ОКТ.

Выявлено, что функционирование МФС кондуит-артерия с использованием левой ВГА (ЛВГА)-кондуита составляет 80%, правой ВГА (ПВГА) – 74% и БПВ – 66% в сроки более 10 лет.

Определено, что наиболее точной в прогнозировании отдалённых сердечно-сосудистых событий при формировании различных МФС кондуит-артерия в ходе КШ является модель машинного обучения в виде ансамблирования.

Показано, что в предимплантационном периоде перед КШ БПВ имеет большую предрасположенность к развитию адвентициального воспаления, по сравнению с ВГА, за счёт большего количества *vasa vasorum* (VV) и более сильной корреляцией VV с гипертрофией интимы.

Установлено, что ЭК КА и ЭК ВГА, по сравнению с ЭК КА и ЭК БПВ, на моделях *in vitro* взаимно благоприятно и синергично влияют на профиль генной и белковой экспрессии, а также секретом друг друга в процессе паракринного контакта.

Доказано, что молекулярный профиль ЭК ВГА и ЭК КА имеет высокое сродство в виде структурной и функциональной конгруэнтности на уровне артерио-артериального эндотелиального континуума, а его интерактом поддерживает артериальный гомеостаз.

Теоретическая и практическая значимость работы

Сформирована концепция МФС конduit-артерия как универсальная категория, применимая к любому варианту КШ и обосновывающая более высокую эффективность аутоартериальной реваскуляризации миокарда.

Доказано, что КШ с использованием двух ВГА является не просто операцией по сосудистому обходу окклюзионно-стенотического поражения КА с целью доставки оксигенированной крови к ишемизированному миокарду, но и представляется наиболее физиологичной с точки зрения гистологических, клеточных и молекулярных факторов.

Расшифрованы механизмы, объясняющие высокую устойчивость аутоартериальных кондуитов к различным изменениям, приводящим к дисфункции всей МФС конduit-артерия и определяющих более продолжительную их компетентность, по сравнению с аутовенозными.

Продемонстрирована возможность высокоточного прогнозирования отдалённых сердечно-сосудистых событий после формирования различных вариантов МФС конduit-артерия в ходе КШ, используя модель ансамблирования.

Показана дальнейшая перспективность изучения МФС конduit-артерия с целью разработки персонифицированного подхода в выборе сосудистого трансплантата с учётом максимально возможного постоперационного саногенетического эффекта и улучшения клинических результатов КШ, а также создания “off-the-shelf”-кондуитов нового поколения и даже “smart”-кондуитов с гибкой настройкой на основе расшифрованных паракринных механизмов и протективного действия ВГА во взаимодействии с КА методами, используемыми в биомиметике и синтетической биологии.

Методология и методы исследования

Для достижения цели исследования проведены клинический анализ, изучение лабораторных данных, эксперименты *in vitro*, при этом в качестве единиц наблюдения взяты пациенты, подвергшиеся КШ, коронарные ангиограммы, оптико-когерентные томограммы, а также образцы фрагментов ВГА, БПВ и культуры ЭК.

С целью клинического анализа в контексте характеристики постоперационного саногенетического эффекта пролонгированного кардиопротективного действия аутоартериального КШ было проведено ретроспективное исследование, включившее 232 пациента, которым была проведена прямая реваскуляризация миокарда по поводу ИБС. В зависимости

от варианта операции все пациенты были разделены на две равные группы: пациенты после стандартного аортокоронарного шунтирования (АКШ) с применением одной ВГА и пациенты после БиМКШ с использованием двух ВГА в сочетании с другими кондуитами в виде БПВ и/или ЛА, отвечающие определенным критериям включения и исключения. В отдалённом послеоперационном периоде указанные группы были оценены по таким первичным конечным точкам, как инфаркт миокарда (ИМ), повторная реваскуляризация миокарда в виде чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ) и повторного АКШ (реАКШ), инсульт, смерть, а также комбинированная конечная точка. В качестве вторичных или суррогатных конечных точек были взяты увеличение или уменьшение фракции выброса (ФВ) левого желудочка (ЛЖ) и функционального класса (ФК) стенокардии напряжения.

База данных указанных пациентов, с учётом тех 152 больных, у которых фиксировались конечные точки исследования, была также использована с целью определения наиболее эффективной модели прогнозирования в отдалённом периоде после КШ с формированием различных МФС конduit-артерия с применением программы искусственного интеллекта и программного обеспечения Python в виде автоматического или машинного обучения.

102 пациентам из общей выборки был проведен анализ коронарных ангиограмм для сравнительной оценки саногенетической коронаропротективной роли аутоартериальных и аутовенозных шунтов, а также дана характеристика дисфункций МФС конduit-артерия, полученных в ходе коронарной ангиошунтографии (КШГ) в отдалённом послеоперационном периоде. Изучение коронарных ангиограмм до и после КШ включало простой визуальный анализ, учитывающий наличие, локализацию, степень и протяжённость стеноза, просвет сосуда дистальнее его, тип коронарного кровотока, коллатерали, тромбоз и изъязвление, а также спазм, кальциноз, миокардиальный мостик, извитость и бифуркацию. Для оценки тяжести поражения КА были использованы шкалы SYNTAXScore и GensiniScore.

Кроме этого, в рамках клинического анализа было проведено пилотное проспективное исследование, включившее 21 пациента, которые отвечали определенным критериям включения и исключения, с целью динамической оценки МФС конduit-артерия в раннем послеоперационном периоде на 3-5 сутки и через 1 год после КШ методом ОКТ. Первичной конечной точкой исследования была дисфункция шунта (окклюзия или стеноз $\geq 70\%$ по диаметру), соответствующая раннему постимплантационному периоду. В

качестве вторичных или суррогатных конечных точек были взяты ИМ, повторная реваскуляризация миокарда в виде ЧКВ, инсульт, смерть, обусловленные дисфункцией шунтов в течение 1 года, оцениваемые в среднем постимплантационном периоде. Все находки, полученные на оптико-когерентных томограммах, были подвергнуты простому визуальному анализу и соотнесены с имеющимися конечными точками.

Анализ лабораторных данных проводился в виде гистологического изучения парных фрагментов ВГА и БПВ, полученных от 30 пациентов во время забора кондуитов на операции КШ, и подразумевал сравнительную оценку адвентициально-периваскулярного микроциркуляторного русла кондуитов в виде количества и площади VV, а также их связи с гипертрофией интимы с целью определения патогенетического влияния на дисфункцию аутоартериальных и аутовенозных шунтов МФС кондуит-артерия. Для этого образцы фрагментов ВГА и БПВ, тотчас после их получения, фиксировали в забуференном (рН 7,4) 10% водном растворе формалина и после ряда этапов обработки изучали в эпоксидных блоках при помощи сканирующей электронной микроскопии в обратно-рассеянных электронах на электронном микроскопе Hitachi S-3400N в режиме BSECOMP при ускоряющем напряжении 10 кВ. Гипертрофия интимы оценивалась при помощи расчета отношения наибольшей толщины неоинтимы к наименьшей (значимым считалось данное отношение ≥ 5), а также расчетом площади стенозированного сосудистого просвета (патолофизиологически значимым считался стеноз при $\geq 5\%$ или $\geq 10\%$ просвета сосуда – рассчитывались результаты для обеих мер стеноза). Анализ распространенности и толщины неоинтимы, а также подсчет числа, площади и плотности VV были выполнены в программе ImageJ.

Эксперименты *in vitro* включали следующие опыты, проводимые с более чем 4500000 первичных ЭК человека: 1) оценка паракринных эффектов артериальных и венозных ЭК на модели прямого сокультивирования; 2) оценка паракринных эффектов кондиционированной среды от артериальных и венозных ЭК при её перекрестном добавлении; 3) оценка молекулярного профиля ЭК КА и ЭК ВГА.

Для проведения эксперимента №1 в качестве имитации паракринного контакта элементов МФС кондуит-артерия ЭК КА (целевая КА) были сокультивированы с ЭК ВГА или ЭК БПВ (кондуиты) в специальных камерах, заполненных питательной средой, на поверхности 10-мкм полупрозрачной поликарбонатной мембраны, диаметр пор которой (0,4 мкм) позволил

осуществить взаимодействия между клетками посредством растворимых факторов и внеклеточных везикул, исключая при этом их миграцию. В созданных условиях клеточные линии были надежно разделены и, параллельно с этим, влияли на функционирование друг друга. В качестве контроля были использованы монокультуры ЭК КА, ЭК ВГА и ЭК БПВ, которые были культивированы отдельно в той же культуральной посуде. Через 6, 24 или 48 часов сокультивирования среда собиралась для измерения уровней цитокинов и ангиогенных молекул методами дот-блоттинга (скрининг) и иммуноферментного анализа (ИФА) (высокоточное определение). Кроме этого, из клеток были выделены рибонуклеиновая кислота (РНК) и общий белок, затем выполнено изучение экспрессии генов методом количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) с обратной транскрипцией (ОТ-кПЦР), а также экспрессии белков методом иммуноблоттинга.

Для проведения эксперимента №2, также реализованного в качестве имитации паракринного контакта элементов МФС конduit-артерия, были культивированы ЭК КА (целевая КА), ЭК ВГА и ЭК БПВ (кондуиты) в специальных камерах, заполненных питательной средой, до формирования монослоя, после чего полная культуральная среда для предотвращения контаминации внеклеточными везикулами из сыворотки заменялась на бессывороточную среду с теми же факторами роста, что и в полной среде. Через 24 часа указанная среда перекрёстно добавлялась к заранее культивированному в среде монослою от этих же доноров. Спустя ещё 24 часа после перекрёстного добавления, среда собиралась для измерения уровней цитокинов, ангиогенных молекул, молекул клеточной адгезии, транскрипционных факторов и факторов апоптоза методами дот-блоттинга и ИФА, а из клеток были выделены РНК и общий белок, затем выполнено изучение экспрессии генов методом ОТ-кПЦР, а также экспрессии белков методом иммуноблоттинга.

Для проведения эксперимента №3 в качестве демонстрации сходства эндотелия артериальных элементов МФС конduit-артерия, были культивированы ЭК КА (целевая КА) и ЭК ВГА (конduit) также в специальных камерах, заполненных питательной средой. Для моделирования статических условий ЭК культивировали в течение 48 часов после формирования монослоя. Для моделирования воздействия пульсирующего потока ЭК культивировали в течение ночи и прекондиционировали ламинарным потоком в системе пульсирующего потока в течение 48 часов.

Далее из клеток был выделен весь белок и вся РНК, изучены протеом методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии и транскриптом методом полнотранскриптомного секвенирования РНК (RNA-seq) с учётом статической модели и модели потока. Полученные данные были оценены посредством биоинформатического анализа, включая исследование интерактома ЭК в ходе проведения компьютерного моделирования *in silico*.

Анализ данных литературы по теме диссертации, разработка дизайна исследования, клинических, лабораторных и экспериментальных протоколов, формирование регистра пациентов, их мониторинг, участие в процессе выполнения оперативных вмешательств в качестве хирурга, а также забор биологического материала, участие в лабораторной и экспериментальной работе, анализ результатов исследования, включая биоинформатический, статистическая и графическая обработка данных, написание статей, представление докладов в рамках диссертационного исследования на научных мероприятиях и написание самой диссертационной работы выполнены лично автором.

Кроме этого, участие в проведении настоящего исследования приняли сотрудники Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (г. Кемерово): докт. мед. наук С. В. Иванов, докт. мед. наук Р. С. Тарасов, канд. мед. наук Н. А. Кочергин, докт. мед. наук А. Г. Кутихин, канд. биол. наук Д. К. Шишкова, мл. науч. сотр. Л. А. Богданов, мл. науч. сотр. В. Е. Маркова, канд. тех. наук Е. А. Овчаренко, канд. тех. наук К. Ю. Клышников, докт. мед. наук, профессор, академик РАН Л. С. Барбараш, докт. мед. наук, профессор, академик РАН О. Л. Барбараш, а также Н. И. Загородников – врач отделения нейрохирургии Кузбасского клинического кардиологического диспансера. Транскриптомное и протеомное профилирование ЭК было проведено на базе и с привлечением ресурсов Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет» (г. Санкт-Петербург), Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук» (г. Новосибирск), Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт цитологии Российской академии наук» (г. Санкт-Петербург). Работа была также поддержана грантом РФФИ № 19-05-00198.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Защитный постоперационный саногенетический эффект КШ с использованием нескольких аутоартериальных кондуитов в виде левой и правой ВГА на протяжении длительного периода наблюдения обусловлен кардиопротективным действием, снижающим частоту развития сердечно-сосудистых осложнений, уменьшающим клинические проявления стенокардии напряжения, увеличивающим сократительную способность миокарда, а также коронарпротективным действием, замедляющим прогрессирование АС в шунтируемых КА.

2. Дисфункция МФС кондуит-артерия в первый год наблюдения после КШ ассоциирована с исходным соотношением диаметров шунт/КА > 2 , при этом, если в зоне анастомоза определяется диссекция или пристеночный тромбоз, её восстановление идёт активно при использовании ВГА, а дисфункция в отдалённые сроки с конкурентным кровотоком там, где применялись кондуиты левой и правой ВГА, и плохого дистального коронарного русла, где применялась БПВ.

3. Исходное состояние адвентициального и периваскулярного микроциркуляторного русла в предимплантационном периоде, определяемое количеством и плотностью *vasa vasorum*, оказывает большее патогенетическое влияние на формирование неоинтимы в аутовенозных шунтах, по сравнению с аутоартериальными, что является фактором, предрасполагающим к их последующей дисфункции.

4. Паракринные факторы, участвующие в патогенезе дисфункции и поддержании проходимости коронарных шунтов после реваскуляризации миокарда при моделировании *in vitro* эндотелиальных взаимодействий в МФС кондуит-артерия взаимно благоприятно и синергично влияют на профиль геной и белковой экспрессии, а также секретом ЭК КА и ВГА, по сравнению с ЭК КА и БПВ.

5. Молекулярный профиль ЭК КА и ВГА в виде их протеома и транскриптома имеет большую структурную и функциональную схожесть, что обуславливает высокую конгруэнтность элементов артерио-артериального

континуума в МФС кондуит-артерия, интерактом которого характеризуется поддержанием артериального гомеостаза.

Степень достоверности результатов

О достоверности результатов диссертационного исследования свидетельствуют достаточный объем клинического, лабораторного и экспериментального материала, широкий спектр и современные методы проведенных исследований, неоднократно повторенные эксперименты *in vitro*, а также результаты статистической и биоинформатической обработки имеющихся данных.

Апробация материалов диссертации

Результаты диссертационного исследования доложены и обсуждены на 66th European Society for CardioVascular Surgery meeting (11-14th of May, 2017, Thessaloniki, Greece), XXIV Всероссийском съезде сердечно-сосудистых хирургов (25-28 ноября, 2018, Москва, Россия), VIII Инновационном конвенте «Кузбасс: образование, наука, инновации – 2018» (14 декабря, 2018, Кемерово, Россия), 68th European Society for CardioVascular Surgery meeting (22-25th of May, 2019, Groningen, Netherlands), XXV Всероссийском съезде сердечно-сосудистых хирургов (10-13 ноября, 2019, Москва, Россия), German Society for Microcirculation and Vascular Biology meeting, Heidelberg University Hospital, Krehl-Klinik (25-27th of October, 2019, Heidelberg, Germany), Latin America Cardiovascular Surgery Conference (22-24th of November, 2019, Cancun, Mexico), 88th European Atherosclerosis Society Congress (31st of May – 3rd of June, 2020, Geneva, Switzerland), 21st International Vascular Biology Meeting (9-12th of September, 2020, Seoul, South Korea), XXVI Всероссийском съезде сердечно-сосудистых хирургов (08-11 декабря, 2020, Москва, Россия), 89th European Atherosclerosis Society Congress (30th of May - 2nd of June, 2021, Helsinki, Finland), Форуме молодых кардиологов «Спорные вопросы и инновации в современной кардиологии» Российского кардиологического общества (3-4 июня, 2021, Москва, Россия), Форуме молодых кардиологов «От профилактики к высокотехнологичной помощи при сердечно-сосудистых заболеваниях» Российского кардиологического общества (13-14 мая, 2022, Москва, Россия), 90th European Atherosclerosis Society Congress (22-25th of May, 2022, Milan, Italy), XXVIII Всероссийском съезде сердечно-сосудистых хирургов (20-23 декабря, 2022, Москва, Россия), XXIX Всероссийском съезде сердечно-сосудистых хирургов (26-29 ноября, 2023, Москва, Россия).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Общая характеристика клинической части исследования. В соответствии с дизайном исследования клиническая часть состояла из ретроспективного и проспективного анализов, включивших 232 и 21 пациента соответственно. Ретроспективный анализ заключался в изучении пациентов, оперированных по поводу ИБС в 2004-2006 годах на базе ГУЗ Кемеровской областной клинической больницы с лабораторией ГУ НППЛ РХСС СО РАМН, средний возраст которых составил 53 [49; 75] года. В зависимости от варианта операции были сформированы две равные группы: пациенты после стандартного АКШ с применением одной ВГА ($n = 116$) и пациенты после БиМКШ с использованием двух ВГА ($n = 116$) в сочетании с другими кондуитами в виде БПВ и/или ЛА. Пациенты обеих групп подбирались методом копи-пар в соответствии с критериями включения и исключения, и были сопоставимы по большинству предоперационных показателей, включая данные коронарной ангиографии (КАГ). В сроки свыше 15 лет указанные группы были оценены по частоте ИМ, повторной реваскуляризации миокарда, инсульта, смерти, комбинированной конечной точки, а также по увеличению или уменьшению ФВ ЛЖ и ФК стенокардии напряжения. База данных указанных пациентов, имеющих конечные точки ($n = 152$), была также использована с целью определения наиболее эффективной модели прогнозирования в отдалённом периоде после КШ. Кроме этого, в сроки свыше 10 лет у части пациентов, подвергшихся КШГ ($n = 102$), были изучены ангиографические данные методом простой визуальной оценки и посредством использования шкал SYNTAXScore и GensiniScore. Проспективный анализ заключался в изучении пациентов, поступивших на стандартное АКШ по поводу ИБС в 2018-2020 годах на базе НИИ КПССЗ ($n = 21$), средний возраст которых составил 66 [60; 71] лет, которые также соответствовали определённым критериям включения и исключения. Всем пациентам была проведена динамическая оценка МФС конduit-артерия в раннем послеоперационном периоде на 3-5 сутки и через 1 год методом ОКТ в ходе КШГ, используя простой визуальный анализ. Были оценены дисфункция шунтов, а также такие неблагоприятные сердечно-сосудистые события, как ИМ, повторная реваскуляризация миокарда в виде ЧКВ, инсульт и смерть.

Общая характеристика лабораторно-экспериментальной части. Лабораторно-экспериментальная часть исследования включала

гистологический анализ 30 парных фрагментов ВГА и БПВ, забранных в процессе выполнения КШ в 2019-2020 гг. в клинике НИИ КПССЗ. Указанные образцы в виде остаточного биологического материала, не нужного, с технической точки зрения, и подлежащего утилизации как отходы класса Б, были получены от пациентов, выбранных в случайном порядке и не связанных с ретроспективной и проспективной выборками. Каждая пара образцов (ВГА и БПВ) была забрана от одного и того же пациента и представляла собой преимущественно дистальные сегменты указанных кондуитов. Часть забранных сегментов была признана менее пригодной для исследования, в связи с чем, основное количество составило 13 парных образцов, на которых были изучены предоперационная распространенность и выраженность гипертрофии интимы, а также их связь с уровнем кровоснабжения аутоартериальных и аутовенозных кондуитов, выражаемого количеством и плотностью VV. Кроме этого, лабораторно-экспериментальная часть включала использование культур ЭК человека в виде 4500000 первичных ЭК КА, ВГА и БПВ, полученных из здоровых сосудов доноров с криоконсервацией в специальной среде, содержащей 10% фетальной телячьей сыворотки и 10% диметилсульфоксида. ЭК использовали с целью моделирования *in vitro* взаимодействий артериальных и венозных ЭК в виде анализа генной и белковой экспрессии молекул, ответственных за эндотелиальный гомеостаз, провоспалительный ответ и эндотелиально-мезинхимальный переход (ЭМП), анализа профиля секретируемых ЭК цитокинов, про- и анти-ангиогенных факторов, а также определения эндотелиального транскриптома и протеома в артерио-артериальном континууме. Всего было поставлено 3 эксперимента *in vitro* с использованием культур ЭК: 1) оценка паракринных эффектов артериальных и венозных ЭК на модели прямого сокультивирования; 2) оценка паракринных эффектов кондиционированной среды от артериальных и венозных ЭК при её перекрестном добавлении; 3) оценка молекулярного профиля ЭК КА и ЭК ВГА.

Опрос (анамнестический и катанестический методы). Метод заключался в осуществлении телефонных звонков и подробной беседе с пациентами или их родственниками в течение 2021 г. В ходе расспроса выяснялось, жив ли пациент, наличие и ФК стенокардии напряжения, принимаемая терапия, катанез ИБС, текущие показатели ультразвукового исследования (УЗИ) сердца и сосудов из последней медицинской документации, случаи повторной реваскуляризации миокарда в виде ЧКВ или реАКШ, ИМ и инсульт в послеоперационном периоде. Кроме этого,

проводились запросы в Федеральную Миграционную Службу по Кемеровской области по тем пациентам, информация о которых была недоступна в силу отсутствия возможности какого-либо контакта с ними или их родственниками. В ходе запросов выяснялось, жив ли пациент или нет, а в случае смерти – её год. Опрос дополнялся работой с историями болезней и иной медицинской документацией, в том числе, с медицинскими электронными порталами НИИ КПССЗ и ГБУЗ КККД имени академика Барбараша Л.С., а также архивом ангиограмм.

Описательный ангиографический метод. Изучение ангиограмм проводили в виде простого визуального анализа, заключающегося в описании качественных и количественных изменений КА, а также оценки по шкалам SYNTAXScore и GensiniScore. В ходе простого визуального анализа учитывались наличие, локализация, степень стеноза в процентах, протяжённость стеноза в мм и просвет сосуда дистальнее стеноза в мм, кроме этого, тип коронарного кровотока и коллатеральный кровоток, признаки осложнённого поражения КА в виде тромбоза и изъязвления, а также таких особенностей, как наличие спазма, кальциноза, миокардиального мостика, извитости, бифуркации. В соответствии с общепринятым алгоритмом, шкала SYNTAXScore использовалась как система балльной оценки для распределения пациентов по степени тяжести поражения в зависимости от количества и локализации стеноза КА с учётом наличия изменений ствола левой КА, наличия трёхсосудистого поражения, особенностей бифуркационного поражения, наличия тотальной окклюзии КА и тромбоза, их извитости и оценкой кальцификации стенок КА. Градация шкалы SYNTAXScore предполагала 4 группы: нормальные КА – 0 баллов, незначительное поражение – 1-22 балла, поражение средней степени – 23-32 балла, тяжёлое поражение КА – более 32 баллов. В ходе анализа ангиограмм оценивались артерии более 1,5 мм в диаметре при их поражении свыше 50%. При подсчёте баллов по шкале SYNTAXScore был использован специальный компьютерный калькулятор, учитывающий вышеуказанные параметры, вычисляющий степень поражения КА в баллах. Другая шкала GensiniScore также была использована на основании существующего алгоритма и учитывала степень стенозирования всех КА, включая ветви 1-го и 2-го порядков, от 25 до 100% степени стеноза, совокупность множественного поражения КА, его локализацию в 15 сегментах. Сужению просвета КА присваивались баллы от 1 до 32, полученное значение умножалось на коэффициент от 0,5 до 5,0 в зависимости от локализации

стеноза КА. Полученные значения суммировались путём простого сложения, а результат выражался также в баллах. Под вероятными причинами дисфункций шунтов и МФС конduit-артерия понимались: плохое дистальное русло, прогрессирование АС, конкурентный кровоток, дегенерация шунта и причина неустановленной этиологии.

Метод оптико-когерентной томографии. Проведение ОКТ включало несколько последовательных этапов: 1) осуществление пункционного сосудистого трансрадиального или трансфemorального доступа по Сельдингеру; 2) проведение через установленный интродьюсер 0,035 дюйма проводника, с последующим заведением проводникового катетера; 3) замена проводника на 0,014 дюйма коронарный проводник; 4) заведение датчика ОКТ через функционирующий коронарный шунт в целевую КА дистальнее зоны интереса; 5) введение 20 мл контрастного вещества со скоростью 7-8 мл/сек, с автоматической протяжкой датчика со скоростью 50 мм/сек. В ходе изучения КА методом ОКТ вначале на 3-5 сутки после КШ, а затем через 1 год, в общей сложности были проанализированы 42 МФС конduit-артерия (дистальная часть шунта, анастомоз и сопряжённый с ним сегмент целевой КА), из них в 21 (50%) случае применялся аутоартериальный конduit (ЛВГА), и в 21 (50%) – аутовенозный (БПВ) соответственно. Таким образом, у каждого пациента в динамике были одновременно изучены две МФС конduit-артерия, включавшие ЛВГА и БПВ. Оценены такие параметры, как целостность эндотелия, соотношение диаметров шунтов и нативной КА, наличие стенозов, спазма, пристеночных тромбов и диссекции.

Гистологический анализ сосудистой стенки и электронная сканирующая микроскопия в обратно-рассеянных электронах. Для этого после получения образцов ВГА и БПВ от пациентов в ходе проведения КШ их помещали в забуференный (рН 7,4) 10% водный раствор формалина. Затем после суточной фиксации в формалине биоматериал постфиксировали 1% тетраоксидом осмия в 0,1М фосфатном буфере (12 часов), затем окрашивали 2% тетраоксидом осмия в бидистиллированной воде (48 часов). Далее образцы обезвоживали в серии спиртов возрастающей концентрации (50%, 60%, 70%, 80% и 95% этанол), окрашивали 2% уранилацетатом в 95% этаноле (5 часов), обезвоживали 99,7% изопропанолом (5 часов) и ацетоном (1 час), пропитывали смесью ацетона с эпоксидной смолой в соотношении 1:1 (6 часов), после чего переносили в свежую порцию эпоксидной смолы (24 часа) и далее проводили ее полимеризацию в ёмкостях при 60°C. После этого образцы в эпоксидных

блоках подвергали шлифовке и полировке. Контрастирование цитратом свинца проводили по Рейнольдсу (7 минут) путем нанесения раствора на поверхность шлифованного образца с последующей его отмывкой бидистиллированной водой. Далее проводили напыление на полированную поверхность эпоксидных блоков углерода (толщина покрытия 10-15 нм) с помощью вакуумного напылительного поста. Визуализацию микроанатомии кондуитов при помощи сканирующей электронной микроскопии в обратно-рассеянных электронах проводили на электронном микроскопе Hitachi S-3400N в режиме BSECOMP при ускоряющем напряжении 10 кВ. Гипертрофия интимы оценивалась при помощи расчета отношения наибольшей толщины неоинтимы к наименьшей (значимым считалось данное отношение ≥ 5), а также расчетом площади стенозированного сосудистого просвета (патофизиологически значимым считался стеноз при $\geq 5\%$ или $\geq 10\%$ просвета сосуда – рассчитывались результаты для обеих мер стеноза). Пороговые значения значимости были выбраны на основании качественного анализа микрофотографий двумя специализирующимися на сосудистой микроанатомии гистологами независимо друг от друга.

Метод клеточного культивирования артериальных и венозныхЭК человека. Для эксперимента №1 конфлюэнтные культуры (85-90%)ЭК КА были сокультивированы с конфлюэнтными культурамиЭК ВГА илиЭК БПВ в соответствующих камерах, заполненных питательной средой, при этомЭК КА культивировались на дне, аЭК кондуита (ЭК ВГА илиЭК БПВ) – на поверхности 10-мкм полупрозрачной поликарбонатной мембраны, диаметр пор которой (0,4 мкм) позволял осуществлять взаимодействия между сокультивируемыми клетками посредством растворимых факторов и внеклеточных везикул, исключая миграцию клеток. В качестве контроля были использованы монокультурыЭК КА,ЭК ВГА иЭК БПВ, которые культивировали отдельно в той же культуральной посуде. Через 6, 24 или 48 часов сокультивирования среда собиралась для измерения уровней цитокинов и ангиогенных молекул, аЭК были отмыты в ледяномФСБ и лизированы в тризоле для выделения РНК или RIPA-буфере с коктейлем ингибиторов протеаз и фосфатаз для выделения общего белка. Для эксперимента №2 первичныеЭК КА, ВГА и БПВ были культивированы в питательной среде во флаконах T-150 до формирования монослоя, после чего полная культуральная среда для предотвращения контаминации внеклеточными везикулами из сыворотки после двукратной отмывкиФСБ была заменена на бессывороточную среду с теми же

факторами роста, что и в полной среде. Через 24 часа указанная бессывороточная культуральная среда была забрана из данных флаконов и центрифугирована с последующим перекрестным добавлением во флаконы Т-25 с заранее культивированным в питательной среде монослоем от этих же доноров. Ещё через 24 часа после перекрестного добавления клетки также были отмыты в ледяном ФСБ и лизированы в тризоле для выделения РНК или RIPA-буфере с коктейлем ингибиторов протеаз и фосфатаз для выделения общего белка. Кондиционированная культуральная среда от этих клеток была забрана для измерения уровня выделяемых ими молекул при помощи дот-блоттинга и ИФА. Для эксперимента №3 ЭК КА и ЭК ВГА культивировали во флаконах Т-75 в питательной среде. Пересев производили по достижении 80-90% конфлюэнтности. После 2-3 пассажей ЭК КА и ЭК ВГА рассеивали в проточные культуральные камеры или культуральные флаконы Т-75. Для моделирования воздействия пульсирующего потока ЭК КА и ЭК ВГА, предварительно рассеянные в проточные камеры до 90% конфлюэнтности, культивировали в течение ночи и прекоинкубировали ламинарным потоком (15 дин/см²) при помощи соответствующего набора коннекторов для перфузии в системе пульсирующего потока (48 часов). Инкубацию ЭК КА и ЭК ВГА в статических условиях проводили после формирования монослоя (48 часов).

Исследование экспрессии генов: метод количественной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией. Для экспериментов №1 и №2 обратная транскрипция была выполнена с применением термоциклера и специального набора, а генная экспрессия была измерена при помощи ОТ-кПЦР с использованием собственноручно разработанных праймеров. Кроме этого, были использованы кДНК (20 нг) и мастер-микс в соответствии с протоколом производителя для $T_m \geq 60^\circ\text{C}$. Технические репликаты включались в анализ во всех измерениях методом ОТ-кПЦР. Реакция считалась успешно проведенной при эффективности 90-105% и $R^2 \geq 0,98$. Количественный анализ уровней мРНК был проведен с использованием метода $2^{-\Delta\Delta Ct}$. Относительные уровни транскриптов были пересчитаны относительно экспрессии эндотелиального референсного гена *PECAM-1* и относительно группы сравнения ($2^{-\Delta\Delta Ct}$). Значения были представлены в виде тепловой карты. В качестве скрининговых генов были выбраны *VCAM-1*, *ICAM-1*, *SELE*, *SELP*, *IL-6*, *CXCL-8*, *CCL-2*, *CXCL-1*, *MIF*, *NOS-3*, *SNAI-1*, *SNAI-2*, *TWIST-1*, *ZEB-1*, *CDH-5*, *CDH-2*, *HES-1*, *HEY-1*, *HEY-2*, *NOTCH-1*, *NR2F-2*.

Исследование экспрессии белков: метод иммуноблоттинга. Для экспериментов №1 и №2 одинаковые количества белка (10-15 мкг на образец) были смешаны с буфером на основе додецилсульфата лития в соотношении 4:1 и восстановителем в соотношении 10:1, денатурированы при 99°C (5 минут) и далее загружены на 1,5 мм в гель. В качестве маркера молекулярных масс использовалась смесь белковых стандартов и белкового маркера для вестернблота в соотношении 1:1. Белки разделялись путем электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия при напряжении 150 В (2 часа) с использованием буфера для разделения белков, антиоксиданта и камеры для вертикального электрофореза. Перенос белка выполнялся с помощью мембран из поливинилидендифторида и прибора для сухого переноса в стандартном режиме для белков с молекулярной массой 30-150 кДа (P0 – 20 В в течение 1 минуты, 23 В в течение 4 минут и 25 В в течение 2 минут). Мембраны далее инкубировались в специальном растворе (1 час) для предотвращения неспецифического связывания. Блоты были проанализированы с использованием антител кролика к белкам VCAM-1, ICAM-1, SNAI-1, SLUG, HEY-1, HES-1, ZEB-1, VE-кадгерину, CD-31, антител мыши к белкам CD-31, каспазе-3, eNOS, N-кадгерину, глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназе, антител козла к β -тубулину. Конъюгированные с пероксидазой хрена вторичные антитела козла против кролика, козла против мыши и осла против козла были использованы в разведении 1:200, 1:1000 и 1:4000 соответственно. Инкубирование с антителами выполнялось в течение 3 часов. Хемилюминесцентная детекция проводилась с использованием субстрата и цифрового сканера блотов в высокочувствительном режиме (12-минутное сканирование). Денситометрия выполнялась с использованием программы ImageJ software по стандартному алгоритму. После поправки значения денситометрии были представлены в виде тепловой карты.

Исследование секретома клеток: метод дот-блоттинга и иммуноферментного анализа. Для эксперимента №1 в среде после сокультивирования ЭК, а для эксперимента №2 в кондиционированной культуральной среде от ЭК был проведен анализ уровня цитокинов и ангиогенных молекул с использованием соответствующих наборов для дот-блоттинга. Хемилюминесцентная детекция проводилась посредством цифрового сканера блотов в высокочувствительном режиме (12-минутное сканирование). Концентрации цитокинов IL-6 и IL-8 в надосадке были измерены при помощи соответствующих наборов для ИФА.

Колориметрическая детекция результата была проведена при помощи спектрофотометра на длине волны 450 нм.

Исследование транскриптома клеток: метод полнотранскриптомного секвенирования РНК. В ходе эксперимента №3 после культивирования ЭК КА и ЭК ВГА в статических условиях и в потоке и их лизиса проводилось выделение тотальной РНК при помощи специального набора с сопутствующей обработкой ДНКазой. Оценка количества выделенной РНК проводилась на спектрофотометре и флуориметре. Для 1 мкг выделенной РНК осуществлялась деплация рРНК с дальнейшим конструированием ДНК-библиотек. Секвенирование библиотек проводилось в центре коллективного пользования «Геномика» «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук». Полученные прочтения картировались на геном человека (hg38) с использованием программы STAR v2.7.6a [10.1093/bioinformatics/bts635]. Анализ покрытия экзонов генов осуществлялся с помощью HTSeq-count v0.12.4 с аннотацией Ensembl (v.38.93). Для оценки дифференциальной экспрессии генов (ДЭГ) использовался пакет *DESeq2* [<https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>]. При анализе различий между клеточными культурами ЭК КА и ЭК ВГА в расчет брались ДЭГ, для которых уровень экспрессии изменялся более чем в 2 раза, с уровнем значимости FDR (false discovery rate)-скорректированного значения $P < 0,05$. Для ДЭГ проводился анализ обогащения генных онтологий (GO) с использованием баз данных Gene Ontology, Reactome, UniProtKB и Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. Данные RNA-seq были депонированы на электронный ресурс Sequence Read Archive с идентификатором массива данных PRJNA891895.

Исследование протеома клеток: метод жидкостной хромато-масс-спектрометрии. Также в ходе эксперимента №3 после культивирования ЭК КА и ЭК ВГА в статических условиях и в потоке и их лизиса проводили количественный анализ общего белка с использованием специального набора и микропланшетного спектрофотометра. Протеомное профилирование осуществляли посредством жидкостной хроматографии, совмещенной с тандемной масс-спектрометрией с ионной подвижностью (timsTOF Pro) на базе ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий», «Санкт-Петербургский государственный университет». Для очистки от компонентов лизирующего буфера проводили осаждение белка, далее образцы выравнивали по общему количеству, измеряя концентрацию белка на флуориметре, после чего подвергали их трипсинолизу, а затем инкубировали и обессоливали.

Надосадоk с триптическими пептидами переносили в новые пробирки, высушивали в вакуумном концентраторе и растворяли их в воде для хроматографии. Растворенные пептиды анализировали при помощи безметочного (label-free) протеомного профилирования, выполняемого посредством жидкостной хроматографии, совмещенной с tandemной масс-спектрометрией с ионной подвижностью. Масс-спектрометрические данные обрабатывали с использованием программного обеспечения PEAKS Studio Xpro. Идентификацию и количественный анализ белков проводили по базе данных SwissProt (Uniprot), отфильтрованной по белкам человека. Для идентификации использовали спектры с качеством сборки *de novo* не менее 50%. Достоверными считали идентификации белков и пептидов с FDR < 1%, расчёт FDR проводили при помощи поиска по обратной базе данных (decoy). Затем из анализа были исключены белки, имеющие менее 2 уникальных пептидов. После получения информации о площади пиков AUC (area under the curve), обнаруженных в разных образцах белков, проводили анализ полученных данных.

Метод машинного обучения. В ходе обучения использовали базу данных 152 пациентов (78 в группе БиМКШ и 74 в группе АКШ), которые наблюдались в отдалённые сроки и имели клинические конечные точки. Работу с данными осуществляли с использованием программного обеспечения Python версии 3. Метод включал несколько этапов: 1) предобработку данных с использованием библиотеки “Pandas” в виде удаления предикторов с заполняемостью менее 90%, форматирования и обработки недостающих данных; 2) статистическое сравнение групп с использованием библиотеки “SciPy” по 59 количественным и качественным критериям; 3) логистическую регрессию с использованием библиотеки “Scikit Learn”; 4) непосредственное изучение эффективности 8-алгоритмов машинного обучения, применяемых для анализа табличных данных в задачах классификации на основе 5-фолдовой кросс-валидации (деревья решений, метод случайного леса, сочетание деревьев решений, сверхслучайные деревья решений, продвинутые варианты, использующие градиентный бустинг, многослойные нейросети, метод K-средних соседей и ансамбль алгоритмов).

Биоинформатический анализ. Для анализа функционального обогащения сетей «белок-белок» и «ген-ген» взаимодействий использовалась база данных STRING и программное обеспечение Cytoscape версии 3.10.1 (Cytoscape Consortium, San Diego, CA, USA) с плагином stringApp. Конвейер

биоинформационного анализа включал: 1) отбор дифференциально экспрессированных белков и генов, имеющих ≥ 1 взаимодействие; 2) цветовое отображение для различения взаимодействующих дифференциально экспрессированных белков и генов между ЭК КА и ЭК ВГА; 3) анализ обогащения путей с использованием категорий баз данных GO, Reactome, UniProtKB и KEGG; 4) выбор молекулярных категорий, важных для артериального гомеостаза.

Статистический анализ. Математическая обработка материала осуществлялась с использованием пакетов статистических программ Statistica версии 10.0.1011.0, GraphPad Prism версии 8.0.2, SPSS версии 26 и XLSTAT версии 2022.3. Для выявления статистических различий нормально распределённых данных двух независимых выборок применялся t-критерий Student, в случае распределения отличного от нормального – u-критерий Mann-Whitney, а также Колмогорова-Смирнова. При сравнении двух зависимых выборок применялся t-критерий Wilcoxon, трех независимых групп и более по одному признаку применялся h-критерий Kruskal-Wallis. Для анализа различий качественных (бинарных) данных использовались χ^2 -критерий Pearson с поправкой Yates и точный тест Fisher. При анализе различий качественных (порядковых) данных применяли u-критерий Mann-Whitney, а для изучения количественной связи между явлениями применялся ρ -коэффициент корреляции Spearman. Количественные данные представляли в формате $M \pm SD$, где M (mean) – среднее значение, SD (standard deviation) – стандартное отклонение, а также Me [25%, 75%] в случае распределения, отличного от нормального, где Me (median) – медиана, [25%; 75%] – интерквартильный размах (квартиль Q1 = 25 перцентиль и квартиль Q3 = 75 перцентиль), для качественных – в виде процентного отношения n (%). Кривые выживаемости были построены по Kaplan-Meier. Вероятность ошибки первого рода принималась за 5 %. Различия между группами признавались статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Проверка прогностических моделей осуществлялась с помощью C-статистики в виде ROC-кривых. Количественный анализ изображений проводили с использованием программы ImageJ. Поправка на множественные сравнения выполнялась посредством применения средней доли ложных отклонений гипотез (false discovery rate или FDR) по Benjamini-Krieger-Yekutieli.

Результаты исследования и их обсуждение

В ходе реализации первой задачи было показано, что в отдалённом послеоперационном периоде в сроки свыше 15 лет наблюдения пациенты группы АКШ достоверно чаще имели ИМ (19 (25,67%) против 7 (8,97%), $p < 0,05$), а также смерть от любых причин (26 (34,66%) против 14 (17,94%), $p < 0,05$). В то же время пациенты группы БиМКШ сохраняли более высокую ФВ ЛЖ (55 [49; 60,25]% против 50 [34,5; 57]%, $p < 0,05$) и более низкий ФК стенокардии напряжения (1 [0; 2] против 2 [1; 2], $p < 0,05$) за счёт большей частоты ФК 0 (34 (43,59%) против 16 (21,62%), $p < 0,05$) и меньшей ФК II (23 (29,43)% против 34 (45,95%), $p < 0,05$) (Таблица 1).

Таблица 1 – Первичные и вторичные конечные точки в отдалённом периоде в зависимости от вида хирургической технологии

Показатели	БиМКШ группа, n = 78 (51,3%)	АКШ группа, n = 74 (48,7%)	p
ИМ, n (%)	7 (8,97)	19 (25,67)	0,009
Инсульт, n (%)	12 (15,38)	15 (20,27)	0,565
ЧКВ/реАКШ, n (%)	24 (30,76)	28 (37,83)	0,455
Смерть от любых причин, n (%)	14 (17,94)	26 (34,66)	0,026
Комбинированная точка, n (%)	44 (56,41)	52 (70,27)	0,109
ФВ ЛЖ, %, Ме [25%; 75%]	55 [49; 60,25]	50 [34,5; 57]	0,012
ФК 0 стенокардии, класс, n (%)	34 (43,59)	16 (21,62)	0,004
ФК I стенокардии, класс, n (%)	13 (16,67)	8 (10,81)	0,351
ФК II стенокардии, класс, n (%)	23 (29,43)	34 (45,95)	0,036
ФК III стенокардии, класс, n (%)	8 (10,26)	15 (20,27)	0,113
ФК IV стенокардии, класс, n (%)	0	1 (1,35)	0,486

Кроме этого, при анализе степени атеросклеротического поражения только шунтированных КА по шкале GensiniScore было выявлено, что прогрессирование АС оказалось менее выражено в бассейне ветви тупого края (ВТК) в той группе, где для её шунтирования использовалась ВГА, по сравнению со второй, где применялась БПВ в сроки более 10 лет наблюдения (4 против 32 баллов, $p = 0,027$). Дальнейшая оценка динамики нарастания поражения до и после операции в бассейне ВТК подтвердила, что оно не различалось для зависимых групп в случае использования ВГА (ВТК (БиМКШ) против ВГА-ВТК (БиМКШ), $p = 0,125$), и было достоверно выше после применения БПВ (ВТК (АКШ) против БПВ-ВТК (АКШ), $p = 0,0002$). В целом

прирост относительно изначальной степени поражения составил для системы ВГА-ВТК около 21%, в то время как для системы БПВ-ВТК почти 103% соответственно, при этом при изучении бассейна правой КА (ПКА) группы были сопоставимы, а такие КА, как ПНА, диагональная ветвь и огибающая артерия не могли быть объективно оценены в ходе исследования (Рисунок 1).

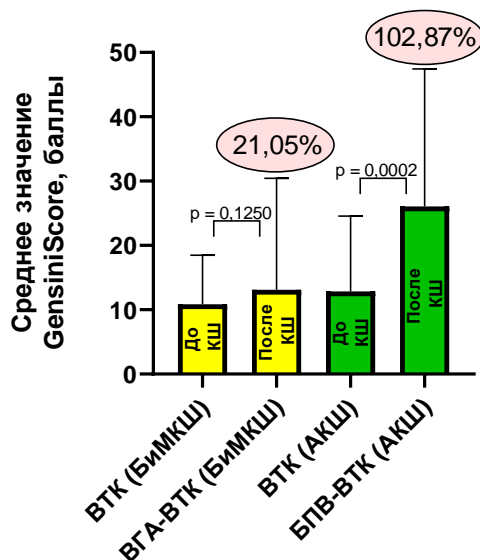


Рисунок 1 – Прирост атеросклеротического поражения в системе функционирующий шунт-ВТК в группах

Во второй задаче проведение ОКТ на 3-5 сутки после КШ показало, что дисфункция шунта-ЛВГА наступала в 4,8% случаев, потребовавшая проведения ЧКВ, кроме этого, важными стали находки в виде пристеночных тромбов на уровне анастомоза (9,5%), отношения диаметр шунта/КА > 2 (23,8%), целевой КА диаметром < 2,5 мм (19%) и диссекции ЛВГА (2,3%) в зоне анастомоза (Таблица 2).

Таблица 2 – Результаты ОКТ на 3-5 сутки после КШ

Морфологические ОКТ-находки МФС конduit-артерия	n = 42
Пристеночный тромбоз анастомоза, n, %	4 (9,5)
Отношение диаметров шунт/КА > 2, n, %	10 (23,8)
Диаметр целевой КА < 2,5 мм, n, %	8 (19,0)
Диссекция зоны анастомоза, n, %	1 (2,3)

Спустя 1 год у 9,5% пациентов наблюдались клинически незначимая окклюзия БПВ-шунта на ПКА без последующего его стентирования, а также окклюзия ЛВГА-шунта на ПНА, потребовавшая проведения ЧКВ, которые встречались в МФС конduit-артерия с соотношением диаметра шунта/КА > 2 и

целевой КА диаметром < 2,5 мм. При этом 75% МФС кондуит-артерия с ЛВГА явления пристеночного тромбоза полностью разрешились самостоятельно, однако в 25% в зоне анастомоза определялся стеноз до 70%, а случай диссекции зоны анастомоза в динамике показал существенную редукцию ложного канала. Случаев ИМ, смерти и инсульта зарегистрировано не было.

Далее было определено, что среди всех изучаемых 323 МФС кондуит-артерия у 102 пациентов в сроки наблюдения 10 лет и более дисфункции в виде окклюзии и стеноза шунтов составили 93 (28,8%) случая, при этом системы с БПВ определялись в 54 (33,7%), с ЛВГА – 21 (20,5%), с ПВГА – 13 (26,5%) и с ЛА – 5 (41,6%) случаях соответственно. В целом дисфункции в МФС кондуит-артерия с использованием БПВ по причине плохого дистального русла встречались в 32 (59,3%) случаях, прогрессирования АС КА – 1 (1,8%), конкурентного кровотока – 10 (18,5%), дегенерации шунта – 9 (16,7%), по не установленной причине – 2 (3,7%). В МФС кондуит-артерия с ЛВГА причинами дисфункций стали плохое дистальное русло – 5 (23,8%), прогрессирование АС КА – 1 (4,8%), конкурентный коронарный кровоток – 13 (61,9%), причина не установлена – 2 (9,5%), МФС кондуит-артерия с ПВГА плохое дистальное русло – 1 (7,7%), прогрессирование АС КА – 1 (7,7%), конкурентный коронарный кровоток – 10 (76,9%), дегенерация шунта – 1 (7,7%), в МФС кондуит-артерия с ЛА плохое дистальное русло – 2 (40%), конкурентный коронарный кровоток – 1 (20%), дегенерация шунта – 1 (20%), а также по не установленной причине – 1 (20%) соответственно (Таблица 3).

Таблица 3 – Причины дисфункций МФС кондуит-артерия в зависимости от типа используемого кондуита

Причины дисфункции МФС кондуит-артерия		Общее количество дисфункций
Системы с БПВ, n, %		
Плохое дистальное русло КА	32 (59,3)	54 (100)
Прогрессирование АС КА	1 (1,8)	
Конкурентный кровоток	10 (18,5)	
Дегенерация шунта	9 (16,7)	
Причина не установлена	2 (3,7)	
Системы с ЛВГА, n, %		
Плохое дистальное русло КА	5 (23,8)	21 (100)
Прогрессирование АС КА	1 (4,8)	
Конкурентный кровоток	13 (61,9)	
Дегенерация шунта	0	

Продолжение таблицы 3

Причина не установлена	2 (9,5)	
Системы с ПВГА, n, %		
Плохое дистальное русло КА	1 (7,7)	13 (100)
Прогрессирование АС КА	1 (7,7)	
Конкурентный кровоток	10 (76,9)	
Дегенерация шунта	1 (7,7)	
Причина не установлена	0	
Системы с ЛА, n, %		
Плохое дистальное русло КА	2 (40)	5 (100)
Прогрессирование АС КА	0	
Конкурентный кровоток	1 (20)	
Дегенерация шунта	1 (20)	
Причина не установлена	1 (20)	

В третьей задаче с целью определения отдалённого прогноза методом машинного обучения у 152 пациентов, имеющих конечные точки после КШ, было получено, что удовлетворительные показатели площади под ROC-кривой были зафиксированы для большинства случаев, причём после использования алгоритма ансамблирования, за счёт которого, прогностическая результативность была значительно повышена и достигла площади под кривой 0,77-0,91 для трех из четырех исходов (Рисунок 2).

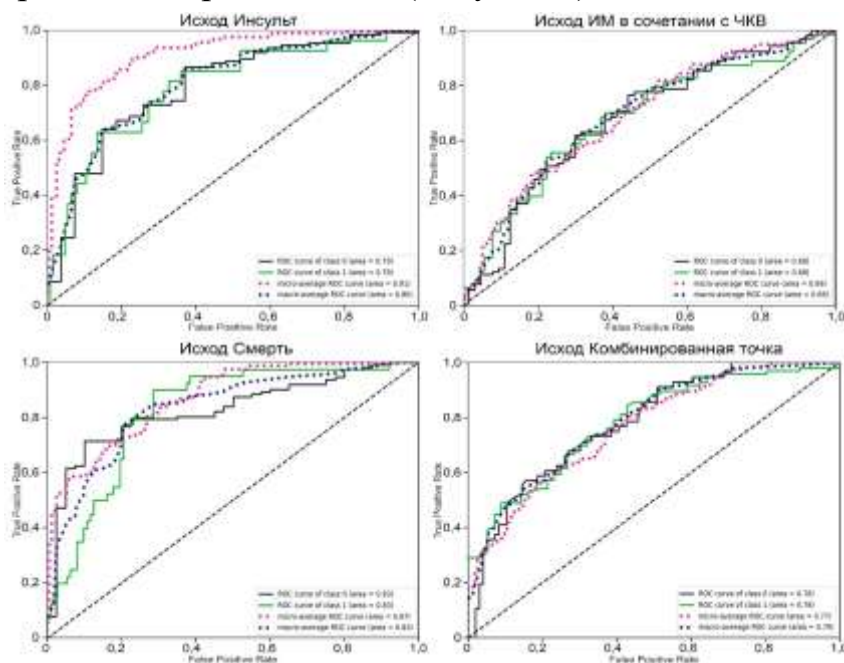


Рисунок 2 – ROC-кривые и количественная характеристика площади под ROC-кривой для алгоритма ансамблирования при прогнозировании исследованных исходов

При реализации четвертой задачи было продемонстрировано, что предоперационная гипертрофия интимы, определяемая в предимплантационном периоде МФС кондуит-артерия, коррелировала с площадью ($r = 0,45$, $p = 0,023$) и количеством VV ($r = 0,47$, $p = 0,015$) независимо от вида кондуита для КШ, отражая в целом патогенетическую значимость сосудов микроциркуляторного русла (Рисунок 3).

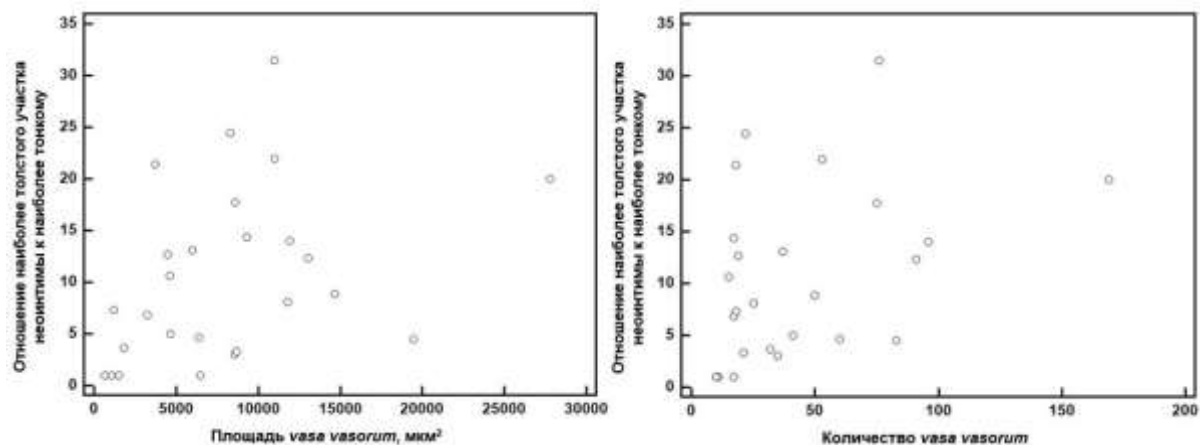


Рисунок 3 – Корреляция площади VV, количества VV и гипертрофии интимы

БПВ характеризовались большим количеством (60 (34,5-87,0) против 18 (16,0-23,5), $p = 0,0005$) и плотностью VV (26201 (21314-37495) против 65079 (45248-85263), $p = 0,027$), в сравнении с ВГА. При этом количество VV БПВ было связано сильнее с площадью стеноза, чем в ВГА (3,849 против 1,095, $p = 0,039$) (Рисунок 4).

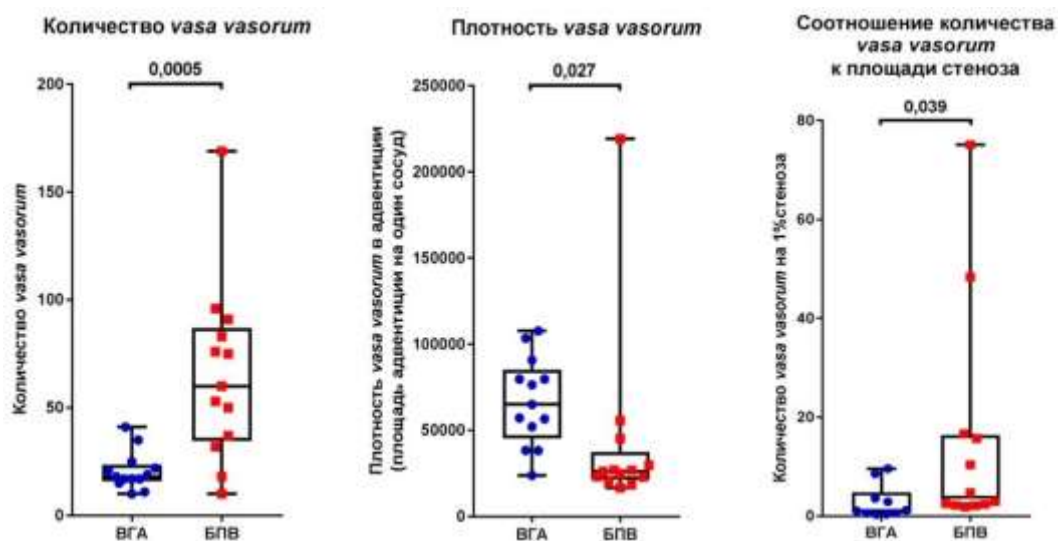


Рисунок 4 – Количество и плотность VV в различных кондуитах, а также количество VV на 1% стеноза сосудистого просвета

Пятая задача включала проведение двух экспериментов. Результаты, полученные в ходе эксперимента №1, показали, что при избирательном профилировании генной экспрессии посредством ОТ-кПЦР было выявлено снижение экспрессии провоспалительных молекул и факторов ЭМП на генном уровне в ЭК КА при сокультивировании с ЭК ВГА на различных временных точках, по сравнению с моделью сокультивирования ЭК КА и ЭК БПВ (Рисунок 5).

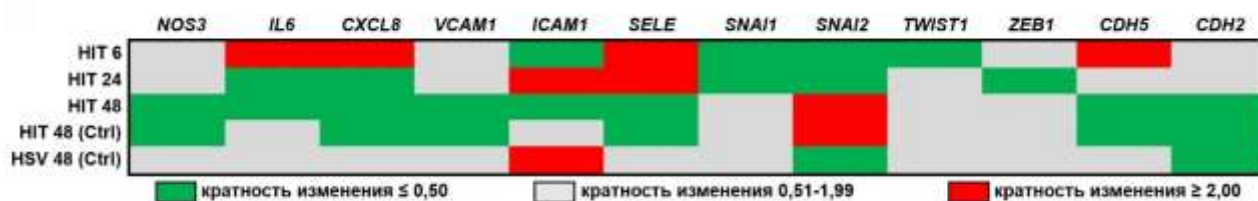


Рисунок 5 – Профилирование ключевых эндотелиальных молекул в ЭК КА, сокультивированных с ЭК ВГА (HIT) или ЭК БПВ (HSV) в течение 6, 24 и 48 часов (ОТ-кПЦР)

Измерение соответствующих белков при помощи иммуноблоттинга выявило повышение уровня eNOS через 48 часов сокультивирования в ЭК КА, сокультивированных с ЭК ВГА, по сравнению с ЭК КА, сокультивированными с ЭК БПВ. Уровни транскрипционных факторов ЭМП SNAI-1 и SLUG были существенно ниже, а транскрипционного фактора артериальной дифференцировки HES-1 выше в ЭК КА, сокультивированных с ЭК ВГА, подтверждая результаты анализа генной экспрессии (Рисунок 6).

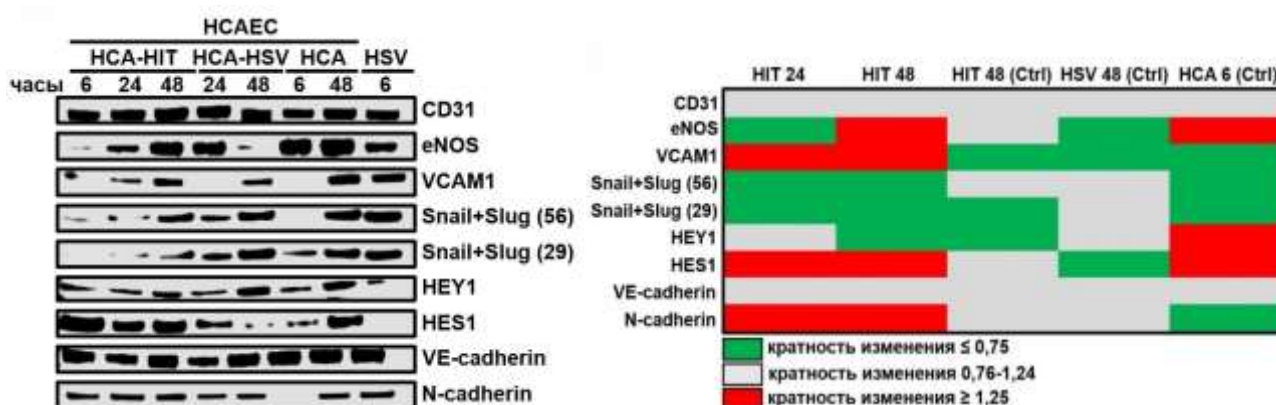


Рисунок 6 – Профилирование ключевых эндотелиальных молекул в ЭК КА, сокультивированных с ЭК ВГА (HIT) или ЭК БПВ (HSV) в течение 6, 24 и 48 часов (иммуноблоттинг, денситометрия)

Сравнив ЭК ВГА и ЭК БПВ, сокультивированные с ЭК КА, с монокультурами ЭК ВГА и ЭК БПВ, было получено, что сокультивирование с

ЭК КА подавляло экспрессию генов *VCAM-1*, *ICAM-1* и *SELE* в ЭК ВГА и ЭК БПВ, стимулируя экспрессию генов *IL-6* и *CXCL-8* в ЭК ВГА. Монокультуры ЭК ВГА характеризовались более высокой экспрессией молекул клеточной адгезии (гены *VCAM-1*, *ICAM-1* и *SELE*) и более низкой экспрессией маркеров ЭМП (генов *SNAI-2*, *ZEB-1* и *CDH-2*), по сравнению с монокультурой ЭК БПВ (Рисунок 7).



Рисунок 7 – Профилирование ключевых эндотелиальных молекул в ЭК ВГА (HIT) и ЭК БПВ (HSV), сокультивированных с ЭК КА в течение 6, 24 и 48 часов (ОТ-кПЦР)

По аналогии с ЭК КА, ЭК ВГА при сокультивировании артериальных эндотелиальных линий характеризовались повышенной экспрессией белков eNOS, VCAM-1, а также сокультивирование с ЭК КА приводило к потере экспрессии транскрипционных факторов ЭМП SNAI-1 и SLUG в ЭК ВГА и вызывало экспрессию маркера артериальной дифференцировки HES-1 в ЭК БПВ (Рисунок 8).

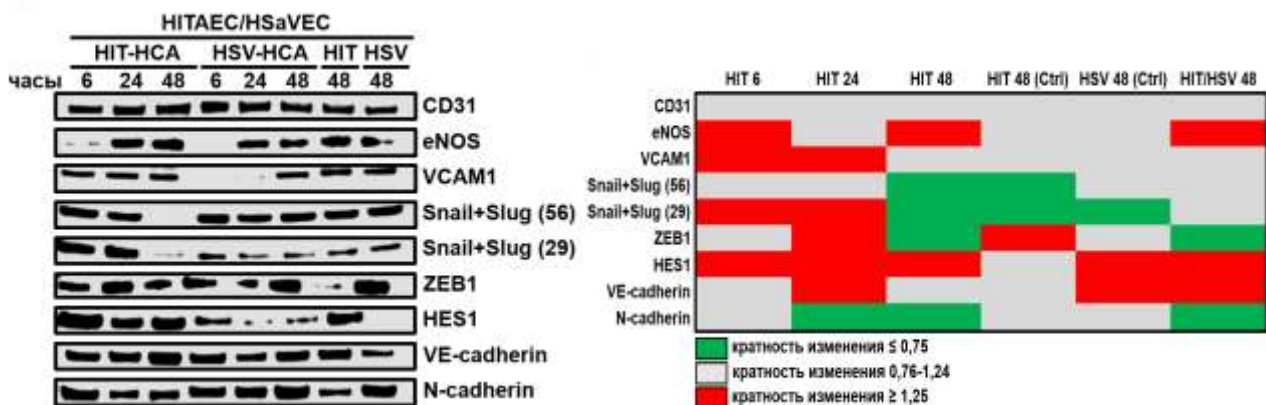


Рисунок 8 – Профилирование ключевых эндотелиальных молекул в ЭК ВГА (HIT) и ЭК БПВ (HSV), сокультивированных с ЭК КА в течение 6, 24 и 48 часов (иммуноблоттинг, денситометрия).

Содержание про-ангиогенных белков спустя 48 часов сокультивирования, определяемое методом дот-блоттинга, было выше в надсадке модели ЭК КА-ЭК ВГА, по сравнению с таковой модели ЭК КА-ЭК БПВ, хотя через 6 часов подобных различий не наблюдалось. Уровень основного провоспалительного цитокина IL-8 в надсадке был сопоставим в обеих моделях, хотя и был немного выше в надсадке модели ЭК КА-ЭК БПВ через 6 часов

сокультивирования. С другой стороны, более чувствительный метод ИФА выявил повышенное содержание ИЛ-6 и ИЛ-8 в надсадке модели ЭК КА-ЭК ВГА (Рисунок 9).

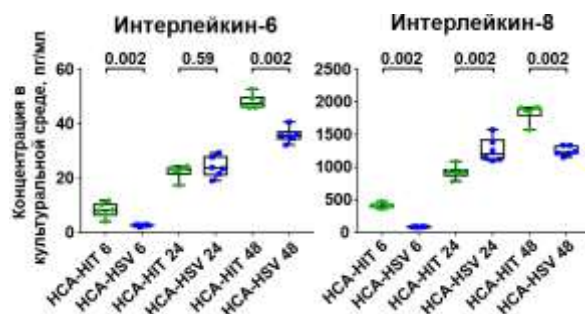


Рисунок 9 – Концентрации ИЛ-6 и ИЛ-8 в надсадке моделей сокультивирования ЭК КА-ЭК ВГА (HCA-HIT) и ЭК КА-ЭК БПВ (HCA-HSV), собранном через 6 и 48 часов сокультивирования (ИФА)

Результаты, полученные в ходе эксперимента №2, продемонстрировали, что при проведении ОТ-кПЦР определялось снижение экспрессии генов *VCAM-1*, *ICAM-1*, *SELE*, *SELP*, *HES-1*, *HEY-2*, *NOTCH-1* и повышение *NR2F-2* в ЭК КА с добавлением среды от ЭК ВГА, повышение *VCAM-1*, *ICAM-1*, *SELE*, *SELP*, *CXCL-8*, *CCL-2*, *CXCL-1*, *MIF*, *SNAI-1*, *TWIST-1*, *ZEB-1*, *CDH-2* в ЭК КА с добавлением среды от ЭК БПВ, снижение *SNAI-1*, *SNAI-2*, *TWIST-1*, *HES-1*, *NOTCH-1* в ЭК ВГА с добавлением среды от ЭК КА, снижение *IL-6*, *CXCL-8*, *CCL-2*, *CXCL-1*, *HES-1*, *NOTCH-1* в ЭК ВГА с добавлением среды от ЭК БПВ, повышение *VCAM-1*, *ICAM-1*, *SELP*, *IL-6*, *CXCL-8*, *CXCL-1*, *MIF*, *SNAI-1*, *TWIST-1*, *ZEB-1*, *CDH-2* в ЭК БПВ с добавлением среды от ЭК ВГА и КА (Рисунок 10).

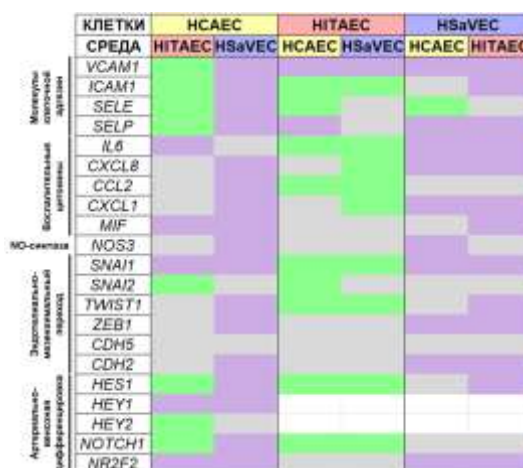


Рисунок 10 – Профилирование ключевых эндотелиальных молекул в культурах ЭК КА (HCAEC), ЭК ВГА (HITAEC) и ЭК БПВ (HSAVEC) (ОТ-кПЦР)

Вместе с тем согласно данным иммуноблоттинга по изучению экспрессии белковых молекул VCAM-1, ICAM-1, ZEB-1, CASP-3, экспериментальные группы не различались.

В ходе проведения дот-блоттинга было показано, что кондиционированная среда от артериальных ЭК стимулировала провоспалительный цитокиновый ответ (в частности, активное выделение IL-8 и CXCL-1), по сравнению с кондиционированной средой от венозных ЭК, при этом ЭК ВГА также характеризовались повышенным выделением MCP-1/CCL-2, а кондиционированная среда от них – способностью индуцировать выделение этого цитокина ЭК КА. С другой стороны, кондиционированная среда от артериальных ЭК обладала выраженным про-ангиогенным профилем при воздействии на ЭК КА и ЭК БПВ. Дальнейший ИФА обнаружил статистически значимое снижение концентрации провоспалительной молекулы IL-6 (IL-8 по технической причине изучить не удалось) во всех случаях при добавлении кондиционированной среды от ЭК БПВ, а также в культурах ЭК ВГА и ЭК БПВ при добавлении кондиционированной среды от ЭК ВГА, однако при этом данная концентрация все равно была выше, чем при добавлении кондиционированной среды от ЭК БПВ (Рисунок 11).

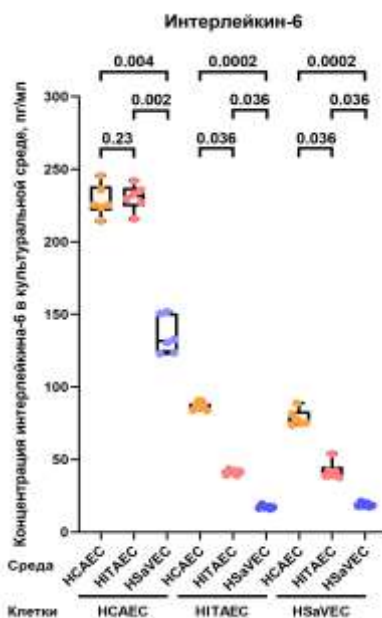


Рисунок 11 – Концентрации IL-6, выделяемого ЭК КА (HCAEC), ЭК ВГА (HITAEC) и ЭК БПВ (HSAVEC), при перекрёстном добавлении кондиционированной среды (ИФА)

При выполнении шестой задачи в виде эксперимента №3 в ходе протеомного профилирования было получено, что 244 белка оказались

гиперэкспрессированны в ЭК КА и 287 белка гиперэкспрессированны в ЭК ВГА, тогда как 2794 белка не показали дифференциальной экспрессии между двумя данными клеточными линиями (Рисунок 12).

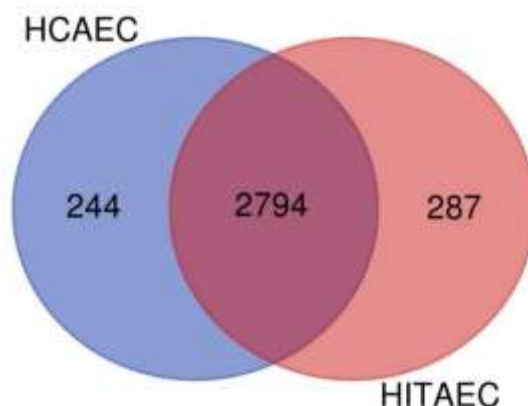


Рисунок 12 – Диаграмма Венна, показывающая количество дифференциально экспрессированных белков в протеоме ЭК КА (HCAEC) и ЭК ВГА (HITAEC)

ЭК КА и ЭК ВГА демонстрировали протеомное сходство в основных составляющих морфологии и физиологии эндотелия – обеспечении прикрепления к базальной мембране, организации межклеточных соединений, выработке энергии в митохондриях и секреции внеклеточных везикул.

В условиях пульсирующего потока общее количество гиперэкспрессированных генов в ЭК КА составило 1014, гиперэкспрессированных в ЭК ВГА – 849, не экспрессированных дифференциально – 19228 (Рисунок 13).

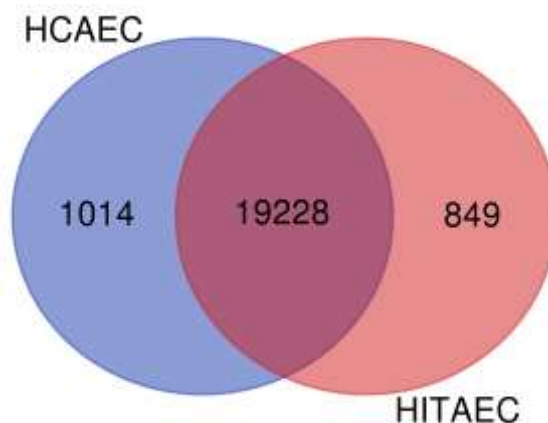


Рисунок 13 – Диаграмма Венна, показывающая количество дифференциально экспрессированных генов в транскриптоме ЭК КА (HCAEC) и ЭК ВГА (HITAEC) в условиях пульсирующего потока

В статических условиях общее количество гиперэкспрессированных в ЭК КА генов составило 729, гиперэкспрессированных в ЭК ВГА – 926, не экспрессированных дифференциально – 17789 (Рисунок 14).

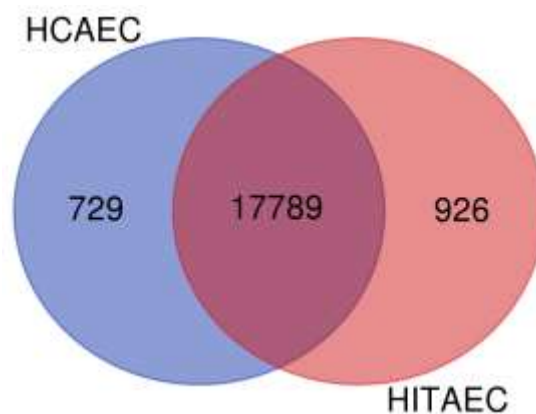


Рисунок 14 – Диаграмма Венна, показывающая количество дифференциально экспрессированных генов в транскриптоме ЭК КА (HCAEC) и ЭК ВГА (HITAEC) в статических условиях

Независимо от моделируемых условий, транскриптомное профилирование ЭК КА и ЭК ВГА продемонстрировало высокую схожесть, то есть конгруэнтность, большинства структурно-функциональных категорий, а именно, в синтезе коллагена и других компонентов внеклеточного матрикса, прикреплении к базальной мембране, связывании с гликозаминогликанами, кальций-зависимом сигналинге, организации межклеточных соединений, секреции внеклеточных везикул, метаболизме и репарации ДНК, процессинге РНК, а также процессах утилизации белков (убиквитинировании и аутофагии).

Кроме этого, в ходе моделирования интерактома *in silico* было обнаружено, что большинство категорий белок-белковых и ген-генных взаимодействий в ЭК КА и ВГА оказались ответственны за структурное и функциональное поддержание эндотелиального монослоя и базальной мембраны, что выражалось в таких категориях, как межклеточные соединения (плотные, якорные, фокальные, щелевидные контакты), адгезия клеток и матрикса, а также ангиогенез и морфогенез сосудов, пролиферация ЭК, формирование эластических волокон, биосинтез NO и его регуляция. Всё это указывало на значительную вовлечённость дифференциально экспрессированных белков и генов в поддержание артериального гомеостаза и их существенный вклад в биологическую конгруэнтность артерио-артериального континуума, которая также могла быть связана и с синергичным влиянием всего интерактома клеток на их эндотелиальный фенотип (Рисунок 15).

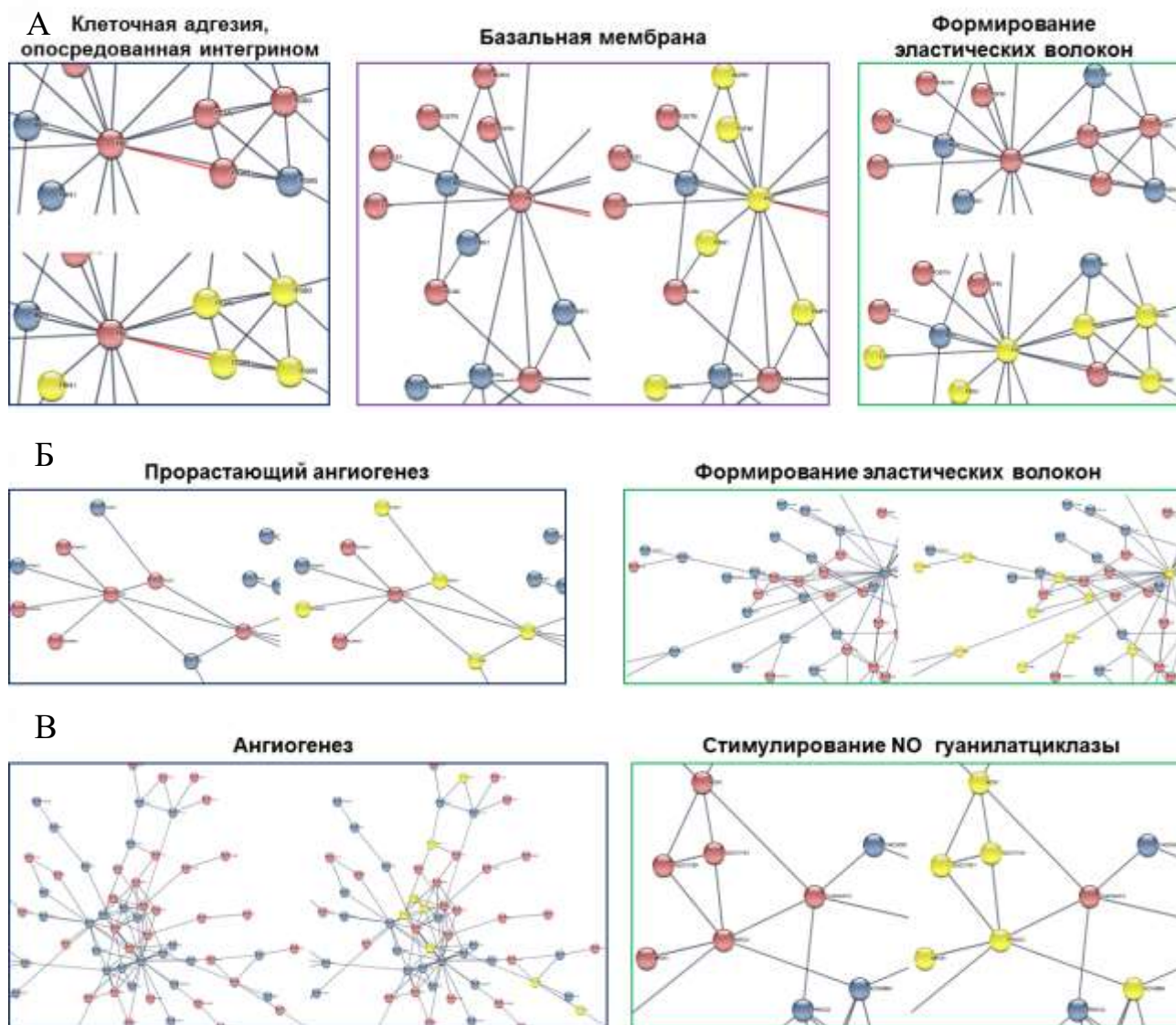


Рисунок 15 – Моделирование *in silico* белок-белковых (А) и ген-генных взаимодействий между первичными ЭК КА и ЭК ВГА человека в условиях потока (Б) и статичных условиях (В)

Таким образом, МФС конduit-артерия, которая представляет собой единый комплекс, формирующийся в процессе создания хирургического анастомоза во время операции КШ и состоящий из кондуита-донора, несущего кровь, и КА-реципиента, взаимодействующих в зависимости от выбираемых сосудистых трансплантатов и целевой КА по принципу прямой и обратной связи, является клинко-патофизиологической концепцией и одновременно универсальной категорией, применимой к любому варианту КШ, которая объясняет высокую эффективность аутоартериальной реваскуляризации миокарда на примере использования ВГА. Концептуальная схема высокой устойчивости МФС конduit-артерия с использованием аутоартериального кондуита представлена на рисунке 16.

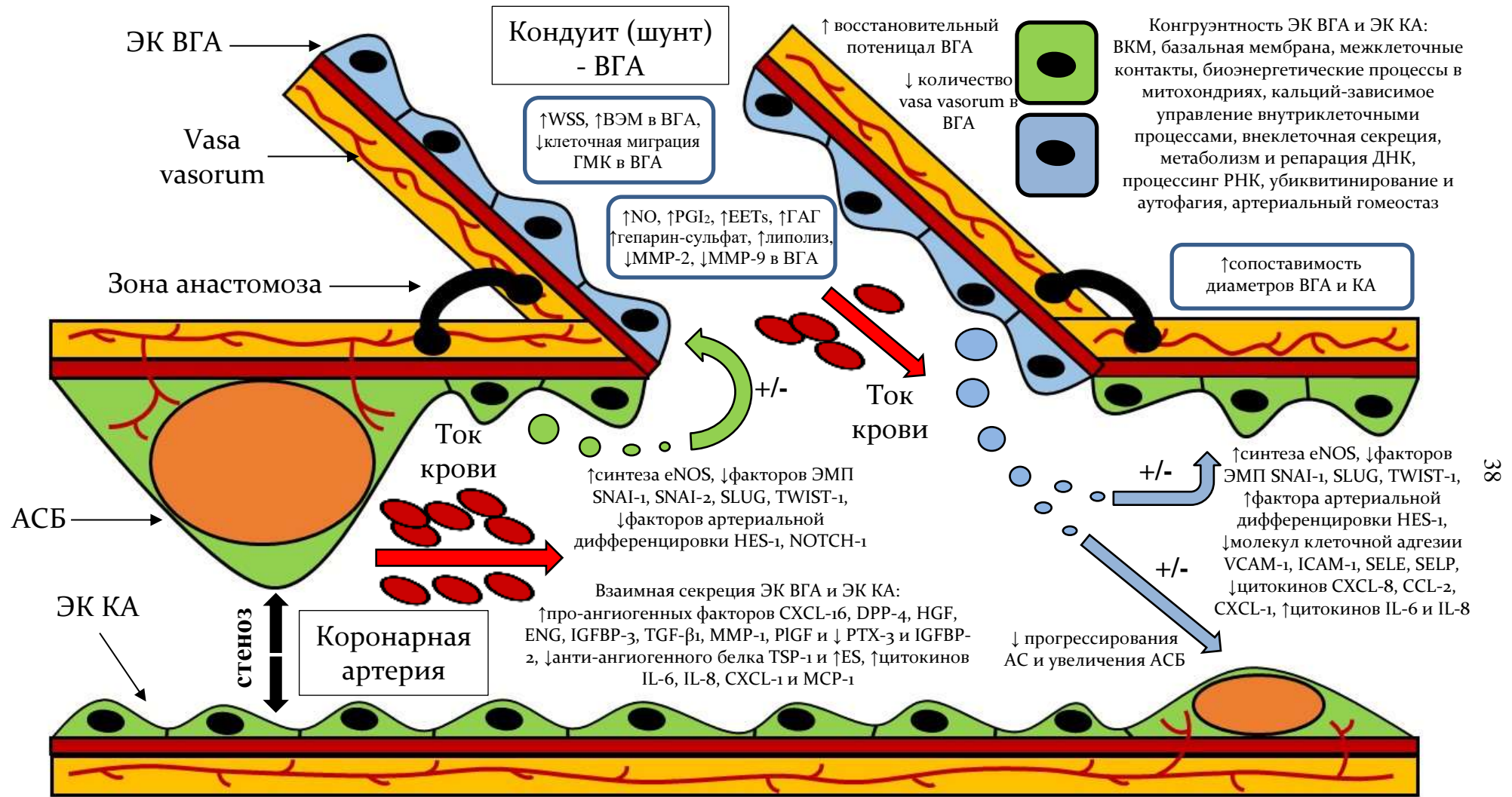


Рисунок 16 – Концептуальная схема высокой устойчивости МФС конduit-артерия с использованием аутоартериального конduitа (ВГА)

ВЫВОДЫ

1. Постоперационный самогенетический эффект пролонгированного протективного действия аутоартериального КШ характеризуется уменьшением частоты развития ИМ, и, как следствие, сохранением более высокого показателя ФВ ЛЖ, наличием стенокардии напряжения более низкого ФК и уменьшением частоты летального исхода в сроки более 15 лет. При этом аутоартериальные шунты в виде ВГА, по сравнению с аутовенозными, более выражено защищают КА, в частности, ВТК и всю МФС конduit-артерия от прогрессирования АС в отдалённом послеоперационном периоде.

2. Ранние структурные изменения и находки МФС конduit-артерия в виде соотношения диаметров шунт/КА > 2 ассоциированы с её дисфункцией, а наличие пристеночного тромбоза и диссекции в зоне анастомоза – с достаточно полным восстановлением сосудистого просвета при использовании в качестве шунта ВГА в среднем постимплантационном периоде. Дисфункции МФС конduit-артерия в отдалённом периоде характеризуются преобладанием конкурентного кровотока там, где использовались кондуиты левой и правой ВГА, а плохого дистального коронарного русла – где применялась БПВ.

3. Наиболее эффективной моделью прогнозирования с применением машинного обучения развития сердечно-сосудистых событий в виде инсульта, смерти и комбинированной конечной точки в отдалённом периоде у пациентов после формирования различных вариантов МФС конduit-артерия в ходе КШ является ансамблирование.

4. Исходное состояние адвентициального и периваскулярного микроциркуляторного русла в предимплантационном периоде, определяемое количеством и плотностью *vasa vasorum*, оказывает патогенетическое влияние на формирование неоинтимы как фактора, предрасполагающего к дисфункции, значимо больше у аутовенозных шунтов, по сравнению с аутоартериальными.

5. Паракринные факторы, участвующие в патогенезе дисфункции и поддержании проходимости коронарных шунтов после реваскуляризации миокарда при моделировании *in vitro* эндотелиальных взаимодействий в МФС конduit-артерия, характеризуются взаимно благоприятным и синергичным

влиянием на профиль геной и белковой экспрессии, а также секретом ЭК КА и ВГА, по сравнению с ЭК КА и БПВ.

6. Протеом и транскриптом ЭК КА и ВГА имеет большую схожесть как со стороны клеточной и межклеточной структуры, так и функционально, что обуславливает высокую конгруэнтность элементов артерио-артериального континуума в МФС кондуит-артерия, интерактом которого характеризуется категориями артериального гомеостаза.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У больных, подвергающихся КШ, рекомендовано использовать две ВГА, имеющих значимый пролонгированный постоперационный саногенетический эффект в виде кардиопротективного действия, защищающего сердце от развития ИМ, уменьшающего выраженность клинического проявления стенокардии, улучшающего сократительную способность ЛЖ, и, как следствие, увеличивающего продолжительность жизни.

2. При выборе кондуитов в ходе выполнения КШ рекомендовано учитывать коронаропротективное действие ЛВГА и ПВГА, основанное на способности значимо замедлять прогрессирование АС, в частности, в бассейне ВТК, для повышения резистентности всей МФС кондуит-артерия к её дисфункции и достижения максимально эффективной перфузии миокарда в отдалённые сроки после оперативного вмешательства.

3. С целью профилактики дисфункции МФС кондуит-артерия, рекомендовано соотносить данные предоперационных УЗИ БПВ и КАГ целевой КА с целью минимизации несоответствия их диаметров. Кроме этого, для понимания вероятного механизма дисфункции МФС кондуит-артерия и возможности скорейшего корректирующего вмешательства по этому поводу после проведённого КШ, рекомендовано превентивное выявление изменений шунта и целевой КА методами контрольных ОКТ и КШГ в раннем постимплантационном периоде.

4. Для наиболее эффективного прогнозирования неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в виде инсульта, смерти и комбинированной конечной точки в отдалённом периоде после КШ вне зависимости от варианта использованной МФС кондуит-артерия рекомендовано применять машинное обучение, основанное на ансамблировании.

5. Учитывая высокую склонность БПВ к формированию в ней неоинтимы после КШ за счёт исходного состояния адвентициального и

периваскулярного микроциркуляторного русла в предимплантационном периоде, определяемого количеством и плотностью VV, рекомендовано применять допустимые в использовании антипролиферативные растворы для временной консервации и защиты аутовенозного кондуита.

6. Изучение особенностей микроанатомии сосудистой стенки аутоартериальных и аутовенозных кондуитов в виде гипертрофии интимы и характеристики VV, полученных в предимплантационном периоде, рекомендовано выполнять при помощи сканирующей электронной микроскопии в обратно-рассеянных электронах в режиме BSECOMP при ускоряющем напряжении 10 кВ.

7. Для моделирования эндотелиальных взаимодействий *in vitro* с целью изучения паракринных факторов, взаимно влияющих на элементы МФС конduit-артерия, рекомендовано проводить прямое сокультивирование клеток, а также перекрёстное добавление кондиционированной среды от одних клеток другим: изучение РНК проводить методом ОТ-кПЦР, белка – методом иммуноблоттинга, а секретируемых ЭК молекул – методами дот-блоттинга и ИФА.

8. Для оценки высокой степени эндотелиальной конгруэнтности КА и ВГА человека *in vitro* рекомендовано проведение статического и динамического моделирования условий их культивирования с последующим анализом молекулярного профиля в виде транскриптома методом RNA-seq, а также протеома методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии.

9. Для изучения интерактома *in silico* различных вариантов МФС конduit-артерия рекомендовано проводить биоинформатический анализ данных, полученных в ходе протеомного и транскриптомного профилирования, с дальнейшим компьютерным моделированием в соответствии со следующим алгоритмом: отбор дифференциально экспрессированных белков и генов, имеющих ≥ 1 взаимодействие, цветовое отображение для различения взаимодействующих дифференциально экспрессированных белков и генов между клетками кондуита-донора и КА-реципиента, анализ обогащения путей с использованием категорий баз данных GO, Reactome, UniProtKB и KEGG, выбор интересуемых молекулярных категорий.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Работы, опубликованные в журналах перечня рецензируемых научных изданий (ВАК Минобрнауки РФ, Scopus, Web of science)

1. Бимаммарное коронарное шунтирование: пятнадцатилетний опыт / **А. В. Фролов**, Н. И. Загородников, Р. С. Тарасов, С. В. Иванов, Л. С. Барбараш // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2023. – Т. 12, № 3. – С. 15-26. *Scopus*
2. Влияние лучевой артерии на отдаленные результаты коронарного шунтирования / **А. В. Фролов**, А. Б. Нишонов, А. А. Ляпин, Р. С. Тарасов // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. – 2021. – Т. 14, № 1. – С. 48-53. *Scopus*
3. Госпитальные результаты бимаммарного коронарного шунтирования / **А. В. Фролов**, Н. И. Загородников, С. В. Иванов, Р. С. Тарасов // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. – 2023. – Т. 12, №2. – С. 163-172. *Scopus*
4. Дисфункция различных морфофункциональных систем «конduit-артерия» после коронарного шунтирования / **А. В. Фролов**, Н. И. Загородников, Р. С. Тарасов, Е. В. Григорьев // Фундаментальная и клиническая медицина. – 2023. – Т. 8, № 3. – С. 78-90.
5. Интраоперационные предикторы благоприятного течения отдаленного послеоперационного периода у пациентов после реваскуляризации миокарда с использованием артериальных кондуитов / **А. В. Фролов**, А. Б. Нишонов, С. В. Иванов, Л. С. Барбараш // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. – 2018. – Т. 11, № 6. – С. 27-33. *Scopus*
6. Коронаропротективный эффект внутренней грудной артерии в отдалённом послеоперационном периоде после коронарного шунтирования / **А. В. Фролов**, Н. И. Загородников, Р. С. Тарасов, Е. В. Григорьев, С. В. Иванов, Л. С. Барбараш // Фундаментальная и клиническая медицина. – 2023. – Т. 8, № 1. – С. 80-92.
7. Машинное обучение в задаче прогнозирования неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у пациентов после коронарного шунтирования / Е. А. Овчаренко, К. Ю. Клышников, А. Г. Кутихин, **А. В. Фролов** // Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал имени академика Б. В. Петровского. – 2023. – Т. 11, № 3. – С. 16-28. *Scopus*
8. Возрастное ремоделирование внеклеточного матрикса внутренней грудной артерии у пациентов с сочетанием двух и более факторов сердечно-сосудистого риска / Р. А. Мухамадияров, **А. В. Фролов**, А. Г. Кутихин // Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал имени академика Б. В. Петровского. – 2022. – Т. 10, № 2. – С. 33-45. *Scopus*

9. Оптическая когерентная томография как метод оценки системы «конduit-анастомоз-артерия» у пациентов после коронарного шунтирования / Н. А. Кочергин, Н. И. Загородников, **А. В. Фролов**, Р. С. Тарасов, В. И. Ганюков // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. – 2022. – Т. 11, № 4. – С. 151-157. *Scopus*

10. Особенности анатомии адвентициального и периваскулярного микрососудистого русла как фактор долговременной эффективности аутоартериальной реваскуляризации миокарда / **А. В. Фролов**, Н. И. Загородников, Л. А. Богданов, Р. А. Мухамадияров, А. А. Терехов, А. Г. Кутихин // Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал имени академика Б. В. Петровского. – 2020. – Т. 8, № 4. – С. 65-73. *Scopus*

11. Отдаленные результаты бимаммарного коронарного шунтирования / **А. В. Фролов**, А. Б. Нишонов, Н. И. Загородников, С. В. Иванов, Л. С. Барбараш // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. – 2019. – Т. 12, № 2. – С. 110-115. *Scopus*

12. Сократительные белки сосудистых гладкомышечных клеток – универсальные маркеры сосудов микроциркуляторного русла / Л. А. Богданов, Е. А. Великанова, А. Ю. Каноныкина, **А. В. Фролов**, Д. К. Шишкова, А. И. Лазебная, А. Г. Кутихин // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. – 2022. – Т. 11, № 3. – С. 162-174. *Scopus*

13. Сравнительное изучение Vasa Vasorum и неоинтимы в кондуитах для коронарного шунтирования / **А. В. Фролов**, А. А. Терехов, Л. А. Богданов, Р. А. Мухамадияров, А. Г. Кутихин // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2021. – Т. 27, № 2. – С. 121-126. *Scopus*

14. Ультраструктура неоинтимы нативных и искусственных элементов системы кровообращения / Р. А. Мухамадияров, В. А. Кошелев, **А. В. Фролов**, А. В. Миронов, А. Р. Шабает, А. В. Евтушенко, А. А. Ляпин, А. Г. Кутихин // Архив патологии. – 2022. – Т. 84, № 3. – С. 14-23. *Scopus*

15. Co-Culture of Primary Human Coronary Artery and Internal Thoracic Artery Endothelial Cells Results in Mutually Beneficial Paracrine Interactions / D. Shishkova, V. Markova, M. Sinitsky M, A. Tsepokina, **A. Frolov**, N. Zagorodnikov, L. Bogdanov, A. Kutikhin // Int J Mol Sci. – 2020. – Vol. 21. – 8032. *Scopus, Web of science*

16. EMbedding and Backscattered Scanning Electron Microscopy: A Detailed Protocol for the Whole-Specimen, High-Resolution Analysis of Cardiovascular Tissues / R. A. Mukhamadiyarov, L. A. Bogdanov, T. V. Glushkova, D. K. Shishkova, A. E. Kostyunin, V. A. Koshelev, A. R. Shabaev, **A. V. Frolov**, A. N. Stasev, A. A. Lyapin, A. G. Kutikhin // Front Cardiovasc Med. – 2021. – Vol. 8. – 739549. *Scopus, Web of science*

17. Endothelial Cell Markers Are Inferior to Vascular Smooth Muscle Cells Markers in Staining Vasa Vasorum and Are Non-Specific for Distinct Endothelial Cell Lineages in Clinical Samples / V. Markova, L. Bogdanov, E. Velikanova, A. Kanonykina, **A. Frolov**, D. Shishkova, A. Lazebnaya, A. Kutikhin // *Int J Mol Sci.* – 2023. – Vol. 24. – 1959. *Scopus, Web of science*

18. Excessive Adventitial and Perivascular Vascularization Correlates with Vascular Inflammation and Intimal Hyperplasia / L. Bogdanov, D. Shishkova, R. Mukhamadiyarov, E. Velikanova, A. Tsepokina, A. Terekhov, V. Koshelev, A. Kanonykina, A. Shabaev, **A. Frolov**, N. Zagorodnikov, A. Kutikhin // *Int J Mol Sci.* – 2022. – Vol. 23. – 12156. *Scopus, Web of science*

19. Multi-omics profiling of human endothelial cells from coronary artery and internal thoracic artery reveals molecular but not functional heterogeneity / **A. Frolov**, A. Lobov, M. Kabilov, B. Zainullina, A. Tupikin, D. Shishkova, V. Markova, A. Sinitskaya, E. Grigoriev, Y. Markova, A. Kutikhin // *Int J Mol Sci.* – 2023. – Vol. 24. – 15032. *Scopus, Web of science*

20. Paracrine Effects of Conditioned Medium during Its Cross-Addition to Arterial and Venous Endothelial Cells / **A. V. Frolov**, D. K. Shishkova, V. E. Markova, M. Yu. Sinitsky, A. V. Sinitskaya, A. O. Poddubnyak, A. Yu. Kanonykina, N. I. Zagorodnikov, E. V. Grigoriev, A. G. Kutikhin // *J Evol Biochem Phys.* – 2022. – Vol. 58. – 1180-1192. *Scopus, Web of science*

Материалы конференций

1. Влияние бимаммарного коронарного шунтирования на прогрессирование атеросклероза в отдалённом послеоперационном периоде по данным коронарошунтографии / **А. В. Фролов**, А. Б. Нишонов, Р. С. Тарасов, С. В. Иванов, Л. С. Барбараш // Бюллетень НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН. Приложение : «Сердечно-сосудистые заболевания». Тезисы докладов XXV Всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов (г. Москва, 10-13 ноября 2019 г.). – Москва, 2019. – С. 52.

2. Влияние тотальной артериальной артериальной реваскуляризации на прогрессирование атеросклероза после коронарного шунтирования у пациентов с многососудистым поражением и хронической коронарной окклюзией / **А. В. Фролов**, Р. С. Тарасов, С. В. Иванов, А. Б. Нишонов, Н. И. Загородников, Л. С. Барбараш // Бюллетень НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН. Приложение : «Сердечно-сосудистые заболевания». Тезисы докладов XXIV Всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов (г. Москва, 25-28 ноября 2018 г.). – Москва, 2018 – С. 62.

3. Коронаропротективный эффект внутренней грудной артерии после коронарного шунтирования в отдалённые сроки наблюдения / **А. В. Фролов**, Н. И. Загородников, Р. С. Тарасов, С. В. Иванов, Л. С. Барбараш // Бюллетень

НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН. Приложение : «Сердечно-сосудистые заболевания». Тезисы докладов XXVIII Всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов (г. Москва, 20-23 ноября 2022 г.). – Москва, 2022. – С. 86.

4. Нишонов, А. Б. Отдалённые результаты тотальной аутоартериальной реваскуляризации миокарда / А. Б. Нишонов, **А. В. Фролов** // Кузбасс: образование, наука, инновации – 2018 : материалы инновационного конвента (г. Кемерово, 14 декабря 2018 г.). – Кемерово, 2019. – С. 325-326.

5. Отдалённые результаты коронарного шунтирования с использованием лучевой артерии / **А. В. Фролов**, А. А. Ляпин, Р. С. Тарасов // Бюллетень НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН. Приложение : «Сердечно-сосудистые заболевания». Тезисы докладов XXVI Всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов (г. Москва, 8-11 декабря 2020 г.). – Москва, 2020. – С. 76.

6. Положительное паракринное влияние эндотелиальных клеток коронарной артерии человека на эндотелиальные клетки внутренней грудной артерии человека в эксперименте *in vitro* / Д. К. Шишкова, В. Е. Маркова, А. В. Сеницкая, М. Ю. Сеницкий, **А. В. Фролов**, А. Г. Кутихин // Российский кардиологический журнал. – 2022. – Т. 27, S. 7. – С. 58.

7. Пятнадцатилетние результаты бимаммарного коронарного шунтирования / **А. В. Фролов**, Н. И. Загородников, Р. С. Тарасов, С. В. Иванов, Л. С. Барбараш // Бюллетень НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН. Приложение : «Сердечно-сосудистые заболевания». Тезисы докладов XXVIII Всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов (г. Москва, 20-23 ноября 2022 г.). – Москва, 2022. – С. 80.

8. Embedding and backscattered electron microscopy (EM-BSEM): a novel approach for the whole specimen, ultrastructural analysis of cardiovascular tissues / R. A. Mukhamadiyarov, L. A. Bogdanov, T. V. Glushkova, D. K. Shishkova, V. A. Koshelev, **A. V. Frolov**, A. N. Stasev, A. A. Lyapin, A. V. Evtushenko, A. G. Kutikhin // *Atherosclerosis*. – 2022. – Vol. 355 – E166.

9. Increased number of vasa vasorum correlates with intimal hyperplasia in saphenous veins rather than internal mammary arteries: a possible explanation for better performance of arterial conduits/ A. A. Terekhov, **A. V. Frolov**, L. A. Bogdanov, R. A. Mukhamadiyarov, A. G. Kutikhin // *Atherosclerosis*. – 2020. – Vol. 315 – E134.

10. Long-term results of bilateral thoracic artery grafting versus standard approach in coronary surgery / **A. Frolov**, A. Nishonov, R. Tarasov, S. Ivanov // *J Cardiovasc Surg (Torino)*. – 2019. – Vol. 60, S. 1 – 5.

11. The impact of anaortic off-pump coronary artery bypass in preventing the risk of stroke in a high risk population of northeast China / **A. Frolov**, A.

Mangini, Z. Song, Z. Lv, J. Luo, E. Taylor, X. Qi, F. Renna, S. Herrero, M. Lemma // J Cardiovasc Surg (Torino). – 2017. – Vol. 58, S. 2 – 60.

12. The use of OCT to assess predictors of early coronary bypass grafts dysfunction and atherosclerosis progression in native coronary arteries one year after bypass grafting / N. I. Zagorodnikov, N. A. Kochergin, **A. V. Frolov**, R. S. Tarasov // Forum of Young Cardiologists «Controversial issues and innovations in modern cardiology». Collection of abstracts // Russian Journal of Cardiology. – Vol. 26, S. 1 – 25.

13. Vasa Vasorum, Adventitial and Perivascular Macrophages: How Vascular Inflammation Contributes to Intimal Hyperplasia in Response to Endothelial Dysfunction and Injury / L. Bodganov, D. Shishkova, R. Mukhamadiyarov, A. Terekhov, A. Shabaev, **A. Frolov**, A. Kutikhin // The 21st International Vascular Biology Meeting (IVBM 2020) : abstract book (Seoul, South Korea, 9-12th of September, 2020). – Seoul, 2020. – E403.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АКШ – аортокоронарное шунтирование

АС – атеросклероз

БиМКШ – бимаммарное коронарное шунтирование

БПВ – большая подкожная вена

ВГА – внутренняя грудная артерия

ВТК – ветвь тупого края

ВЭМ – внутренняя эластическая мембрана

ГМК – гладкомышечные клетки

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ДЭГ – дифференциальная экспрессия генов

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИМ – инфаркт миокарда

ИФА – иммуноферментный анализ

КА – коронарные артерии

КШ – коронарное шунтирование

ЛА – лучевая артерия

ЛВГА – левая внутренняя грудная артерия

МФС – морфофункциональная система

КАГ – коронарная ангиография

КШГ – коронарная ангиошунтография

ЛЖ – левый желудочек

ННА – нижняя надчревная артерия
ОКТ – оптико-когерентная томография
ОТ-кПЦР – полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией
ПВГА – правая внутренняя грудная артерия
ПЖСА – правая желудочно-сальниковая артерия
ПЦР – полимеразная цепная реакция
РНК – рибонуклеиновая кислота
УЗИ – ультразвуковое исследование
ЧКВ – чрескожное коронарное вмешательство
ФВ – фракция выброса
ФК – функциональный класс
ФСБ – фосфатно-солевой буфер
ЭК – эндотелиальные клетки
ЭМП – эндотелиально-мезенхимальный переход
BSECOMP – сканирующая электронная микроскопия
FDR – средняя доля ложных отклонений нулевой гипотезы
HSAEC/HCA – эндотелиальные клетки коронарной артерии
HITAEC/HIT – эндотелиальные клетки внутренней грудной артерии
HsaVEC/HSV – эндотелиальные клетки большой подкожной вены
RIPA-буфер – буфер для радиоиммунопреципитации
RNA-seq – полнотранскриптомное секвенирование
ROC-кривые – кривые анализа чувствительности и специфичности
VV – vasa vasorum (сосуды сосудов)
WSS – напряжение сосудистого сдвига

Фролов Алексей Витальевич

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ СИСТЕМА КОНДУИТ-АРТЕРИЯ:
КЛИНИКО-ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ КОНЦЕПЦИЯ
КАК ОСНОВА ЭФФЕКТИВНОСТИ
АУТОАРТЕРИАЛЬНОГО КРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ**

3.3.3. Патологическая физиология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Омск – 2024