

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
Институт Фундаментальной биологии и Биотехнологии  
Кафедра медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ  
Заведующий кафедрой  
\_\_\_\_\_ Е.И. Шишацкая  
« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20 \_\_\_\_ г.

## **БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА**

06.03.01 – Биология

Исследование активности моноцитов при атеросклеротических поражениях  
сосудов.

Научный руководитель \_\_\_\_\_ Профессор, д.б.н. Е.И. Шишацкая

Выпускник \_\_\_\_\_ А.А. Паршина

Красноярск 2018

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
1 Обзор литературы.....	5
1.1 Атеросклероз. Общие положения.....	5
1.2 Моноциты-макрофаги.....	6
1.3 Гиперлипидемия как важное звено в патогенезе атеросклероза.....	11
1.4 Молекулярно-клеточные механизмы, определяющие развитие патологических изменений при атеросклерозе сосудов.....	13
1.4.1 Вариативность структуры интерлейкинов.....	13
1.4.2 Прочие механизмы патогенеза АС.....	13
1.5 Сопутствующие патологии, осложняющие течение атеросклероза.....	14
1.6 Способы коррекции гиперлипидемии при АС.....	15
1.6.1 Таргетная терапия при АС.....	15
1.6.2 Препараты природного происхождения.....	16
1.7 Методы хирургического лечения атеросклероза.....	17
1.7.1 Аортокоронарное шунтирование.....	17
1.7.3 Стенты, используемые при ЧТКА.....	18
1.7.4 Наноматериалы.....	19
1.8 Изучение реактивных изменений в моноцитах-макрофагах при прямом контакте с материалом.....	20
МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	23
1. Материалы.....	23
2. Методы.....	23
2.1 Выделение моноцитов.....	24
РЕЗУЛЬТАТЫ.....	27
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	34
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	36
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	38

## ВВЕДЕНИЕ

Урбанизация, индустриализация и глобализация, способствуют изменению образа жизни, снижению подвижности, что ведет к развитию болезней сердца. Неправильное питание, малоподвижный образ жизни, курение, могут привести к развитию атеросклероза, который, в свою очередь ведёт к различным поражениям органов сердечно-сосудистой системы.

Атеросклероз - одно из самых распространённых заболеваний 21 века. На ранних стадиях предлагается отказ от вредных привычек (курение, алкоголь), соблюдение диеты, режима сна и отдыха, активный образ жизни и поддержание психологического и физического комфорта. Так же предполагается медикаментозная терапия, воздействующая в основном на липиды крови и липидный обмен в целом.

Ишемическая болезнь сердца, инфаркт и инсульт - одни из самых распространённых и грозных сердечно-сосудистых событий в мире, которые развиваются на фоне атеросклероза, и являются частыми причинами смерти. Современное лечение этих заболеваний предполагает медикаментозную и хирургическую тактику.

Хирургические вмешательства – это хирургические вмешательства при ибс в следствии атеросклероза сосудов – это предполагает аортокоронарное шунтирование(АКШ) с помощью графтов и чрескожную транслюминальную коронарную ангиопластику(ЧТКА) с использованием стентов. Использование DES, (Drug-elutingstent, стентов с лекарственным покрытием), вместо BMS, (Barmetalstent, металлических стентов без покрытия) при ЧТКА позволило увеличить продолжительность жизни пациентов с обструктивными формами ибс и значительно снизить риск развития острых тромбозов стентов. Однако, по результатам многих клинических исследований даже при использовании стентов с лекарственными покрытиями сохраняется риск поздних стенозов и тромбозов в результате развития неоатеросклероза в зоне установки стентов.

Установка стента решает вопрос острого сужения сосуда, но не излечивает пациента от атеросклероза. Установлено, что на поверхности стента всегда формируется эндотелий с многочисленными структурно-функциональными дефектами: нарушения структуры щелевых контактов (снижение барьерной функции), высокая активность свободно-радикальных процессов, синтеза провоспалительных цитокинов, высокая адгезивность для моноцитов и тромбоцитов. Все эти события происходят как при развитии патофизиологических процессов до стентирования, так и после установки стента, однако в случае неоатеросклероза скорость изменений резко возрастает и может быть драматической.

Наработки в сфере исследования биологической активности наноматериалов в последние годы могут решить проблему связанную с развитием неоатеросклероза.

Стенты нового поколения на основе наноматериалов могут предотвратить развитие неоатеросклероза в месте установки стента, что снизит риск развития локальной «горячей точки» в сосуде, и уменьшит системные

проявления воспалительного процесса, а так же будет способствовать эндотелизации стента с формированием монослоя эндотелия без структурных и функциональных дефектов, с низкой адгезивностью для форменных элементов крови.

Полигидроксиалканоаты (ПГА) – это большое семейство биodeградируемых полимеров. Они синтезируются некоторыми микроорганизмами и растениями, и обладают широким спектром физико-механических свойств, позволяющим производить из них практически все типы полимерных изделий.

Поиск бионаноразрушаемых материалов является актуальной задачей для медицины. Особое место в этой нише занимают полигидроксиалканоаты так как это натуральные природные материалы обладающие биосовместимостью и биоразрушаемостью, а так же переменным составом, что позволяет получать бионанопленки из них с различными характеристиками.

Скрининг наноструктурированных материалов в модельных биологических системах рационально проводить с использованием клеток, полученных из биологического материала пациентов имеющих то или иное хроническое заболевание. В случае с атеросклерозом, этот подход даёт нам возможность адаптировать стенты к условиям патофизиологических сдвигов, которые характерны для поздних стадий атеросклероза. Моноциты-макрофаги являются неотъемлемой частью атеросклероза, так как основа атеросклеротической бляшки состоит из адгезированных моноцитов, насыщенных липопротеинами низкой плотности. Моноциты являются клетками иммунного ответа, и реагируют на любое воспаление, в том числе участвуют в иммунном ответе на установку стента.

Изучение морфофункциональной активности моноцитов-макрофагов при атеросклерозе при прямом контакте с бионаноматериалами позволит приблизиться к пониманию развития сердечно-сосудистых заболеваний и роли моноцитов в них, а также поспособствует разработке бионаноматериалов которые будут направлять клеточную дифференциацию в нужном направлении.

Цель работы: исследовать морфофункциональную активность моноцитов-макрофагов у больных с ИБС при прямом контакте с биоразрушаемыми бионаноматериалами.

Поставлены следующие задачи:

1. Получить чистую фракцию моноцитов из периферической крови пациентов с ИБС
2. Проанализировать поверхностные характеристики образцов бионанопленок ПГА различного состава
3. Изучить особенности морфофункциональных изменений моноцитов-макрофагов больных с атеросклерозом при прямом контакте с биоразрушаемыми бионаноматериалами различных составов.

# 1 Обзор литературы

## 1.1 Атеросклероз. Общие положения

Сердечно-сосудистые заболевания являются одной из основных причин заболеваемости и смертности в мире, стабильно занимая одно из первых мест среди всех остальных причин. По данным ВОЗ в 2015г. в результате ИБС и инсультов во всём мире скончалось 15 млн. человек.[1]

По статистике, причиной смертей в России — 46% граждан является именно сердечно-сосудистые заболевания. Атеросклероз (АС) – хроническое воспалительное заболевание с поражением сосудов, характеризующееся уплотнением стенки артерии за счёт отложения холестерина, разрастания соединительной ткани, сопровождаемое сужением просвета сосудов и ухудшением кровоснабжения органов. Встречается у большинства пациентов с коронарной болезнью сердца, аневризмой аорты и заболеваниями артерий нижних конечностей, а также играет важную роль в поражении сосудов мозга. [2] После начального развития воспаления в артериальной стенке из кровотока в артериальную стенку активно привлекаются моноциты. В интиме моноциты дифференцируются в макрофаги и далее в пенистые клетки атеросклеротических бляшек, в результате поглощения липопротеинов низкой плотности (ЛПНП)[3] В ходе заболевания происходит накопление пенистых клеток в бляшках, что способствует к увеличению размеров бляшек, их старению, и, в конечном итоге, разрыву бляшки и последующему инфаркту или.[2]

Установлено что в патогенезе практически всех заболеваний участвуют клетки моноцитарного типа, которые подразделяются на несколько морфотипов. М1 макрофаги имеют округлую форму и продуцируют провоспалительные цитокины, а М2 напротив имеют вытянутую форму и продуцируют противовоспалительные цитокины. В ходе воспаления, моноциты морфотипа М1 накапливают в себе ЛПНП в последствии преобразуясь в пенистые клетки.

Кратковременное воздействие моноцитов на различные микроорганизмы приводит к развитию макрофагов стойким провоспалительным фенотипом: это представляет собой неспецифическую врожденную иммунную память, которую называют обученным иммунитетом. Это опосредуется эпигенетическим перепрограммированием на уровне метилирования гистонов и глубокой перегруппировкой внутриклеточного метаболизма. Хотя этот механизм обеспечивает мощную защиту от реинфекции, обученные макрофаги демонстрируют атерогенный фенотип с точки зрения производства цитокинов и образования пенных клеток. Обученные моноциты присутствуют до 3 месяцев после экспериментальной инфекции у людей. Кроме того, у пациентов с установленным атеросклерозом наблюдается фенотип тренированного иммунитета.[5]

Фармакологическая модуляция обученного иммунитета потенциально предотвращает инфекционные атеросклеротические сердечно-сосудистые заболевания в будущем.[4]

Иммунная защита организма определяется механизмами как врожденного, так и приобретенного (адаптивного) иммунного ответа. К основным клеточным элементам системы врожденного иммунитета относятся гемопоэтические клетки, тучные клетки, базофилы, моноциты, дендритные клетки и, конечно, макрофаги. Адаптивный иммунный ответ опосредован CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клетками, регуляторными Т-клетками и В-клетками.[3]

Роль макрофагов в формировании иммунного ответа неоспорима. Макрофаг распознает внутриклеточные патогены – бактерии, вирусы, и экстраклеточные патогены, паразиты, простейшие, грибы или гельминты, благодаря наличию у микроорганизмов патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (РАМР), например, липополисахарид (ЛПС), а у макрофагов – паттерн-распознающих рецепторов (PRR), таких как Toll-подобных рецепторов (TLR) и рецепторов нуклеотидсвязывающих олигомерных доменов (NOD). При взаимодействии РАМРs внутриклеточных микробов с PRR макрофагов, макрофаги продуцируют провоспалительные цитокины IL-12, TNF- $\alpha$ , IL-18 и кемокины. Кемокины привлекают в фокус воспаления клетки естественные киллеры (НК-клетки), нейтрофилы и наивные Т-лимфоциты (Th0). Продуцируемые макрофагами IL-12, TNF- $\alpha$  и IL-18 взаимодействуют с НК-клетками, увеличивая продукцию IFN- $\gamma$  этими клетками. IL-12 и IL-18 обеспечивают аутокринную стимуляцию продукции IFN- $\gamma$  макрофагами.[4]

Если с макрофагами взаимодействуют РАМРs экстраклеточных паразитов – грибов или гельминтов, макрофаги секретируют противовоспалительные цитокины, прежде всего IL-10 и IL-13 и другие кемокины. Кемокины привлекают клетки, продуцирующие IL-4 и IL-13, такие как эозинофилы и базофилы, а также наивные Т-лимфоциты. IL-4 и IL-13 еще больше стимулируют макрофаги к секреции IL-10. IL-10 уменьшает антимикробные характеристики макрофагов за счет подавления высвобождения провоспалительных цитокинов, активных форм кислорода (АФК) и азота.

Взаимодействие макрофагов с РАМРs внутриклеточных микробов, привлечение IFN- $\gamma$ , продуцирующих клеток и секреция макрофагами IL-12, или альтернативное взаимодействие макрофагов с РАМРs экстраклеточных паразитов, привлечение IL-4 и IL-13, продуцирующих клеток и секреция макрофагами IL-10, представляет собой первую волну альтернативной активации макрофагов и знаменует собой развитие врожденного иммунного ответа. Врожденный иммунный ответ представляет собой первичный относительно неспецифический ответ иммунной системы и распознает наиболее часто встречающиеся микроорганизмы.[4]

## 1.2 Моноциты-макрофаги

Моноциты и тканевые макрофаги являются основными клетками системы врожденного иммунитета, обеспечивающими немедленную реакцию на проникновение в организм чужеродного патогенного агента, а также участвуют в запуске и реализации реакций системы приобретенного иммунитета. В здоровом организме макрофаги отвечают за поддержание гомеостаза ткани, а также за своевременный ответ на вторжение патогенных агентов, повреждение или трансформацию клеток ткани. Нарушение функций макрофагов приводит к развитию хронических воспалений, аутоиммунных заболеваний, а также может являться фактором развития злокачественных опухолей.[5]

Моноциты имеют общую с гранулоцитами предшественницу (КОЕ – ГМ), а также предшественницу только моноцитарного ростка (КОЕ – М). После выхода из костного мозга циркулируют в кровотоке в течение 20–40 часов, затем уходят в ткани, где происходит их окончательная специализация. Выйдя из кровяного русла, они не возвращаются в циркуляцию. Поступившие из кровяного русла моноциты – это и есть макрофаги представляют собой макрофаги (гистиоциты соединительной ткани, купферовские клетки печени, альвеолярные макрофаги, свободные и фиксированные макрофаги селезёнки, костного мозга, лимфоузлов, перитонеальные макрофаги, плевральные макрофаги, остеокласт, клетки микроглии нервной системы). В тканях длительность их жизни колеблется от нескольких месяцев до нескольких лет. Моноциты способны к амёбовидному движению и фагоцитозу. Они фагоцитируют остатки собственных погибших клеток, малярийные плазмодии, различные микроорганизмы и грибы, а также пораженные вирусами и стареющие собственные клетки, в том числе и форменные элементы крови; очищают очаг воспаления, подготавливая его для репарации («дворники организма»). Однако в крови *in vivo* они практически не осуществляют фагоцитарные функции. Кроме фагоцитоза, моноциты выполняют секреторную и синтетическую функции. Они синтезируют и выделяют ряд медиаторов воспаления: интерлейкины (ИЛ-1, ИЛ-6), интерферон- $\alpha$ , ФНО- $\alpha$ , факторы ангиогенеза, роста фибробластов, ряд прокоагулянтов, белков системы комплемента и др.[5]

Фенотип макрофагов, формирующийся при действии внутриклеточных микробов и/или IFN- $\gamma$ , получил название «классический» или M1 фенотип. Фенотип макрофагов, формирующийся при действии экстраклеточных паразитов и/или ИЛ-4 и ИЛ -13, получил название «альтернативный» или M2 фенотип.[3]

Классически поляризованные активированные макрофаги M1 индуцируются только IFN- $\gamma$  или в сочетании с такими микробными стимулами как липополисахарид (ЛПС), или цитокины как ФНО и GM-CSF. M1 клетки имеют ИЛ-12, ИЛ-23, фенотип ИЛ-10, являются активными продуцентами эффекторных молекул (АФК реакционноспособный кислород и промежуточные продукты азота) и провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 $\beta$ , TNF, ИЛ-6), являются индукторными и эффекторными клетками в реакциях Th1 и опосредуют сопротивление против внутриклеточных паразитов и опухолей. Напротив, альтернативная M2-форма активации макрофагов

объединяет различные формы не классически активированных макрофагов, возникающих в результате воздействия ИЛ-4 или ИЛ -13, иммунных комплексов, ИЛ -10, витамина D<sub>3</sub>, гормонов. Различные формы макрофагов M2 имеют ИЛ -12 и фенотип ИЛ -23 , как правило, демонстрируют высокие уровни поглотителей, маннозы и рецепторов галактозного типа, а метаболизм аргинина смещают в производство орнитина и полиамины через аргиназу.[4] Такие M2 макрофаги участвуют в развитии иммунных реакций Th2 типа, в первую очередь аллергических реакций реактинового типа и иммунных реакций при паразитарных инфекциях. Они обладают повышенной фагоцитарной активностью и привлекают эозинофилы в очаг воспаления. Путем синтеза большого количества факторов роста такие макрофаги активно стимулируют процессы регенерации и ремоделирования тканей, ангиогенез, а также обладают проопухоловой активностью.[5]

Таким образом, в зависимости от природы патогенного микроорганизма уже на этапе врожденного иммунного ответа происходит адаптивное альтернативное изменение/программирование фенотипа макрофагов.

Наряду с этим, макрофаги в значительной мере определяют развитие и специфического адаптивного иммунного ответа.

Для успешного удаления патогена макрофаги и антиген-презентирующие клетки запускают адаптивный иммунный ответ либо по клеточному Th1 типу, либо по гуморальному Th2 типу.

Антигены внутриклеточных микроорганизмов, M1 фенотип макрофагов и их провоспалительные цитокины TNF- $\alpha$ , IL-12 и IFN- $\gamma$  потенцируют развитие Th0 клеток в Th1 клетки. Th1 клеточный ответ обезвреживает вирусы, бактерии и раковые клетки главным образом за счет продукции IFN- $\gamma$ , который активирует бактерицидные и фагоцитирующие свойства макрофагов. Антигены экстраклеточных паразитов, M2 фенотип макрофагов и их противовоспалительные цитокины IL-10 и IL-4 потенцируют развитие Th0 клеток в Th2. Th2 гуморальный ответ обезвреживает экстраклеточные бактерии, паразитов и токсины за счет высвобождения значительного количества IL-4, который способствует активации В-клеток и усилению продукции антител.

Th1 клетки продуцируют Th1 цитокины, а Th2 клетки – Th2 цитокины. Th1 цитокины и прежде всего IFN- $\gamma$ , действуя на макрофаги, еще больше поляризуют их в сторону M1 фенотипа. Th2 цитокины и прежде всего IL-4 и IL-13, действуя на макрофаги, еще больше поляризуют их в сторону M2 фенотипа. Таким образом, происходит вторая волна альтернативного программирования фенотипа макрофагов.

На современном этапе уже изучены некоторые функциональные характеристики макрофагов M1 и M2 фенотипов, также в литературе приводятся данные относительно морфологической характеристики M1 и M2 макрофагов. На основании имеющихся литературных данных, фенотипзависимыми характеристиками для макрофагов являются: форма клеток в условиях культуры клеток, продукция цитокинов, а также экспрессия поверхностно-клеточных макрофагальных маркеров.



M1 макрофаги в условиях культуры клеток имеют округлую форму и продуцируют много провоспалительных цитокинов, таких как IL-12, IL-18, TNF- $\alpha$  и большее количество воспалительного белка макрофагов 1 $\alpha$  (MIP-1 $\alpha$ ) по сравнению с M2 фенотипом. Известно, что M1 макрофаги вырабатывают значительное количество NO за счет активации индуцибельной NO-синтазы (iNOS) и много активных форм кислорода, которые обуславливают бактерицидную активность макрофагов. Маркерами M1 являются рецептор IL-2 и MAPK рецептор, B7 (CD80), B7.2 (CD86), CCR7 (MCP-3), CXCL10 (IP-10), TLR-2, TLR-4, Fc $\gamma$ RIII (CD16), Fc $\gamma$ RII (CD32), LAM-1 (CD62), IL-1R1, IL-7R (CD127), IL-15R ( $\alpha$  цепь), IL-17R (CTLA8) (Cdw217). M1 клетки интегрированы в Th1 клеточный ответ, направленный на инактивацию бактерий, вирусов и опухолевых клеток.

M2 макрофаги в условиях культуры клеток имеют удлинённую, фибробластоподобную форму и продуцируют большое количество противовоспалительных цитокинов, таких как IL-10, но значительно меньше АФК и NO, чем M1. Маркерами M2 являются маннозный рецептор (MRC1, CD206), M130 (CD163), Fc $\epsilon$ RII (CD23), нуклеотидные рецепторы (GPR86, GPR105, P2Y8, P2Y11 и P2Y12), Дектин-1, DC-SIGN (CD209), DCIR (CLECSF6), CLACSF13, FIZZ1, ST2, фагоцитарные рецепторы SR-A и M60, CXCR4, фузин (CD184), TRAIL, ИЛ-1R $\alpha$ . M2 макрофаги интегрированы в Th2 ответ, направленный на инактивацию экстраклеточных паразитов. M2 клетки регулируют активность воспалительной реакции, способствуют ремоделированию и репарации тканей, поврежденных при воспалении, ангиогенезу и опухолевому росту.

Классический M1 фенотип активированных макрофагов хорошо описан в литературе, однако данные относительно M2 фенотипа достаточно противоречивы. Часто в литературе можно встретить подразделение альтернативно активированных M2 макрофагов на 3 группы: M2a, M2b и M2c (таблица1).

	M2a	M2b	M2c
Стимулы для поляризации	IL-4, IL-13	<u>Иммунокомплексы</u> $\pm$ IL-1 $\beta$	<u>IL-10, TGF<math>\beta</math></u> <u>глюкокортикоиды</u>
Функции	Активация Th2 реакций, привлечение эозинофилов, рост соединительной ткани	Подавление и регуляция воспалительных и иммунных реакций, активация Th2 реакций	<u>Ремоделирование</u> , синтез межклеточного матрикса

**Таблица 1 Разновидности M2 фенотипа моноцитов**

Получение данных о существовании макрофагов M2a, M2b и M2c фенотипов позволяют конкретизировать целый ряд аспектов формирования иммунного ответа. Появление макрофагов M2a фенотипа было описано при

действии IL-4 или IL-13. Такие макрофаги участвуют в активации реакций Th2 типа. В частности, было показано, что M2a фенотип играет основную роль при гельминтозах. Клетки этого фенотипа регулируют Th1 и Th2 реакции в сторону Th2 (преимущественно за счет угнетения Th1 реакций), участвуют в заживлении ран, возникших при повреждении гельминтами, и росте соединительной ткани, а также способствуют привлечению эозинофилов в очаг поражения (возможно, за счет выделения лейкотриена B4 и Yml, описанного у мышинных макрофагов). M2b фенотип был описан при действии иммунокомплексов в сочетании с IL-1 $\beta$  или ЛПС, при этом поляризация макрофагов была связана с активацией Toll-like рецепторов (TLR) и IL-1R. Было показано, что макрофаги M2b фенотипа участвуют в подавлении и регуляции воспалительных и иммунных реакций, и способствуют активации Th2 реакций. Появление фенотипа M2c было описано на фоне действия IL-10, TGF- $\beta$  или глюкокортикоидов; макрофаги такого типа активируют синтез межклеточного матрикса и участвуют в ремоделировании тканей. Макрофаги M2a и M2b фенотипов обычно проявляют противовоспалительную активность. Макрофаги M2c фенотипа обладают большим сходством с M1 макрофагами, за исключением того, что вместо провоспалительных цитокинов экспрессируют IL-10.[6]

Классически поляризованные активированные макрофаги M1 индуцируются только IFN- $\gamma$  или в сочетании с такими микробными стимулами как липополисахарид (ЛПС), или цитокины как ФНО и GM-CSF. M1 клетки имеют IL-12, ИЛ-23, фенотип ИЛ-10, являются активными продуцентами эффекторных молекул (АФК реакционноспособный кислород и промежуточные продукты азота) и провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 $\beta$ , TNF, ИЛ-6), являются индукторными и эффекторными клетками в реакциях Th1 и опосредуют сопротивление против внутриклеточных паразитов и опухолей. Напротив, альтернативная M2-форма активации макрофагов объединяет различные формы не классически активированных макрофагов, возникающих в результате воздействия ИЛ-4 или ИЛ-13, иммунных комплексов, ИЛ-10, витамина D<sub>3</sub>, гормонов. Различные формы макрофагов M2 имеют ИЛ-12 и фенотип ИЛ-23, как правило, демонстрируют высокие уровни поглотителей, маннозы и рецепторов галактозного типа, а метаболизм аргинина смещают в производство орнитина и полиамины через аргиназу.[5] Такие M2 макрофаги участвуют в развитии иммунных реакций Th2 типа, в первую очередь аллергических реакций реактинового типа и иммунных реакций при паразитарных инфекциях. Они обладают повышенной фагоцитарной активностью и привлекают эозинофилы в очаг воспаления. Путем синтеза большого количества факторов роста такие макрофаги активно стимулируют процессы регенерации и ремоделирования тканей, ангиогенез, а также обладают проопухоловой активностью.[6]

Тем не менее, популяция моноцитов крови у здоровых людей содержит три субпопуляции с различными фенотипами и функциями названными как «классический» CD14<sup>++</sup> CD16<sup>-</sup>, «промежуточный» CD14<sup>++</sup> CD16<sup>+</sup> и «неклассический» CD14<sup>+</sup> / <sup>низкий</sup> CD16<sup>+</sup> моноциты. CD16<sup>+</sup> субпопуляции

рассматриваются как про-воспалительных моноциты, так как они увеличиваются в остром и хронический воспалительных патологий. Эти клетки продуцируют провоспалительные цитокины TNF- $\alpha$ , IL-6, MIP1 $\alpha$  и MIP1 $\beta$  *in vitro in vitro* в ответ на LPS и они, вероятно, расширяются от классического к промежуточному подмножеству и от него до неклассической субпопуляции. В настоящее время большой интерес был направлен на выявление специфической субпопуляции моноцитов, которая приводит к появлению макрофагов в резидентных тканях в стационарном или в разных клинических сценариях. Недавно мы определили новое подмножество моноцитов/макрофагов из асцита цирротических пациентов, проявляющих высокую экспрессию CD14 и CD16, называемых CD14<sup>высоким</sup>CD16<sup>высоким</sup>, большим размером и большей сложностью, чем CD16<sup>-</sup> / <sup>низкие</sup> клетки, которые не обнаруживаются в периферической крови моноциты. [7]

### 1.3 Гиперлипидемия как важное звено в патогенезе атеросклероза.

Гиперлипидемия является основным патогенетическим звеном развития атеросклероза. Поскольку на сегодня не выработан метод абсолютного количественного определения уровня гиперлипидемии, часто используют статистический расчет, основанный на распределении среди популяции лиц, у которых содержание липидов в плазме крови на 5 — 10 % превосходит средние нормальные значения. Подобным образом можно выявить лиц с атеросклеротическим поражением среди семей с одной из форм наследственной гиперлипидемии или с гиперлипидемией, обусловленной другими заболеваниями или приемом лекарственных препаратов, а также предупредить развитие раннего атеросклероза своевременным проведением профилактических мероприятий. Однако эти верхние границы нормы могут быть слишком высоки для определения тех уровней холестерина и триглицеридов, которые коррелируют с высоким риском развития ишемической болезни сердца в общей популяции. Анализ полученных данных свидетельствует о том, что уровни холестерина в крови при рождении составляют в среднем 600 мг/л. В течение первого месяца жизни они повышаются до 1200 мг/л, а в течение первого года—до 1750 мг/л. Второй подъем уровня холестерина в крови как у мужчин, так и у женщин начинается в возрасте около 50 лет и продолжается до 60 лет у мужчин и немного дольше у женщин.

Также происходит возрастное повышение уровней триглицеридов. Повышение уровней холестерина сопровождается главным образом повышением уровней липопротеидов низкой плотности, а триглицеридов — липопротеидов очень низкой плотности. Накопление избыточной массы тела может играть ключевую роль в этом возрастном повышении уровней триглицеридов и холестерина, поскольку оба этих процесса тесным образом взаимосвязаны. У слаборазвитых народов, представители которых сохраняют пониженную массу тела на протяжении всей взрослой жизни, уровни липидов

плазмы с возрастом не повышаются. Согласно современным взглядам на транспорт липопротеидов, накопление холестерина в системе кровообращения может быть в некоторой степени результатом избыточной продукции липопротеидов, богатых триглицеридами. Имеются недвусмысленные сведения о том, что гиперхолестеринемия коррелирует с повышенной частотой развития ранней ишемической болезни сердца. Однако значение этого фактора меняется с возрастом. По данным Фремингемского исследования, значения уровней холестерина у мужчин в возрасте моложе 40 лет тесно взаимосвязаны с последующим развитием ишемической болезни сердца. Эта связь значительно менее выражена у лиц более старшего возраста. Для обоих полов относительная частота развития инфаркта миокарда у лиц в возрасте 30 — 49 лет, у которых уровни холестерина в сыворотке были более 2600 мг/л, в 3—5 раз превышала частоту развития инфаркта миокарда у лиц, уровни холестерина в сыворотке у которых составляли менее 2200 мг/л. Складывается впечатление, что по мере повышения уровней холестерина в сыворотке постепенно возрастает и риск ишемической болезни сердца. Эти данные подтверждаются сравнительными исследованиями распространения ишемической болезни сердца и уровней холестерина (или липопротеидов низкой плотности) во многих популяциях. Взаимосвязь жиров и липопротеидов очень низкой плотности с ишемической болезнью сердца подтверждается фактом повышения уровней холестерина одновременно с увеличением уровней названных липопротеидов. В то же время некоторые популяционные исследования не показали корреляции между повышенными уровнями триглицеридов (или липопротеидов очень низкой плотности) и ранним развитием ишемической болезни сердца. [8]

Холестерин(ХС) не растворяется в воде, и поэтому переносится в крови с помощью различных липопротеидов(ЛП).В составе ЛП спирт ХС исполняет функцию упаковочного материала для полиеновых жирных кислот для образования их неполярной формы.

Среди липопротеидов выделяют несколько классов: липопротеиды очень высокой плотности (ЛПОВП), липопротеиды высокой плотности (ЛПВП), липопротеиды низкой плотности (ЛПНП) и липопротеиды очень низкой плотности (ЛПОНП).

В филогенезе ЛПНП предназначены в первую очередь для переноса и активного поглощения клетками ненасыщенных жирных кислот (ННЖК) + полинасыщенных жирных кислот (ПНЖК)[9]

Гипертриглицеридемия может коррелировать с ранним развитием атеросклероза при некоторых специфических расстройствах. Эта взаимосвязь может не быть очевидной при исследовании общей популяции. У пациентов с высокими уровнями липопротеидов очень низкой плотности, являющихся членами семей с наследственной комбинированной гиперлипидемией, риск развития ишемической болезни сердца находится на том же уровне, что и у членов этих же семей с высокими уровнями липопротеидов низкой плотности.Напротив, риск развития ишемической болезни сердца у лиц со сравнительно высокими уровнями липопротеидов очень низкой плотности, являющихся членами семей с наследственной гипертриглицеридемией,

контролируемой одним геном, невысок. Кроме того, высокие уровни липопротеидов очень низкой плотности могут повышать риск развития атеросклероза при сочетании их с другими факторами риска коронарной болезни сердца, такими как сахарный диабет, хронический гемодиализ, табакокурение и артериальная гипертензия. Существенный риск раннего развития атеросклероза отмечен также для пациентов, у которых происходит накопление липопротеидных остатков, что приводит к повышению уровней холестерина и триглицероидов.[10]

## **1.4 Молекулярно-клеточные механизмы, определяющие развитие патофизиологических изменений при атеросклерозе сосудов.**

### **1.4.1 Вариативность структуры интерлейкинов**

Интерлейкин-17 является провоспалительным цитокином с дифференциальным воздействием на врожденные иммунные клетки. Исследовано влияние ИЛ -17 на дифференцировку макрофагов и образование и активацию пенных клеток в ответ на окисленный липопротеин низкой плотности [11] ИЛ 17А оказывает сильное воздействие на липидный метаболизм человеческих моноцитов.[12] Активация макрофагов, дифференцированных с ИЛ -17 оксЛПНП, способствует воспалительному процессу атеросклероза.[11]

В качестве противовоспалительного цитокина интерлейкин-37 (ИЛ-37) оказывает определенное защитное действие против воспалительных и аутоиммунных заболеваний. ИЛ-37 экспрессируется в пенных клетках атеросклеротических бляшек как в коронарной, так и в сонной артерии человека, что указывает на возможное участие ИЛ-37 в патогенезе и прогрессировании атеросклероза. Вмешательство ИЛ-37 эффективно уменьшало отношение площади полости аорты / сосуда у атеросклеротических мышей, что указывает на тормозящую роль ИЛ-37 в образовании атеросклеротических бляшек по сравнению с контрольной группой. При совместном применении с оксЛПНП ИЛ-37 ингибировал превращение в клетки M1 и облегчал дифференцирование в клетки M2, что подтверждается повышением в главном маркере клеток CD206. Результаты показывают, что ИЛ-37 может модулировать реакцию макрофагов на липосомы и облегчают дифференциацию в отношении противовоспалительных клеток M2. Такие результаты были также подтверждены у атеросклеротических мышей, в которых эффективна рекомбинантная инъекция белка ИЛ-37 ингибирует образование атеросклероза.[13]

### **1.4.2 Прочие механизмы патогенеза АС**

Некроптоз возникающий в клинических атеросклеротических образцах, также может играть важную роль в атеросклерозе человека.[14]

Так же дефицит передачи сигналов рецепторов меланокортина 1 (MC1-R) усугубляет атеросклероз, нарушая работу холестерина и увеличивая накопление артериальных моноцитов.[15]

Так же выдвигаются предположения, что Vav факторы гуанин нуклеотидного обмена (Vavs) действуют как критические молекулярные связи, связывающие гиперлипидемию с проатерогенными ответами на моноцит / макрофаг.[16]

Дендритные клетки, полученные из моноцитов, используют экзофагию для деградации агрегированного ЛПНП и становятся пенными клетками, тогда как моноцитарно-независимые дендритные клетки не способны очищать отложения ЛПНП.[17]

Некоторые исследования указывают на влияние тромбоцитов на моноциты в крови. Моноциты в совместной культуре с тромбоцитами приобретали вид веретена и ORO-положительные липидные капли, отсюда предполагается что тромбоциты способны провоцировать дифференцировку моноцитов в макрофаги с фенотипом M2, которые, в свою очередь, могут участвовать в атеропротективном процессе.[18]

### **1.5 Сопутствующие патологии, осложняющие течение атеросклероза.**

Развитие атеросклероза ускоряется после заражения организма различными инфекционными агентами, как микробного, так и вирусного происхождения.(обзоры [19],[20],[21]) К примеру, факторы, присутствующие в сыворотке ВИЧ +, включая повышенные уровни ФНО, еще больше усиливают образование пенных клеток.[19]

Исследования показывают, что *Helicobacter cinaedi* может иметь особый сосудистый тропизм, который мог бы вызвать бактериемию и эндovasкулярные инфекции, которые являются патологическими проявлениями. В совокупности эти клинические наблюдения свидетельствуют о том, что *H. cinaedi* является клинически значимой бактерией, которая может способствовать развитию атеросклеротического сердечно-сосудистого заболевания. Инфекция *H. cinaedi* также индуцировала обширное образование пенных клеток в культивируемых макрофагах и дифференцировку моноцитов THP-1 в макрофаги.[20]

Инфекция гриппа играет роль в осложнениях атеросклеротической бляшки у пациентов с установленным атеросклерозом. Было замечено, что инфекция гриппа вызывала значительную инфильтрацию воспалительных и гладкомышечных клеток, поверхностную агрегацию тромбоцитов и случайный субэкслюзивный фибриновый тромб. Также было обнаружено, что неатеросклеротические сегменты мышечной аорты не пострадали от инфекции гриппа.[21]

По всей видимости, проникновение в организм возбудителя заболеваний любого типа, как и положено, увеличивает количество форменных кровяных телец, отвечающих за иммунный ответ в крови, как ответная реакция организма

на угрозу. Так как моноциты относятся к этой группе, то и увеличивается их количество в циркулирующей крови. И помимо следования моноцитов к возбудителям, они так же в более больших количествах направляются к очагам развития атеросклеротической бляшки. Так же, некоторые микробы на подобии *Porphyromonas gingivalis* способны индуцировать окисление ЛПВП делая его проатерогенным, вызывая провоспалительный ответ через его взаимодействие с моноцитами / макрофагами. [22]

## **1.6 Способы коррекции гиперлипидемии при АС**

В течение последних десятилетий общепризнанным правилом в ведении больных с атеросклерозом является нормализация липидного спектра. В соответствии с рекомендациями ВОЗ используют мероприятия, которые так или иначе влияют на уровень ЛПНП и ЛПВП в кровотоке. Для нормализации содержания холестерина и его фракций в плазме крови используют коррекцию диеты а так же медикаментозную терапию. Препараты для нормализации липидного профиля могут быть получены путём химического синтеза либо природного происхождения.[9]

### **1.6.1 Таргетная терапия при АС**

Заинтересованность в лечении атеросклероза по типу таргетной терапии в последние годы вызывает всё больший интерес в научных кругах.

Разрабатываются системы доставки лекарств ЛПВП, напоминающих нативные сферические частицы ЛПВП, с функцией нацеливания препарата, на пенные клетки в бляшке атеросклероза. Кроме того, ловастатин (ЛТ) может также действовать в качестве модельного липофильного лекарственного средства для этой новой системы доставки таргетинга для лечения атеросклероза после внутривенного введения. Небелковый наноструктурированный липидный носитель (НЛН), подобный ЛПВП, доставлять гидрофобный антиатерогенный препарат ловастатин в пенные клетки.[23]

Некоторые фуллерены (FD) ингибируют образование пенных клеток и освобождение медиаторов воспаления, связанных с атеросклерозом, посредством NF-κB-зависимого механизма *in vitro* и могут предотвратить заболеваемость и смертность, связанные с высоким содержанием жиров.[24]

Так же были разработаны целевые липосомы, модифицированные с использованием нацеливающего лиганда (E-селектин-связывающий пептид), которые способны доставлять гиполипидемический агент Аторвастатин (Ато - облегчает атеросклероз, уменьшая липидные и воспалительные факторы плазмы, но имеющий низкую биодоступность) и Куркумин (Cur - природный полифенол, обладающий антиоксидантной и противовоспалительной биологической активностью, обладает потенциальной

антиатеросклеротической активностью и может снижать цитотоксичность, вызванную Ato) к дисфункциональным эндотелиальным клеткам (ECs), что приводило к синергетическому подавлению молекул адгезии (E-селектин и ICAM-1) и уровней липидов в плазме. Кроме того, это лечение уменьшало образование пенистых клеток и секрецию воспалительных факторов (IL-6 и MCP-1), блокируя миграцию моноцитов в интиму. Кроме того, Ctg успешно уменьшил Ato-индуцируемую цитотоксичность.[25]

### 1.6.2 Препараты природного происхождения

Проводятся исследования различных природных терапевтических агентов, которые способны ингибировать образование пенистых клеток, и снижать вероятность заболевания атеросклерозом посредством различных эффектов.

Дигидромирицетин, самый распространённый флавоноид в амелопсидекабэдантате, может снизить риск развития атеросклероза посредством плеiotропных эффектов, включая улучшение эндотелиальной дисфункции, ингибирование образования пенистых клеток, улучшение липидных профилей.[26]

Насыщенные жирные кислоты способствуют повышению уровня ХС-ЛВП параллельно с ХС-ЛНП; в противоположность, транс-жиры уменьшают их. Потребление мононенасыщенных жирных кислот вместо насыщенных жирных кислот оказывает незначительное влияние или вообще не влияет на уровень ХС-ЛВП; n-6 полиненасыщенные жирные кислоты вызывают незначительное снижение уровня ХС-ЛВП. В целом, n-3 жирные кислоты имеют ограниченное влияние на уровень ХС-ЛВП.

ХС-ЛНП представляет собой первичную мишень для снижения ССР и поэтому заслуживает особого внимания в оценке образа жизни. Тем не менее, диета, рекомендуемая для всего населения и особенно для людей с повышенным ССР, не должна понижать как ХС-ЛНП, так и ТГ плазмы и увеличивать уровень ХС-ЛВП. Данный раздел посвящен диете и другим факторам образа жизни, которые оказывают влияние на липиды. Необходимо иметь в виду, что пища, другие компоненты здорового образа жизни и потеря веса способствуют снижению общего ССР через их влияние на другие факторы риска, например, гипертонию, субклиническое воспаление или нарушение чувствительности к инсулину.

Так как избыточная масса тела, ожирение и центральное ожирение часто связаны с развитием дислипидемии, пациентам с избыточным весом или абдоминальным ожирением следует снизить потребление калорий и увеличить физическую нагрузку. Избыточная масса тела характеризуется значениями ИМТ от  $\geq 25$  до  $< 30$  кг/м<sup>2</sup>, при ожирении ИМТ  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup>.



Ограничение потребления транс-жиров является ключевой мерой диетической профилактики ССЗ. Ограничение употребления пищи, содержащей источники транс-жиров, является наиболее эффективной мерой ограничения поступления транс-жиров в организм до 80% жиров, применяемых в пищевой индустрии, последняя может играть важную роль в сокращении содержания транс-жиров в продуктах питания. Для улучшения липидного спектра плазмы потребление насыщенных жирных кислот не должно превышать 10% общего потребления калорий.

Умеренное употребление алкоголя (до 20 г/сут. (2 единицы) для мужчин и 10 г/сут. (1 единица) для женщин) является приемлемым для тех, кто пьет алкогольные напитки, при условии, что уровень ТГ не повышен.

Отказ от курения имеет явные преимущества воздействия на общий ССР, и, в частности, на ХС-ЛНП, но особое внимание должно быть уделено на предотвращение увеличения веса у людей, которые бросают курить.[27]

Так же ведутся изучение различных экстрактов, на пример влияние экстракта герудо (HE - экстракт из пиявки лекарственной) на развитие атеросклероза. В ходе исследований было выявлено, что данный препарат активно ингибирует воспалительное повреждение эндотелиальных клеток, а так же препятствует образованию пенистых клеток. Более того, было отмечено, что HE уменьшал накопление ox-LDL, накопление АФК и апоптоз в клетках макрофагов. Кроме того, было отмечено что HE увеличивало отток холестерина и уменьшало его поглощению регулируя путь LOX-1 / LXR- $\alpha$  / ABCA1. [28]

В настоящее время нет фармацевтического вмешательства для 100%го прямого разрушения и предотвращения образования атеросклеротических бляшек. Для эффективного и быстрого восстановления проходимости сосудов используются инвазивные методы: аортокоронарное шунтирование и стентирование коронарных сосудов.

## **1.7 Методы хирургического лечения атеросклероза**

### **1.7.1 Аортокоронарное шунтирование**

АКШ - операция, позволяющая восстановить кровоток в коронарных артериях сердца, путём обхода места сужения сосуда с помощью шунтов. Создаётся дополнительный путь в обход пораженного участка сосуда или с помощью полостной пластической моделирующей операции.

На сегодняшний день АКШ - один из наиболее эффективных, вместе с тем сложных и дорогостоящих методов лечения ИБС.

Однако, несмотря на достигнутый прогресс, нельзя не учитывать отрицательных последствий стандартной операции АКШ в условиях искусственного кровообращения (ИК), среди которых следует выделить негативное воздействие глобальной ишемии и кардиopleгии на миокард, неблагоприятное влияние ИК на функцию печени, почек, легких, цен тральной нервной системы.[29]

### **1.7.2 Чрескожная транслюминальная коронарная ангиопластика**

Эндоваскулярные методы лечения ишемической болезни сердца (ИБС) применяются в клинической практике с конца 70-х годов прошлого века. Впервые в 1977 году A.R.Gruentzig успешно провел баллонную дилатацию коронарной артерии, положив начало развитию рентгеноэндоваскулярных методов лечения. В 1987 году была открыта эра эндопротезирования венечных артерий, впервые имплантировали стент в коронарное русло для предотвращения окклюзии и рестеноза после транслюминальной баллонной коронарной ангиопластики. С момента появления эндоваскулярных методов лечения отмечается их постоянное развитие и расширение показаний к клиническому применению. Коронарные вмешательства с имплантацией стента получили широкое распространение в практике, при этом риск рестеноза, составлявший для баллонной ангиопластики 30-45%, существенно снизился – до 17-20% у больных после имплантации металлического стента. Затем применение стентов с лекарственным покрытием (СЛП) еще более снизило частоту рестенозирования и других осложнений после чрескожных коронарных вмешательств. Процедуры эндоваскулярного протезирования являются одними из эффективных способов радикального устранения симптомов ишемии миокарда. В настоящее время многососудистое поражение и осложненная морфология сосуда не являются препятствием к проведению ЧКВ.[30]

### **1.7.3 Стенты, используемые при ЧТКА**

Не прекращаются разработки новых стентов для ЧТКА, обладающих высокой биосовместимостью. Идеальным решением проблем рестенирования и развития других осложнений после ЧТКА является разработка полностью биоразрушаемых стентов. Так как стент необходим в первые 2 недели, для реконструкции сосуда, далее должен разрушиться, а металл остается что повышает риск

Коронарные стенты из нержавеющей стали (SS) продолжают представлять риск рестеноза стента, который влияет на его долгосрочную безопасность и эффективность. Разрабатываются стенты использованием оксида титана ( $TiO_2$ ) на основе нанотрубок с помощью гидротермической обработки, что обеспечит улучшенную производительность стента *in vivo*.[31]

Коронарные стенты с полизеновым F-покрытием показали снижение тромбогенности и воспаления в доклинических исследованиях. Был отличный профиль безопасности, с редким поздним инфарктом миокарда и без тромбоза стента.[32]

Требуется создание таких материалов для стентов, при которых будет максимально снижен риск появления рестеноза. Стенты не должны провоцировать воспалительные процессы, а сводить их к минимуму.

Используются очень разные подходы в разработке материалов и композиций для сосудистых имплантатов для оптимизации реакций организма при атеросклерозе.

Проводится разработка различных полимеров на основе феруловой кислоты и промежуточных продуктов дикислоты в наночастицы, которые являются эффективными в качестве атерозащитных агентов против различных концентраций окисленного ЛПНП (оксЛПНП) в макрофагах.[33]

Невоспалительные наноматериалы, чувствительные к активным формам кислорода, могут служить эффективными платформами для иницируемой доставки антиатеросклеротической терапии в клеточных и тканевых средах воспаления.[34]

#### 1.7.4 Наноматериалы

НМ для биологических систем являются чужеродной субстанцией и поэтому особый интерес представляет изучение взаимодействия НМ с клеточными системами врожденного и адаптивного иммунитета: моноцитами-макрофагами, дендритными клетками, различными типами лимфоцитов. Индуцированные НМ молекулярно-клеточные перестройки в этих системах (иммунотоксические воздействия) могут приводить к развитию хронических воспалительных процессов, онкологических и аутоиммунных заболеваний. Один из механизмов реализации биологической активности НМ связан с активацией рецептор-зависимой сигнальной трансдукции. Размерные особенности позволяют НМ связываться с клеточными рецепторами и запускать рецептор-специфические сигнальные каскады. Специфичность НМ как лигандов для определенного типа рецепторов определяется белковой короной (protein corona). Белковая корона формируется на поверхности НМ в биологическом окружении (эстраклеточном матриксе, сосудистом русле и т.п.) в результате адсорбции различных белков. Конформационные особенности белковой короны оказывают значительное влияние на взаимодействие наноматериалов с определенными клеточными рецепторами, процессы интернализации (рецептор-опосредованный эндоцитоз и фагоцитоз) и в конечном итоге определяют запуск определенного сигнального каскада и тип клеточного ответа. Так, денатурированный альбумин в составе короны значительно снижает эффективность интернализации наночастиц клетками ТНР-1 (линия моноцитарных клеток человека), по сравнению с наночастицами без белковой короны. В клеточной линии dТНР-1 (дифференцированные макрофагоподобные клетки) полностью развернутая (unfolded) молекула альбумина в составе короны запускает фагоцитоз наночастиц через другой тип рецепторов – скавенджер-рецепторы класса А. Скавенджер рецепторы – большая группа мембранных рецепторов, которые связывают различные лиганды, включая модифицированные липопротеиды низкой плотности (ЛНП, LDL). Интернализация ЛНП через скавенджер-рецепторы играет важную роль в развитии атеросклероза. Интернализация

наночастиц через скавенджер-рецепторы увеличивает цитотоксичность наночастиц. Биологическая активность НМ зависит не только от конформационных особенностей белков короны, но и от степени гликозилирования этих белков. Удаление гликанов из белковой короны увеличивает активность интернализации НМ и формирования воспалительного ответа в макрофагах. Можно полагать, что декорирование поверхности НМ специфическими белками, определяет варибельность биологических эффектов НМ в различном молекулярно-клеточном окружении *in situ*, в различных тканях или сосудистом русле. С другой стороны, предварительное целенаправленное декорирование НМ определенными структурами открывает возможность программирования активности НМ для конкретного биологического окружения. Например, сорбцию белков и формирование белковой короны на поверхности НМ можно предотвратить присоединением коротких цепей полиэтиленгликоля (ПЭГ, процесс PEGylation). Присоединение ПЭГ к наночастицам значительно уменьшает активность их клиренса: фагоцитоз таких наночастиц с участием моноцитов-макрофагов значительно снижается. Наночастицы, предварительно декорированные искусственным гликокаликсом, *in vivo* индуцируют направленную дифференцировку первичных перитонеальных макрофагов мыши в тип М1 с высоким уровнем экспрессии CD86. Присоединение к поверхности углеродных нанотрубок молекул ПЭГ значительно снижает уровень продукции активных форм кислорода в макрофагах, а карбоксилирование углеродных нанотрубок (присоединение COOH-групп), наоборот, увеличивает продукцию активных форм кислорода, синтез воспалительных факторов (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ) и приводит к гибели клеток. Декорирование наночастиц золота цитратом или L-меркаптоундекановой кислотой значительно уменьшает их цитотоксичность и генотоксичность в культуре гепатоцитов HepG2. Эти экспериментальные данные свидетельствуют о том, что изначально «голые» НМ, возможно, не являются лигандами для каких-то определенных клеточных рецепторов и не обладают конкретным типом биологической активности. НМ приобретают различные типы биологической активности *in vivo*, в процессе декорирования биологическими молекулами *in situ* и превращения в лиганды для определенного типа рецепторов.[40]

## **1.8 Изучение реактивных изменений в моноцитах-макрофагах при прямом контакте с материалом.**

НМ для биологических систем являются чужеродной субстанцией и поэтому особый интерес представляет изучение взаимодействия НМ с клеточными системами врожденного и адаптивного иммунитета: моноцитами-макрофагами, дендритными клетками, различными типами лимфоцитов. Индуцированные НМ молекулярно-клеточные перестройки в этих системах (иммунотоксические воздействия) могут приводить к развитию хронических воспалительных процессов, онкологических и аутоиммунных заболеваний. Один из механизмов реализации биологической активности НМ связан с активацией рецептор-зависимой сигнальной трансдукции. Размерные особенности позволяют НМ связываться с клеточными рецепторами и запускать рецептор-специфические сигнальные каскады. Специфичность НМ как лигандов для определенного типа рецепторов определяется белковой короной (protein corona). Белковая корона формируется на поверхности НМ в биологическом окружении (эстраклеточном матриксе, сосудистом русле и т.п.) в результате адсорбции различных белков. Конформационные особенности белковой короны оказывают значительное влияние на взаимодействие наноматериалов с определенными клеточными рецепторами, процессы интернализации (рецептор-опосредованный эндоцитоз и фагоцитоз) и в конечном итоге определяют запуск определенного сигнального каскада и тип клеточного ответа. Так, денатурированный альбумин в составе короны значительно снижает эффективность интернализации наночастиц клетками ТНР-1 (линия моноцитарных клеток человека), по сравнению с наночастицами без белковой короны. В клеточной линии dТНР-1 (дифференцированные макрофагоподобные клетки) полностью развернутая (unfolded) молекула альбумина в составе короны запускает фагоцитоз наночастиц через другой тип рецепторов – скавенджер-рецепторы класса А. Скавенджер рецепторы – большая группа мембранных рецепторов, которые связывают различные лиганды, включая модифицированные ЛПНП. Интернализация ЛПНП через скавенджер-рецепторы играет важную роль в развитии атеросклероза. Интернализация наночастиц через скавенджер-рецепторы увеличивает цитотоксичность наночастиц. Биологическая активность НМ зависит не только от конформационных особенностей белков короны, но и от степени гликозилирования этих белков. Удаление гликанов из белковой короны увеличивает активность интернализации НМ и формирования воспалительного ответа в макрофагах. Можно полагать, что декорирование поверхности НМ специфическими белками, определяет варибельность биологических эффектов НМ в различном молекулярно-клеточном окружении *in situ*, в различных тканях или сосудистом русле. С другой стороны, предварительное целенаправленное декорирование НМ определенными структурами открывает возможность программирования активности НМ для конкретного биологического окружения. Например, сорбцию белков и формирование белковой короны на поверхности НМ можно предотвратить присоединением коротких цепей полиэтиленгликоля (ПЭГ, процесс PEGylation). Присоединение ПЭГ к наночастицам значительно уменьшает активность их выведения: фагоцитоз таких наночастиц с участием моноцитов-макрофагов значительно

снижается. Наночастицы, предварительно декорированные искусственным гликокаликсом, *in vivo* индуцируют направленную дифференцировку первичных перитонеальных макрофагов мыши в тип М1 (воспалительный тип макрофагов) с высоким уровнем экспрессии CD86. Присоединение к поверхности углеродных нанотрубок молекул ПЭГ значительно снижает уровень продукции активных форм кислорода в макрофагах, а карбоксилирование углеродных нанотрубок (присоединение COOH-групп), наоборот, увеличивает продукцию активных форм кислорода, синтез воспалительных факторов (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ) и приводит к гибели клеток. Декорирование наночастиц золота цитратом или 11-меркаптоундекановой кислотой значительно уменьшает их цитотоксичность и генотоксичность в культуре гепатоцитов. Эти экспериментальные данные свидетельствуют о том, что изначально «голые» НМ, возможно, не являются лигандами для каких-то определенных клеточных рецепторов и не обладают конкретным типом биологической активности. НМ приобретают различные типы биологической активности *in vivo*, в процессе декорирования биологическими молекулами *in situ* и превращения в лиганды для определенного типа рецепторов.[30<sup>1</sup>]

# МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

## 1. Материалы

### 1.1 Биоматериал

В исследовании приняли участие пациенты кардиологического центра в Красноярске в возрасте 60–65 лет с диагностированной ишемической болезнью сердца. Исследования проводились с разрешения Комитета по этике Кардиологического центра с соглашением, подписанным теми, кто принимал участие в исследованиях. До госпитализации пациентам назначалась традиционная терапия ишемии сердца: ацетилсалициловая кислота, статины (аторвастатин или симвастатин), бета-блокаторы, антагонисты кальция. Пациентам назначали клопидогрел за 5 дней до госпитализации.

На следующий день после госпитализации была выполнена транслюминальная баллонная ангиопластика с использованием стентов 2-го поколения с эверолимусом (Promus Element plus, Boston Scientific Corporation, США, или Xience Xpedition, ABBOT VASCULAR, США). После операции пациентам была назначена дезагрегантная терапия статинами и бета-адреноблокаторами.

У каждого пациента брали венозную кровь (по 20 мл, антикоагулянт - ЭДТА дважды: за день до стентирования и на следующий день после стентирования).

### 1.2 Образцы ПГА

Образцы ПГА были получены в процессе микробиологического синтеза с культивированием *Cupriavidus eutrophus* B-10646 в специфических условиях роста в Лаборатории биотехнологии новых материалов Сибирского федерального университета, по запатентованной технологии. Пленки получали путем выливания растворов полимеров в хлороформ с последующим выпариванием растворителя. Гомогенные растворы, содержащие 10–20 г / л полимеров, нагревали до 35 °С, выливали на обезжиренную поверхность чашек Петри и сушили в течение 2–3 дней при комнатной температуре в ламинарном боксе; наконец, пленки были высушены до постоянного веса в вакуумном шкафу (Labconco, США).

Были использованы образцы биополимеров ПГА следующего состава:

Образец 1: (П(ЗГБ/ ЗГВ)) сополимер из 3-гидроксипропирилата и 3-гидроксивалерата.

Образец 2: (П(ЗГБ/ ЗГВ/ 4ГБ /ЗГГ)) сополимер 3-гидроксипропирилата, 3-гидроксивалерата и 3-гидроксигексаноата.

## 2. Методы

## 2.1 Выделение моноцитов

Принцип выделения моноцитов из венозной крови пациентов, при помощи центрифугирования клеточной суспензии, в гипертоническом градиенте плотности.

Данный метод выделения моноцитов основан на центрифугировании лейкоцитов в гипертоническом градиенте плотности фиколл-урографина.

1. Кровь (20мл) собираем в пробирку с ЭДТА.

(Концентрация ЭДТА 1,5—2,2 мг/мл крови. ЭДТА растворяют в 300-500 мкл 0,9% NaCl.)

В наших экспериментах:

40мг ЭДТА/ 1мл 0,9% NaCl/ 20мл крови.

10 мг ЭДТА/ 0,25 мл физ р-ра / 5 мл крови

2. Кровь центрифугируем 3000 об/мин, 15 мин.

3. Собираем плазму над пленкой лейкомаcсы.

Плазму центрифугируем 4500 об/мин, 15 мин, для осаждения тромбоцитов.

4. После отбора плазмы собираем лейкоцитарную пленку и суспендируем в плазме (после осаждения тромбоцитов), конечный объем суспензии 10мл.

5. К полученной суспензии трехкратно добавляют 9% NaCl по следующей схеме:

- 0 мин - добавляем 9% NaCl из расчета 5 мкл на 1 мл лейкомаcсы (50мкл), инкубация 10 мин при 37 °С;

- 11-я минута – добавляем 9% NaCl из расчета 10 мкл на 1 мл лейкомаcсы (100мкл), инкубация 10 мин при 37° С;

- 21-я минута – добавляем 9% NaCl из расчета 10 мкл на 1 мл лейкомаcсы (100мкл), инкубация 10 мин при 37 °С.

Общее время инкубации - 30 мин.

6. После завершения инкубации к лейкомаcсе добавляем равный объем фосфатного буфера (PBS). В PBS предварительно внести 9% раствор NaCl (25 мкл 9% раствора NaCl на каждый мл PBS, = 250 мкл на 10мл PBS).

7. Немедленно проводим выделение моноцитов на гипертоническом градиенте плотности фиколл-урографин (удельная плотность 1,080 г/см<sup>3</sup>). В пробирки на один объем гипертонического градиента осторожно наслаиваем 3 объема подготовленной лейкомаcсы.

6. Пробирки центрифугируем при 400 g, 15 мин при комнатной температуре в центрифуге с горизонтальным ротором (2100 об/мин). После центрифугирования моноциты концентрируются в интерфазном кольце.

7. Моноциты из интерфазы переносим в пробирки и дважды промываем PBS. Режим центрифугирования – 3000 об/мин, 15 мин.

8. Клетки ресуспендируем в полной среде DMEM.

Все процедуры выделения проводим в стерильных условиях с использованием стерильных реактивов.

Количество моноцитов определяем подсчетом в камере Горяева. Жизнеспособность клеток оцениваем с помощью 0,1% раствора трипанового синего.



Приготовление гипертонического градиента плотности фиколл-верографин.

Подготовка фиколла: 4.32 г (8.64) г порошка фиколл-400 растворить в 48 мл (96) мл дистиллированной воды.

Подготовка раствора рентгеноконтрастного вещества (в частности, урографина): 10.14 мл (20.28) мл 76% раствора верографина (урографина) доводят дистиллированной водой до 21мл (42) мл.

Смешиваем 48 мл раствора фиколла-400 и 21 мл раствора урографина, плотность полученного раствора 1,078 г/см<sup>3</sup>. Если плотность выше, чем необходимо, добавляем раствор фиколла-400, если ниже – раствор верографина.

Для получения гипертонического градиента в стандартный раствор фиколл-урографина (удельная плотность 1,078 г/см<sup>3</sup>) добавляем кристаллический NaCl из расчета 2,8 мг на каждый миллилитр раствора фиколл-урографина. Конечная плотность раствора составляет 1,080 г/см<sup>3</sup>.

При отсутствии фиколл-400 градиент плотности можно приготовить только из одного рентгено-контрастного вещества. С этой целью 10 (20) мл 76% раствора верографина смешать с 43.1 (86.2) мл дистиллированной воды и добавить 0.45 (0.9) мл. фосфатно-солевого буфера (ФСБ). Полученный при этом 14.3% раствор верографина имеет плотность 1.077 г/см и может быть использован в качестве градиента плотности.

## **2.2 Методы анализов наноматериалов шероховатостей**

Характеристики поверхности пленок оценивали с использованием прибора для измерения контактных углов смачиваемости DSA-25E (Krüss, Германия) с использованием программного обеспечения DSA-4 для Windows; контактные углы воды измерялись в автоматическом режиме; видеокادر капли обрабатывался в полуавтоматическом режиме после его стабилизации методом «Круг», встроенным в программный пакет. Энергия свободной поверхности, полярная составляющая (мН / м) рассчитывалась по методу Оуэнса-Вендта-Рабея-Кельбея с использованием полученных значений контактных углов смачиваемости.

Микроструктуру поверхности бионанопленки исследовали на сканирующем электронном микроскопе. Образцы размером 5 × 5 мм предварительно помещали на предметный столик напыляли платиной с использованием Emitech K575X (Quorum Technologies Limited, Великобритания); SEM изображения были получены с использованием TM 3000 (Hitachi, Япония).

Шероховатость поверхностей определяли с помощью атомно-силовой микроскопии в полуконтактном режиме (мультиимпульсный сканирующий зондовый микроскоп Solver P-47, НТ-МДТ, Россия). Среднее ( $R_a$ ) и среднеквадратичное значение шероховатости ( $R_q$ ) рассчитывали в 10 точках как среднее арифметическое от абсолютных значений отклонений высоты 5 самых высоких и 5 самых глубоких точек от средней линии профиля, используя

стандартные уравнения (параметры шероховатости с таким же названием, ISO 4287/1). Сначала исследовали срезы размером  $20 \times 20$  мкм, затем срезы  $2 \times 2$  мкм локальных максимумов и минимумов отбирали и повторно анализировали с более высоким разрешением, шероховатость для каждого образца рассчитывали для трех срезов.[37]

## **РЕЗУЛЬТАТЫ**

Из текста выпускной квалификационной работы изъяты результаты интеллектуальной деятельности, которые имеют потенциальную коммерческую научную ценность в силу неизвестности их третьим лицам.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- ИБС – ишемическая болезнь сердца  
АС -атеросклероз  
АКШ – аортокоронарное шунтирование  
ЧТКА - чрескожная транслюминальная коронарная ангиопластика  
DES - Drug-elutingstent, стентов с лекарственным покрытием  
BMS - Barmetalstent, металлических стентов без покрытия  
ЛПНП – липопротеины низкой плотности  
ЛПВП – липопротеины высокой плотности  
ЛПВП - липопротеины высокой плотности  
ЛПОВП–липопротеины оченьвысокой плотности  
КОЕ–ГМ - колониестимулирующая единица гранулоцитарно-  
мотноцитарная  
КОЕ – М - колониестимулирующая единица моноцитарная  
оксЛПНП(ox-LDL) – окисленные липопротеины низкой плотности  
ИЛ/IL– интерлейкин  
ЛПС - липополисахарид  
КТ – компьютерная томография  
IFN- $\gamma$  – интерферон гамма, димеризованный цитокин  
ФНО/ TNF – фактор некроза опухоли  
GM-CSF – гранулоцитарно-макрофагальный колиестимулирующий  
фактор (полипептидный цитокин)  
СЛП – стент с лекарственным покрытием  
ХС-ЛВП - холестерин липопротеидов высокой плотности  
ХС-ЛНП - холестерин липопротеидов низкой плотности  
НЕ- экстракт пиявки лекарственной  
ССР - сердечно-сосудистый риск  
ТГ – триглицериды  
ИМТ - избыточная масса тела  
НМ - наноматериалы  
ИК – искусственное кровообращение  
НЛН - наноструктурированный липидный носитель  
FD–фуллерены  
ВИЧ – вирус иммунодефицита человека  
МС1-R – рецептор меланокортина– 1  
ЛТ - ловастатин  
ТНР-1 - линия моноцитарных клеток человека  
ROS – реактивные виды кислорода  
SS – стент из нержавеющей стали  
ЧКВ - Чрескожные коронарные вмешательства  
СЛП – стент с лекарственным покрытием  
ПЭГ - полиэтиленгликоль  
DMEM - среда Игла в модификации Дульбека

THP-1 (линия моноцитарных клеток человека)  
dTHP-1 (дифференцированные макрофагоподобные клетки)  
HepG2  
Insitu – на месте  
оксЛПНП окисленный ЛПНП  
TiO<sub>2</sub> - оксид титана  
Vav факторы гуанин нуклеотидного обмена (Vav)  
РАМР - патоген-ассоциированный молекулярный паттерн  
HepG2 - клеточная линия гепатоцеллюлярной карциномы человека

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Сайт ВОЗ [Электронный ресурс] Режим доступа: <http://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
- 2 Т.Р.Харрисон. Внутренние болезни Часть 2. 1992 Редактор первого издания Т. Р. Харрисон Под редакцией Е. Браунвальда, К. Дж. Иссельбахера, Р. Г. Петерсдорфа, Д. Д. Вилсон, Д. Б. Мартина, А. С. Фаучи В 10 книгах Перевод с английского доктора мед.наук А. В. Сучкова, канд. мед. наук Н. Н. Заваденко, канд. мед. наук Д. Г. Катковского МОСКВА «МЕДИЦИНА» 1992—1997, 3430 с.
- 3 Peter Libby. Inflammation and Atherosclerosis *Circulation*./Peter Libby, Paul M. Ridker and Attilio Maseri // 2002;105:1135-1143, originally published March 5, 2002, American Heart Association, Inc. <https://doi.org/10.1161/hc0902.104353>.
- 4 Peter Chhour. Cormode Labeling monocytes with gold nanoparticles to track their recruitment in atherosclerosis with computed tomography./ Peter Chhour, Pratar C. Naha, et al //University of Pennsylvania/ Biomaterials. 2016 May ; 87: 93–103.
- 5 С.В. Лямина . ПОЛЯРИЗАЦИЯ МАКРОФАГОВ В СОВРЕМЕННОЙ КОНЦЕПЦИИ ФОРМИРОВАНИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА/ С.В. Лямина, И.Ю Малышев.// Фундаментальные исследования. – 2014. – № 10-5.–С.930-935.
- 6 Монастырская Е.А. М1 и М2 фенотипы активированных макрофагов и их роль в иммунном ответе и патологии./ Монастырская Е.А., Лямина С.В., Малышев И.Ю.// Патогенез. — 2008. — Т. 6, №4. — С. 31— 39.
- 7 Леонова Е. В. Патофизиология системы крови : учеб.пособие / Леонова Е. В., Чантурия А. В., Висмонт Ф. И.// – Минск : БГМУ, 2009. – 128 с. ISBN 978–985–462–916–2.
- 8 Лямина С.В. Поляризация макрофагов в современной концепции формирования иммунного ответа./Лямина С.В. Малышев И.Ю. // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 10 (часть 5) – С. 930-935.
- 9 Fernando O. Martinez. Transcriptional Profiling of the Human Monocyte-to-Macrophage Differentiation and Polarization: New Molecules and Patterns of Gene Expression. / Fernando O. Martinez, Siamon Gordon, Massimo Locati and Alberto Mantovani // *J Immunol* November 15, 2006, 177 (10) 7303-7311.
- 10 Е. В. Леонова. Патофизиология системы крови : учеб.пособие / Е. В. Леонова, А. В. Чантурия, Ф. И Висмонт.// – Минск : БГМУ, 2009. – 128 с. ISBN 978–985–462–916–2.
- 11 Е.А. Монастырская. М1 и М2 фенотипы активированных макрофагов и их роль в иммунном ответе и патологии./ Е.А. Монастырская, С.В. Лямина, И.Ю. Малышев// Патогенез. — 2008. — Т. 6, №4. — С. 31— 39
- 12 Ruiz-Alcaraz, A. J. Characterization of human peritoneal monocyte/macrophage subsets in homeostasis: Phenotype, GATA6, phagocytic/oxidative activities and cytokines expression./ Ruiz-Alcaraz, A. J., Carmona-Martínez, V., Tristán-Manzano, M., Machado-Linde, F., Sánchez-Ferrer, M. L., García-Peñarrubia, P., & Martínez-Esparza, M.. // *Scientific Reports*, 8, 12794.

13 Naghavi M. Influenza infection exerts prominent inflammatory and thrombotic effects on the atherosclerotic plaques of apolipoprotein E-deficient mice. /Morteza Naghavi, Philip Wyde, Silvio Litovsky, et al // *Circulation* 107, 762–768 (2003).

14

В.Н.ТитовЭтапы формирования в крови и диагностическое значение модифицированных липопротеинов низкой плотности/ В.Н. Титов, В.А, Амелюшкина Г.И. Коткина и А.В.Ариповский// *Атеросклероз и дислипидемии*, no. 2 (23), 2016, pp. 5-17.

15 Naghavi M. Influenza infection exerts prominent inflammatory and thrombotic effects on the atherosclerotic plaques of apolipoprotein E-deficient mice. /Morteza Naghavi, Philip Wyde, Silvio Litovsky, et al // *Circulation* 107, 762–768 (2003).

16 María de la Paz Sánchez-Martínez<sup>1</sup>. IL-17-differentiated macrophages secrete pro-inflammatory cytokines in response to oxidized low-density lipoprotein./ María de la Paz Sánchez-Martínez<sup>1</sup>, Francisco Blanco-Favela<sup>1</sup>, Mónica Daniela Mora-Ruiz<sup>1</sup> et al // *Lipids in Health and Disease*(2017) 16:196

17 Salvatore, Giulia et al. Human Monocyte-Derived Dendritic Cells Turn into Foamy Dendritic Cells with IL-17A./Giulia Salvatore, Nathalie Bernoud-Hubac, Nathalie Bissay, Cyrille Debard, Patricia Daira, Emmanuelle Meugnier, Fabienne Proamer, Daniel Hanau, Hubert Vidal, Maurizio Aricò, Christine Delprat, and Karène Mahtouk // *Journal of Lipid Research* 56.6 (2015): 1110–1122. PMC.Web. 6 Apr. 2018.

18 Li Z.L. Protective effect of the polarity of macrophages regulated by IL-37 on atherosclerosis./ J. Huang, F.L. Hou, A.Y. Zhang<sup>1</sup> and Z.L. Li// *Genetics and Molecular Research* .-2015.-№15

19 Tian, Fang. “5-Aminolevulinic Acid-Mediated Sonodynamic Therapy Inhibits RIPK1/RIPK3-Dependent Necroptosis in THP-1-Derived Foam Cells.”/Tian F , Yao J, Yan M, et al // *Scientific Reports* 6 (2016): 21992. PMC.Web. 6 Apr. 2018.

19 Petheri Rinne. Melanocortin 1 Receptor Deficiency Promotes Atherosclerosis in Apolipoprotein E<sup>-/-</sup> Mice./ Petheri Rinne, James J. Kadiri, Mauricio Velasco Delgado, et al // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2018;38:313-323, originally published December 28, 2017

20 Rahaman. Vav Guanine Nucleotide Exchange Factors Regulate Atherosclerotic Lesion Development in Mice./ Rahaman, Shaik O., Wei Li, and Roy L. Silverstein. // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 33.9 (2013): 10.1161/ATVBAHA.113.301414. PMC.Web. 5 Apr. 2018.

21 Haka AS. Monocyte-derived dendritic cells upregulate extracellular catabolism of aggregated LDL upon maturation, leading to foam cell formation./Haka AS, Singh RK, Grosheva I et al. // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2015;35(10):2092-2103.doi:10.1161/ATVBAHA.115.305843.

22 Mahdieh. Co-culture of Platelets with Monocytes Induced M2 Macrophage Polarization and Formation of Foam Cells: Shedding Light on the Crucial Role of Platelets in Monocyte Differentiation./ Mehrpouri, M., Bashash, D., Mohammadi, et

al // Turkish journal of haematology : official journal of Turkish Society of Haematology vol. 36,2 (2019): 97-105. doi:10.4274/tjh.galenos.2019.2018.0449

23 Maisa Anna. Monocytes from HIV+ Individuals Show Impaired Cholesterol Efflux and Increased Foam Cell Formation after Transendothelial Migration./Anna Maisa, Anna C. Hearpsh, Thomas A. Angelovich, Candida F. Pereira, et al // AIDS (London, England) 29.12 (2015): 1445–1457. PMC.Web. 5 Apr. 2018.

24 Khan Shahzada.Promotion of Atherosclerosis by Helicobacter Cinaedi Infection That Involves Macrophage-Driven Proinflammatory Responses. /Shahzada Khan, Habibur Rahman, Tatsuya Okamoto, Tetsuro Matsunaga, et al //Scientific Reports 4 (2014): 4680. PMC.Web. 5 Apr. 2018.

25 Naghavi M. Influenza infection exerts prominent inflammatory and thrombotic effects on the atherosclerotic plaques of apolipoprotein E-deficient mice. / Morteza Naghavi, Philip Wyde, Silvio Litovsky, Mohammad Madjid, et al // Circulation 107, 762–768 (2003).

26 Kim, Hyun-Joo.Porphyrromonas gingivalis accelerates atherosclerosis through oxidation of high-density lipoprotein.”/ Kim, H. J., Cha, G. S., Kim, H. J., et al// Journal of periodontal & implant science vol. 48,1 60-68. 27 Feb. 2018

27 Gu, Xiao. Preparation and Characterization of a Lovastatin-Loaded Protein-Free Nanostructured Lipid Carrier Resembling High-Density Lipoprotein and Evaluation of Its Targeting to Foam Cells./ Gu, X., Zhang, W., Liu, J et al // AAPS PharmSciTech 12.4 (2011): 1200–1208. PMC.Web. 4 Feb. 2018.

28 Jesse D. Plotkin. NF-κB Inhibitors that Prevent Foam Cell Formation and Atherosclerotic Plaque Accumulation/ Jesse D. Plotkin, Michael G. Elias, Anthony L. Dellinger, Christopher L. Kepley // Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine S1549-9634(17)30074-6, doi: 10.1016/j.nano.2017.04.013

29 Li X. Synergistic effects of liposomes encapsulating atorvastatin calcium and curcumin and targeting dysfunctional endothelial cells in reducing atherosclerosis./ Li X, Xiao H, Lin C, et al // Int J Nanomedicine. 2019 Jan 15;14:649-665.

30 Liu TT. Dihydromyricetin ameliorates atherosclerosis in LDL receptor deficient mice./ Liu TT, Zeng Y, Tang K, et al//Department of Pharmacology, Nantong University Pharmacy College, Nantong, China Atherosclerosis 262 (2017)39-50.Available online 5 May 2017

31 Catapano A.L. Рекомендации ЕОК/ЕОА по диагностике и лечению дислипидемия// А. L. Catapano/ Российский кардиологический журнал.-2017.-№ 5.-С 7-77

32 JingLu.Active polypeptides from Hirudo inhibit endothelial cell inflammation and macrophage foam cell formation by regulating the LOX-1/LXR-α/ABCA1 pathway / JingLu, XuenanChen, XiaohaoXu, et al // Volume 115, July 2019, 108840

33 Э.Ю. Сабирова. АОРТОКОРОНАРНОЕ ШУНТИРОВАНИЕ В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ВОПРОСА/ Е.Н. Чичерина, А.М. Эпштейн Э.Ю. Сабирова, Е.Н. Чичерина, А.М. Эпштейн// Кировская государственная медицинская академия УДК 616.12-005.4-089.843



34 Г. Н.Бакашвили. Сравнительная оценка стентов с лекарственным покрытием эверолимусом и сиролимусом у больных ишемической болезнью сердца и коронарным атеросклерозом/ Г. Н.Бакашвили, А.Н. Самко, В. П. Лупанов, И. В. Левицкий // НИИ кардиологии им. А.Л. МясниковаРКНПКРосмедтехнологий, Москва, Россия.

35 Mohan Chandini C. Stable Titania Nanostructures on Stainless Steel Coronary Stent Surface for Enhanced Corrosion Resistance and Endothelialization Advanced Healthcare Materials./ Mohan Chandini C., Cherian Aleena Mary, Kurup Sujish, Joseph John, Nair Manitha B., et al // Adv. Healthcare Mater. 6 11 2192-2640

36 Donald E. Cutlip. 9-Month Clinical and Angiographic Outcomes of the COBRA Polyzeze-F NanoCoated Coronary Stent System,/ Donald E. Cutlip, Kirk N. Garratt, Victor Novack et al // JACC: Cardiovascular Interventions, Volume 10, Issue 2, 2017, Pages 160-167, ISSN 1936-8798

37 Natalia G.Menzyanova. Screening of biopolymeric materials for cardiovascular surgery toxicity—Evaluation of their surface relief with assessment of morphological aspects of monocyte/macrophage polarization in atherosclerosis patients/Natalia G.Menzyanova Svetlana A.Pyatina Elena D.Nikolaeva // Toxicology Reports Volume 6, 2019, Pages 74-90

38 Rebecca A. Chmielowski. Athero-inflammatory nanotherapeutics: Ferulic acid-based poly (anhydride-ester) nanoparticles attenuate foam cell formation by regulating macrophage lipogenesis and reactive oxygen species generation/ Rebecca A. Chmielowski, Dalia S. Abdelhamid, Jonathan J. Faiget al.// 1742-7061/\_ 2017 Acta Materialia Inc. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

39 Yin Dou. Non-proinflammatory and responsive nanoplatfoms for targeted treatment of atherosclerosis/ Yin Dou, Yue Chen, Xiangjun Zhang, et al.// Biomaterials Volume 143, 2017, Pages 93-108, ISSN 0142-9612/

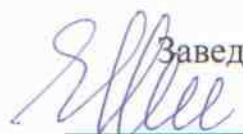
40 Ekaterina Igorevna Shishatskaya. Short-term culture of monocytes as an in vitro evaluation system for bionanomaterials designated for medical use, Food and Chemical Toxicology, / Ekaterina Igorevna Shishatskaya, Dragana Nikitovic, Alexander Shabanov Vasilievich et al. //Volume 96, 2016, Pages 302-308, ISSN 0278-6915



<sup>1</sup>Ekaterina Igorevna Shishatskaya, Dragana Nikitovic, Alexander Shabanov Vasilievich, George N. Tzanakakis, Aristidis M. Tsatsakis, Natalia Gennadievna Menzianova, Short-term culture of monocytes as an in vitro evaluation system for bionanomaterials designated for medical use, Food and Chemical Toxicology, / Ekaterina Igorevna Shishatskaya, Dragana Nikitovic, Alexander Shabanov Vasilievich, George N. Tzanakakis, Aristidis M. Tsatsakis, Natalia Gennadievna Menzianova, //Volume 96, 2016, Pages 302-308, ISSN 0278-6915, <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.08.025>

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
Институт Фундаментальной биологии и Биотехнологии  
Кафедра медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ

 Заведующий кафедрой  
Е.И. Шишацкая

« 7 » июня 20 19 г.

## БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология

Исследование активности моноцитов при атеросклеротических поражениях  
сосудов.

Научный руководитель  Профессор, д.б.н. Е.И. Шишацкая

Выпускник  А.А. Паршина