

С.А. Шипулина, И.А. Гончарова, Д.С. Панфилов, Б.Н. Козлов,
И.В. Суходоло, М.С. Назаренко

ОСОБЕННОСТИ КАЛЬЦИФИКАЦИИ СТЕНКИ АОРТЫ У ПАЦИЕНТОВ С АНЕВРИЗМОЙ ВОСХОДЯЩЕГО ОТДЕЛА

DOI 10.25789/YMJ.2023.84.03

УДК 575:599.9

Проведена оценка паттерна и интенсивности кальцификации различных зон восходящей аорты у пациентов с ее аневризмой гистологически с помощью окрашивания ализариновым красным. Биоптаты, соответствующие трем зонам восходящей аорты, были получены от пациентов интраоперационно. В восходящей аорте соли кальция распределялись диффузно и обнаруживались в меди сосуды. Средний процент кальцификации для синотубулярного соединения (зона 1) 7,85%, на уровне бифуркации легочного ствола (зона 2) 10,45%, в проксимальной части дуги аорты (зона 3) 10,95 % ($p=0,216$). Пациенты, у которых максимальная кальцификация обнаруживалась в зоне 3, были моложе пациентов с максимальной кальцификацией в зоне 2 или зоне 1.

Ключевые слова: аневризма восходящей аорты, сосудистая кальцификация, ализариновый красный S.

Histological assessment of calcification patterns in different sites of the ascending aorta in patients with thoracic aortic aneurysm has been performed using alizarin red S staining. Biopsy specimens from 67 patients (47 males, 20 females, mean age $56,9 \pm 11,1$ years) with thoracic aortic aneurysm from three different sites of ascending aorta were taken intraoperatively. Calcific precipitates were diffusely distributed mainly in the *tunica media* of the vessel. The mean calcium percentage was: for the sinotubular junction (zone 1) - 7.85 [2.2; 15.4]%, mid-ascending aorta (zone 2) - 10.45 [3.83; 22.35]%, proximal aortic arch (zone 3) - 10.95 [4.65; 18.63]% ($p=0.216$). Patients with maximum calcification level in zone 3 were younger (53 [41; 62] years) than patients in whom the maximum calcification was detected in zone 2 and zone 1.

Keywords: thoracic aortic aneurysm, vascular calcification, alizarin red S.

Введение. Сосудистая кальцификация (кальциноз) – процесс, характеризующийся накоплением солей кальция в стенке сосуда. Хотя кальциноз считается частью старения организма, он сопряжен с высоким риском инвалидизации и смертности населения [9].

Сосудистая стенка состоит из трех слоев - *tunica intima*, *tunica media*, *tunica adventitia*, при этом явление кальцификации описано для первых двух (как изолированно, так и сочетан-

но). Кальцификацию интимы связывают с атеросклеротическим поражением, а кальцификация меди часто, но не всегда ассоциируется с сахарным диабетом, хронической почечной недостаточностью и старением [16].

Атеросклеротическая кальцификация является наиболее распространенной формой васкулопатии. Она возникает в молодом возрасте (уже на втором десятилетии жизни) сразу после стадии липидных пятен и липидных полос. Кальцификация меди встречается реже и развивается вдоль эластических волокон. Отложения кальция наблюдаются на всей толщине меди, а на более поздних стадиях приобретают циркулярный характер, охватывая всю окружность сосуда. В некоторых случаях наблюдается созревание остеоцитов и костных трабекул [1].

Аневризма восходящей аорты (АВА) – прогрессирующее заболевание, которое в основном распространено среди лиц пожилого возраста (60 лет и старше) [2]. Есть основания полагать, что центральную роль в развитии аневризм аорты играют именно гладкомышечные клетки (ГМК). В норме они имеют сократительный фенотип, однако сохраняют способность изменять его на синтетический. В ответ на различные сигналы стресса ГМК могут вызывать и усиливать кальцификацию с помощью нескольких механизмов:

усиление апоптоза, высвобождение внеклеточных везикул, потери естественных ингибиторов кальцификации, таких как матриксный белок Gla и др. [23].

Данные о кальцификации основных сосудистых бассейнов (коронарные/сонные артерии) и аорты используются в клинической практике для предикции неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [22]. Накопление кальция в коронарных артериях коррелирует с таковым в восходящей аорте [19], что говорит о системности патологического процесса. Кальцификация АВА также является предиктором неблагоприятных сердечно-сосудистых событий, поэтому предоперационная оценка интенсивности и площади отложений кальция в стенке аорты может играть роль в выявлении групп риска среди пациентов [13].

Большинство исследований описывают прямую взаимосвязь между индексом кальцификации коронарных артерий и диаметром брюшной аорты [3], однако для восходящей аорты данные об ассоциации ее диаметра с кальцием в коронарных сосудах противоречивы и требуют дальнейшего изучения [4, 8, 12]. Результаты данных исследований были получены с помощью неинвазивных методов диагностики, имеющих невысокую разрешающую способность, и ни в одном из них не была проведена оценка кальци-

ШИПУЛИНА Софья Александровна – аспирант НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ РАН, ассистент СибГМУ, sofia.beljaeva@medgenetics.ru, ORCID: 0000-0002-0037-2205; **ГОНЧАРОВА Ирина Александровна** – к.б.н., н.с. НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ РАН, irina.goncharova@medgenetics.ru, ORCID: 0000-0002-9527-7015; **ПАНФИЛОВ Дмитрий Сергеевич** – д.м.н., с.н.с. НИИ кардиологии Томского НИМЦ РАН, ассистент кафедры СибГМУ, pand2006@yandex.ru, ORCID: 0000-0003-2201-350X; **КОЗЛОВ Борис Николаевич** – д.м.н., зав. отделением НИИ кардиологии Томского НИМЦ РАН, проф. СибГМУ, bnkozlov@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-0217-7737; **СУХОДОЛО Ирина Владимировна** – д.м.н., проф. СибГМУ, suhodolo.iv@ssmu.ru, ORCID: 0000-0001-9848-2068; **НАЗАРЕНКО Мария Сергеевна** – д.м.н., руковод. лаб. НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ РАН, maria.nazarenko@medgenetics.ru, ORCID: 0000-0002-0673-4094.

фикации в аорте человека непосредственно гистологически, к тому же не было учета места взятия биоптата, что делает актуальным гистологический анализ паттерна кальцификации различных участков восходящей аорты у пациентов с АВА.

Цель исследования: оценить особенности кальцификации различных зон восходящей аорты (синотубулярное соединение (СТС), часть восходящей аорты на уровне бифуркации легочного ствола, проксимальная часть дуги) у пациентов с ее аневризмой с помощью окрашивания ализариновым красным.

Материал и методы исследования. В исследование было включено 67 пациентов (47 мужчин, 20 женщин) с диагнозом аневризма восходящей аорты, проходивших лечение в отделении сердечно-сосудистой хирургии НИИ кардиологии Томского НИМЦ в период 2013-2023 гг. Критериями включения пациентов были: подписанное информированное согласие на участие в исследовании, возраст старше 18 лет. Средний возраст пациентов составил $56,9 \pm 11,1$ года (минимальный и максимальный возраст составил 23 и 76 лет соответственно). Средний диаметр восходящей аорты составил 51,5 мм (минимальный и максимальный диаметры – 42 мм и 65 мм соответственно).

Взятие биоптатов, соответствующих трем зонам восходящей аорты (рис.1), проводилось интраоперационно. Гистологические препараты изготавливали по стандартной методике. Гистологические срезы толщиной 4-5 мкм были получены при помощи автоматического ротационного микротомы HM 355 S (Thermo Scientific, США).

Срезы окрашивались ализариновым красным (Даль, 1952) и заключались в специализирующую монтиру-



Рис. 1. Зоны аорты, из которых взят материал для гистологического исследования. На рис. 1, 3, 4: 1 - синотубулярное соединение; 2 - часть восходящей аорты на уровне бифуркации легочного ствола; 3 - проксимальная часть дуги аорты

ющую среду Витрогель (БиоВитрум, Санкт-Петербург). Гистологические препараты изучали в проходящем свете на микроскопе Axioskop 40 фирмы Carl Zeiss (Германия). Микрофотографии гистологических препаратов получали с помощью фотокамеры Canon G 10 (Япония).

Для количественной оценки солей кальция в аорте пациентов измеряли процент площади положительного окрашивания при помощи программы Fiji [15]. Для этого с каждого среза было получено 5-7 изображений (400x) с последующим подсчетом среднего значения площади положительного окрашивания (среднего процента кальцификации). Статистическую обработку данных производили при помощи пакета программ JASP 0.17.2.1. Для проверки нормальности распределений был проведен анализ с помощью критерия Шапиро-Уилка. Для поиска межгрупповых различий использовали непараметрические критерии. Результаты представлены в виде медианы, 1 и 3 квартилей (Me [Q1; Q3]). Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. В восходящей аорте соли кальция распределены диффузно и обнаруживаются преимущественно в меди сосуды (рис. 2). Такая локализация может говорить об изолированном процессе отложения солей кальция, не связанном с атеросклерозом, при котором соли находятся преимущественно в подэндотелиальном слое tunica intima сосуда [16]. Ранее было показано, что плотность отложений кальция в восходящей аорте имеет обратную корреляционную связь с риском возникновения сердечно-сосудистых событий, что подтверждается несколькими независимыми исследованиями [5, 18].

Медиальная кальцификация при АВА может быть обусловлена повышенной деградацией эластина, явля-

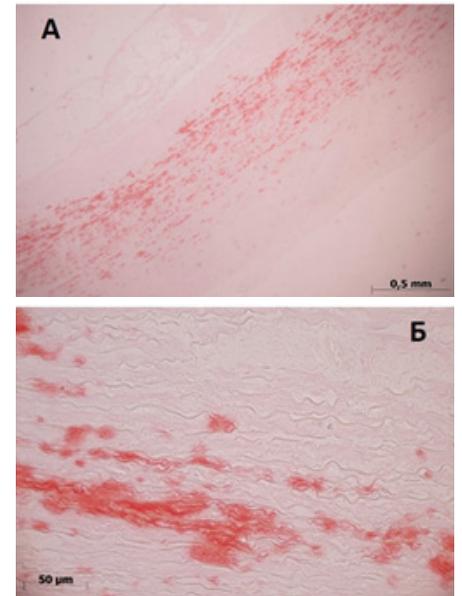


Рис. 2. Отложение солей кальция в tunica media аорты: А – 50x, Б – 400x

ющей одной из основных причин патологического расширения сосуда [20]. Возможный механизм заключается в том, что трансформирующий фактор роста- β (TGF β) в комплексе с продуктами деградации эластина стимулирует остеогенную трансформацию фибробластов и накопление ионов кальция в культуре ГМК сосудов [21]. Помимо этого, известно, что TGF β – один из ключевых факторов ремоделирования сосудистой стенки при АВА, ингибирует пролиферацию ГМК стенки сосуда и стимулирует образование внеклеточного матрикса, что впоследствии приводит к дилатации аорты [7].

В настоящем исследовании было проведено сравнение процента кальцификации в разных участках аорты с целью оценки связи их эмбрионального происхождения со степенью кальцификации сосуда. Известно, что самая

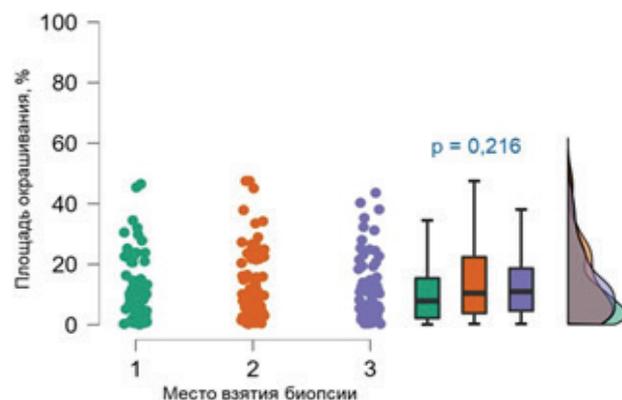


Рис. 3. Сравнение процента кальцификации в разных зонах аорты

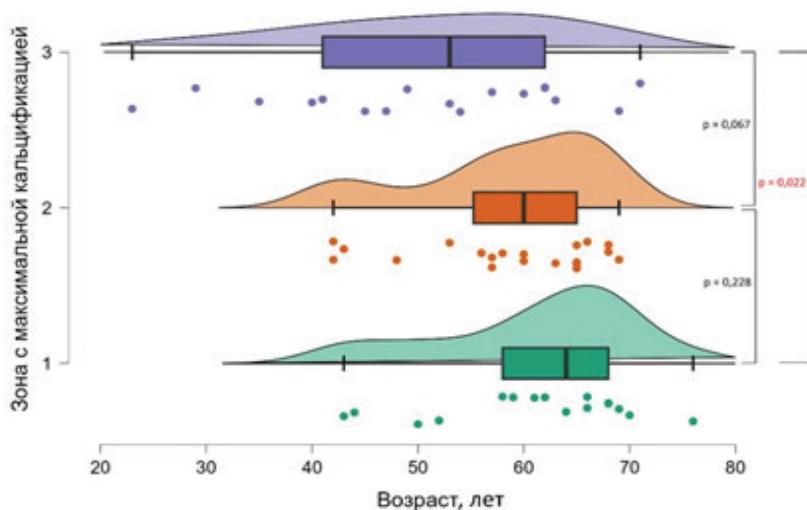


Рис. 4. Различия в возрасте пациентов с максимальной кальцификацией в различных зонах восходящей аорты

проксимальная область аорты – корень – состоит из клеток фарингеальной мезодермы [11], дуга аорты происходит из клеток нервного гребня [14], а вся нисходящая часть (включая как грудной, так и брюшной отделы) происходит из мезодермы сомитов [10].

Средний процент кальцификации составил: для СТС – 7,85 [2,2; 15,4]%, на уровне бифуркации легочного ствола – 10,45 [3,83; 22,35]%, в проксимальной части дуги аорты – 10,95 [4,65; 18,63]% ($p=0,216$; рис. 3).

В нашей работе все пациенты с АВА были разделены на две группы: с высоким (17,20 [13,78; 25,28]%) или низким (2,2 [4,9; 6,3]%) содержанием солей кальция в меди аорты, усредненным по всем трем зонам. В качестве пограничного значения (threshold) было выбрано медианное значение кальцификации (10,3%) в ряду всех наблюдений. Пациенты с высоким процентом кальцификации характеризовались более старшим возрастом (63 [56; 66] года vs 57 [43; 22] лет, $p=0,010$) по сравнению с пациентами с низким процентом отложения солей кальция в аорте. Как было показано ранее, к факторам риска кальцификации восходящей аорты, помимо прочих, относят пожилой возраст и мужской пол [6]. Наши результаты подтверждают факт влияния возраста, однако не подтверждают влияние пола на кальцификацию при АВА.

Пациенты, у которых максимальный процент кальцификации обнаруживался в зоне 3, характеризовались меньшим возрастом (53 [41; 62] года) по сравнению с пациентами, у которых максимальная кальцификация регистрировалась в зоне 2 (60 [55,25;

65] лет) или зоне 1 (64 [58; 68] лет; $p=0,035$; рис.4).

Тот факт, что у самых молодых пациентов больший процент кальцификации обнаруживается в самом дистальном участке восходящей аорты, позволяет сделать предположение о том, что первый очаг кальцификации восходящей аорты возникает дистально в зоне, прилежащей к брахиоцефальному стволу, и с возрастом «спускается» ближе к корню аорты. Это подтверждается экспериментальными данными, проведенными в областях дуги аорты и ее нисходящей части. Leroux-Berger и соавт. в эксперименте *ex vivo* и *in vitro* было показано, что эмбриональное происхождение ГМК влияет на их способность к минерализации. Так, tunica media дуги аорты, состоящая из ГМК – потомков клеток нервного гребня – кальцифицируется значительно раньше, чем нисходящая аорта, где ГМК имеют мезодермальное происхождение [17].

Заключение. У пациентов с АВА отложения солей кальция диффузно локализованы в меди сосуда и распределены равномерно на всем протяжении восходящей аорты. Кальцификация восходящей аорты у пациентов с ее аневризмой зависит от возраста пациента. Более молодые пациенты с АВА имеют больший процент кальцификации в проксимальной части дуги аорты. Дальнейшее изучение кальцификации восходящей аорты у пациентов с аневризмой этого отдела позволит дополнить картину событий, происходящих в этом участке сосуда, для более детального и углубленного понимания молекулярных механизмов патологии.

Сбор и анализ информации выполнены при финансовой поддержке гранта РФФИ № 22-25-00701.

This research was funded by the Russian Science Foundation (grant No. 22-25-00701).

Литература

1. Долженко А., Рихтер Т., Сагаловски С. Кальцификация сосудов, атеросклероз и потеря костной массы (остеопороз): новые патофизиологические механизмы и перспективы развития медикаментозной терапии // Альманах клинической медицины. 2016. № 4 (44). С. 513-534. DOI: <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2016-44-4-513-534>
2. Dolzhenko A., Richter T., Sagalovsky S. Vascular calcification, atherosclerosis and bone loss (osteoporosis): new pathophysiological mechanisms and future perspectives for pharmacological therapy // Almanac of Clinical Medicine. 2016; 4(44): 513-534. DOI: <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2016-44-4-513-534>
3. Chumachenko P.V. [et al.]. Inflammatory infiltrates, vasa vasorum, and endothelial NO-synthase in the wall of thoracic aortic aneurysm. Archive of pathology. 2019; 81(5): 45-52. DOI: [10.17116/2019105145](https://doi.org/10.17116/2019105145)
4. Laughlin G. A. [et al.]. Abdominal aortic diameter and vascular atherosclerosis: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. European Journal of Vascular and Endovascular Surgery: The Official Journal of the European Society for Vascular Surgery. 2011; 4 (41): 481-487. DOI: [10.1016/j.ejvs.2010.12.015](https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2010.12.015)
5. Hatemi A. C. [et al.]. Association between ascending aortic diameter and coronary artery dilation: a demographic data analysis. The Journal of International Medical Research. 2016; 6 (44): 1349-1358. DOI: [10.1177/0300060516666623](https://doi.org/10.1177/0300060516666623)
6. Craiem D. [et al.]. Association of calcium density in the thoracic aorta with risk factors and clinical events. European Radiology. 2020; 7 (30): 3960-3967. DOI: [10.1007/s00330-020-06708-w](https://doi.org/10.1007/s00330-020-06708-w)
7. Samaha H. [et al.]. Calcification of the ascending aorta, left heart valves and coronaries: associated diseases and a new classification. Future Cardiology. 2022; 9 (18): 687-695. DOI: [10.2217/fca-2022-0016](https://doi.org/10.2217/fca-2022-0016)
8. Chau K. H., Bender J. R., Elefteriades J. A. Silver lining in the dark cloud of aneurysm disease // Cardiology. 2014; 4 (128): 327-332. DOI: [10.1159/000358123](https://doi.org/10.1159/000358123)
9. Cho I.-J. [et al.]. Correlation between coronary artery calcium score and aortic diameter in a high-risk population of elderly male hypertensive patients. Coronary artery disease. 2014; 8 (25): 698-704. DOI: [10.1097/MCA.0000000000000150](https://doi.org/10.1097/MCA.0000000000000150)
10. Desai M. Y., Cremer P. C., Schoenhagen P. Thoracic aortic calcification: diagnostic, prognostic, and management considerations. JACC: Cardiovascular Imaging. 2018; 7 (11): 1012-1026. DOI: [10.1016/j.jcmg.2018.03.023](https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2018.03.023)
11. Wasteson P. [et al.]. Developmental origin of smooth muscle cells in the descending aorta in mice. Development (Cambridge, England). 2008; 10 (135): 1823-1832. DOI: [10.1242/dev.020958](https://doi.org/10.1242/dev.020958)
12. Dyer L. A., Kirby M. L. The role of secondary heart field in cardiac development. Developmental Biology. 2009; 2 (336):

137–144. DOI: 10.1016/j.ydbio.2009.10.009

12. Chironi G. [et al.]. Early thoracic aorta enlargement in asymptomatic individuals at risk for cardiovascular disease: determinant factors and clinical implication. *Journal of Hypertension*. 2010; 10 (28): 2134–2138. DOI: 10.1097/HJH.0b013e32833cd276

13. Chowdhury M. M. [et al.]. Editor's choice - Calcification of thoracic and abdominal aneurysms is associated with mortality and morbidity *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery: The Official Journal of the European Society for Vascular Surgery*. 2018;1 (55): 101–108. DOI: 10.1016/j.ejvs.2017.11.007

14. Jiang X. [et al.]. Fate of the mammalian cardiac neural crest. *Development (Cambridge, England)*. 2000; 8 (127): 1607–1616. DOI: 10.1242/dev.127.8.1607

15. Schindelin J. [et al.]. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nature Methods*. 2012; 7 (9): 676–682. DOI: 10.1038/nmeth.2019

16. Lanzer P. [et al.]. Medial arterial calcification: JACC state-of-the-art review. *Journal of the American College of Cardiology*. 2021;11 (78): 1145–1165. DOI: 10.1016/j.jacc.2021.06.049

17. Leroux-Berger M. [et al.]. Pathologic calcification of adult vascular smooth muscle cells differs on their crest or mesodermal embryonic origin. *Journal of Bone and Mineral Research: The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2011;7 (26): 1543–1553. DOI: 10.1002/jbmr.382

18. Thomas I. C. [et al.]. Progression of calcium density in the ascending thoracic aorta is inversely associated with incident cardiovascular disease events. *European Heart Journal Cardiovascular Imaging*. 2018; 12 (19): 1343–1350. DOI: 10.1093/ehjci/jeu007

19. Rivera J. J. [et al.]. Relationship of thoracic aortic calcium to coronary calcium and its progression (from the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis [MESA]). *The American Journal of Cardiology*. 2009; 11 (103): 1562–

1567. DOI: 10.1016/j.amjcard.2009.02.004

20. Sencer E. M., Misra S., Henkin S. Thoracic aortic aneurysm: a clinical review. *Cardiology Clinics*. 2021; 4 (39): 505–515. DOI: 10.1016/j.ccl.2021.06.003

21. Simionescu A., Simionescu D. T., Vyavahare N. R. Osteogenic responses in fibroblasts activated by elastin degradation products and transforming growth factor-β1. *The American Journal of Pathology*. 2007; 1 (171): 116–123. DOI: 10.2353/ajpath.2007.060930

22. Hermann D. M. [et al.]. Thoracic aortic calcification is associated with incident stroke in the general population in addition to established risk factors. *European Heart Journal Cardiovascular Imaging*. 2015; 6 (16): 684–690. DOI: 10.1093/ehjci/jeu293

23. Kapustin A. N. [et al.]. Vascular smooth muscle cell calcification is mediated by regulated exosome secretion. *Circulation Research*. 2015; 8 (116): 1312–1323. DOI: 10.1161/CIRCRESA-HA.116.305012

Л.И. Константинова, Е.Д. Охлопкова, Л.Д. Олесова,
А.И. Яковлева, Л.В. Миронова, А.Н. Романова

ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ У ЖИТЕЛЕЙ Г. ЯКУТСКА, ПЕРЕБОЛЕВШИХ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ COVID-19

DOI 10.25789/YMJ.2023.84.04

УДК 612.114.591.111.1

Исследование посвящено сравнительному анализу результатов влияния коронавирусной инфекции COVID-19 на гематологические показатели крови у переболевших лиц после 3, 6, 9 и 12 мес. Мониторинг гематологических параметров важен для выявления и контроля пациентов, перенесших COVID-19 и нуждающихся в дополнительной помощи, и стратификации риска тяжелого течения заболевания. Исследование гематологических параметров показало, что средние показатели морфологического состава красной и белой крови у переболевших COVID-19 соответствуют общепринятым нормативам, за исключением тенденции к повышению моноцитов, базофилов, СОЭ и незначительному понижению показателей МСНС, что свидетельствует о недавно перенесенном инфекционном заболевании.

Ключевые слова: коронавирусная инфекция, COVID-19, SARS-CoV-2, гематологические показатели крови.

The study is devoted to a comparative analysis of the results of the effect of COVID-19 coronavirus infection on hematological blood parameters in patients who have been ill after three, six, nine and twelve months. Monitoring of hematological parameters is important for identifying and predicting patients with COVID-19 who need additional care and stratifying the risk of severe disease. The study of hematological parameters showed that the average indicators of the morphological composition of red and white blood in people who have had COVID-19 correspond to generally accepted standards, with the exception of the tendency to increase monocytes, basophils, ESR and a slight decrease in MCHC indicators, which indicates a recently transmitted infectious disease.

Keywords: coronavirus infection, COVID-19, SARS-CoV-2, hematological parameters of blood.

Несмотря на то, что в настоящее время пандемия, вызванная новым коронавирусом (COVID-19), считается законченной, по данным ВОЗ и ряда авторов, в мире ежемесячно отмеча-

ется до 1 млн случаев этого заболевания [2, 14, 15]. В связи с этим все еще продолжают интенсивное изучение клинических и эпидемиологических особенностей заболевания, разработка новых средств его лечения и профилактики. Наиболее распространенным клиническим проявлением нового варианта коронавирусной инфекции является двусторонняя пневмония (вирусное диффузное альвеолярное повреждение с микроангиопатией).

Многочисленные исследования свидетельствуют, что новая коронавирусная инфекция оказывает различное влияние на организм человека, вы-

зывая различные симптомы и осложнения, а также вызывает нарушения в системе свёртывания крови. У части больных развивается гиперкоагуляционный синдром с тромбозами и тромбоземболиями, поражаются также другие органы и системы (центральная нервная система, миокард, почки, эндокринная и иммунная системы)

На основании результатов анализа публикационной активности одними из наиболее актуальных в изучении данной инфекции являются гематологические параметры, которые играют важную роль в ранней диагностике

Якутский НЦ комплексных медицинских проблем: **КОНСТАНТИНОВА Лена Ивановна** – к.б.н., н.с., konstanta.l@mail.ru, **ОХЛОПКОВА Елена Дмитриевна** – к.б.н., с.н.с., **ОЛЕСОВА Любовь Дыгыновна** – к.б.н., в.н.с.–руковод. лаб., **ЯКОВЛЕВА Александра Ивановна** – н.с., **РОМАНОВА Анна Николаевна** – д.м.н., директор, **МИРОНОВА Людмила Васильевна** – зав. КДЛ Клиники ЯНЦ КМП.