

ISSN 2782-3806
ISSN 2782-3814 (Online)
УДК 612.171.3:615.2

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ПОИСКУ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ТЕРАПИИ КАЛЬЦИФИКАЦИИ АОРТАЛЬНОГО КЛАПАНА

Шишкова А. А.^{1, 3}, Лобов А. А.^{2, 3}, Докшин П. М.^{1, 3}, Боярская Н. В.^{2, 3},
Качанова О. С.³, Малашичева А. Б.^{1, 2, 3}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

³Научный центр мирового уровня «Центр персонализированной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Шишкова Анастасия Алексеевна,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
E-mail: anastasiia.shishkova@gmail.com

Статья поступила в редакцию
17.09.2021 и принята к печати
29.10.2021.

РЕЗЮМЕ

Самый распространенный клапанный порок на сегодняшний день — аортальный стеноз. На сегодняшний день не существует лекарственной терапии, способной остановить прогрессирование кальцификации аортального клапана, поэтому единственным радикальным методом лечения остается хирургическое вмешательство. В данном обзоре освещаются современные подходы к поиску ингибиторов кальцификации, включая мультиомиксный подход, достижения протеомики, геномики и транскриптомики. Также перспективным представляется поиск путем машинного обучения тех молекул, которые способны нормализовывать геном пораженных клеток.

Ключевые слова: аортальный стеноз, кальцификация аортального клапана, метаболомика, микрРНК, омиксный подход, протеомика, транскриптомика.

Для цитирования: Шишкова А.А., Лобов А.А., Докшин П.М. и др. Современные подходы к поиску лекарственной терапии кальцификации аортального клапана. Российский журнал персонализированной медицины. 2021;1(1):118-135.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ:

АС — аортальный стеноз,
иАПФ — ангиотензинпревращающий фермент.

ВВЕДЕНИЕ

За последние несколько десятилетий в структуре клапанных пороков сердца произошли существенные изменения, которые характеризуются уменьшением частоты пороков сердца ревматической этиологии и увеличением распространенности склеродегенеративных поражений клапанов. Увеличение продолжительности жизни населения и совершенствование медицинских технологий привело к тому, что самым распространенным клапанным пороком сердца на сегодняшний день признан аортальный стеноз (АС). Частота обнаружения АС среди лиц в возрасте 65 лет составляет около 25 %, а после достижения возраста 75 лет увеличивается до 48 %, хотя среди лиц в возрасте до 65 лет она составляет лишь 4–5 % [1]. На сегодняшний день не существует лекарственной терапии, способной остановить прогрессирование аортального стеноза, поэтому единственным радикальным методом остается протезирование аортального клапана. Однако с учетом продолжительности жизни населения, сопровождающейся ежегодным ростом числа пациентов с дегенеративным аортальным стенозом, очевидной становится необходимость активного поиска потенциальной мишеней для терапевтического воздействия на процессы кальцификации аортального клапана. Данный обзор посвящен современному состоянию исследований, направленных на поиск лекарственной терапии кальцификации аортального клапана, включая мультиомиксный подход, достижения протеомики, геномики и транскриптомики. Такой подход позволяет, во-первых, более комплексно взглянуть на проблему, во-вторых, выявить ключевые моменты в процессе кальцификации клапана, что необходимо для поиска и тестирования химических ингибиторов кальцификации.

МАКРО- И МИКРОСТРУКТУРА АОРТАЛЬНОГО КЛАПАНА

1.1 Трехстворчатый аортальный клапан

Аортальный клапан является частью корня аорты. Наиболее часто аортальный клапан состоит из трех створок (называются в зависимости от их расположения): левая полулунная (коронарная) створка, правая полулунная (коронарная) створка и задняя (некоронарная) створка аортального кла-

пана [2, 3]. Створки представляют собой тонкие (< 1 мм), гибкие, аваскулярные структуры, состоящие из трех слоев: желудочкового (*ventricularis*), аортального (*fibrosa*) и спонгиозного (*spongiosa*) [4]. С аортальной и желудочковой сторон створки покрыты монослоем эндотелиальных клеток. Было доказано, что эндотелиальные клетки аортального клапана отличаются от эндотелиальных клеток, выстилающих артерии и вены, по способности реагировать на изменения гемодинамики, что подтверждает их уникальную морфологию [4, 5]. Спонгиозный слой (*spongiosa*) содержит большое количество гликозамингликанов и протеогликанов. Между всеми внеклеточными компонентами в трех слоях находятся интерстициальные клетки клапана. VIC необходимы для поддержания функции клапана и гомеостаза посредством пролиферации, секреции матриксных металлопротеиназ и компонентов экстрацеллюлярного матрикса. VIC — это гетерогенная группа клеток с уникальными характеристиками. В аортальных клапанах взрослых людей VIC преимущественно представлены фибробластами («молчащими клетками»), только 2–5 % интерстициальных клеток находятся в активированном состоянии в норме. Их фенотип в норме меняется с возрастом и при изменении условий окружающей среды (например, внезапное изменение артериального давления) [5]. Интерстициальные клетки аортального клапана — основа патологической дифференцировки либо в остеобластоподобные клетки, либо в миофибробласты. Взаимодействие клеток между собой играет значительную роль в определении дифференцировки клеток. Эндотелиальные и интерстициальные клетки должны взаимодействовать между собой для обеспечения правильного развития и гомеостаза в клапане. Складывается впечатление, что нарушение этого взаимодействия может способствовать развитию патологии клапана. По-видимому, в правильном функционировании сообщества этих клеток лежит механизм поддержания целостного состояния аортального клапана. Нарушение баланса между этими клетками может, по-видимому, приводить к нарушениям дифференцировки и изменениям клапана, в частности к кальцификации [6, 7].

1.2 Двустворчатый аортальный клапан

Двустворчатый аортальный клапан является широко распространенным вариантом развития клапана, который встречается у 2 % населения с соотношением между мужчинами и женщинами 4:1 [8, 9]. Морфологически двустворчатый аортальный клапан представляет собой 2 створки, которые

могут быть как одинакового, так и неравного размера (разница может достигать 1,5–2 раз). У лиц с двустворчатым аортальным клапаном манифестация аортального стеноза, как правило, происходит на 20 лет раньше, чем у людей с трехстворчатым клапаном, и к 45 годам более половины лиц с двустворчатым клапаном имеют выраженный аортальный стеноз.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ АОРТАЛЬНОГО СТЕНОЗА

Основной причиной развития АС остается кальцификация исходно нормального трехстворчатого или врожденного двухстворчатого аортального клапана. Раннее формирование АС рассматривалось как пассивный дегенеративный процесс в результате механического износа створок на шестом и седьмом десятках жизни или как атеросклеротический процесс, учитывая связь с традиционными факторами риска, такими как артериальная гипертензия, сахарный диабет, курение, повышение уровня холестерина [10, 11]. Однако попытки использовать стандартные подходы, направленные на подавление процессов атерогенеза, не привели к сдерживанию темпов прогрессирования АС.

В процессе формирования аортального стеноза принято выделять 3 стадии: первая обусловлена воспалительными изменениями в клапане, вторая — развитием фиброза, третья — формированием кальциноза аортального клапана. В свою очередь в процессе развития кальциноза аортального клапана принято также выделять несколько стадий: аортальный склероз (стадия легкой кальцификации) — уплотнение и утолщение створок клапана с локальными участками кальцификации, без слияния комиссур и без выраженной обструкции выходного отдела левого желудочка. В дальнейшем аортальный склероз может переходить в стадию умеренной кальцификации и, наконец, в третью стадию — тяжелую кальцификацию створок, сопровождающуюся обструкцией выходного отдела левого желудочка [12, 13].

В настоящее время доказано, что кальцификация аортального клапана — активный процесс, молекулярно-клеточные механизмы которого слабопонятны [14]. Было показано, что в процессе кальцификации участвуют регуляторы кальцификации и оссификации, такие как остеоопонтин, остеоонектин, остеокальцин и костный белок BMP (*bone morphogenetic protein*). Остеопротегерин и его лиганд (*RANKL — receptor activated of nuclear factor- κ B ligand*) также участвуют в кальцификации кла-

пана. Сигнальная цепь *RANK — RANKL — OPG* (*osteoprotegerin*) находится под контролем *RUNX2*, который находится под контролем сигнального пути Notch [14–24]. Спектр действия сигнального пути Notch затрагивает большое количество различных генов, среди которых гены, ответственные за дифференцировку и пролиферацию. Известно, что мутация гена *NOTCH1* связана с кальцинозом аортального клапана. Важным является то, что в результатах доклинических исследований было показано, что специфическое блокирование сигнального пути Notch значительно подавляет кальцификацию сосуда и аортального клапана [25–29]. Показано, что в норме *NOTCH1* ингибирует активацию *Runx2*, блокируя тем самым отложения кальция на клапане. Мутации в гене *NOTCH1* приводят к активации (дерепрессии) *RUNX2*, приводя таким образом к дифференцировке интерстициальных клеток в остеобласты [30–32].

Аортальный стеноз — комплексное, многофакторное заболевание [33]. Среди компонентов, влияющих на развитие аортального стеноза, находятся следующие факторы: ренин-ангиотензин-альдостероновая система, влияние симпатической нервной системы [34], накопление липидов, остеогенез, миофиброгенез, биосинтез и агрегация внеклеточных везикул, активация тромбоцитов, остеохондрогенез [35], клеточное старение, дезорганизация межклеточного матрикса металлопротеиназами, воспалительные элементы (макрофаги, Т-лимфоциты, тучные клетки и молекулы, характерные для типичного воспаления, такие как IL-2, HLA-DR, TNF alpha) [36–40], эндотелиальная дисфункция, нарушение процессинга фосфатов [26, 27, 33]. На сегодняшний день при развитии у пациента тяжелого аортального стеноза единственным методом лечения остается либо протезирование аортального клапана, либо транскатетерная имплантация аортального клапана. Данные оперативные вмешательства сопряжены с высоким риском осложнений, техническими нюансами, более того, в нашей стране их выполнение возможно только в крупных специализированных кардиоцентрах. Высокая стоимость данных хирургических вмешательств, безусловно, является бременем системы здравоохранения. Учитывая тенденцию к старению популяции и увеличение количества пациентов со склеродегенеративным аортальным стенозом очевидна острая необходимость в химическом торможении процессов кальцификации, которая позволит избежать или отсрочить хирургическое вмешательство. Отсутствие лекарственной терапии во многом обусловлено проблемами в изучении патогенеза данного заболевания.

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ МИШЕНИ

1.3. Статины

Существует большое количество исследований, посвященных влиянию статинов на развитие аортального стеноза. Показано, что в стенозированном клапане присутствуют окисленные липопротеины, апо А, апо В и апо Е липопротеины, макрофаги, Т-лимфоциты, пенистые клетки, факторы роста и провоспалительные цитокины, которые участвуют в инициации патологического процесса. Вместе с тем хорошо известны не только гиполипидемические свойства статинов, но и их плеiotропные эффекты [41].

Однако одно из крупнейших исследований, SEAS (Simvastatin and Ezetimib in Aortic Stenosis), не подтвердило способность статинов сдерживать прогрессию АС. В отчете по данному исследованию, опубликованному 21 июля 2008 года, четко написано, что нет различий ни по первичной (смерть, протезирование аортального клапана, декомпенсация хронической сердечной недостаточности, инсульт, инфаркт миокарда и нестабильная стенокардия), ни по вторичным (прогрессирование стеноза, оцененное по ЭхоКГ-критериям) точкам эффективности между группами, принимавшими лекарственные препараты и плацебо [42, 43]. Были проведены небольшие ретроспективные исследования, оценивающие связь между приемом бифосфонатов и замедлением прогрессирования аортального стеноза. Однако дальнейшие детальные исследования не выявили положительного влияния препаратов на темп прогрессирования [44, 45].

1.4. Ингибиторы RANK/RANKL

Интерстициальные клетки аортального клапана дифференцируются в остеобластоподобные клетки посредством активации рецептора ядерного фактора каппа-бэта (RANK — receptor activator of nuclear factor kappa-B). В ходе остеобластной дифференцировки достоверно повышаются: щелочная фосфатаза, остеопонтин, металлопротеиназы, Runx2 и костный белок BMP (*bone morphogenetic protein*). RANKL — это трансмембранный гликопротеин, цитокин семейства фактора некроза опухолей, продуцируемый клетками остеобластного ряда и активированными Т-лимфоцитами, который, связываясь с рецептором RANK, подает сигнал для дифференцировки клеток-предшественников и созревания остеокластов.

Остеопротегерин также относится к цитокинам суперсемейства фактора некроза опухолей и продуцируется остеобластами. Будучи рецептором к RANKL, он блокирует его взаимодействие

с собственным рецептором RANK, препятствуя остеокластогенезу. RANKL в тканях аортального клапана способствует переходу миофибробластов в остеобласты. Деносумаб — человеческое моноклональное антитело (IgG2), созданное для связывания рецептора RANKL (для предотвращения соединения RANKL с RANK), тем самым имитируя эффект остеопротегерина. Деносумаб используется в лечении остеопороза, множественной миеломы и других состояний, сопровождающихся резорбцией костной ткани. На сегодняшний день не завершено исследование, цель которого оценить эффективность приема деносумаба с целью торможения прогрессирования АС (SALTIRE II). Однако опубликованы результаты исследования, выполненного на свинных интерстициальных клетках, где показано, что деносумаб способен частично блокировать кальцификацию [46].

1.5. Ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента

Существует несколько работ, в которых изучали влияние ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (иАПФ) на процесс стенозирования, так как доказано, что АПФ, ангиотензин II и рецепторы I типа ангиотензина II присутствуют в кальцифицированных створках. Ангиотензин II потенцирует воспаление, аккумуляцию липопротеинов, окислительный стресс и стимулирует экспрессию фибробластами липопротеин-связывающие протеогликаны и бигликаны. Рецепторы ангиотензина II имеются на фибробластах стенозированного клапана. Рецепторы I типа ангиотензина II, постоянно экспрессирующиеся гладкомышечные клетки, появляются на интерстициальных клетках клапана только при начинающемся стенозировании. Таким образом, до того момента, когда клетки начинают экспрессировать рецепторы I типа ангиотензина II, клапан защищен от воздействия ангиотензина II. Исходя из того, что известны провоспалительные и профиброгенные черты ангиотензина II, были предприняты попытки блокирования процесса стенозирования приемом иАПФ. Доказано, что иАПФ обладают антипролиферативным действием (уменьшают гипертрофию стенок сосудов и миокарда и пролиферацию внеклеточного матрикса), улучшают эндотелиальную функцию (усиливают выработку NO), тормозят прогрессирование атеросклероза (так как блокируют образование ангиотензина и приводят к повышению уровня брадикинина и NO, что, в свою очередь, приводит к подавлению миграции и пролиферации гладкомышечных клеток сосудов, таксиса и активации воспалительных клеток, снижению окислитель-

ного стресса и улучшению эндотелиальной функции). Ретроспективный анализ показал, что иАПФ несколько замедляют отложения кальция на створках, но не предупреждают прогрессирование стеноза. Достаточно сложно доказать влияние иАПФ на процесс стенозирования, так как иАПФ изменяют внутрисердечную гемодинамику, что, вероятно, маскирует все остальные эффекты препаратов [47].

1.6. Витамин К

На сегодняшний день изучают также влияние витамина К на процесс кальцификации аортального клапана. Витамин К — жирорастворимый витамин, существует в 2 формах: витамин К1 (филлохинон) и витамин К2 (менахинон). Витамин К2 вовлечен в процессы ингибирования артериальной кальцификации через поддержание процессов карбоксилирования матриксного Gla-протеина. Процесс карбоксилирования необходим для поддержания оптимального поглощения кальция клеткой. Известно, что для оптимальной работы и посттрансляционного карбоксилирования матриксного Gla-протеина требуется достаточное количество витамина К. Таким образом, было сделано предположение, что достаточное потребление витамина К может препятствовать прогрессированию аортального стеноза. В единственном небольшом рандомизированном исследовании (группа 38 человек) было показано, что прием витамина К способен замедлить прогрессирование АС. Однако учитывая небольшой период наблюдения (1 год), небольшую группу пациентов, очевидно, что необходимо дальнейшее, более глубокое изучение данного факта [48].

Учитывая многокомпонентность составляющих патогенеза развития аортального стеноза, для торможения процессов кальцификации изучались и иАПФ, и статины, и витамин К, и бисфосфонаты, и др. Однако либо большинство препаратов не доказало своей эффективности в сдерживании темпов развития аортального стеноза, либо требуется дальнейшее изучение препарата с большей выборкой пациентов и проспективным наблюдением.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИЗУЧЕНИЯ ПРОЦЕССА КАЛЬЦИФИКАЦИИ И ПОИСКА НОВОЙ МИШЕНИ ТЕРАПИИ

На сегодняшний день очень активно ведутся поиски мишени, воздействие на которую сможет ингибировать или замедлять кальцификацию. Есть предположение, что у женщин и мужчин кальцификация идет разными механизмами. У мужчин интерстициальные клетки идут в остеодифферен-

цировку, а у женщин в миофибробластную дифференцировку [49]. Возможно, это объяснит эффективность разных препаратов для сдерживания процесса кальцификации.

Разными лабораториями выполнено множество исследований и экспериментов на культурах интерстициальных и эндотелиальных клеток клапана человека, свиньи, овцы, крысы и мыши. Безусловно, для точной верификации предпочтительна работа именно с человеческими клетками, однако это далеко не всегда возможно из-за технических трудностей забора материала из операционных и культивирования данных клеток. Культивирование клеток в трехмерном пространстве с воспроизведением биомеханики поведения клапана (симулирующими ток крови на клапане) является сегодня перспективным направлением.

Ранее неоднократно было показано, что значимое изменение уровня экспрессии ряда генов сигнального пути Notch и других сигнальных путей в клетках от пациентов с бicuspidальным и триkuspidальным клапаном играет важную роль в развитии аортального стеноза [22]. Однако сейчас стало понятно, что анализ уровня экспрессии нескольких генов — это лишь поверхностный и односторонний взгляд на проблему.

На сегодняшний день актуальным является «омиксный» подход в изучении патогенеза кальцификации аортального клапана. «Омиксными» принято называть технологии, использующие методы геномики, транскриптомики, протеомики, метаболомики, то есть наук, которые изучают, как устроен геном, как реализуется закодированная в нем информация и как она преобразуется в структуру белков и в дальнейшем в какие-то признаки организма. В отличие от генов и белков, которые predisposed к эпигенетическим и посттрансляционным изменениям, метаболиты дают истинное представление о клеточной активности [50]. Метаболомный анализ пораженного клапана позволяет получить «молекулярную» информацию о метаболитах и метаболических путях, которые активны на разных стадиях процесса кальцификации.

Однако нужно понимать, что выявление только циркулирующих в крови метаболитов может служить маркером для установления диагноза и выявления тяжести стеноза. Один из кандидатов на роль маркера заболевания — лизофосфатидная кислота. Было показано, что уровень лизофосфатидной кислоты значимо повышен в сыворотке крови у пациентов с быстро прогрессирующим АС в отличие от пациентов с медленно прогрессирующим заболеванием. Тем не менее к интеграции мультиомиксных данных в аортальном клапане

следует подходить с осторожностью в связи с низкой плотностью клеток клапана [51].

Перспективным представляется изучение роли микроРНК в процессе кальцификации клапана [52]. МикроРНК являются регуляторами многих генов на трансляционном уровне. Каждая микроРНК регулирует множество транскриптов. Есть исследования, в которых показано, что ингибиторы микроРНК могут подавлять кальцификацию аортального клапана. Группой ученых во главе с T.Tashima было показано, что микроРНК34a потенцирует отложение кальция в створках клапана, воздействуя на сигнальный путь Notch-Runx2, и что ингибирование данной микроРНК значительно подавляло кальцификацию (миофиброгенез) в интерстициальных клетках клапана в сравнении с контролем [53–54].

На сегодняшний день очень востребованы подходы «сетевой медицины», когда большое количество транскриптомных, протеомных и других данных интегрируется и используется для приоритизации, то есть выделения ключевых взаимодействий, которые являются важными при

развитии конкретной патологии [50]. Группой ученых, в том числе специалистами из НМИЦ им. В. А. Алмазова, была выполнена работа по поиску потенциальных мишеней для торможения процессов кальцификации при развитии аортального стеноза. Был использован подход машинного обучения для поиска молекул, способных нормализовать генотип клетки с мутацией в гене *NOTCH1*. Исследование было выполнено на модели индуцированных плюрипотентных клеток, что лишает исследование эффекта субъективности при работе с клеточными линиями, выделенными из пораженного клапана. Было проанализировано порядка 1500 потенциальных молекул, и только одно вещество, ХСТ 790, полностью приводило к комплексной нормализации генетической сети эндотелиальных клеток. ХСТ 790 — обратный агонист орфанного ядерного рецептора ERRa, вовлеченного в WNT сигналинг. Более того, введение ХСТ 790 мышам значительно уменьшало процентное содержание клеток, экспрессирующих RUNX2, что означает ослабление процессов остеогенеза в клапане [55].

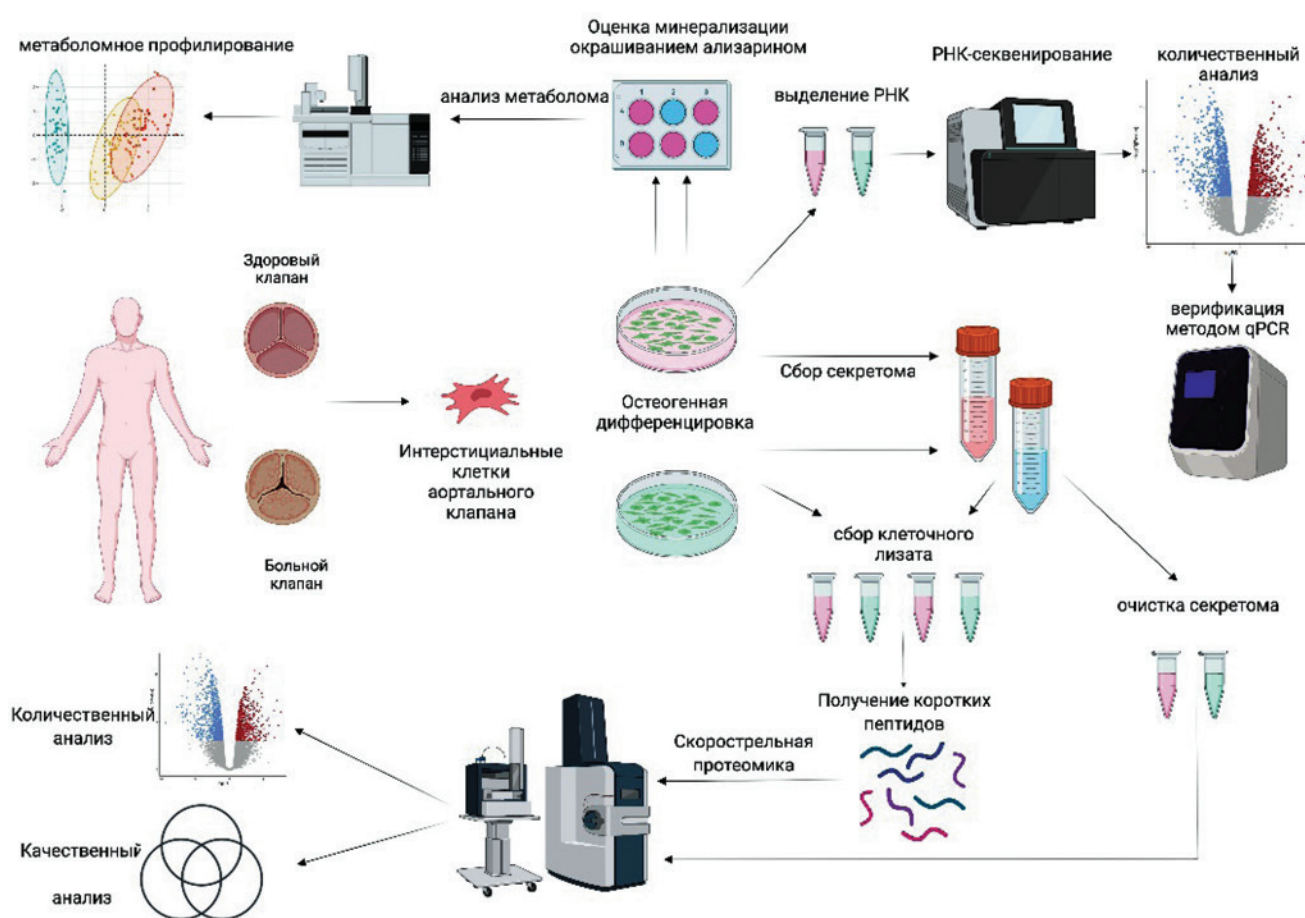


Рис. 1. Мультиомиксный подход к изучению патогенеза кальцификации: получение клеточных культур из аортального клапана человека, остеогенная дифференцировка, анализ транскриптома/ протеома /метаболома/ секретомы

В настоящее время в научно-исследовательской лаборатории заболеваний с избыточной кальцификацией Научного центра мирового уровня «Центр персонализированной медицины» НМИЦ им. В. А. Алмазова ведутся активные исследования по поиску терапевтических агентов, способных предотвратить патологическую кальцификацию — в частности с применением мультиомиксных подходов — к анализу патологической остеогенной дифференцировки/кальцификации интерстициальных клеток аортального клапана (рис. 1).

На сегодняшний день поиск таргетной терапии упирается в создание детального молекулярного портрета пораженного и здорового клапана. И только понимание ключевых и второстепенных фундаментальных клеточных и молекулярных механизмов, задействованных при развитии кальцификации, может пролить свет на понимание проблемы.

Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Bernard L, Delgado V, Rosenhek R, et al. Contemporary presentation and management of valvular heart disease the EURObservational research programme valvular heart disease II survey. *Circulation*. 2019;140(14):1156–1169. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.041080.
- Orlovskii PI, Gritsenko VV, Yukhnev AD, et al. Artificial heart valves. SPb.: ZAO «OLMA Media GrupP». 2007. S. 9-21. In Russian [Орловский П.И., Гриценко В.В., Юхнев А.Д. и др. Искусственные клапаны сердца. СПб.: ЗАО «ОЛМА Медиа Групп». 2007. С. 9-21].
- Misfeld M, Sievers H-H. Heart valve macro – and microstructure. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2007;362(1484):1421–1436. DOI: 10.1098/rtsb.2007.2125.
- Butcher JT, Mahler GJ, Hockaday LA. Aortic valve disease and treatment: The need for naturally engineered solutions. *Adv Drug Deliv Rev*. 2011;63(4-5):242–268. DOI: 10.1016/j.addr.2011.01.008.
- Schoen FJ. Mechanisms of function and disease of natural and replacement heart valves. *Annual Rev Pathol*. 2012;7:161–183. DOI: 10.1146/annurev-pathol-011110-130257.
- Malashicheva A, Kostina A, Kostareva A, et al. Notch signaling in the pathogenesis of thoracic aortic aneurysms: a bridge between embryonic and adult states. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2020;1866(3):165631. DOI:10.1016/j.bbdis.2019.165631.
- Aquila G, Kostina A, Viecei Dalla Sega F, et al. The Notch pathway: a novel therapeutic target for cardiovascular diseases? Expert opinion on therapeutic targets. 2019;23:695–710. DOI: 10.1080/14728222.2019.1641198.
- Rajamannan NM. Bicuspid aortic valve disease: the role of oxidative stress in Lrp5 bone formation. *Cardiovasc Pathol*. 2011;20(3):168–176. DOI: 10.1016/j.carpath.2010.11.007.
- Abdulkareem N, Smelt J, Jahangiri M. Bicuspid aortic valve aortopathy: genetics, pathophysiology and medical therapy. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2013;17(3):554–559. DOI: 10.1093/icvts/ivt196.
- Yetkin E., Waltensberger J. Molecular and cellular mechanisms of aortic stenosis. *Int J Cardiol*. 2009;135(1):4–13. DOI: 10.1016/j.ijcard.2009.03.108.
- Irtuga OB, Zhiduleva EV, Murtazaliev PP, et al. Pathogenetic mechanisms of the development of aortic valve calcification: a clinician's view. *Translational medicine*. 2015:34–44. In Russian [Иртуга О.Б., Жидулева Е.В., Муртазалиева П.П. и др. Патогенетические механизмы развития кальциноза аортального клапана: взгляд клинициста. Трансляционная медицина. 2015:34–44].
- Guerray M, Mohler III ER. Models of Aortic Valve Calcification *J Investig Med*. 2007;55(6):278–283. DOI: 10.2310/6650.2007.00012.
- Otto CM, Lind BK, Kitzman DW, et al. Association aortic-valve sclerosis with cardiovascular mortality and morbidity in the elderly. *N Engl J Med*. 1999;341(3):142–147. DOI: 10.1056/NEJM199907153410302.
- Ferrari R, Rizzo P. The Notch pathway: a novel target for myocardial remodeling therapy? *Eur Heart J*. 2014;35(32):2140–2145. DOI: 10.1093/eurheartj/ehu244.
- Hakuno D, Kimura N, Yoshioka M, et al. Molecular mechanisms underlying the onset of degenerative aortic valve disease *J Mol Med (Berl)*. 2009;87(1):17–24. DOI: 10.1007/s00109-008-0400-9.
- Lai EC. Notch signaling: control of cell communication and cell fate. *Development*. 2004;131(5):965–973. DOI: 10.1242/dev.01074.
- Niessen K, Karsan A. Notch signaling in the developing cardiovascular system. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2007;293(1):C1–11. DOI: 10.1152/ajpcell.00415.2006.
- Mathieu P, Boulanger M-C, Bouchareb R. Molecular biology of calcific aortic valve disease: towards new pharmacological therapies. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2014;12(7):851–862. DOI: 10.1586/14779072.2014.923756.
- Zhou X.L., Liu J.C. Role of Notch signaling in the mammalian heart. *Braz J Med Biol Res*. 2014;47(1):1–10. DOI: 10.1590/1414-431X20133177.
- Fukuda D, Aikawa E, Swirski FK, et al. Notch ligand Delta-like 4 blockade attenuates atherosclerosis and metabolic disorders. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(27):E1868–1877. DOI: 10.1073/pnas.1116889109.
- Garg V. Molecular genetics of aortic valve disease. *Curr Opin Cardiol*. 2006;21(3):180–184. DOI: 10.1097/01.hco.0000221578.18254.70.

22. Kostina A, Shishkova A, Ignatieva E, et al. Different Notch signaling in cells from bicuspid and tricuspid aortic valves. *J Mol Cell Cardiol.* 2018;114:211–219. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2017.11.009.
23. Shishkova AA, Rutkovskii AV, Irtyuga OB, et al. Molecular cell mechanisms of aortic valve calcification. *Translational medicine.* 2015;45–52. In Russian [Шишкова А.А., Рутковский А.В., Иртюга О.Б. и др. Молекулярно-клеточные механизмы кальцификации аортального клапана. *Трансляционная медицина.* 2015;45–52].
24. Acharya A, Hans CP, Koenig SN, et al. Inhibitory role of Notch1 in calcific aortic valve disease. *PLoS One.* 2011;6(11):e27743. DOI: 10.1371/journal.pone.0027743.
25. Zheng KH, Tzolos E, Dweck MR. Pathophysiology of Aortic Stenosis and Future Perspectives for Medical Therapy *Cardiol Clin.* 2020;38(1):1-12. DOI: 10.1016/j.ccl.2019.09.010.
26. Miller JD, Weiss RM, Heistad DD. Calcific Aortic Valve Stenosis: Methods, Models and Mechanisms. *Circ Res.* 2011;108(11):1392–1412. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.110.234138.
27. Peeters FECM, Meex SJR, Dweck MR, et al. Calcific aortic valve stenosis: hard disease in the heart. *Eur Heart J.* 2018;39(28):2618–2624. DOI: 10.1093/eurheartj/ehx653.
28. Pawade TA, Newby DE, Dweck MR. Calcification in aortic stenosis. The skeleton key. *J Am Coll Cardiol.* 2015;66(5):561–577. DOI: 10.1016/j.jacc.2015.05.066.
29. Hakuno D, Kimura N, Yoshioka M, et al. Molecular mechanisms underlying the onset of degenerative aortic valve disease. *J Mol Med (Berl).* 2009;87(1):17–24. DOI: 10.1007/s00109-008-0400-9.
30. Zhiduleva EV, Irtyuga OB, Shishkova AA. Cellular mechanisms of aortic valve calcification. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2017;164(9):356–360. In Russian [Жидулева Е.В., Иртюга О.Б., Шишкова А.А. и др. Клеточные механизмы кальцификации аортального клапана. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2017;164(9):356–360].
31. Irtyuga OB, Zhiduleva EV, Murtazaliev PM, et al. The role of osteoprotegerin system/RANKL/RANK in pathogenesis of aortic stenosis. *Russian Journal of Cardiology.* 2018;2(154):39–43. In Russian [Иртюга О.Б., Жидулева Е.В., Муртазалиева П.М. и др. Роль системы остеопротегерина/RANKL/RANK в патогенезе аортального стеноза. *Российский кардиологический журнал.* 2018;2(154):39–43].
32. Kostina DA, Uspensky VE, Semenova DS, et al. Role of calcification in aortic degeneration. *Translational Medicine.* 2020;7(1):6–21. DOI: 10.18705/2311-4495-2020-7-1-6-21. In Russian [Костина Д.А., Успенский В.Е., Семенова Д.С. и др. Молекулярные механизмы сосудистой кальцификации. *Трансляционная медицина.* 2020;7(1):6–21].
33. Mohler ER. Mechanisms of aortic valve calcification. *Am J Cardiol.* 2004;94(11):1396–1402, A6. DOI: 10.1016/j.amjcard.2004.08.013.
34. Osman L, Chester AH, Sarathchandra P, et al. A novel role of the sympathetic-adrenergic system in regulating valve calcification. *Circulation.* 2007;116(11 Suppl):I282–7. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.681072.
35. Shin V, Zebboudi AF, Bostrom K. Endothelial Cells Modulate Osteogenesis in Calcifying Vascular Cells. *J Vasc Res.* 2004;41(2):193–201. DOI: 10.1159/000077394.
36. Venardos N, Nadlonek NA, Zhan Q, et al. Aortic valve calcification is mediated by a differential response of aortic valve interstitial cells to inflammation. *J Surg Res.* 2014;190(1):1–8. DOI: 10.1016/j.jss.2014.03.051.
37. Helske S, Kupari M, Lindstedt KA, et al. Aortic valve stenosis: an active atheroinflammatory process. *Curr Opin Lipidol.* 2007;18(5):483–491. DOI: 10.1097/MOL.0b013e3282a66099.
38. Golovkin AS, Zhiduleva EV, Shishkova AA, et al. CD39 and CD73 expression in interstitial cells of calcified aortic stenosis. *Russian Journal of Immunology.* 2017;11(2):287–289. In Russian [Головкин А.С., Жидулева Е.В., Шишкова А.А. и др. Экспрессия CD39 и CD73 на интерстициальных клетках при кальцинозе аортального клапана. *Российский иммунологический журнал.* 2017;11(2,20):287–289].
39. Golovkin AS, Kudryavtsev IV, Serebryakova MK, et al. Calcification of the aortic valve: subpopulation composition of circulating T cells and purinergic regulation. *Russian Journal of Immunology.* 2016;10(2, 1):189–191. In Russian [Головкин А.С., Кудрявцев И.В., Серебрякова М.К. и др. Кальциноз аортального клапана: субпопуляционный состав циркулирующих Т-клеток и пуринергическая регуляция. *Российский иммунологический журнал.* 2016;10(2, 1):189–191].
40. New SPE, Aikawa E. Cardiovascular calcification: an inflammatory disease. *Circ J.* 2011;75(6):1305–1313. DOI: 10.1253/circj.cj-11-0395.
41. Osman L, Yacoub MH, Latif N, et al. Role of human valve interstitial cells in valve calcification and their response to atorvastatin. *Circulation.* 2006;114(1 Suppl):I547–552. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.001115.
42. Cawley PJ, Otto CM. Prevention of calcific aortic valve stenosis – fact or fiction? *Ann Med.* 2009;41(2):100–108. DOI: 10.1080/07853890802331394.
43. Rajamannan NM. Mechanisms of aortic valve calcification: the LDL-density-radius theory: a translation from cell signaling to physiology. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2010;298(1):H5–15. DOI: 10.1152/ajpheart.00824.2009.
44. Innasimuthu AL, Katz WE. Effect of bisphosphonates on the progression of degenerative aortic stenosis. *Echocardiography.* 2011;28(1):1–7. DOI: 10.1111/j.1540-8175.2010.01256.x.
45. Aksoy O, Cam A, Goel SS, et al. Do bisphosphonates slow the progression of aortic stenosis? *J Am Coll Cardiol.* 2012;59(16):1452–1459. DOI: 10.1016/j.jacc.2012.01.024.
46. Lerman DA, Prasad S, Alotti N. Denosumab could be a potential inhibitor of valvular interstitial cells calcification in vitro. *Int J Cardiovasc Res.*

2016;5(1):10.4172/2324-8602.1000249.
DOI: 10.4172/2324-8602.1000249.

47. Butcher JT, Mahler GJ, Hockaday LA. Aortic valve disease and treatment: The need for naturally engineered solutions. *Adv Drug Deliv Rev.* 2011;63(4-5):242–268. DOI: 10.1016/j.addr.2011.01.008.

48. Brandenburg VM, Reinartz S, Kaesler N, et al. Slower progress of aortic valve calcification with vitamin K supplementation. *Circulation.* 2017;135(21):2081–2083. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.027011.

49. Parra-Izquierdo I, Castaños-Mollor I, López J, et al. Lipopolysaccharide and interferon- β team up to activate HIF-1 β via STAT1 in normoxia and exhibit sex differences in human aortic valve interstitial cells. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2019;1865(9):2168–2179. DOI: 10.1016/j.bbdis.2019.04.014.

50. Blaser MC, Kraler S, Luscher TF, et al. Multi-omics approaches to define calcific aortic valve disease pathogenesis. *Circ Res.* 2021;128(9):1371–1397. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.120.317979.

51. Surendan A, Edel A, Chandran M, et al. Metabolomic signature of human aortic valve stenosis. *JACC Basic Transl Sci.* 2020;5(12):1163–1177. DOI: 10.1016/j.jacbs.2020.10.001.

52. Baek D, Villen J, Shin C, et al. The impact of microRNAs on protein output. *Nature.* 2008;455(7209):64–71. DOI: 10.1038/nature07242.

53. Khudiakov AA, Smolina NA, Perepelina KI, et al. Extracellular micrornas and mitochondrial DNA as potential biomarkers of arrhythmogenic cardiomyopathy. *Biochemistry (Moscow).* 2019;84(3):272–282. In Russian [Худяков А.А., Смолина Н.А., Перепелина К.И. и др. Внеклеточные микроРНК и митохондриальная ДНК как потенциальные биомаркеры аритмогенной кардиомиопатии. *Биохимия.* 2019;84(3):392–403].

54. Toshima T, Watanabe T, Narumi T, et al. Therapeutic inhibition of microRNA-34a ameliorates aortic valve calcification via modulation of Notch1-Runx2 signalling. *Cardiovasc Res.* 2020;116(5):983–994. DOI: 10.1093/cvr/cvz210.

55. Theodoris CV, Zhou P, Liu L, et al. Network-based screen in iPSC-derived cells reveals therapeutic candidate for heart valve disease. *Science.* 2021;371(6530):eabd0724. DOI: 10.1126/science.abd0724.

Информация об авторах:

Шишкова Анастасия Алексеевна, врач-кардиолог кардиологического отделения клинко-диагностического центра ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, младший научный сотрудник НИГ молекулярных механизмов кальцификации НИЛ заболеваний с избыточной кальцификацией НИЦ неизвестных, редких и генетически обусловленных заболеваний НЦМУ «Центр персонализированной медицины»;

Лобов Арсений Андреевич, младший научный сотрудник лаборатории регенеративной биомеди-

цины ИНЦ РАН, научный сотрудник НИГ молекулярных механизмов кальцификации НИЛ заболеваний с избыточной кальцификацией НИЦ неизвестных, редких и генетически обусловленных заболеваний НЦМУ «Центр персонализированной медицины»;

Докшин Павел Михайлович, младший научный сотрудник НИЛ молекулярной кардиологии и генетики, ассистент кафедры биологии факультета биомедицинских наук ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, младший научный сотрудник НИГ молекулярных механизмов кальцификации НИЛ заболеваний с избыточной кальцификацией НИЦ неизвестных, редких и генетически обусловленных заболеваний НЦМУ «Центр персонализированной медицины»;

Боярская Надежда Владимировна, младший научный сотрудник лаборатории регенеративной биомедицины ИНЦ РАН, младший научный сотрудник НИГ молекулярных механизмов кальцификации НИЛ заболеваний с избыточной кальцификацией НИЦ неизвестных, редких и генетически обусловленных заболеваний НЦМУ «Центр персонализированной медицины»;

Качанова Ольга Сергеевна, лаборант-исследователь НИГ молекулярных механизмов кальцификации НИЛ заболеваний с избыточной кальцификацией НИЦ неизвестных, редких и генетически обусловленных заболеваний НЦМУ «Центр персонализированной медицины»;

Малашичева Анна Борисовна, д.б.н., заведующий НИЛ молекулярной кардиологии и генетики ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, руководитель лаборатории регенеративной биомедицины ИНЦ РАН, старший научный сотрудник НИГ молекулярных механизмов кальцификации НИЛ заболеваний с избыточной кальцификацией НИЦ неизвестных, редких и генетически обусловленных заболеваний НЦМУ «Центр персонализированной медицины».