

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ СОСУДИСТОЙ КАЛЬЦИФИКАЦИИ

Костина Д. А.^{1,2}, Успенский В. Е.¹, Семенова Д. С.^{1,2,3}, Костина А. С.^{1,2},
Боярская Н. В.², Иртюга О. Б.¹, 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

³Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский
государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Костина Дарья Алексеевна,
ИНЦ РАН,
Тихорецкий пр., д. 4, Санкт-Петербург,
Россия, 194064.
E-mail: kostinadariaspb@gmail.com

Статья поступила в редакцию 23.09.2019
и принята к печати 30.01.2020.

Резюме

Сосудистая кальцификация является распространенной и опасной для жизни патологией. Это активный биорегулируемый процесс, который наблюдается в патогенезе целого ряда заболеваний, связанных с нарушением метаболизма, патологиями соединительной ткани и старением. В кальцификации сосудов задействованы сигнальные пути и транскрипционные факторы, которые также играют роль в нормальном остеогенезе и/или в развитии сосудов. В обзоре особое внимание уделено роли сигнальных путей BMP (bone morphogenetic protein, костный морфогенный белок), Notch, Wnt [wingless-type MMTV (Mouse Mammary Tumor Virus) integration site family members, член семейства интеграционного сайта ММТВ (мышинный вирус опухоли молочной железы) типа потери крыльев] и роли транскрипционных факторов BMP2, RUNX2, Msx2 в процессе кальцификации. По-видимому, нарушения в функционировании проостеогенных сигнальных путей и приобретение клетками сосудов остеогенного фенотипа характерно не только для минерализации и окостенения сосудов, но и является общим путем деградации сосудов. Проостеогенные изменения на клеточном и молекулярном уровне могут играть роль и в патогенезе заболеваний, в которых минерализация сосудов не проявляется, таких как аневризма грудной аорты. Способность сосудистых клеток приобретать остеофенотип, вероятно, имеет биологический смысл. Чрезмерное ослабление уровня активности остеогенных сигнальных путей также может приводить к патологическим изменениям в сосудах.

Целью представляемого обзора является рассмотрение механизмов сосудистой кальцификации с точки зрения участия сигнальных путей и сосудистых клеток в этом процессе. Главной задачей обзора является исследование причин и механизмов аортальной кальцификации; особый интерес для авторов представляет роль процессов кальцификации в патогенезе аневризмы аорты. Понимание механизмов биологической регуляции про- и антиостеогенных процессов при патологии и в норме открывает возможности воздействовать на этот процесс при коррекции сосудистых патологий.

Ключевые слова: аневризма аорты, атеросклероз, гладкомышечные клетки, кальцификация меди, медиасклероз, сосудистая кальцификация, BMP2, Notch, RUNX2.

Для цитирования: Костина Д.А., Успенский В.Е., Семенова Д.С., Костина А.С., Боярская Н.В., Иртюга О.Б., Малашичева А.Б. Молекулярные механизмы сосудистой кальцификации. Трансляционная медицина. 2020;7(1):6–21. doi:10.18705/2311-4495-2020-7-1-6-21

ROLE OF CALCIFICATION IN AORTIC DEGENERATION

Kostina D. A.^{1,2}, Uspensky V. E.¹, Semenova D. S.^{1,2,3}, Kostina A. S.^{1,2},
Boyarskaya N. V.², Irtyuga O. B.¹, Malashicheva A. B.^{1,2,3}

¹Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

²Institute of Cytology of the Russian Academy of Science,
Saint Petersburg, Russia

³Saint Petersburg University, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:

Kostina Daria A.,
Institute of Cytology of the Russian Academy
of Science,
Tikhoretsky ave. 4, Saint Petersburg, Russia,
194064.
E-mail: kostinadariaspb@gmail.com

Received 23 September 2019; accepted
30 January 2020.

Abstract

Vascular calcification is a widely-spread pathology with high mortality. It is active bioregulated process that is observed in pathogenesis of different diseases, associated with metabolic dysfunction, congenital tissue diseases and aging. Signal pathways and transcription factors that are involved in vascular calcification are also takes place in normal osteogenesis and/or vascular development. In the review the main attention is paid to the role of signaling pathways BMP (bone morphogenic protein), Notch, Wnt and to the role of transcription factors BMP2, RUNX2, Msx2 in vascular calcification. Probably, dysfunction of osteogenic signal pathways and trans-differentiation of vascular cells to osteoblast-like cells is a common process not only for vascular calcification or mineralization, but is a way of vascular degradation in general. Proosteogenic changes at cellular and molecular level may play role in pathogenesis of a disease without manifestation of vascular mineralization, such as thoracic aortic aneurysm. Ability of vascular cells to change their phenotype to osteophenotype is very likely biologically important ability. Over weakness of calcific signaling pathways activity can also lead to vascular pathology. The aim of the review is to overlook the mechanisms of vascular calcification focusing at the role of signal pathways and vascular cells at this process with particular attention to aortic calcification. Understanding the mechanisms of biological regulation of pro- and antiosteogenic processes in pathology and normal conditions opens new opportunities to influence this process in order to correct vascular pathologies.

Key words: aortic aneurysm, atherosclerosis, BMP2, mediasclerosis, media calcification, Notch, RUNX2, smooth muscle cell, vascular calcification.

For citation: Kostina D.A., Uspensky V.E., Semenova D.S., Kostina A.S., Boyarskaya N.V., Irtyuga O.B., Malashicheva A.B. Role of calcification in aortic degeneration. Translyatsionnaya meditsina=Translational Medicine. 2020;7(1):6–21. (In Russ.). doi:10.18705/2311-4495-2020-7-1-6-21

Список сокращений: ГМК — гладкомышечные клетки, ЭК — эндотелиальные клетки.

Словарь терминов:

ALK — Activin-Like Kinase, активин-подобная киназа, рецептор к BMP.

ALP — Alkaline Phosphatase, щелочная фосфатаза, фермент.

BMP — Bone Morphogenic Protein, костный морфогенный белок, одноименный сигнальный путь, ген, кодирующий костный морфогенный белок.

CArG-бокс-CC(A/T) — GG box, последовательность нуклеотидов Цитозин, Цитозин, (Аденин/

Тимин), Гуанин, Гуанин в промоторе генов ГМК и генов раннего роста.

COPMP2 — Cartilage Oligomeric Matrix Protein 2, хрящевой олигомерный матриксный белок 2.

CV2 — Cross-Veinless 2, перекрестный уменьшающий вены белок.

Dkk — Dickkopf homolog, гомолог Dickkopf, сигнальный путь.

FGF — Fibroblast Growth Factor, ростовой фактор фибробластов, сигнальный путь и одноименный белок (FGF2).

Gli — Гли1, специфический маркер мезенхимных стволовых клеток во взрослом организме.

KLF4 — Kruppel-Like Factor 4, транскрипционный фактор, подобный Kruppel.

LDL — Low Density Lipoprotein, липопротеин низкой плотности.

MGP — Matrix Gla Protein, матриксный гла белок.

Msx — Muscle segment homeobox protein homolog, протеиновый гомеобокс-гомолог мышечного сегмента.

Noggin — сигнальный путь.

Notch — сигнальный путь Notch (от англ. «надрез»), одноименный трансмембранный рецептор Notch (1, 2, 3, 4) и одноименный ген, кодирующий рецептор Notch (1, 2, 3, 4).

OPG — остеопротегерин, белок.

OPN — остеопонтин, который также называют SPP1, белок.

Osterix — остерикс, белок.

PPi — inorganic pyrophosphate, неорганический пирофосфат.

RUNX2 — Runt-related transcription factor 2, связанный с ран транскрипционный фактор 2 (также называемый Cbfa1), одноименный сигнальный путь, одноименный ген, кодирующий белок RUNX2.

RANKL — Receptor Activator of Nuclear Factor κ B, рецептор-активатор ядерного фактора каппа В.

Smad — mothers against decapentaplegia homolog, белок.

Sox9 — Sry (Sex-determining region Y)-related HMG (high mobility group)-box gene 9, связанный с определяющим пол регионом Y-хромосомы высокоподвижный блок ген 9.

TNF α — tumor necrosis factor- α , фактор некроза опухоли альфа.

Wnt — Wingless-type MMTV (Mouse Mammary Tumor Virus, мышиный вирус опухоли молочной железы) integration site family members, члены семейства интеграционного сайта типа потери крыльев MMTV, сигнальный путь.

Введение

Кальцификацией называют патологическое накопление минеральных веществ, главным образом гидроксиапатита — характерной для костной ткани формы фосфата кальция в различных тканях организма. В результате минерализации происходит окостенение: ткань теряет свою эластичность, становится более хрупкой, что мешает ее нормальному функционированию [1]. Ранее кальцификацию считали пассивным, нерегулируемым дегенеративным процессом минерализации тканей и мертвых или умирающих клеток. Современный взгляд на кальцификацию как на активный, регулируемый

биологический процесс сложился в 90-е годы XX века [2]. Кальцификация во многом сходна с процессом остеогенеза: при сосудистой кальцификации в клетках активируются различные сигнальные пути, характерные для формирования и репарации костей [3]. Клетки сосудов приобретают остеонотип. Процесс минерализации при кальцификации сосудов контролируется эндотелиальными, мезенхимными и гематopoэтическими клетками, также как и процесс формирования кости [4]. При этом не просто накапливаются минеральные вещества, а происходит окостенение тканей: и по структуре, и по биохимическому составу минеральная пластинка напоминает кость и даже может содержать гемopoэтический костный мозг [5]. Несмотря на то, что гистологическая картина и клинические проявления сосудистой кальцификации хорошо известны, причины, механизмы и способы предотвращения сосудистой кальцификации в настоящее время изучены недостаточно. Наименее исследованными остаются ранние процессы, предшествующие накоплению минералов и окостенению сосудов. Кальцификация сосудов является частым и опасным заболеванием, которое плохо поддается терапевтической коррекции. В представляемом обзоре мы рассматриваем роль сосудистой кальцификации в дегенеративных изменениях аорты, акцентируя внимание на роли проостеогенных сигнальных путей и их ингибиторов, межклеточного взаимодействия, а также на нарушениях на клеточном уровне, характерных для патогенеза различных заболеваний, при которых наблюдается сосудистая кальцификация. Кроме того, мы рассматриваем роль сосудистой кальцификации в патогенезе аневризмы аорты. Особое внимание в обзоре уделено роли сигнальных путей BMP и Notch и роли транскрипционных факторов RUNX2, Msx2. Задача представляемого обзора — обобщить имеющуюся информацию о факторах и механизмах сосудистой кальцификации, выявить общие закономерности для различных заболеваний, в патогенезе которых участвуют процессы сосудистой кальцификации и сделать выводы о взаимном влиянии про- и антиостеогенных факторов.

Основные признаки и виды сосудистой кальцификации

В кальцификации могут участвовать все слои кровеносных сосудов и их клапанов (адвентиция, медиа и интима). В артериях мышечного типа основная масса стенки сосуда приходится на средний слой, медию. В состав медики входит внеклеточный матрикс, представленный в основном волокнами эластина и коллагена и гладкомышечными

клетками. Три слоя артерий разделены двумя слоями эластиновых волокон — внутренней и наружной эластической пластинкой. Каждая пластинка представляет собой слой гладкомышечных клеток (ГМК), зажатых между двумя слоями эластиновых волокон. Эти блоки сопровождаются коллагеновыми волокнами. Такая структура придает артериям прочность и эластичность [6].

Условно можно выделить два вида кальцификации сосудов: атеросклеротические изменения и медиасклероз, хотя они могут присутствовать одновременно. Различия между кальцификацией меди и интимы подробно описаны в обзоре P. Lanzer с соавторами [7]: под атеросклерозом понимают образование атеросклеротической бляшки в просвете сосуда, тогда как кальцификация меди — это группа различных патологий с общей терминальной стадией, отложение минералов в среднем слое артерий. Самым распространенным вариантом кальцификации меди является медиасклероз Монкенберга. Кальцификация меди артерий чаще всего наблюдается при диабете и хронической почечной недостаточности. При этом возможна как внутриклеточная локализация минерализации (внутри ГМК), так и внеклеточная — вдоль внутренней эластической мембраны. При атеросклерозе минерализованная бляшка образуется в просвете сосуда. Ядром кальцификации при формировании атеросклеротической бляшки считаются апоптотические ГМК или синтезированные ими матриксные везикулы, которые локализуются на внутренней эластической пластинке, а также липидные отложения и воспаление в неинтимае [8].

Факторы риска сосудистой кальцификации

Кальцификация наблюдается при различных заболеваниях: атеросклерозе, кальцификации аортального клапана (аортальном стенозе) [9, 10] и медиасклерозе. Риск развития атеросклероза и кальцификации меди возрастает при системных заболеваниях, связанных с нарушением обмена веществ: диабет второго типа, хроническая почечная недостаточность, дислипидемия. Хроническая почечная недостаточность — заболевание, при котором нарушается функция почек, возникает уретический синдром. Многие пациенты с хронической почечной недостаточностью на поздних стадиях нуждаются в диализе. Это заболевание связано с повышением разнообразных смертельных факторов риска, в особенности со стороны сердечно-сосудистой системы. Часто при хронической почечной недостаточности наблюдается диабет, дислипидемия, артериальная гипертензия, повышенный уровень холестерина [11, 12]. Повышенный риск минерализации

сосудов у таких пациентов может быть вызван нарушением метаболизма кальция и фосфатов и накоплением других токсичных продуктов метаболизма, анемией, недоеданием, перенаполнением потока крови и флуктуациями в системном объеме кровотока, нарушениями в коагуляционной системе [13]. Дислипидемия характеризуется повышенным содержанием липопротеина низкой плотности, LDL (low density lipoprotein), холестерина. Повышенное содержание LDL может быть вызвано мутациями в различных генах. Заболевание включает в себя семейную форму гиперхолестеринемии и другие наследуемые варианты. К дислипидемии может приводить как мутация в одном гене, так и сочетание мутаций в нескольких генах. Повышенное содержание LDL холестерина приводит к образованию пяточных ксантом и повышает риск сердечно-сосудистых заболеваний, в первую очередь сосудистой кальцификации [14]. Таким образом, к кальцификации сосудов приводят нарушения углеводного, жирового и минерального обменов. Повышенное содержание глюкозы в крови при диабете, холестерина при дислипидемии или метаболических нарушениях, фосфатов при хронической почечной недостаточности повышают риск сосудистой кальцификации. Эти заболевания часто наблюдаются одновременно и усугубляют друг друга. Кроме генетических факторов, для всех этих заболеваний есть общие факторы риска: ожирение, избыток жиров и углеводов в пище, малоподвижный образ жизни, пожилой возраст. Также кальцификации может способствовать оксидативный стресс, связанный с повреждающим воздействием свободных радикалов и активных форм кислорода, воспаление, напряжение сдвига, которое оказывает механическую нагрузку на стенку сосудов. Кроме того, кальцификация является одним из основных симптомов при дегенеративных изменениях сосудов у пожилых пациентов. При старении происходят значительные структурные, гистологические и биохимические изменения, которые, даже при отсутствии других факторов риска, создают микроокружение, способствующее развитию атеросклероза [15]. Ожирение или потребление большого количества жиров с пищей и, как следствие, высокий уровень холестерина являются факторами риска развития сосудистой кальцификации [16] и провоцируют многие другие проблемы со здоровьем, в том числе со стороны сердечно-сосудистой системы.

Особенности кальцификации интимы, меди, адвентиции

При атеросклерозе минерализации подвергается интима сосуда: в атеросклеротической бляшке

происходит депонирование соединительной ткани, воспалительных белков, жиров и внеклеточных компонентов, таких как белки внеклеточного матрикса, и кальция. Кроме атеросклеротических изменений, при кальцификации сосудов может происходить медиасклероз [17]. Кальцификации меди наиболее подвержены артерии эластического типа и большие мышечные артерии, такие как аорта и коронарные артерии. При кальцификации стенки артерий истончаются и становятся более жесткими, теряя свою эластичность. Происходит инфильтрация стенки сосуда циркулирующими или мигрировавшими клетками, трансдифференцировка клеток, составляющих стенку сосуда, в остеобластоподобные клетки и накопление минеральных веществ в стенке сосуда.

Картина, которая наблюдается при кальцификации сосудов, в настоящее время хорошо описана. Известны маркерные белки, фенотипические изменения клеток и гистологические изменения, характерные для определенных стадий кальцификации: в атеросклеротических бляшках наблюдается высокое содержание белков RUNX2 и BMP2 и кальцифицированных ГМК. В кальцифицированных ГМК экспрессируется Sox9 [Sry (Sex-determining region Y)-related HMG (high mobility group)-box gene 9, связанный с определяющим пол регионом Y-хромосомы высококомбинированный блок ген 9] и остерикс (osterix) [18].

На путь остеогенной дифференцировки могут вступать мультипотентные сосудистые мезенхимные клетки-предшественники и сосудистые ГМК, которые способны к трансдифференцировке, в том числе в остеогенном направлении [19].

Однако механизмы кальцификации остаются недостаточно изученными. Что приводит к активации проosteогенных сигнальных путей при различных патологиях, в каких типах клеток эти пути активируются на ранних стадиях кальцификации, являются ли причиной кальцификации патологические ответы на проosteогенные факторы тех клеток, в которых происходят фенотипические изменения, или их трансдифференцировка происходит под действием факторов, источником которых служат другие типы клеток? Процессы, приводящие к кальцификации сосудов, носят системный характер. Часто повышенная минерализация артерий сопровождается пониженным содержанием минералов в костях и остеопорозом [20]. Поскольку процесс кальцификации является не пассивным, а активным, существует предположение, что кальцификация — это механизм адаптации организма к возможной опасности. Такое предположение объясняет, почему кальцификация коронарных ар-

терий является не терминальной стадией заболевания, а может быть обнаружена до клинических проявлений атеросклероза и служить прогностическим маркером [21]. Самыми сложными вопросами остаются механизм взаимодействия между сигнальными путями, участвующими в кальцификации и остеогенезе, и роль определенных сигнальных молекул в этом процессе.

Сигнальные пути, участвующие в кальцификации

К кальцификации сосудов приводит одновременная активация проosteогенных факторов и ослабление ингибиторов этого процесса. В него вовлечены различные сигнальные пути: BMP, Wnt, FGF (fibroblast growth factor, ростовой фактор фибробластов), Hedgehog, Dkk1 (dickkopf homolog).

При кальцификации в сосудах повышается экспрессия BMP2, остеокальцина, RUNX2, ALP (alkaline phosphatase, щелочная фосфатаза), остеоонектина, RANKL (receptor activator of nuclear factor κ B, рецептор-активатор ядерного фактора каппа В) [22] (рис. 1). Именно после того, как был открыт белок BMP2, и была показана его роль как в патологической кальцификации, так и в нормальном остеогенезе, изменилось представление о кальцификации сосудов как о пассивном процессе. Впервые белки семейства BMP были выделены из матрикса кости в 1965 году [23].

Белки семейства BMP

Белки семейства BMP входят в состав суперсемейства TGF- β (transforming growth factor- β , трансформирующий ростовой фактор бета). Члены семейства BMP высоко консервативны. На основе гомологии и схожести функций их разделяют на 4 категории: BMP2/4, BMP5/6/7/8a/8b, BMP9/10, BMP12/13/14. Белки BMP секретируются в активной форме и регулируются внеклеточными антагонистами. В процессах кальцификации участвуют BMP2, 4, 6, 9. Наибольшую роль BMP играет в кальцификации в постнатальном периоде. BMP запускает продукцию остеогенов несколькими способами: активируя сигнальный путь Wnt, стимулируя экспрессию Msx2, через рецептор-опосредованную активацию белков Smad (mothers against decapentaplegia homolog), а также повышая экспрессию RUNX2. Двумя важнейшими регуляторными путями, через которые действует BMP, являются Smad-зависимый сигнальный путь и Smad-независимый, MAPK-сигнальный путь (mitogen-activated protein kinase, митоген-активируемая протеинкиназа). Оба сигнальных каскада, и BMP-Smad, и BMP-MAPK работают через рецепторы-активин-подоб-

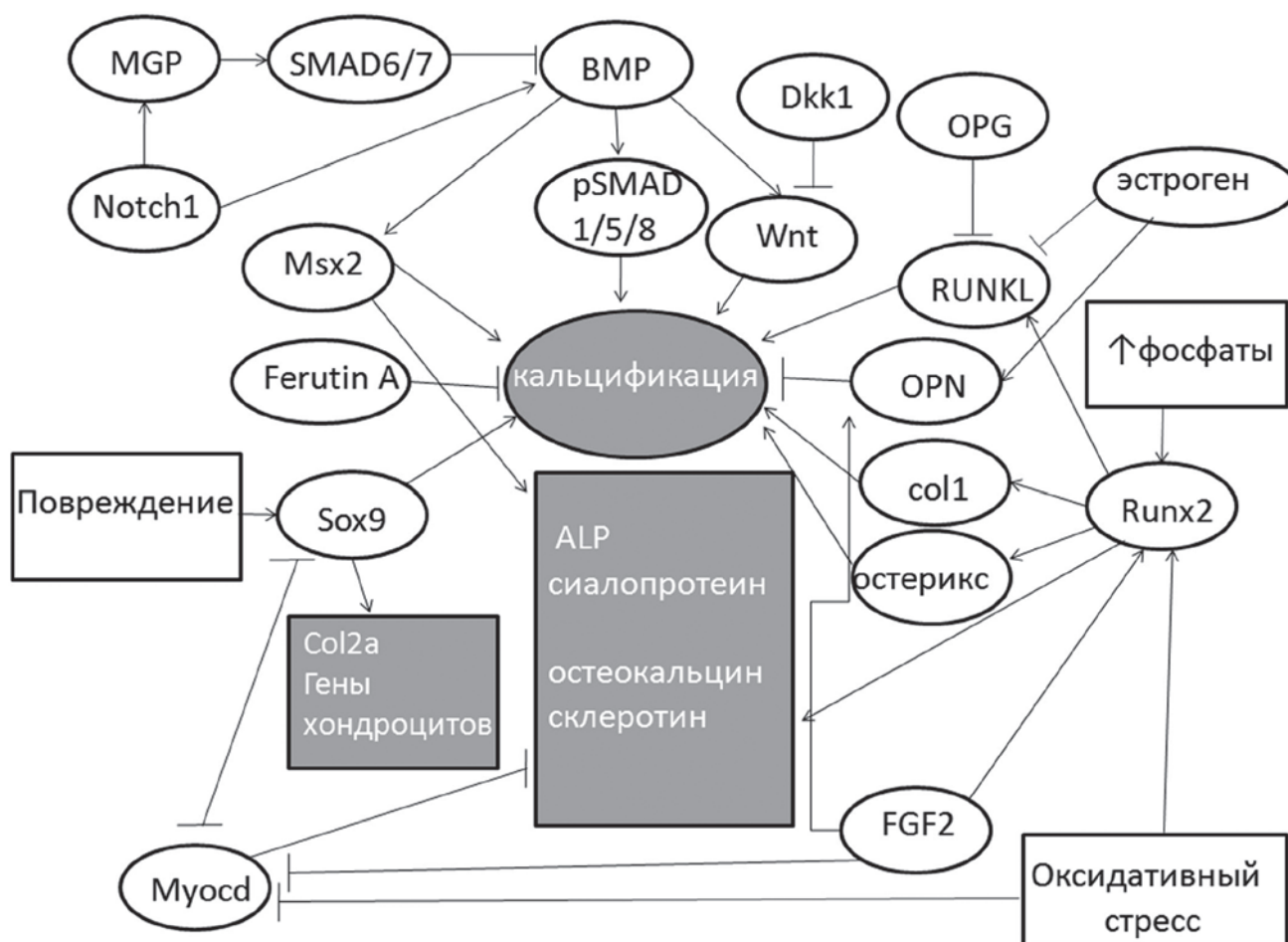


Рис. 1. Схематическое изображение взаимодействия проостеогенных факторов и их ингибиторов:

Факторы риска сосудистой кальцификации вызывают активацию проостеогенных сигнальных путей. В результате происходит остео/хондрогенная дифференцировка клеток, накопление клетками остеопротееинов и экспрессия остеомаркеров, сосудистая кальцификация. В то же время активность этих сигнальных путей регулируется их ингибиторами (ингибиторное воздействие показано тупой стрелкой, активационное воздействие — острой стрелкой; системные факторы риска сосудистой кальцификации помещены в прямоугольники, названия белков и сигнальных путей — в овалы)

ные киназы (activin-like kinase), ALK-рецепторы 1-го и 2-го типа, которые будут подробнее рассмотрены ниже [24].

Роль BMP в функционировании сосудистой системы

Белки семейства BMP экспрессируются в сосудах не только в случае патологической кальцификации, но и в норме. Формирование эндотелиальных трубочек в процессе ангиогенеза как в норме, так и при росте опухолей, привлечение и дифференцировка ГМК и клеток-предшественников, зависят от сигнального пути BMP. BMP2 ингибирует пролиферацию и дифференцировку ГМК. Формирование сосудистого дерева и процесс артериовенозной спецификации также направляются с помощью

BMP [25]. Для сосудистой системы наиболее характерны BMP2 и BMP4. BMP2 является маркером остеогенной дифференцировки как при нормальном остеогенезе, так и при кальцификации мягких тканей. Несмотря на то, что BMP2 и BMP4 обладают высокой степенью гомологичности и во многих случаях активируются в ответ на одни и те же стимулы, их функции различны: BMP2 запускает минерализацию, тогда как BMP4 стимулирует ангиогенез и пролиферацию эндотелиальных клеток (ЭК) [26, 27].

Причины повышенной продукции BMP2 различными типами клеток

Под влиянием различных факторов BMP2 способен вырабатывать многие типы клеток сосудов:

ЭК, перициты и миофибробласты. К повышенной продукции BMP2 перицитами и миофибробластами приводит высокая концентрация глюкозы (что объясняет кальцификацию сосудов при диабете), эндотелиальные клетки и перициты вырабатывают BMP2 и BMP4 под действием TNF- α (tumor necrosis factor- α , фактора некроза опухоли альфа), пероксидов, напряжения сдвига, активных форм кислорода. Источником TNF- α может служить жировая ткань. В сосудах происходит активация проостеогенного сигнального пути BMP2 в ответ на факторы стресса: ожирение, воспаление и оксидативный стресс [28]. Таким образом, ожирение, воспаление и оксидативный стресс являются факторами, повышающими продукцию BMP в аорте. При хронической почечной недостаточности повышение уровня фосфатов стимулирует секрецию BMP2 и приводит к минерализации ГМК через активацию сигнального пути RUNX2 [29].

BMP2-Wnt-сигналинг

В артериях также, как и в остеобластах лицевого черепа, BMP2 является ключевым стимулом, вызывающим экспрессию *Msx2*, и таким образом усиливает сигнальный путь Wnt [30]. Белки семейства Wnt — это секретируемые полипептиды, которые связывают LRP [специфический LDLR-связанный протеин (LDLR — low density lipoprotein receptor, рецептор к липопротеину низкой плотности)], активируют LRP5- и LRP6-сигнальные каскады и увеличивают экспрессию генов через ядерный β -катенин в каноническом сигнальном пути. β -катенин — это транскрипционный коадаптер, который активирует транскрипцию, направляемую транскрипционными факторами семейства TCR/LEF (T-cell receptor/Lymphocyte enhancer-binding factor, рецептор Т-клеток/фактор, связывающийся с энхансером лимфоцитов). β -катенин необходим для дифференцировки остеобластов и поддерживает работу остеогенной транскрипционной программы [31].

Повышенная продукция BMP2/4 перицитами и эндотелиальными клетками стенки сосуда приводит к активации сигнальных путей *Msx2*-Wnt в адвентиции: TNF- α активирует BMP2 и *Msx2*, которые вызывают экспрессию белков семейства Wnt-Wnt3a, Wnt7a и ALP, снижают уровень ингибитора кальцификации *Dkk1*. В результате активации сигнального пути Wnt в адвентиции в ответ на продукцию BMP в меди сосуда происходит накопление в меди β -катенина, активация ALP, остеогенная дифференцировка [32].

Помимо того, что *Msx2* усиливает сигнальный путь Wnt и ингибирует *Dkk1*, *Msx2* вызывает кальцификацию за счет повышения продукции осте-

рикса и ALP. В то же время *Msx2* подавляет адипогенную дифференцировку и приводит к сдвигу дифференцировки в остеогенном направлении [33]. Возможно, *Msx2*, препятствуя адипогенной, индуцирует остеогенную дифференцировку, и это в свою очередь приводит к тому, что ожирение и избыток жиров в диете провоцируют кальцификацию сосудов.

BMP2-Smad

Белки Smad можно разделить на три категории. К первой группе относятся регуляторные, R-Smads, которые активируют рецепторы к BMP. К регуляторным Smad относятся Smad1, 5, 8. Вторая группа — ко-медиаторы, Co-Smads, например Smad4. Белки Smad третьей группы — ингибиторы, i-Smads (Smad6, Smad7). Специфичность действия BMP в различных ситуациях обеспечивается за счет многообразия рецепторов к BMP. Это трансмембранные рецепторы серин/тирозинкиназные рецепторы ALK (activinreceptors-like kinase, активин-рецептор-подобные киназы). Выделяют 7 рецепторов 1-го типа ALK1-ALK7 и 5 рецепторов 2-го типа. После связывания лиганда с рецептором 2-го типа происходит его фосфорилирование и активация рецептора 1-го типа, а затем активация белков семейства Smad [34]. При взаимодействии BMP с рецепторами первого типа (ALK1, ALK2, ALK3, ALK6) происходит активация Smad1, Smad5, Smad8, а рецепторы ALK4, ALK5, ALK7 активируют Smad2 и Smad3. Активированные белки Smad образуют комплекс с медиатором Smad4. Этот комплекс транслируется в ядро, где стимулирует продукцию остеогенов, таких как *RUNX2*, *MSX2*, *ALP*, *OSX* (osterix). Процесс проостеогенного действия BMP-Smad регулируется ингибиторами сосудистых Smad (Smad6, Smad7) [35].

Роль RUNX2

RUNX2 — один из важнейших остеогенных транскрипционных факторов. Он играет важную роль как в нормальном остеогенезе, так и в кальцификации сосудов. В процессе остеогенеза *RUNX2* необходим для созревания хондроцитов и дифференцировки остеобластов. Экспрессия *RUNX2* зависит от сигнального пути BMP, и в то же время BMP и *RUNX2* выступают в качестве синергистов по отношению к их генам-мишеням [36]. *RUNX2* — это классический остео/хондрогенный ДНК-связывающий транскрипционный фактор. Он особенно важен в эмбриональный период, а его количество во взрослом организме мало [37]. К генам-мишеням *RUNX2* относится *RANKL*, гены, кодирующие белки остеопонтин, остеокальцин,

остеопротегерин, костный сиалопротеин и многие другие (рис. 2). RUNX2 регулирует экспрессию RANKL, напрямую связываясь с его промотором, стимулируя таким образом инфильтрацию стенки сосудов макрофагами и образование остеокластоподобных клеток. В костной ткани RANKL — ключевой регулятор формирования остеокластов [38].

К повышению экспрессии RUNX2 в ГМК приводит гиперфосфатемия при хронической почечной недостаточности [39]. Еще одним фактором, участвующим в кальцификации через повышение транскрипционной активности RUNX2, является FGF-2 [3].

Также к повышению продукции RUNX2 приводит оксидативный стресс. В свою очередь RUNX2 участвует в кальцификации в ответ на оксидатив-

ный стресс [2]. Остерикс — белок, который стимулирует развитие предшественников остеобластов в зрелые остеобласты и одновременно является мишенью BMP2. BMP2 способен индуцировать экспрессию остерикса не только через повышение экспрессии RUNX2, но и независимым от RUNX2 путем, через повышение экспрессии Msx2. Этот независимый от RUNX2 механизм индукции гена остерикс был показан при дифференцировке мезенхимных клеток в остеобласты [40]. Таким образом, сигнальные пути Msx2, RUNX2 и BMP2 переплетены и тесно связаны друг с другом. Действие перечисленных сигнальных молекул тканеспецифично: в различных типах тканей увеличение активности сигнальных путей BMP, Msx, RUNX2 будет приводить к различным эффектам, в некоторых случаях

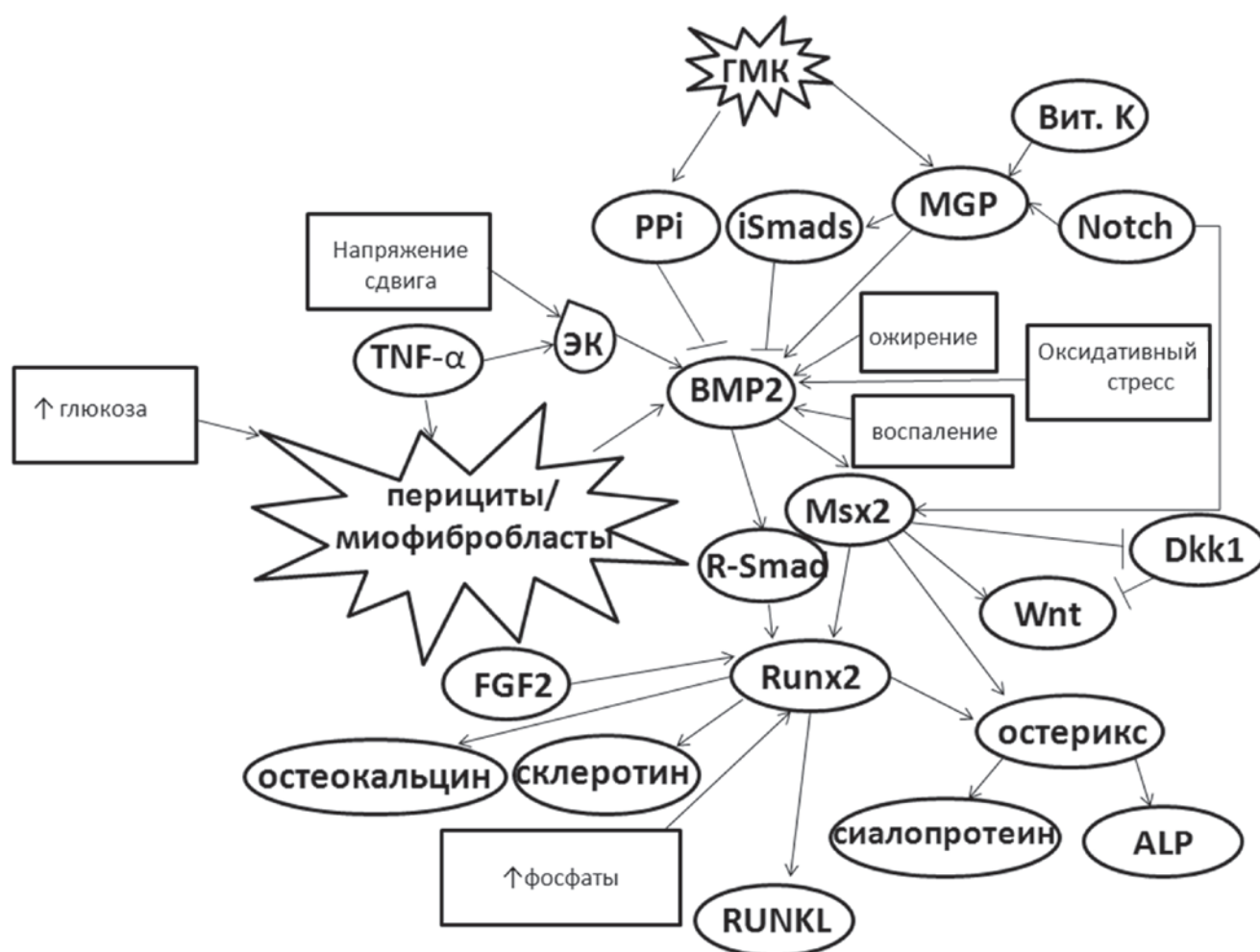


Рис. 2. Схематическое изображение регуляции сигнальных путей BMP2 и RUNX2:

BMP2 и RUNX2 обладают проостеогенной активностью. Активность сигнальных путей BMP2 и RUNX2 регулируется разными типами клеток, системными факторами, зависит от уровня активности их активаторов и ингибиторов. Экспрессия RUNX2 зависит от BMP2. Кроме того, существует BMP2-независимая регуляция RUNX2 (ингибиторное воздействие показано тупой стрелкой, активационное воздействие — острой стрелкой; системные факторы риска сосудистой кальцификации помещены в прямоугольники, названия белков и сигнальных путей — в овалы)

даже противоположного характера. Действие сигнальных молекул сильно зависит от типа клеток, дозы, присутствия ингибиторов или ко-активаторов этих биологически активных веществ.

Ингибиторы BMP

Существуют механизмы, препятствующие BMP-зависимой минерализации сосудов. Так как BMP2 запускает кальцификацию, воздействуя либо на сигнальный путь SMAD, либо на сигнальный путь Wnt, то ингибиторы компонентов этих сигнальных путей на различных стадиях приводят к отсутствию кальцификации в ответ на продукцию BMP2. Ингибиторами Smad являются белки I-Smad, Smad6, Smad7. I-Smad ослабляют BMP2-зависимую трансактивацию белков Smad и таким образом препятствуют кальцификации. Кроме того, возможно связывание самого BMP2. Внеклеточными антагонистами белков семейства BMP являются noggin, chordin, gremlin, CV2 (cross-veinless 2, перекрестный уменьшающий вены белок), COMP2 (cartilage oligomeric matrix protein2, хрящевой олигомерный матриксный белок 2), MGP (matrix gla protein, матриксный гла белок) [41]. BMP3 — единственный из всех белков этого семейства, который является ингибитором кальцификации. Он является антагонистом других BMP, поскольку конкурирует с ними за связывание с рецепторами [42]. ГМК способны вырабатывать ингибиторы кальцификации, которые препятствуют BMP2-зависимой кальцификации и работают на более поздних стадиях, чем перечисленные выше. Гладкомышечные клетки вырабатывают неорганический пирофосфат, PPi (inorganic pyrophosphate), который ингибирует минерализацию и служит физиологическим субстратом, который должен быть гидролизован ALP для того, чтобы эта молекула запустила накопление кальция. Наличие PPi критично для сохранения гладкими мышцами их фенотипа. ГМК, которые неспособны создавать микроокружение, насыщенное PPi, подвергаются остеогенной дифференцировке [43]. PPi препятствует и кальцификации аортального клапана — при исследовании изолированных створок клапанов было показано, что створки способны вырабатывать PPi и таким образом препятствовать кальцификации [44]. Другой белок, продуцируемый ГМК и препятствующий кальцификации — MGP, матриксный белок, связывающий кальций, который ингибирует BMP2-зависимую индукцию ALP, а также ингибирует кальцификацию путем связывания матриксного эластина. Отсутствие MGP приводит к остеохондрогенной дифференцировке ГМК. MGP — ингибитор образования гидроксиапатита. Его роль заключа-

ется в вымывании из различных тканей, включая костную ткань и аорту, избыточного кальция, за счет чего MGP препятствует минерализации ткани [45, 46]. Неактивная, некарбоксилированная форма MGP активируется витамин К-зависимой гамма-карбоксилазой. Обе формы MGP, активная и неактивная, существуют и в интерстициальных, и в эндотелиальных клетках. Notch1 регулирует активацию MGP в ЭК аортального клапана (но не в интерстициальных клетках аортального клапана) в ответ на действие напряжения сдвига. То есть ведущая роль в негативном регулировании кальцификации аортального клапана через Notch1-зависимое ингибирование MGP принадлежит ЭК [47]. Высокодифференцированные ГМК легче противостоять действию BMP, чем дедифференцированные клетки, поскольку в дедифференцированных ГМК уровень ингибиторов BMP2/4, MGP, noggin, chordin понижен. Значимость ингибиторов в предотвращении сосудистой кальцификации подтверждается существованием мышинных моделей сосудистой кальцификации, в которых кальцификация артерий вызывается мутациями в генах, ответственных за синтез PPi или MGP [48].

Таким образом, кальцификация, направляемая сигнальным путем BMP, в значительной степени зависит от активности антагонистов этого сигнального пути. Причем одни и те же стимулы могут повышать продукцию BMP2/4 и одновременно активировать их ингибиторы. Также усиление продукции ингибиторов происходит в ответ на само повышение уровня BMP2/4. Такой механизм регуляции показан для ЭК *in vitro*: уровень MGP, CV2, которые являются ингибиторами BMP, повышается в ответ на повышение активности BMP и в ответ на повышенный уровень глюкозы или колебательное напряжение сдвига — стимулы, повышающие BMP2/4. Также в ответ на эти стимулы (но не на повышение уровня BMP) повышается уровень таких ингибиторов BMP, как noggin, фоллистатин [49]. Было показано, что BMP экспрессируется совместно с его ингибиторами [50], что говорит о тесной взаимосвязи между ними и согласуется с тем, что BMP может оказывать влияние на экспрессию своих ингибиторов. Антагонисты сигнального пути Wnt также препятствуют BMP-зависимой кальцификации.

Ингибиторы кальцификации

OPN (остеопонтин), который также называют SPP1, секретируемый фосфопротеин, является ингибитором кальцификации.

Роль OPN в кальцификации неоднозначна. Известно, что в сайтах кальцификации в сосудах по-

вышается уровень OPN в ЭК и ГМК, поэтому OPN считается маркером сосудистой кальцификации. Остеопонтин усиливает резорбцию кости путем усиления адгезии остеокластов, а также усиливает высвобождение кальция из депо и ингибирует рост кристаллов гидроксиапатита [17], за счет того, что остеопонтин связывается с кристаллами апатита. OPN стимулирует резорбцию кристаллов фосфата кальция. OPN в сосудистой системе имеет и другие, несвязанные с кальцификацией функции. Он принимает участие в ангиогенезе и воспалительном ответе [51]. Существует гормональная регуляция OPN: эстрогены повышают его продукцию в ГМК свиней. OPN повышается в ГМК сосудов, когда они приобретают синтетический фенотип. При изменении фенотипа на сократительный, OPN в ГМК, напротив, падает [52].

Ферутина — белок, синтезируемый в печени, ингибирует формирование кальциевого апатита. Ингибиторами кальцификации являются также остеопротегерин, пирофосфат и витамин К. Употребление антагонистов витамина К, например варфарина, повышает риск кальцификации сосудов. Витамин D, необходимый для усвоения кальция и минерализации костей, предохраняет от сосудистой кальцификации. Витамин D привлекает ингибиторы сосудистой кальцификации, в том числе подавляющие активность сигнального пути hedgehog [53].

OPG (остеопрогерин), растворимый рецептор, привлекающий RANKL, ингибирует остеогенез, снижая уровень сигнального пути RANKL [50, 51]. Ингибитором кальцификации сосудов является MGP, который препятствует росту кристаллов гидроксиапатита в сосудах [56]. Dkk1 и noggin также являются ингибиторами кальцификации: Dkk1 подавляет проостеогенное действие Wnt, связываясь с LRP5/6 (low-density lipoprotein receptor related protein 5/6, белок, ассоциированный с рецептором липопротеинов низкой плотности 5/6). Noggin же ингибирует сигнальный путь BMP [57].

Кальцификация меди артерий и остеогенная дифференцировка ГМК

Кальцификация меди может происходить за счет прогениторных клеток сосудов или за счет трансдифференцировки сосудистых ГМК. Остеопрогениторные клетки попадают в медию из адвентициальной оболочки сосуда. В адвентиции крупных сосудов присутствуют мезенхимные стволовые клетки. Недавно был обнаружен специфический маркер мезенхимных стволовых клеток во взрослом организме — Gli1. Gli1+ клетки адвентиции способны дифференцироваться в ГМК

и мигрировать в другие слои аорты. В условиях патологии Gli1+ вносят вклад в сосудистую кальцификацию: произошедшие от Gli1+ клеток ГМК мигрируют в медию и неоинтиму при артерио- и атеросклерозе, Gli1+ клетки могут дифференцироваться в остеобластоподобные клетки при кальцификации меди и интимы на фоне хронической почечной недостаточности [58]. Клетки адвентиции играют важную роль в процессах сосудистой кальцификации также, как и клетки интимы и меди. Воспалительный процесс в адвентиции может провоцировать кальцификацию меди и атеросклероз. Кальцификация может поражать и саму адвентицию. В основном в адвентиции остеогенный фенотип приобретают ГМК, несмотря на то, что они составляют лишь незначительную часть общей клеточной массы адвентиции, и фибробласты, которые дифференцируются в миофибробласты. В меди происходит и кальцификация ГМК, и накопление минеральных веществ вокруг клеток и вдоль эластической мембраны. Кальцификация меди характерна для таких заболеваний, как диабет, хроническая почечная недостаточность, а также часто сопровождает процесс старения. При кальцификации меди сосуды становятся жесткими, повышается пульсовое давление, возникает гипертрофия левого желудочка, что может привести к отказу сердца [59]. ГМК способны дифференцироваться в остеохондробласты. Трансдифференцировка ГМК при кальцификации меди начинается с дедифференцировки этих клеток и характеризуется потерей ГМК сократительных свойств и сократительных белков — SMA (smooth muscle actin, гладкомышечный актин), SM22 α (smooth muscle 22 alpha, гладкомышечный белок 22 альфа), миокардина, а также повышением уровня RUNX2, OPN, osteocalcin, ALP и накоплением кальция. RUNX2 стимулирует дедифференцировку ГМК через миокардин/SRF (serum response factor, сывороточный фактор ответа) комплекс, что активирует CArG-box-опосредованную транскрипцию [3, 56]. RUNX2 участвует в кальцификации ГМК в ответ на оксидативный стресс: оксидативный стресс в норме приводит к понижению экспрессии маркерных белков ГМК, но этот эффект оксидативного стресса не наблюдается в ГМК, которые не экспрессируют RUNX2. Недостаточность RUNX2 ингибирует дедифференцировку ГМК под действием оксидативного стресса, а также экспрессию osterix и Msx2, активируемую оксидативным стрессом [2].

SOX9 также вызывает дедифференцировку ГМК путем взаимодействия с миокардином, но не через образование классического SRF-CArG-box-комплекса [60].

Потеря ГМК сократительных белков происходит под действием транскрипционного фактора KLF4 (kruppel-like factor 4), который связывается с промотором генов, кодирующих сократительные белки SM22- α , SMA.

Дедифференцированные или кальцифицированные ГМК способны синтезировать матриксные везикулы, которые становятся ядром минерализации во внеклеточном матриксе сосуда. В этих матриксных везикулах содержится множество белков: идентифицировано 79 белков, среди которых белки кальцификации, транспортные белки, белки внеклеточного матрикса, в том числе белки, разрушающие внеклеточный матрикс [MMP2 (metalloproteinase 2, металлопротеиназа 2)], белки цитоскелета и другие. Таким образом, матриксные везикулы становятся ядром кальцификации и очагом разрушения стенки сосуда одновременно. Кроме того, что ГМК вовлечены в процесс кальцификации меди, апоптотические ГМК и синтезируемые ими матриксные везикулы могут быть источником кальцификации интимы [54], также как и кальцифицированные эндотелиальные клетки (ЭК). Еще одним видом везикул, вырабатываемых ГМК и являющихся очагами кальцификации, являются апоптотические тела. В экспериментах *in vitro* было показано, что и перicyты, и ГМК человека способны к спонтанной остеодифференцировке в местах скопления клеток после длительного культивирования. То есть остеодифференцировка происходила в ответ на увеличение плотности клеток без дополнительной стимуляции какими-либо факторами, что указывает на роль межклеточного взаимодействия в процессе остеогенной дифференцировки. Интересно, что в этих скоплениях наблюдались мертвые, апоптотические и некротические клетки. По-видимому, гибель клеток вносит свой вклад в процесс минерализации [61].

Значительную роль в кальцификации играет инфильтрация стенки сосудов макрофагами. Миграцию макрофагов способны стимулировать ГМК: повышенная экспрессия RUNX2 в ГМК, сопровождающая процесс кальцификации, приводит к повышенной экспрессии лиганда для RANKL, который усиливает миграцию макрофагов [2]. Значительную роль в процессе кальцификации играет межклеточное взаимодействие. Остеодифференцировка одних клеток может происходить под действием регуляторных факторов, вырабатываемых другими клетками. Жировые клетки способны привлекать остеопрогениторные клетки костного мозга в медию сосуда [62], что объясняет почему ожирение является фактором риска кальцификации сосудов. Эндотелиальные клетки могут направлять

трансдифференцировку интерстициальных клеток [47]. В исследованиях, проводимых в нашей лаборатории, также были получены результаты, подтверждающие способность ЭК влиять на дифференцировочные процессы в других клетках: нами было показано, что сокультивирование ГМК с эндотелиальными клетками повышает уровень экспрессии маркеров остеогенной дифференцировки в ГМК. Согласно нашим данным, эндотелиальные клетки вызывают остеогенные изменения в ГМК, взаимодействуя через сигнальный путь Notch [63].

При кальцификации меди артерий происходит накопление ALP в меди сосуда, тогда как Msx2 аккумулируется в адвентиции. Клетки адвентиции, экспрессирующие Msx2, вызывают кальцификацию клеток меди через сигнальный путь Wnt, подобно тому, как в процессе формирования черепа при нормальном остеогенезе Msx1 и Msx2 необходимы [33]. Когда происходит трансдифференцировка ГМК в остеобластоподобные клетки, они начинают экспрессировать белки и транскрипционные факторы, характерные для кости: RUNX2, который вызывает экспрессию таких белков, как остеокальцин, склеротин, RANKL, остерикс. В свою очередь, остерикс усиливает экспрессию костного сиалопротеина и ALP. Под действием фосфатов ГМК начинают синтезировать RUNX2, остеопонтин, остеокальцин, ALP. Таким образом, повышенный уровень фосфатов и кальция приводит к дедифференцировке и остеодифференцировке ГМК. При этом минералы выступают не только как строительный материал для формирования кристаллов, но и индуцируют кальцификацию сосудистых ГМК [64].

Роль сосудистой кальцификации при аневризме аорты

Аневризмальная брюшная аорта в большинстве случаев бывает поражена атеросклерозом [65], тогда как для аневризмы грудной аорты нехарактерно наличие атеросклероза [66]. Патогенные молекулы, которые аккумулируются в атеросклеротических бляшках, повышают экспрессию KLF4, ключевого медиатора, который вызывает изменения фенотипа ГМК в ответ на повреждение (механический стресс или воспаление). KLF4 возможно играет роль в развитии аневризмы, поскольку специфическая потеря KLF4 ГМК предохраняет от развития аневризмы [67]. Уровень кальцификации аневризмальной брюшной аорты может быть разным у разных пациентов и не коррелировать со степенью растяжения сосуда, но существует обратная корреляция между скоростью расширения аневризмы брюшной аорты и уровнем кальцификации в брюшной аорте [68]. Это может означать, что кальцификация

и формирование аневризмы — разнонаправленные процессы и вовлеченные в них сигнальные пути могут быть общими и оказывать взаимное влияние.

Несмотря на то, что для аневризмы грудной аорты нехарактерно наличие атеросклеротических бляшек, для этого заболевания, как и для кальцификации меди, характерны дегенеративные изменения в меди, затрагивающие эластическую пластинку и ГМК [69]. При синдроме Марфана и при нарушении организации эластиновых волокон происходит одновременно кальцификация меди и растяжение стенки аорты [70].

При исследовании уровня экспрессии генов в культурах гладкомышечных клеток пациентов с аневризмой грудной аорты нами было показано, что уровень транскрипции маркера остеогенной дифференцировки *BMP2* повышен в ГМК при аневризме, ассоциированной с бicuspidальным аортальным клапаном. Повышение *BMP2* при аневризме аорты у пациентов с бicuspidальным аортальным клапаном может означать, что сигнальные пути, отвечающие за кальцификацию, вносят вклад в развитие аневризмы [71]. Согласно данным другого нашего исследования, в эндотелиальных клетках *BMP2* также был повышен при аневризме. В ответ на механический стресс эндотелиальные клетки увеличивали уровень транскрипции *BMP2* и стимулировали экспрессию остеогенов в ГМК. Таким образом, активация проостеогенного *BMP2*-опосредованного сигнального пути участвует в ответе на механический стресс, активируется эндотелиальными клетками и, вероятно, является адаптационным механизмом, который действует в сосудах в норме [72].

Аневризма грудной аорты часто бывает ассоциирована с патологией аортального клапана — аортальной недостаточностью или аортальным стенозом — которая во многих случаях сопровождается дефектом развития аортального клапана, развитием бicuspidального клапана вместо трикуспидального. У пациентов с бicuspidальным аортальным клапаном повышен риск кальцификации клапана, аортального стеноза и аортальной недостаточности. При дефекте аортального клапана нагрузка, оказываемая потоком крови на стенку аорты и на створки клапана, может увеличиваться из-за неполного смыкания либо раскрытия створок. Механический стресс является одним из факторов, вызывающих кальцификацию. Существуют общие факторы риска для кальцификации меди артерий и кальцификации аортального клапана: ожирение, диабет, дислипидемия. Аневризма грудной аорты часто бывает ассоциирована с кальцификацией аортального клапана, что говорит о взаимосвязи между развитием

этих патологий, но в самой аорте при этом не наблюдается атеросклеротических изменений. Вероятно, формирование аневризмы и кальцификация аортального клапана имеют общие причины. При этом воздействие одних и тех же факторов оказывает различное влияние на клапан и аорту. Возможно, такой эффект связан с взаимодействием между сигнальными путями *BMP2* и *Notch*. Интересно, что при кальцификации артерий, ассоциированной с диабетом, ответ на *BMP2*-*Mx2* на ранних стадиях развивают клетки фиброзно-жировой адвентиции сосудов и интерстициальные клетки клапана, но не клетки меди аорты [32].

BMP2-Notch

Сигнальный путь *Notch* тканеспецифично регулирует уровень проостеогенного сигнального пути *BMP2*. Повышение экспрессии *NOTCH1* повышает чувствительность сосудистых ГМК к проостеогенному действию *BMP2*, но ингибирует остеодифференцировку клеток-предшественников костного мозга и ингибирует остеогенные сигналы в кальцифицированном аортальном клапане [36].

То есть пациенты с бicuspidальным аортальным клапаном, ассоциированным с мутацией в гене *NOTCH1*, должны иметь пониженную чувствительность сосудистых ГМК к проостеогенному действию *BMP2* и повышенную чувствительность клеток аортального клапана. И действительно, согласно недавним исследованиям, выполненным в нашей лаборатории и посвященным изучению аневризмы грудной аорты и кальцификации аортального клапана, у пациентов с БАК наблюдается кальцификация клапана, но не аорты. Одновременно с этим у таких пациентов повышен риск развития аневризмы аорты [66, 69]. Но каким образом мутации в гене *NOTCH1* или изменения в активности сигнального пути *Notch* влияют на этот процесс, остается неизвестным. В наших исследованиях мы также показали, что при аневризме грудной аорты происходят изменения активности сигнального пути *Notch* и *BMP* даже в отсутствии мутаций в генах *Notch*, и эти нарушения, по нашему мнению, вносят свой вклад в развитие заболевания [70, 71].

В норме аорта и аортальный клапан постоянно испытывают напряжение сдвига. Такая механическая стимуляция является эпигенетическим фактором, оказывающим влияние на ответ клеток на действие факторов остеодифференцировки: показано, что напряжение сдвига стимулирует ЭК аортального клапана к активации антиостеогенной, противовоспалительной программы и повышает сопротивляемость клеток против воздействия оксидативного стресса. Антиостеогенная програм-

ма в этом случае заключается в выработке эндотелиальными клетками SMAD6 и SMAD7, ингибиторов сосудистых SMAD, а также Gremlin1. SMAD6 ингибирует SMAD-зависимую активацию остеогенов через сигнальный путь BMP, а SMAD7 ингибирует SMAD-зависимую активацию остеогенов через сигнальный путь TGF β . GREM1 ингибирует BMP. Активация антиостеогенной программы в ответ на напряжение сдвига зависит от гена *NOTCH1*: гаплонедостаточность гена *NOTCH1* приводит к неспособности ЭК противостоять остеогенному действию BMP. Кроме того, это приводит к повышению экспрессии BMP4 в ЭК клапана [76].

Однако существуют исследования, в которых показана проостеогенная роль Notch через воздействие на сигнальный путь BMP2. Внутриклеточный домен рецептора Notch1, NICD1 (Notch1 Intracellular domain) взаимодействует со Smad1, транскрипционным фактором, зависящим от BMP2, формирует комплекс с промотором *Mx2* и оказывает таким образом проостеогенное действие: повышает активность ALP в ГМК аорты человека *in vitro* [77].

Таким образом, Notch1 регулирует кальцификацию сосудов, воздействуя на BMP2, однако эффект зависит от сочетания различных факторов. Возможно, различие в наблюдаемых эффектах Notch1 на кальцификацию обусловлено тканеспецифичностью действия Notch: в ЭК клапана эффект был антиостеогенный, а в ГМК аорты проостеогенный.

Заключение

Сосудистая кальцификация является системной патологией и сопровождается целым рядом заболеваний, при которых нарушен общий обмен веществ. Кальцификация сосудов — активный, программируемый процесс, в регуляции которого задействовано множество сигнальных путей, в особенности тех, которые являются значимыми для развития и функционирования сердечно-сосудистой системы и принимают участие в нормальном остеогенезе. Парадоксально, что при схожести процессов нормального остеогенеза и сосудистой кальцификации, сосудистая кальцификация часто ассоциирована с остеопорозом и нарушением минерализации костей. Регуляторные изменения, чрезмерная активность одних сигнальных путей и подавление других приводят к минерализации сосудов и могут влиять на другие нарушения в организме, ассоциированные с сосудистой кальцификацией. Любые изменения в сосудах, особенно связанные с их деградацией, могут рассматриваться через призму сосудистой кальцификации. При различных заболеваниях восприимчивость к факторам, влияющим на минерализацию

сосудов, отличается. Понимание механизмов сосудистой кальцификации и особенностей этого процесса в разных типах клеток и разных отделах сосудистого русла, а также при различных системных нарушениях, необходимо для подбора адекватной лекарственной терапии при различных состояниях, которые связаны с риском минерализации сосудов и других сосудистых патологий.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Благодарности / Acknowledgments

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-29-04082.

Список литературы / References

1. Pameijer H, Paul J. Chemical and physicochemical studies on the mineral deposits of the human atherosclerotic aorta. *Atherosclerosis*. 1980;37:199–210.
2. Sun Y, Byon CH, Yuan K, et al. Smooth muscle cell-specific runx2 deficiency inhibits vascular calcification. *Circ Res*. 2012;111(5):543–552.
3. Nakahara T, Sato H, Shimizu T, et al. Fibroblast growth factor-2 induces osteogenic differentiation through a Runx2 activation in vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;394(2):243–248.
4. Chen H, Ghorji-Javed FY, Rashid H, et al. Chondrocyte-specific regulatory activity of Runx2 is essential for survival and skeletal development. *Cells Tissues Organs*. 2011;194(2–4):161–165.
5. K. Bostrom, K. E. Watson, S. Horn, et al. Bone Morphogenetic Protein Expression in Human Atherosclerotic Lesions. *J Clin Invest*. 1993;9:1800–1809.
6. Yanagisawa H, Wagenseil J. Elastic fibers and biomechanics of the aorta: Insights from mouse studies. *Matrix Biol*. 2019;1:1–13.
7. Lanzer P, Boehm M, Sorribas V, et al. Medial vascular calcification revisited: review and perspectives. *Eur Heart J*. 2014;35(23):1515–1525.
8. Otsuka F, Sakakura K, Yahagi K, et al. Has Our Understanding of Calcification in Human Coronary Atherosclerosis Progressed? *Atherosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*. 2014; 34:724–736.
9. Rutkovskiy A, Malashicheva A, Sullivan G, et al. Valve Interstitial Cells: The Key to Understanding the Pathophysiology of Heart Valve Calcification. *J Am Heart Assoc*. 2017;6(9):1–23.
10. Hjortnaes J, Shaper K, Goettsch C, et al. Valvular interstitial cells suppress calcification of valvular endothelial cells. *Atherosclerosis*. 2015;242(1):251–260.
11. Vanholder R, Van Laecke S, Glorieux G, et al. Dealing with Death and Dialysis: Conservative Care of Cardiovascular Risk and Kidney Function Loss in Chronic Kidney Disease (CKD). *Toxins (Basel)*. 2018;10(237):1–71.
12. Venuthurupalli SK, Hoy WE, Healy HG, et al. CKD Screening and Surveillance in Australia: Past, Present, and Future. *Kidney Int reports*. 2018;3(1):36–46.

13. Olechnowicz-Tietz S, Gluba A, Paradowska A, et al. The risk of atherosclerosis in patients with chronic kidney disease. *Int Urol Nephrol*. 2013;45(6):1605–1612.
14. Tada H, Kawashiri M-A, Yamagishi M. Clinical Perspectives of Genetic Analyses on Dyslipidemia and Coronary Artery Disease. *J Atheroscler Thromb*. 2017;24(5):452–461.
15. Tesaro M, Mauriello A, Rovella V, et al. Arterial ageing: from endothelial dysfunction to vascular calcification. *J Intern Med*. 2017;281(5):471–482.
16. von Hundelshausen P, Schmitt M. Platelets and their chemokines in atherosclerosis — clinical applications. *Front Physiol*. 2014;5:1–17.
17. Schweighofer N, Aigelsreiter A, Trummer O, et al. Direct comparison of regulators of calcification between bone and vessels in humans. *Bone*. 2016;88:31–38.
18. Allahverdiyan S, Chaabane C, Boukais K, et al. Smooth muscle cell fate and plasticity in atherosclerosis. *Cardiovasc Res*. 2018;114(4):1–26.
19. Guo X, Chen S. Transforming growth factor- β and smooth muscle differentiation. *World J Biol Chem*. 2012;3(3):41–52.
20. Persy V, Haese PD. Vascular calcification and bone disease: the calcification paradox. *Trends Mol Med*. 2009;15:405–416.
21. Demer LL, Tintut Y. The leading edge of vascular calcification. *Trends Cardiovasc Med*. 2015;25(4):275–277.
22. Nguyen-Yamamoto L, Tanaka K-I, St-Arnaud R, et al. Vitamin D-regulated osteocytic sclerostin and BMP2 modulate uremic extraskeletal calcification. *JCI Insight*. 2019;4(13):1–14.
23. Urist MR. Bone: Formation by Autoinduction. *Science*. 1965;150:893–899.
24. Wang RN, Green J, Wang Z, et al. Bone Morphogenetic Protein (BMP) signaling in development and human diseases. *Genes Dis*. 2014;1(1):87–105.
25. Zuo W, Zeng P, Chen X, et al. Promotive effects of bone morphogenetic protein 2 on angiogenesis in hepatocarcinoma via multiple signal pathways. *Sci Reports*. 2016;6(1):1–9.
26. Liao K-H, Chang S-J, Chang H-C, et al. Endothelial angiogenesis is directed by RUNX1T1-regulated VEGFA, BMP4 and TGF- β 2 expression. *PLoS One*. 2017; 12(6): 1–19.
27. Goldman DC, Donley N, Christian JL. Genetic interaction between Bmp2 and Bmp4 reveals shared functions during multiple aspects of mouse organogenesis. *Mech Dev*. 2009;126(3–4):117–27.
28. Shao J-S, Cheng S-L, Pingsterhaus JM, et al. Msx2 promotes cardiovascular calcification by activating paracrine Wnt signals. *J Clin Invest*. 2005;115(5):1210–1220.
29. Mizobuchi M, Towler D, Slatopolsky E. Vascular Calcification: The Killer of Patients with Chronic Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol*. 2009;20(7):1453–1464.
30. Rawadi G, Vayssière B, Dunn F, et al. BMP-2 controls alkaline phosphatase expression and osteoblast mineralization by a Wnt autocrine loop. *J Bone Miner Res*. 2003;18(10):1842–1853.
31. Albanese I, Khan K, Barratt B, et al. Atherosclerotic Calcification: Wnt Is the Hint. *J Am Heart Assoc*. 2018;7(4):1–12.
32. Shao JS, Cai J, Towler DA. Molecular mechanisms of vascular calcification: Lessons learned from the aorta. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26(7):1423–1430.
33. Cheng S, Shao J, Charlton-Kachigian N, et al. Msx2 Promotes Osteogenesis and Suppresses Adipogenic Differentiation of Multipotent Mesenchymal Progenitors. 2003;278(46):45969–45977.
34. Chen C, Lin J, Li L, et al. The role of the BMP4/Smad1 signaling pathway in mesangial cell proliferation: A possible mechanism of diabetic nephropathy. *Life Sci*. 2019;220:106–116.
35. Yang J, Shi P, Tu M, et al. Bone morphogenetic proteins: Relationship between molecular structure and their osteogenic activity. *Food Sci Hum Wellness*. 2015;3(3–4):127–135.
36. Boström KI, Rajamannan NM, Towler DA. The regulation of valvular and vascular sclerosis by osteogenic morphogens. *Circ Res*. 2011;109(5):564–77.
37. Komori T, Yagi H, Nomura S, et al. Targeted Disruption of Cbfa1 Results in a Complete Lack of Bone Formation owing to Maturational Arrest of Osteoblasts. *Cell*. 1997;89(5):755–764.
38. Rutkovskiy A, Stenslökken K-O, Vaage IJ. Osteoblast Differentiation at a Glance. *Med Sci Monit Basic Res*. 2016;22:95–106.
39. Wang P, Zhou P, Chen W, et al. Combined effects of hyperphosphatemia and hyperglycemia on the calcification of cultured human aortic smooth muscle cells. *Exp Ther Med*. 2019;17(1):863–868.
40. Matsubara T, Kida K, Yamaguchi A, et al. BMP2 Regulates Osterix through Msx2 and Runx2 during Osteoblast Differentiation. *J Biol Chem*. 2008;283(43):29119–29125.
41. Yuan S, Jing H. Experimental Cardiac pathologies in relation to Smad-dependent pathways. *Interactive Cardiovascular And Thoracic Surgery*. 2010;11:455–460.
42. Daluiski A, Engstrand T, Bahamonde ME, et al. Bone morphogenetic protein-3 is a negative regulator of bone density. *Nat Genet*. 2001;27(1):84–88.
43. Johnson K, Polewski M, van Etten D, et al. Chondrogenesis mediated by PPI depletion promotes spontaneous aortic calcification in NPP1^{-/-} mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25(4):686–691.
44. Rathana S, Yoganathan AP, O'Neill CW. The role of inorganic pyrophosphate in aortic valve calcification. *J Heart Valve Dis*. 2014;23(4):387–394.
45. Chiyoya M, Seya K, Yu Z, et al. Matrix Gla protein negatively regulates calcification of human aortic valve interstitial cells isolated from calcified aortic valves. *J Pharmacol Sci*. 2018;136(4):257–265.
46. Johnson RC, Leopold JA, Loscalzo J. Vascular Calcification. *Circ Res*. 2006;99(10):1044–1059.
47. White MP, Theodoris C V, Liu L, et al. NOTCH1 regulates matrix gla protein and calcification gene networks in human valve endothelium. *J Mol Cell Cardiol*. 2015;84:13–23.
48. Cecil DL, Terkeltaub RA. Arterial calcification is driven by RAGE in Enpp1^{-/-} mice. *J Vasc Res*. 2011;48(3):227–235.
49. Boström KI, Jumabay M, Matveyenko A, et al. Activation of vascular bone morphogenetic protein signaling in diabetes mellitus. *Circ Res*. 2011;108(4):446–457.
50. Kloen P, Lauzier D, Hamdy RC. Co-expression of BMPs and BMP-inhibitors in human fractures and non-unions. *Bone*. 2012;51(1):59–68.
51. Lee D. Vascular calcification: Inducers and inhibitors. *Mater Sci Eng B Solid-State Mater Adv Technol*. 2011;176(15):1133–1141.

52. Li N, Cheng W, Huang T, et al. Vascular adventitia calcification and its underlying mechanism. *PLoS One*. 2015;10(7):1–12.
53. Hou Y-C, Liu W-C, Zheng C-M, et al. Role of Vitamin D in Uremic Vascular Calcification. *Bio Med Res Int*. 2017;2017:1–13.
54. Leopold JA. Vascular calcification: Mechanisms of vascular smooth muscle cell calcification. *Trends Cardiovasc Med*. 2015;25(4):267–274.
55. Boström K, Watson KE, Stanford WP, et al. Atherosclerotic calcification: relation to developmental osteogenesis. *Am J Cardiol*. 1995;75(6):88–91.
56. Schurgers LJ, Uitto J, Reutelingsperger CP. Vitamin K-dependent carboxylation of matrix Gla-protein: a crucial switch to control ectopic mineralization. *Trends Mol Med*. 2013;19(4):217–226.
57. Jian J, Sun L, Cheng X, Hu X, et al. Calycosin-7-O- β -d-glucopyranoside stimulates osteoblast differentiation through regulating the BMP/WNT signaling pathways. *Acta Pharm Sin B*. 2015;5(5):454–460.
58. Kramann R, Goettsch C, Wongboonsin J, et al. Adventitial MSC-like Cells Are Progenitors of Vascular Smooth Muscle Cells and Drive Vascular Calcification in Chronic Kidney Disease. *Cell Stem Cell*. 2016;19(5):628–642.
59. Simes D, Marreiros C, Araújo N, et al. The interplay between mineral metabolism, vascular calcification and inflammation in Chronic Kidney Disease (CKD): challenging old concepts with new facts. *Aging (Albany NY)*. 2019;11(12):4274–4299.
60. Xu Z, Ji G, Shen J, et al. SOX9 and myocardin counteract each other in regulating vascular smooth muscle cell differentiation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012;422(2):285–290.
61. Proudfoot D, Skepper JN, Shanahan CM, et al. Calcification of Human Vascular Cells In Vitro Is Correlated With High Levels of Matrix Gla Protein and Low Levels of Osteopontin Expression. *Arter Thromb Vasc Biol*. 1998;18:379–388.
62. Russo R, Di Iorio B, Di Lullo L, et al. Epicardial adipose tissue: new parameter for cardiovascular risk assessment in high risk populations. *J Nephrol*. 2018;31(6):847–853.
63. Kostina A, Semenova D, Kostina D, et al. Human aortic endothelial cells have osteogenic Notch-dependent properties in co-culture with aortic smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2019;514(2):462–468.
64. Prosdocimo DA, Wyler SC, Romani AM, et al. Regulation of vascular smooth muscle cell calcification by extracellular pyrophosphate homeostasis: synergistic modulation by cyclic AMP and hyperphosphatemia. *Am J Physiol Physiol*. 2010;298(3):702–713.
65. Ladich E, Yahagi K, Romero ME, et al. Vascular diseases: aortitis, aortic aneurysms, and vascular calcification. *Cardiovasc Pathol*. 2016;25(5):432–441.
66. Saeyeldin AA, Velasquez CA, Mahmood SUB, et al. Thoracic aortic aneurysm: unlocking the ‘silent killer’ secrets. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*. 2019;67(1):1–11.
67. Salmon M, Johnston WF, Woo A, et al. KLF4 Regulates Abdominal Aortic Aneurysm Morphology and Deletion Attenuates Aneurysm Formation. *Circulation*. 2013;128:163–174.
68. Nakayama A, Morita H, Hayashi N, et al. Inverse Correlation Between Calcium Accumulation and the Expansion Rate of Abdominal Aortic Aneurysms. *Circ J*. 2016;80(2):332–339.
69. Wang SS, Martin LJ, Schadt EE, et al. Disruption of the Aortic Elastic Lamina and Medial Calcification Share Genetic Determinants in Mice. *Circ Cardiovasc Genet*. 2009;2(6):573–582.
70. Wanga S, Hibender S, Ridwan Y, et al. Aortic microcalcification is associated with elastin fragmentation in Marfan syndrome. *J Pathol*. 2017;243(3):294–306.
71. Ignatieva E, Kostina D, Irtyuga O, et al. Mechanisms of smooth muscle cell differentiation are distinctly altered in thoracic aortic aneurysms associated with bicuspid or tricuspid aortic valves. *Front Physiol*. 2017;8:1–12.
72. Rutkovskiy A, Lund M, Siamansour TS, et al. Mechanical stress alters the expression of calcification-related genes in vascular interstitial and endothelial cells. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2019;28(5):803–811.
73. Kostina A, Shishkova A, Ignatieva E, et al. Different Notch signaling in cells from calcified bicuspid and tricuspid aortic valves. *J Mol Cell Cardiol*. 2018;114:211–219.
74. Kostina AS, Uspensky VE, Irtyuga OB, et al. Notch-dependent EMT is attenuated in patients with aortic aneurysm and bicuspid aortic valve. *Biochim Biophys Acta — Mol Basis Dis*. 2016;1862(4):733–740.
75. Kostina A, Bjork H, Ignatieva E, et al. Notch, BMP and WNT/ β -catenin network is impaired in endothelial cells of the patients with thoracic aortic aneurysm. *Atheroscler Suppl*. 2018;35:6–13.
76. Theodoris C V, Li M, White MP, et al. Human disease modeling reveals integrated transcriptional and epigenetic mechanisms of NOTCH1 haploinsufficiency. *Cell*. 2015;160(6):1072–1086.
77. Shimizu T, Tanaka T, Iso T, et al. Notch signaling pathway enhances bone morphogenetic protein 2 (BMP2) responsiveness of Msx2 gene to induce osteogenic differentiation and mineralization of vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem*. 2011;286(21):19138–19148.

Информация об авторах:

Костина Дарья Алексеевна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной кардиологии ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России; научный сотрудник лаборатории регенеративной биомедицины ИИЦ РАН;

Успенский Владимир Евгеньевич, к.м.н., старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории хирургии пороков и ишемической болезни сердца ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Семенова Дарья Сергеевна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной кардиологии ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России; младший научный сотрудник лаборатории регенеративной биомедицины ИИЦ РАН, аспирант СПбГУ;

Костина Александра Станиславовна, научный сотрудник лаборатории молекулярной кардиологии ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России; старший научный сотрудник лаборатории регенеративной биомедицины ИИЦ РАН;

Боярская Надежда Владимировна, младший научный сотрудник лаборатории регенеративной биомедицины ИИЦ РАН;

Иртыуга Ольга Борисовна, к.м.н., ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории кар-

диомиопатий ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Малашичева Анна Борисовна, к.б.н., заведующий научно-исследовательской лабораторией молекулярной кардиологии ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России; ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией регенеративной биомедицины ИИЦ РАН, доцент кафедры эмбриологии биологического факультета СПбГУ.

Author information:

Kostina Daria A., Junior Researcher at the Laboratory of Molecular Cardiology, Almazov National Medical Research Centre; Researcher at the Laboratory of Regenerative Biomedicine, Institute of Cytology of the Russian Academy of Science;

Uspensky Vladimir E., PhD, Senior Researcher at the Research Laboratory for Surgery of Heart Defects and Ischemic Heart Disease, Almazov National Medical Research Centre;

Semenova Daria S., Junior Researcher at the Laboratory of Molecular Cardiology, Almazov National Medical Research Centre; Junior Researcher at the Laboratory of Regenerative Biomedicine, Institute of Cytology of the Russian Academy of Science, Saint Petersburg, Russia; Post-Graduate Student of Saint Petersburg University;

Kostina Alexandra S., Researcher at the Laboratory of Molecular Cardiology, Almazov National Medical Research Centre; Senior Researcher of the Laboratory of Regenerative Biomedicine, Institute of Cytology of the Russian Academy of Science;

Boyarskaya Nadezhda V., Junior Researcher at the Laboratory of Regenerative Biomedicine, Institute of Cytology of the Russian Academy of Science;

Irtyuga Olga B., PhD, Leading Researcher at the Research Laboratory of Cardiomyopathies, Almazov National Medical Research Centre;

Malashicheva Anna B., PhD, Head of the Research Laboratory of Molecular Cardiology, Almazov National Medical Research Centre; Leading Researcher, Head of Laboratory of Regenerative Biomedicine, Institute of Cytology of the Russian Academy of Science; Associate Professor of the Department of Embryology Biological Faculty, Saint Petersburg University.