

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «ТОМСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
МЕДИЦИНСКИЙ ЦЕНТР РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ

На правах рукописи



Шипулина Софья Александровна

**ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ И ПРОФИЛЬ МЕТИЛИРОВАНИЯ
ДНК ПРИ АНЕВРИЗМЕ ВОСХОДЯЩЕЙ АОРТЫ И ЕЕ
КОМОРБИДНОСТИ С АТЕРОСКЛЕРОЗОМ**

1.5.7 Генетика

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук
Назаренко Мария Сергеевна

Томск – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	14
1.1 Общие сведения об эпидемиологии, классификации, этиологии и патогенезе аневризм восходящей аорты	14
1.1.1 Эпидемиология аневризм восходящей аорты.....	15
1.1.2 Классификация аневризм восходящей аорты.....	15
1.1.3 Этиология спорадических аневризм восходящей аорты.....	18
1.1.4 Патогенез аневризм восходящей аорты.....	19
1.1.4.1 Тканевые основы.....	19
1.1.4.2 Клеточные основы.....	20
1.1.4.2.1 Нарушения пролиферации, миграции и гомеостаза гладкомышечных клеток.....	21
1.1.4.2.2 Эндотелиальная дисфункция	22
1.1.4.3 Молекулярные основы.....	23
1.1.4.3.1 Нарушения сигнального пути TGF- β	24
1.1.4.3.2 Нарушения сигнального пути Notch.....	24
1.1.4.3.3 Дисбаланс системы синтеза/деградации внеклеточного матрикса	25
1.1.4.3.4 Нарушения обмена гликозаминогликанов и протеогликанов	26
1.2 Коморбидность аневризмы восходящей аорты и атеросклероза сосудов различных бассейнов.....	27
1.2.1 Аневризма восходящей аорты и атеросклероз коронарных и сонных артерий	30
1.2.2 Аневризма и атеросклероз восходящей аорты	33
1.3 Генетика аневризм восходящей аорты.....	34
1.3.1 Генетика семейных форм аневризм восходящей аорты.....	36
1.3.2 Генетика спорадических форм аневризм восходящей аорты	37
1.3.3 Гены структуры и функции гладкомышечных клеток.....	38
1.3.4 Гены компонентов внеклеточного матрикса	40
1.3.5 Гены TGF β /SMAD сигнального пути	42
1.3.6 Другие гены	43
1.4 Молекулярно-генетическая диагностика аневризм восходящей аорты.....	44
1.5 Особенности метилирования ДНК при аневризме восходящей аорты.....	45
1.6 Заключение.....	49
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	50

2.1 Общая характеристика клинического материала.....	50
2.2 Медико-генетическое консультирование.....	52
2.3 Гистологическое исследование образцов восходящей аорты	52
2.3.1 Морфометрия.....	54
2.4 Молекулярно-генетическое обследование пациентов с аневризмой восходящей аорты.....	55
2.4.1 Секвенирование клинического экзона и анализ данных	55
2.5 Секвенирование по Сэнгеру	56
2.6 Анализ уровня метилирования ДНК	57
2.7 Методы статистического анализа.....	59
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	60
3.1 Оценка спектра и частоты коморбидных состояний у пациентов с аневризмой восходящей аорты	60
3.1.1 Анализ структуры коморбидности у пациентов с аневризмой аорты с учетом строения аортального клапана	69
3.2 Гистологические особенности в синотубулярном соединении, области аорты на уровне бифуркации легочного ствола и проксимальной части дуги аорты у пациентов с аневризмой восходящей аорты	74
3.2.1 Особенности морфологии стенки аорты у пациентов с аневризмой и атеросклерозом аорты	82
3.2.2 Особенности морфологии стенки аорты у пациентов с аневризмой аорты с учетом строения аортального клапана	85
3.2.3 Гистологический анализ кальцификации стенки аорты у пациентов с аневризмой восходящего отдела	87
3.3 Поиск редких вариантов в генах наследственных форм аневризмы восходящей аорты.....	94
3.4 Анализ метилирования ДНК у пациентов с аневризмой восходящей аорты	107
3.4.1 Сравнительный анализ профилей метилирования ДНК в различных сегментах восходящей аорты, коже и крови пациентов с аневризмой восходящей аорты	107
3.4.2 Метилирование генов наследственных аневризм аорты при аневризме восходящей аорты и ее коморбидности с атеросклерозом аорты	113
3.4.3 Сравнительный анализ спектра генов, дифференцирующих пораженную ткань аорты при аневризме или ее коморбидности с атеросклерозом, а также при атеросклерозе сосудов различных бассейнов.....	116
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	125
ВЫВОДЫ.....	129
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	131
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	132
Интернет-ресурсы	177

СПИСОК ІЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРІАЛА	178
ПРИЛОЖЕНИЕ А	180
ПРИЛОЖЕНИЕ Б	185
ПРИЛОЖЕНИЕ В	189
ПРИЛОЖЕНИЕ Г	190
ПРИЛОЖЕНИЕ Д	192

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Аневризма восходящей аорты (АВА) и атеросклероз сосудов различной локализации имеют высокую медико-социальную значимость, поскольку длительное время протекают бессимптомно и являются относительно частыми патологическими состояниями, которые приводят к жизнеугрожающим и инвалидизирующим осложнениям [Rajbanshi B.G. et al., 2015; Wu L., 2018; Salameh M.J. et al., 2018; Dolmaci O.B. 2023; Waldron C. et al., 2023; Hunta A. et al., 2025]. В связи с этим, необходимо понимать механизмы развития данных заболеваний у индивидов для разработки новых эффективных подходов к лечению, а также иметь биомаркеры предикции риска их осложненного течения – острых сосудистых катастроф. Однако обе патологии, чаще всего, исследуются отдельно друг от друга в клинических и экспериментальных работах с использованием разных объектов, методов и подходов.

В единичных исследованиях высказано предположение о протективном эффекте АВА в отношении риска развития и осложненного течения атеросклероза через оценку его ранних и поздних эндотипов – отношение толщины интимы-медии сонных артерий и степень кальцификации артерий различной локализации, а также более редкую регистрацию клинических осложнений атеросклероза коронарных артерий, как ишемическая болезнь сердца (ИБС) и инфаркт миокарда (ИМ) [Chau K.H. et al., 2014; Curtis A. et al., 2015; Waldron C. et al., 2023]. В то же время, есть работы и с противоположными результатами, где показано, что АВА, напротив, часто сочетается с атеросклерозом. Они проведены с использованием гистологических методов и в них показано, что в восходящей аорте, помимо дегенеративных изменений, часто встречаются атеросклероз и воспаление, причем локальная морфология зависит от строения аортального клапана [Albini P.T. et al., 2013; Leone O. et al., 2020; Stejskal V. et al., 2022; Doppler C. et al., 2023; Stejskal V. et al., 2023; Hunta A. et al., 2025].

Аневризма восходящей аорты и атеросклероз имеют существенную генетическую составляющую. Генетическая структура предрасположенности данных заболеваний гетерогенная и включает как редкие патогенные варианты широкого спектра генов, являющиеся причинными для развития семейных или моногенных форм АВА, семейной гиперхолестеринемии, так и частые варианты с малым эффектом, которые повышают риск развития заболевания в течение жизни [LeMaire S.A. et al., 2011; TG and HDL Working Group of the Exome Sequencing Project, National Heart, Lung, and Blood Institute et al., 2014; Do R. et al., 2015; McPherson R., Tybjaerg-Hansen A., 2016; Myocardial Infarction Genetics and CARDIoGRAM Exome Consortia Investigators et al., 2016; Guo D. et al., 2016; Renard M. et al., 2018; Caspar S.M. et

al., 2019; Pinard A. et al., 2019; Koyama S. et al., 2020; Tcheandjieu C. et al., 2020; Ashvetiya T. et al., 2021; Dang T.A. et al., 2021; Roychowdhury T. et al., 2021; Waldron C. et al., 2024].

Большинство моногенных форм АВА связано с редкими патогенными вариантами в генах, белковые продукты которых регулируют сокращение гладких миоцитов (*ACTA2*, *MYH11*, *MYLK*, *PRKG1*), их метаболизм (*MAT2A*) или выживание (*FOXO3*); поддерживают адгезию гладкомышечных клеток (ГМК) и белков внеклеточного матрикса (*FBN1*, *MFAP5* и *LOX*); регулируют TGF β /SMAD сигнальный путь (*FBN1*, *TGFBR1*, *TGFBR2*, *SMAD3*, *TGFB2*, *TGFB3*, *SKI*, *SLC2A10*, *SMAD4*, *SMAD6*, *ACVRL1*, *ENG*, *SMAD2*) [Renard M. et al., 2018, 2019; Chou E.L., Lindsay M.E., 2020; Butnariu L.I. et al., 2024]. Однако редкие патогенные варианты в отдельных генах обнаруживаются лишь в 10-20% случаев АВА [Pinard A. et al., 2019].

Ввиду отсутствия чётких клинических рекомендаций, учитывающих генетическую этиологию заболевания, в настоящее время на территории РФ всем пациентам с АВА показано оперативное вмешательство в объеме протезирования восходящей аорты при ее максимальном диаметре 55 мм [Абугуов С.А. и др., 2018; Рудой А.С. и др., 2018]. В связи с этим особую актуальность представляет изучение частоты и спектра генетических вариантов, связанных с АВА, и дооперационная стратификация пациентов с учетом генетического ландшафта заболевания для реализации концепции персонализированной медицины [Abood Z. et al., 2024]. Вместе с тем, не исключено, что редкие варианты генов наследственных аневризм восходящей аорты могут обуславливать коморбидность АВА и атеросклероза [Guo D. et al., 2009].

Эпигенетические факторы, управляющие экспрессией генов на транскрипционном и посттранскрипционном уровнях, также могут вносить вклад в коморбидные отношения АВА и атеросклероза сосудов [Goncharova I.A. et al., 2024]. В некоторых работах разных коллективов исследователей характеризуется метилирование ДНК при АВА [Shah A.A. et al., 2015; Pan S. et al., 2017; Liu P. et al., 2021; Maredia A. et al., 2021; Chen Y. et al., 2022], коронарных артерий у пациентов с ИБС [Nazarenko M. et al., 2015], атеросклеротически измененных сонных артерий и аорты [Zaina S. et al., 2014, 2015], однако нет работ, в которых рассматривается метилирование ДНК в аорте при аневризме восходящей части и ее коморбидности с атеросклерозом.

Таким образом, к настоящему времени неясными остаются некоторые вопросы. Какие есть особенности частоты и спектра коморбидных заболеваний, в том числе связанных с атеросклерозом сосудов различной локализации у пациентов с АВА? Изменяется ли морфология восходящей аорты в разных отделах в случае ее атеросклеротического поражения у пациентов с АВА? И, наконец, какие генетические и эпигенетические факторы обеспечивают коморбидные отношения АВА и атеросклероза?

Степень разработанности темы исследования

Исследования генетических и эпигенетических основ развития многофакторных заболеваний, проводимые в рамках сформулированной академиком РАН, профессором В.П. Пузыревым концепции коморбидных синтропных и дистропных патологий [Пузырев В.П., Фрейдин М.Б., 2009; Пузырев В.П., 2015], относятся к числу актуальных и активно развиваемых направлений в области медицинской и клинической генетики [Брагина Е.Ю., Пузырев В.П., 2023].

В настоящее время разработаны алгоритмы ведения пациентов с АВА, включающие тестирование по определенным панелям генов [De Backer J. et al., 2020; Milewicz D. et al., 2021; Isselbacher E.M. et al., 2022], однако данный подход направлен на выявление редких клинически значимых генетических вариантов и используется для пациентов из групп с максимальным риском развития АВА (синдромальные, семейные формы) [Odofin X. et al., 2021]. Выявленные патогенные варианты могут помочь врачу с определением тактики лечения и проведением своевременного оперативного вмешательства, а также позволят проводить скрининг родственников из группы риска [Bowdin S. et al., 2016; Brownstein A.J. et al., 2018; Acharya M. et al., 2022; Abood Z. et al., 2024].

В свою очередь, спорадические формы АВА могут быть связаны с редкими патогенными вариантами в генах, белковые продукты которых регулируют жизнедеятельность ГМК, поддерживают адгезию ГМК и белков внеклеточного матрикса, регулируют TGF β /SMAD сигнальный путь [Renard M. et al., 2018, 2019; Chou E.L., Lindsay M.E., 2020]. У пациентов со спорадической формой заболевания возможно возникновение мутаций *de novo* не только в генах синдромальных и наследственных форм, но и в других генах, для которых связь с патологией менее очевидна, поэтому на сегодняшний день наиболее актуальным для изучения генетических аспектов АВА является подход секвенирования экзомов/геномов. Однако работы, в которых выполнено молекулярно-генетическое обследование пациентов с несиндромальными АВА с использованием секвенирования экзома/клинического экзома, немногочисленны [Schubert J.A. et al., 2016; Zhao L.-Y. et al., 2020; Elbitar S. et al., 2021; Butnariu L.I. et al., 2024].

В России проведены единичные исследования, посвященные характеристике частоты и спектра генетических вариантов, связанных с синдромальными и несиндромальными АВА [Семячкина А.Н. и др., 2015; Жуков В.А. и др., 2016; Иртюга О.Б. и др., 2018; Гаврилюк Н.Д., 2021]. Молекулярно-генетические аспекты патогенеза АВА являются предметом изучения российского коллектива ученых из ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Число публикаций, связанных с анализом метилирования ДНК при развитии АВА, также невелико - всего в доступной литературе обнаружено четыре исследования метилирования ДНК при спорадических АВА [Shah A.A. et al., 2015; Pan S. et al., 2017; Björck H.M. et al., 2018; Liu P.

et al., 2021]. Из-за немногочисленности тематических исследований, а также высокой гетерогенности выборок и различий в методологии анализ результатов этих исследований является нетривиальной задачей. Хорошо известно, что паттерны метилирования ДНК тканеспецифичны. Существенным ограничением исследований, когда метилирование ДНК анализируется в клетках периферической крови индивидов, является то, что в них могли быть не найдены многие причинные для патологии CpG-сайты, поскольку их вклад в заболевание обусловлен измененным метилированием ДНК в других тканях. Действительно, лишь в единичных работах разных коллективов исследователей характеризуется метилом аорты при АВА [Shah A.A. et al., 2015; Pan S. et al., 2017] и метилом коронарных артерий у пациентов с ИБС [Nazarenko M. et al., 2015], что затрудняет совокупный анализ этих результатов.

В литературе встречается немало свидетельств того, что у пациентов с АВА отсутствуют косвенные признаки атеросклероза, такие как повышенная жесткость артерий, их кальцификация и тромбоз [Achneck H. et al., 2005; Waldron C. et al., 2023]. Более того, у пациентов с АВА реже регистрируются такие клинические осложнения атеросклероза коронарных артерий, как ИБС и инфаркт миокарда [Curtis A. et al., 2015]. Получены сведения о том, что уровень кальцификации коронарных артерий и аорты у пациентов с расширением или расслоением восходящей аорты в области корня снижен по сравнению с сопоставимой по возрасту контрольной группой без патологии аорты [Achneck H. et al., 2005]. У пациентов с двустворчатым аортальным клапаном, являющимся фактором риска АВА за счет изменения гемодинамических свойств крови, также наблюдалось снижение уровня кальцификации коронарных артерий по сравнению с трехстворчатым аортальным клапаном [Dolmaci O.B. et al., 2023].

Неоднозначно связаны данные патологии с генетическими вариантами. Одни и те же патогенные миссенс-варианты в гене *ACTA2* (например, p.R118Q, p.R149C, p.R258C/H), белковый продукт которого важен для поддержания сократительного фенотипа ГМК, обуславливают не только АВА, но и патологии других артерий с их окклюзией, формированием атеросклеротической бляшки и развитием ранней ИБС или ишемического инсульта [Guo D. et al., 2009]. Однако частые варианты генов сигнальных путей PDGF/TGF β (*LRP1*) и Wnt/ β -катенин/TCF-LEF (*TCF7L2*) разнонаправленно ассоциированы с развитием обеих патологий [Chen Z., Schunkert H., 2021; Webb T.R. et al., 2017; Guo D. et al., 2016; Roychowdhury T. et al., 2021; <https://www.ebi.ac.uk/gwas/>]. Общие сигнальные пути для АВА и атеросклероза артерий, по-видимому, включают гомеостаз внеклеточного матрикса, сигнальные пути TGF- β /SMAD, PDGF и NOTCH, так как они аннотированы в отношении обоих заболеваний [Ghosh S. et al., 2015; Chou E.L., Lindsay M.E., 2020].

Противоречивость суждений о феномене коморбидности АВА и атеросклероза указывает на актуальность поиска общих и специфичных генетических и эпигенетических факторов, определяющих природу взаимоотношений между данными патологиями (синтропность или дистропность). Особый интерес в отношении изучения коморбидности АВА и атеросклероза сосудов представляет анализ генетической вариабельности и профиля метилирования ДНК в области локусов, которые являются общими для данных заболеваний. Полученные в результате выполнения работы данные будут использованы для проверки гипотезы о том, что генетическая вариабельность и метилирование ДНК обеспечивают коморбидность АВА и атеросклероза сосудов различной локализации.

Цель исследования

Идентификация генетических вариантов и паттернов метилирования ДНК в клетках аорты у пациентов с несиндромальной формой аневризмы восходящей части с учетом ее коморбидности с атеросклерозом сосудов различной локализации.

Задачи исследования

1. Оценить частоту коморбидности аневризмы восходящей аорты с атеросклерозом аорты, коронарных и сонных артерий с помощью клинического и параклинического обследования.
2. Проанализировать морфологические особенности строения аортальной стенки в синотубулярном соединении, области аорты на уровне бифуркации легочного ствола и проксимальной части дуги аорты при ее аневризме с учетом коморбидности с атеросклерозом аорты.
3. Провести поиск клинически и функционально значимых вариантов в генах наследственных форм аневризмы восходящей аорты у пациентов с несиндромальной формой данной патологии.
4. В различных тканях пациентов с несиндромальной аневризмой восходящей аорты идентифицировать дифференциально метилированные гены, вовлеченные в развитие изолированной и коморбидной с атеросклерозом патологии аорты, и представить их функциональную аннотацию.

Научная новизна исследования

Впервые у пациентов Сибирского федерального округа (СФО) проведен анализ структуры коморбидности при аневризме восходящей аорты и дана оценка встречаемости атеросклероза и его клинических проявлений (ИБС, инфаркт миокарда, инсульт). Впервые охарактеризована степень кальцификации в трех различных областях восходящей аорты у пациентов с ее аневризмой при изолированной форме и коморбидности с атеросклерозом с помощью окрашивания ализариновым красным. В результате выявлено, что отложения солей

кальция в меди сосуда связаны со скоростью клубочковой фильтрации, а также с возрастом, причем у более молодых пациентов процент кальцификации в дистальной части восходящей аорты выше. У пациента с аневризмой восходящей аорты идентифицирован вариант с.2498A>T (p.Lys833Ile) в гене *COL3A1*, который является вариантом неопределенного клинического значения (по ACMG), не обозначен в популяционных базах данных gnomAD, RUSseq, ФМБА, а также имеет потенциальную функциональную значимость согласно предикции *in silico* (по SIFT, MetaLR, CADD, AlphaMissense). Впервые получен и охарактеризован профиль метилирования ДНК в цельной крови, коже и различных областях восходящей аорты у пациентов с ее аневризмой и нормальной морфологией клапана аорты, имеющих атеросклеротические бляшки в данном сосуде. Впервые показано, что у пациентов в клетках восходящей аорты изменения профиля метилирования ДНК затрагивают области энхансеров генов наследственных аневризм аорты (*NOTCH1* и *GATA5*) и некодирующих РНК, расположенных в 5'-регионах генов транскрипционных факторов контроля процессов развития *TBX20* и *NR2F1*, потенциально вовлеченных в коморбидное течение аневризмы и атеросклероза.

Теоретическая и практическая значимость

Полученные результаты расширяют существующие представления о клинических, морфологических и молекулярно-генетических особенностях коморбидности аневризмы восходящей аорты и атеросклероза сосудов различной локализации. В работе показана важность проведения детального морфологического исследования с оценкой встречаемости и степени дегенерации, воспаления, кальцификации и атеросклероза в нескольких зонах восходящей аорты (синотубулярном соединении, на уровне бифуркации легочного ствола, проксимальном отделе дуги) в группах пациентов, стратифицированных по морфологии аортального клапана и возрасту. Получены знания, дополняющие имеющиеся представления о генетической структуре несиндромальных форм аневризмы восходящей аорты, связанные с вовлечением генов наследственных аневризм (*FBN1*, *NOTCH1*, *COL3A1*, *COL4A5*, *MYH11*, *PLOD3*), варианты которых представлены одной или несколькими миссенс-заменами неопределенного клинического значения у одного пациента. Апробированный в работе подход молекулярно-генетического обследования пациентов с аневризмой восходящей аорты – жителей СФО с использованием секвенирования клинического экзона может быть использован для улучшения качества медико-генетического консультирования семей с данной патологией, а также дооперационной стратификации пациентов. Данные о метиломах восходящей аорты при ее аневризме и в случае атеросклеротического поражения сосуда могут являться основой для поиска биомаркеров риска данной патологии, особенно в случае, когда у пациентов не выявлено клинически значимых генетических вариантов. Созданная коллекция биообразцов

тканей аорты, кожи и крови, полученных у пациентов с аневризмой восходящей аорты, может быть использована для проведения других исследований в области кардиогенетики и генетики многофакторных заболеваний.

Методология и методы диссертационного исследования

В работе использованы современные методы клинического и параклинического обследования пациентов с аневризмой восходящей аорты, а также молекулярно-генетического, биоинформатического и статистического анализа. Выборки пациентов с аневризмой восходящей аорты сформированы на базе НИИ кардиологии Томского НИМЦ (отделение сердечно-сосудистой хирургии, заведующий – д.м.н. Козлов Б.Н., хирург – д.м.н. Панфилов Д.С.). Гистологическая пробоподготовка и микроскопия образцов восходящей аорты проводилась в сотрудничестве с ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (кафедра морфологии и общей патологии, и.о. заведующего кафедрой – д.б.н., доцент Мильто И.В.). Анализ метилирования ДНК в тканях выполнен с помощью бисульфитного секвенирования с уменьшенной репрезентативностью (англ. reduced-representation bisulfite sequencing, RRBS) на базе ООО «Геноаналитика» (г. Москва).

Работа выполнена с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности в соответствии с Федеральным законом «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» от 21.11.2011 N 323-ФЗ. Исследование было одобрено локальными этическими комитетами НИИ Медицинской генетики (протокол № 13 от 15.11.2021 г.) и НИИ кардиологии (протокол № 213 от 12.05.2021 г.) ТНИМЦ и проведено в соответствии с основополагающими этическими принципами Хельсинской Декларации. Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП «Медицинская геномика» Томского НИМЦ и ресурсов биобанка «Биобанк населения Северной Евразии» НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ.

Молекулярно-генетические методы включали массовое параллельное секвенирование и секвенирование по Сэнгеру. Оценка патогенности выявленных генетических вариантов проводилась согласно стандартам и критериям по интерпретации вариантов секвенирования Американской Коллегии Медицинской Генетики/Ассоциации Молекулярной Патологии (ACMG/AMP), руководства по интерпретации данных высокопроизводительного секвенирования [Рыжкова О.П. и др., 2019], инструментов VarSome The Human Genomics Community (<https://varsome.com/>), AlphaMissense (<https://alphamissense.hegelab.org/>) [Tordai H. et al., 2023], а также баз данных RUSeq (дата доступа 20.06.2024), gnomAD (v4.1.0, дата доступа 20.06.2024) и ФМБА России (версия 59.1, дата доступа 05.06.2025).

Для сравнения полученных данных о метилировании ДНК в аорте у пациентов с аневризмой и атеросклерозом восходящей аорты были привлечены внешние данные по метилированию ДНК в тканях аорты при расслоении или атеросклерозе без аневризмы,

находящиеся в открытом доступе в базе данных NCBI в категории GEO DataSets (GSE202047, GSE84274, GSE46394, GSE46401), а также коронарных и сонных артерий при атеросклерозе [Назаренко М.С., 2018]. Сбор и анализ информации выполнены при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 22-25-00701.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Для несиндромальной аневризмы восходящей аорты характерна клиническая и морфологическая гетерогенность в отношении коморбидности с атеросклерозом: меньшая частота атеросклероза коронарных, сонных артерий и аорты у пациентов по сравнению с популяцией; зависимость частоты атеросклероза аорты от строения аортального клапана; преобладание отложений солей кальция у более молодых пациентов и неоангиогенез в дистальных областях восходящей аорты.
2. При несиндромальной аневризме восходящей аорты в генах наследственных аневризм отмечается накопление потенциально функционально значимых миссенс-вариантов неопределенного клинического значения, количество которых у одного пациента варьирует.
3. Энхансерные регионы генов наследственных аневризм *NOTCH1* и *GATA5* характеризуются изменениями уровня метилирования ДНК в клетках атеросклеротических бляшек восходящей аорты относительно ее нерасширенной части у пациентов с аневризмой аорты и трикуспидальным клапаном.
4. При аневризме и атеросклерозе восходящей аорты регистрируются разнонаправленные изменения уровня метилирования в области генов некодирующих РНК, расположенных в 5'-регионах генов транскрипционных факторов *TBX20* и *NR2F1*, белковые продукты которых обеспечивают процессы развития.

Апробация результатов работы

Результаты работы были представлены на XII Международном конгрессе «Кардиология на перекрёстке наук» (Тюмень, 2022 г.; 2024 г.), XIII научной конференции «Генетика человека и патология», посвященной 40-летию НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ (Томск, 2022 г.), Четвертом Всероссийском научно-образовательном форуме с международным участием «Кардиология XXI века: альянсы и потенциал» (Томск, 2023 г.), X Съезде кардиологов Сибирского федерального округа (Иркутск, 2023 г.), 14th International Multiconference bioinformatics of Genome Regulation and Structure/System biology BGRS (Новосибирск, 2024 г.) и XI Съезде Российского общества медицинских генетиков с международным участием (Санкт-Петербург, 2025 г.).

Степень достоверности результатов проведенных исследований

Достоверность полученных результатов обеспечивается применением методов клинического и параклинического обследования, адекватных поставленным задачам, а также такими молекулярно-генетическими технологиями, как массовое параллельное секвенирование, метод бисульфитного секвенирования с уменьшенной репрезентативностью (англ. reduced-representation bisulfite sequencing, RRBS), привлечением внешних данных из открытых источников (GSE202047, GSE84274, GSE46394, GSE46401) и баз (RUSeq, gnomAD, ФМБА, ClinVar, Varsome, NCBI и др.), валидацией результатов массового параллельного секвенирования с помощью секвенирования по Сэнгеру, использованием современных методов математической статистики и биоинформатики.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 10 научных работ, в том числе 7 статей в журналах Перечня ВАК РФ, из них 6 статей в журналах, реферируемых в базе данных Web of Science/Scopus, 1 статья в журнале, индексируемом в базе данных РИНЦ; 3 тезиса в материалах всероссийских конференций.

Личный вклад автора

Работа выполнена в лаборатории популяционной генетики НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ. Аналитический обзор литературы по теме диссертации, статистическая обработка собственных результатов, а также последующая подготовка научных публикаций и докладов на научных конференциях, написание текста диссертационной работы выполнено лично автором. Автор участвовал во всех этапах обсуждения полученных результатов и их опубликования.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 195 страницах машинописного текста и состоит из введения, 3 глав (обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственного исследования и их обсуждение), заключения, выводов, списка сокращений, списка литературы, списка иллюстративного материала и 5 приложений. Библиографический указатель включает 484 источника, из них 28 – отечественных и 456 – зарубежных, а также 16 интернет-ресурсов. Работа содержит 16 таблиц и 29 рисунков.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Общие сведения об эпидемиологии, классификации, этиологии и патогенезе аневризм восходящей аорты

Аневризма восходящей аорты (АВА) – опасное для жизни состояние, заключающееся в патологическом увеличении диаметра аорты от ее корня до места отхождения супрааортальных сосудов. Помимо дилатации аорты, у пациентов может наблюдаться расслоение аорты, что является причиной внезапной сердечной смерти, которую по-прежнему трудно предсказывать, лечить и предотвращать [Chou E. et al., 2023].

Аорта — самый крупный кровеносный сосуд в организме человека, отвечающий за транспортировку насыщенной кислородом крови от сердца в большой круг кровообращения. Поскольку восходящая аорта получает кровь непосредственно от сердца, она имеет прочную структуру, способную выдерживать высокое давление. В норме стенка аорты состоит из трех слоев - *tunica intima*, *tunica media*, *tunica adventitia* - необходимых для поддержания гомеостаза и механической целостности сосуда. Интима (*tunica intima*) представляет собой один слой эндотелиальных клеток, который расположен на базальной мембране и находится в непосредственном контакте с кровотоком [Jana S. et al., 2019]. Медия (*tunica media*), в основном, состоит из сосудистых гладкомышечных клеток (ГМК) и внеклеточного матрикса (ВКМ) (представленного у человека ~60 окончатыми эластическими мембранами, протеогликанами, гликопротеинами и гликозаминогликанами), которые обеспечивают биохимическую и структурную поддержку и координируют ответ на механические нагрузки со стороны кровотока [Robert L. et al., 1995; di Gioia C.R.T. et al., 2023]. Медия обеспечивает прочность и растяжимость аорты, что имеет решающее значение для аортального кровотока. Адвентиция (*tunica adventitia*) состоит из соединительной ткани, фибробластов, нервов и *vasa vasorum*, которые кровоснабжают наружную стенку аорты и значительную часть медики [Jana S. et al., 2019; Isselbacher E.M. et al., 2022].

Аневризма определяется как сегментарное расширение аорты, вовлекающее все три слоя стенки сосуда (истинная аневризма) с увеличением ожидаемого нормального диаметра не менее чем на 50% - абсолютные числовые значения варьируют в зависимости от участка сосуда и возраста пациента [Hiratzka L.F. et al., 2010]. Длительное время она может развиваться бессимптомно, что, в итоге, может привести к потенциально фатальному осложнению, заключающемуся в разрыве аневризмы аорты [Bararu Vojan Bararu I. et al., 2023].

Большая часть работ по формированию и развитию данной патологии проведена на модельных животных и сфокусирована на изучении механизмов, ответственных за возникновение аневризм и, хотя эти исследования предоставили чрезвычайно ценную

информацию о патогенезе аневризм аорты, они недостаточны для того, чтобы охарактеризовать все стадии заболевания на молекулярном, клеточном или тканевом уровнях, а в некоторых случаях результаты таких работ сложно экстраполировать на патологию человека.

1.1.1 Эпидемиология аневризм восходящей аорты

Аневризма восходящей аорты распространена среди лиц пожилого возраста (60 лет и старше). Согласно статистике, патологическое расширение аорты в 3-4 раза чаще встречается у представителей мужского пола по сравнению с женским [Calero A., Illig K.A., 2016]. Тем не менее, прогноз заболевания у женщин хуже, о чем свидетельствуют более высокие темпы роста аорты (даже с учетом поправки на размер тела). Расслоения и разрывы аневризм наблюдаются при их меньшем диаметре, а уровень осложнений в послеоперационном периоде выше, чем у мужчин [Cheung K. et al., 2017; Chung J. et al., 2020; Crousillat D. et al., 2023].

Распространенность АВА сильно недооценена. Получение точной оценки общей распространенности АВА в популяции является сложной задачей из-за бессимптомного течения этой аортопатии. По разным данным, в мире ежегодно выявляют от 2 до 10 новых случаев на 100 тыс. населения, и в настоящее время частота встречаемости данной патологии составляет 0,16-0,34%. По данным на 2015 год в России расширение восходящей аорты более 40 мм встречается у 3,3% лиц, при этом наследственные нарушения соединительной ткани являются причиной аневризм только в 3% случаев [Гаврилюк Н. Д. и др., 2016]. Среди всех выявленных случаев аневризм аорты патологические изменения восходящей части встречаются у 35% пациентов [Hiratzka L.F. et al., 2010; Kuzmik G.A. et al., 2012; McClure R.S. et al., 2018; Deng J. et al., 2023]. АВА часто обнаруживается случайно во время обычного клинического обследования и таких методов визуализации, как эхокардиография, магнитно-резонансная томография (МРТ) и компьютерная томография (КТ) [Rodrigues Bento J. et al., 2022].

Одним из серьезных осложнений АВА является расслоение — патология, наблюдаемая с частотой около 2–4 случаев на 100 тысяч человек в год [Flachskampf F.A., Daniel W.G., 2000]. Около 50% пациентов с расслоением восходящей аорты умирают до госпитализации [Howard D.P.J. et al., 2013], а смертность в послеоперационном периоде, по разным оценкам, составляет от 7 до 35% [Zhang L. et al., 2019; Nienaber C.A., Clough R.E., 2015], что делает разработку методов своевременной диагностики АВА чрезвычайно актуальной.

1.1.2 Классификация аневризм восходящей аорты

Аневризма восходящей аорты традиционно разделяется на основе наличия экстрааортальных клинических проявлений (синдромальные АВА) или их отсутствия (несиндромальные АВА), которые в свою очередь подразделяются на семейные и спорадические [Bhandari R. et al., 2020; De Carlo R. et al., 2022].

К синдромальным АВА можно отнести те, возникновение которых произошло под влиянием моногенного нарушения в сочетании с рядом сопутствующих аномалий, влияющих на различные системы организма. Наиболее известными синдромами, для которых характерно образование АВА (зачастую сопровождающейся расслоением), являются синдром Марфана, синдром Лойса-Дитца, синдром Элерса-Данлоса и др. [Shumakov D.V. et al., 2020]. В других случаях, например, при двустворчатом аортальном клапане (ДАК) или синдроме Тернера, АВА является возможным, но необязательным проявлением патологии.

Синдром Марфана (ОМIM 154700) – аутосомно-доминантное заболевание, поражающее соединительную ткань и возникающее в результате мутаций в гене *FBN1*, кодирующем коллагеноподобный структурный белок, который направляет и ориентирует эластин в развивающейся аорте (Приложение А) [Hollister D.W. et al., 1990]. Распространенность колеблется от 1,5 до 17,2 на 100 тыс. человек [von Kodolitsch Y. et al., 2015]. В 75% случаев синдром наследуется от одного из родителей, остальные случаи связаны с мутациями *de novo* в гене *FBN1* [Salmasi M.Y. et al., 2023]. Пациенты с синдромом Марфана имеют нарушения скелета, кожи, органов дыхания, зрения, нервной и сердечно-сосудистой систем. Примерно у 60–80% пациентов с синдромом Марфана развивается АВА [Roman M.J. et al., 1989]. Расширение аорты происходит в области корня аорты на уровне синуса Вальсальвы, которое далее может развиваться в аневризму [Meester J.A.N. et al., 2017]. Аневризмы нисходящей аорты у пациентов с синдромом Марфана встречаются реже.

Синдром Элерса-Данлоса – наследственное заболевание соединительной ткани, которое проявляет себя гиперрастяжимостью кожи, гиперподвижностью суставов, образованием синяков на теле даже при легком воздействии и аневризмами артерий. Синдром обусловлен мутациями в гене *COL3A1*, кодирующем коллаген типа III (Приложение А) [Meester J.A.N. et al., 2017; Рудой А.С. и др., 2018]. Сосудистый тип (тип IV, ОМIM 130050) представлен в 5% случаев, частота встречаемости 1-2 на 100 тыс. человек. Пациенты имеют тонкую полупрозрачную кожу, особенности строения лица, несостоятельность стенок сосудов, кишечника, матки [Salmasi M.Y. et al., 2023]. Приблизительно у четверти пациентов с данным синдромом происходит образование аневризм аорты [Verstraeten A. et al., 2016].

Синдром Лойса-Дитца (Луиса-Дитца, ЛДС) – аутосомно-доминантное заболевание с более тяжелым проявлением кардиоваскулярной патологии, чем при синдроме Марфана. ЛДС характеризуется аневризмами и расслоениями аорты и ее ветвей, извитостью артерий и особенностями скелета, сходными с таковыми при синдроме Марфана, но с уникальными черепно-лицевыми и кожными особенностями [Loeys B. et al., 2006]. Скорость роста аневризмы аорты при ЛДС выше, чем при синдромах Марфана и Элерса-Данлоса (2,9 мм в год против 1 мм) [Davies R.R. et al., 2002]. Кроме этого, при ЛДС разрывы аневризм аорты происходят при

меньшем диаметре и в более раннем возрасте [MacCarrick G. et al., 2014]. Распространенность данного синдрома точно не установлена, предположительно встречаемость реже, чем 1 на 100 тыс. человек [Loeys B.L., Dietz H.C., 1993]. Локализация аневризм при ЛДС не ограничивается корнем аорты или ее восходящей частью.

Выделяют 3 типа ЛДС: ЛДС I и II типа развиваются при патогенных вариантах в генах *TGFBR1* и *TGFBR2* (рецепторы сигнального пути трансформирующего фактора роста- β (TGF- β)), соответственно (Приложение А) [Рудой А.С. и др., 2018]; ЛДС III типа обусловлен патогенными вариантами в гене *SMAD3*, кодирующем внутриклеточный эффектор TGF- β -сигналинга MADH3 (Приложение А) [Regalado E. et al., 2011]. Риск развития аневризмы аорты при ЛДС достигает 91% [Singh K. et al., 2006].

Семейные АВА - клинически и генетически гетерогенная группа заболеваний с преимущественно аутосомно-доминантным типом наследования, общей характеристикой которых является системная патология соединительной ткани, предрасполагающая к ограниченному поражению восходящей аорты. Эти формы диагностируются на основании положительного семейного анамнеза более чем у одного члена семьи.

Около 20% пациентов с АВА имеют семейную историю аневризм, среди которых 30% случаев могут быть объяснены редкими патогенными вариантами в более чем 30 генах [Verstraeten A. et al., 2017]. По разным данным, от 13% до 20% пациентов с АВА без проявления синдромальных признаков имеют родственников первой степени родства с подобными клиническими проявлениями – каждый пятый случай «спорадических» АВА является на самом деле семейным [Biddinger A. et al., 1997; Coady M.A. et al., 1999]. Данные могут быть занижены ввиду того, что не все члены семьи имеют возможность пройти рутинные диагностические процедуры.

На семейную форму АВА могут указывать следующие признаки: наличие симптомов, характерных для синдромальных форм в отсутствие подтвержденного причинного моногенного варианта; ранний возраст манифестации АВА (<60 лет); семейная история АВА или других аневризм (интракраниальных, периферических) у родственников 1-ой/2-ой степени родства; случаи внезапной необъясненной смерти у родственников 1-ой/2-ой степени родства [Isselbacher E.M. et al., 2022]. В отличие от спорадических форм АВА, семейные случаи проявляются в более раннем возрасте и имеют более высокий темп роста аневризмы [Albornoz G. et al., 2006].

Остальные случаи АВА не имеют ни семейного анамнеза заболеваний аорты, ни высокопенетрантных патогенных вариантов в генах наследственных аневризм и рассматриваются как спорадические формы. Спорадические формы АВА составляют 80% всех случаев аневризм и являются самой распространенной формой АВА [Salmasi M.Y. et al., 2023].

Средний возраст манифестации спорадических форм – 64,3 года. Темпы роста АВА составляют в среднем 0,3 мм в год [Coady M.A. et al., 1999].

Спорадические случаи АВА являются наименее изученной группой среди всех этиологических форм, что делает эту форму особенно интересной для исследования, в том числе и с точки зрения генетики. В настоящее время использование термина «спорадическая аневризма» ставится под сомнение, поскольку генетическое тестирование у многих пациентов со спорадическими АВА все же обнаруживает варианты в генах, патогенность которых при АВА ранее не была доказана [Czerny M. et al., 2024]. Продолжаются споры о том, должны ли пациенты со спорадическими АВА проходить генетическое тестирование и какова может быть ценность положительных результатов.

1.1.3 Этиология спорадических аневризм восходящей аорты

Этиология спорадических АВА гетерогенна и зависит как от генетических причин, так и от внешних факторов. Факторами риска спорадических аневризм являются причины из списка наиболее распространенных для развития сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ): пожилой возраст, мужской пол, курение, длительная артериальная гипертензия, ожирение, строение аортального клапана и др. [Landenhed M. et al., 2015]. Наряду с вышеперечисленными, факторами риска также могут являться воспалительные процессы в стенке аорты [Roberts W.C. et al., 2015; Piao C. et al., 2024].

Старение связано с изменениями в структуре и функции аорты, которые нарушают способность сосуда реагировать на биомеханический стресс. В эксперименте у мышей и обезьян с возрастом в аорте наблюдалось неупорядоченное расположение волокон и повышенная жесткость внеклеточного матрикса (ВКМ), что, как предполагается, и приводит к развитию АВА [Qiu H. et al., 2010; Zhang J. et al., 2016].

Мужской пол является переменным фактором из-за активности тестостерона, который увеличивает выработку перекиси водорода и способствует индуцированному ангиотензином II развитию АВА опосредованно через усиление экспрессии его рецепторов [Henriques T. et al., 2008; Zhang X. et al., 2012]. Хотя риск развития АВА у женщин ниже, чем у мужчин, он значительно увеличивается во время беременности: в данном случае АВА, как правило, заканчиваются разрывом аорты. Это связано с изменениями гемодинамики (образованием «третьего» круга кровообращения) и нестабильным гормональным фоном. Тем не менее, встречаемость этого феномена крайне редка: 0,2-1% от всех случаев расслоений аневризм аорты [Braverman A.C. et al., 2021].

Артериальная гипертензия (АГ) является независимым фактором риска спорадических АВА. Коморбидность АВА с гипертензией в некоторых исследованиях варьирует от 45% до 100% [Zhou Z. et al., 2022]. Влияние АГ на развитие аневризмы аорты частично объясняется

механическим воздействием повышенного кровяного давления на стенку сосуда. В исследовании аорты *ex vivo* у пациентов с АВА было показано, что среднее напряжение стенки сосуда повышалось в линейной зависимости прямо пропорционально давлению внутри аорты и ее диаметру [Okamoto R.J. et al., 2002]. Было высказано предположение, что повышенное систолическое давление существенно влияет на структуру и функцию стенки аорты, тем самым увеличивая напряжение стенки аорты и способствуя ее дилатации [Rabkin S.W., Janusz M.T., 2013]. Деятельность, которая увеличивает нагрузку на восходящую аорту (например, употребление кокаина или метамфетамина, поднятие тяжестей в бодибилдинге), также может приводить к появлению АВА [Pinard A. et al., 2019].

Аневризмы корня и восходящей части аорты также часто связаны с двустворчатым (бикуспидальным) аортальным клапаном, хотя генетическая основа и вариабельность симптомов у пациентов с ДАК до конца неясны [Isselbacher E.M. et al., 2022]. Аневризматическое расширение корня аорты у пациентов с ДАК, в отличие от пациентов с трехстворчатым аортальным клапаном (ТАК), связано с более ранней манифестацией и более быстрым прогрессированием заболевания, особенно при наличии других врожденных пороков сердца или экстракардиальных аномалий [Della Corte A. et al., 2021]. Пациенты с ДАК могут иметь хромосомные аномалии (например, синдром Тернера) или патогенные варианты в генах, вызывающих наследственные формы АВА [Michelena H.I. et al., 2020].

В настоящее время возникновение спорадических форм АВА связывают с широким спектром патогенных вариантов в генах, которые можно разделить на 3 основные группы: гены, кодирующие компоненты ВКМ, гены, отвечающие за структуру и функции ГМК сосудов, и гены, участвующие в сигнальном пути TGF- β [Verstraeten A. et al., 2017]. Более подробно генетические аспекты АВА, включая спорадические формы, будут рассмотрены в разделе 1.3 «Генетика аневризм восходящей аорты».

1.1.4 Патогенез аневризм восходящей аорты

1.1.4.1 Тканевые основы

Определение и классификация морфологического субстрата заболеваний аорты стали предметом тщательного рассмотрения Общества сердечно-сосудистой патологии (Society for Cardiovascular Pathology, SCVP) и Европейской ассоциации сердечно-сосудистой патологии (Association for European Cardiovascular Pathology, AECVP) [Stone J.R. et al., 2015; Halushka M.K. et al., 2016]. Гистологическая основа расширения аортальной стенки заключается в уменьшении содержания эластина, коллагена и гликозаминогликанов по сравнению со структурой нормальной стенки сосуда [Baragu Bojan Baragu I. et al., 2023]. Истончение стенки аорты характеризуется уменьшением количества сосудистых ГМК вследствие апоптоза и деградации

ВКМ в меди аорты [Rombouts K.B. et al., 2021]. В норме ГМК имеют сократительную функцию, однако при патологии имеют тенденцию к переключению на синтетический фенотип [Ailawadi G. et al., 2009].

Дегенерация меди – наиболее распространенный морфологический субстрат АВА и встречается в 67% случаев [Leone O. et al., 2020]. Согласно классификации SCVP/AECVP, отдельными компонентами дегенерации меди являются: (1) увеличение медиального мукоидного внеклеточного матрикса, которое создает трансламеллярные и/или интраламеллярные расширения; (2) фрагментация/утрата эластических мембран; (3) истончение и дезорганизация эластических мембран; (4) утрата ядер гладкомышечных клеток, что вызывает коллапс (спадение) эластических мембран; (5) увеличение содержания коллагена [Halushka M.K. et al., 2016].

Воспалительные заболевания аорты (аортит) также могут являться причиной возникновения АВА с частотой от 4 до 25% [Leone O. et al., 2020; Amemiya K. et al., 2021]. В недавнем исследовании Leone O. et al. (2020), проанализировавших 255 образцов аорты от пациентов, оперированных по поводу АВА, было показано, что, помимо дегенеративных изменений в меди сосуда, в значительной части образцов встречались атеросклероз (18,8%) и аортит (13,7%), что превышало ожидаемые значения [Leone O. et al., 2020].

В исследовании Liu X. et al. (2022) с помощью анализа РНК одиночных клеток было показано, что наибольший негативный эффект на развитие воспаления и расслоение АВА имеет $IL1RN^+/TREM1^+$ субпопуляция макрофагов – именно они являются основными источниками медиаторов воспаления [Liu X. et al., 2022]. Аортит и периаортит относятся к широкому спектру воспалительных заболеваний, характеризующихся хроническим воспалением, ограниченным адвентицией (периаортит) или вовлекающим медию и/или интиму сосуда (аортит). Инфекционные причины аортита или периаортита встречаются редко и чаще наблюдаются после инвазивных процедур или хирургических вмешательств (включая инфекции аортального трансплантата) [di Gioia C.R.T. et al., 2023].

1.1.4.2 Клеточные основы

Патологическое формирование и прогрессирование АВА обусловлено нарушением регуляции как клеточного, так и внеклеточного компонента ее стенки. В ходе каждого сердечного сокращения восходящая аорта подвергается радиальным (от давления на стенку сосуда) и продольным (от тока крови по сосуду) механическим нагрузкам [El-Hamamsy I., Yasoub M.H., 2009]. Эти механические сигналы оказывают прямое влияние на структуру и функции клеток стенки аорты, характеризующиеся изменениями в пространственном расположении клеток, миграции, пролиферации и синтетической активности.

1.1.4.2.1 Нарушения пролиферации, миграции и гомеостаза гладкомышечных клеток

Гладкомышечные клетки являются основным клеточным компонентом аорты, и их потеря в результате апоптоза или некроптоза является признаком, определяющим развитие аневризм аорты (как восходящей, так и нисходящей). Сократительная функция гладких миоцитов играет важную роль в патогенезе АВА, хотя механизм до конца неясен.

Эмбриональное происхождение ГМК восходящей аорты так же остается предметом дискуссий. ГМК аортального клапана возникают из вторичного поля сердца (second heart field), а медиа стенки восходящей аорты фактически состоит из двух слоев: внутренний слой ГМК развивается из клеток нервного гребня, а внешний слой ГМК, так же, как и корень, происходит из вторичного поля сердца [Sawada H. et al., 2017].

Нарушение гомеостаза ГМК в стенке артерий является ключевым для формирования АВА как через регуляцию артериального давления, так и через ремоделирование сосуда. При АВА происходит дедифференцировка и трансформация ГМК из сократительного в синтетический/остеогенный фенотипы с избыточной продукцией белков ВКМ, нарушением пролиферации, миграции и апоптоза данных клеток [Michel J.-B. et al., 2018; Костина Д.А., 2021; Rombouts K.B. et al., 2021; Chakraborty A. et al., 2023]. Однако генетические и эпигенетические факторы, контролирующие фенотип и функционирование ГМК и других клеток, при АВА и атеросклерозе артерий остаются малоизученными.

Сосудистые ГМК имеют первостепенное значение для обеспечения структурной и функциональной целостности стенки аорты и синтеза компонентов ВКМ. Они могут адаптироваться к стимулам окружающей среды и механическому стрессу благодаря свойству пластичности – способности переключаться между сократительным и синтетическим фенотипом [Ailawadi G. et al., 2009; Гаврилюк Н.Д. и др., 2016]. В процессе развития АВА баланс между сократительными и синтетическими ГМК смещается в сторону последних – в ГМК повышается интенсивность продукции протеолитических ферментов [Mao N. et al., 2015]. Эти протеолитические ферменты могут разрушать компоненты ВКМ, что способствует миграции и апоптозу сосудистых ГМК [Rombouts K.B. et al., 2021]. Переключение фенотипа характеризуется снижением количества ГМК-специфичных сократительных белков, таких как белок гладкой мускулатуры 22 кДа (SM22 α), виментин и альфа-актин гладких мышц (α SMA) вне зависимости от строения аортального клапана (ДАК или ТАК) по сравнению с контролем [Malashicheva A. et al., 2016]. Также было обнаружено снижение содержания тяжелой цепи гладкомышечного миозина 2 класса, смутелина (smoothelin) и кальпонина [Forte A. et al., 2013; Zhang J. et al., 2013].

Потеря сосудистых ГМК в медиальном слое стенки аорты вследствие апоптоза является ранним признаком развития аневризм. Снижение плотности сосудистых ГМК ослабляет стенку

аорты и ограничивает способность к восстановлению матрикса, что делает сосуд более предрасположенным к дилатации [Rombouts K.B. et al., 2021]. Окислительный стресс, вызванный оксидом азота и свободными радикалами кислорода, продуцируемыми атеросклеротическими бляшками в интима аорты и гладких миоцитов, индуцировали апоптоз ГМК у крыс в экспериментальной модели аневризм [Sigala F. et al., 2005]. Сосудистые ГМК, выделенные из ткани АВА человека, подвергнутой окислительному стрессу, демонстрируют апоптотический фенотип: наблюдается фрагментация ДНК, уменьшение клеток в размерах, образование цитоплазматических выростов (блеббинг) мембран и конденсация хроматина [Acilan C. et al., 2012; Adiguzel Z. et al., 2014].

1.1.4.2.2 Эндотелиальная дисфункция

Помимо очевидного гладкомышечного компонента, в патогенез АВА вовлечена и эндотелиальная дисфункция. Эндотелиальные клетки выстилают просвет аорты, образуя интиму вместе с некоторым количеством ВКМ и внутренней эластической мембраной. Функция эндотелиальных клеток, являющихся разграничителем между кровью и основным структурным компонентом аорты (*tunica media*), заключается в передаче сигнала между этими двумя слоями [Pol V. et al., 2017]. Реснички на поверхности эндотелиальных клеток, выдающиеся в просвет сосуда, обеспечивают механочувствительность и передачу сигналов (воздействие на сокращение ГМК) [Egorova A.D. et al., 2012]. Эндотелиальные клетки, лишенные ресничек, приобретают мезенхимальный фенотип в процессе эндотелиально-мезенхимальной трансформации, при которой специфичные для эндотелия гены, такие как *CDH5* (VE-кадгерин) и *PECAM1* (CD31) подавляются, тогда как мезенхимальные гены *ACTA2* (α SMA) и *FN1* (фибронектин) активизируются [Egorova A.D. et al., 2011]. Эксперименты с использованием совместной культуры эндотелиальных клеток и ГМК показали, что влияние тангенциального напряжения кровотока (shear stress) на эндотелиальные клетки индуцирует переход ГМК от сократительного фенотипа к синтетическому [Tsai M.-C. et al., 2009].

Эндотелиальная дисфункция может активировать ремоделирование стенки аорты за счет высвобождения протеолитических ферментов или индукции воспалительных процессов и реакций окислительного стресса. В последнее время появляется все больше свидетельств дисрегуляции эндотелиального сигналинга посредством оксида азота (NO) при АВА и диссекции [Verstraeten A. et al., 2023]. Chung A. W. Y. et al. (2007) продемонстрировали, что у мышей с моделью синдрома Марфана (*Fbn1*^{C1039G/+}) нарушение эндотелий-зависимой релаксации опосредовано подавлением продукции оксида азота в сигнальном пути eNOS/Akt [Chung A.W.Y. et al., 2007]. Кроме того, Oller J. et al. (2017) было показано, что фармакологическое ингибирование синтазы оксида азота iNos (Nos2) быстро обращает вспять дилатацию аорты и медиальную дегенерацию в той же модели синдрома Марфана (мышь

Fbn1^{C1039G/+}) [Oller J. et al., 2017], что подтверждается и другими исследованиями [Sellers S.L. et al., 2018]. Секреция эндотелиальными клетками циклофилина А (СурА), индуцируемая активными формами кислорода, определяла восприимчивость стенки аорты к опосредованному ангиотензином II расслоению аорты [Fan L.M. et al., 2014]. У пациентов с синдромом Марфана нарушена эндотелий-зависимая потоко-опосредованная вазодилатация [Wilson D.G. et al., 1999]. Кроме того, у мышей с бета-аминопропионитрил-индуцированной АВА наблюдается дисфункция плотных соединений, на что указывает увеличение проницаемости эндотелия: ингибитор протеазо-активируемого рецептора 2 АТ-1001, который улучшает функцию плотных контактов эндотелия, снижал частоту возникновения АВА [Yang X. et al., 2023].

1.1.4.3 Молекулярные основы

В основе молекулярных изменений, приводящих к развитию АВА, лежат нарушения в молекулярных путях TGF- β , Notch, а также дисбаланс системы гомеостаза ВКМ. Краткий обзор молекулярных путей, вовлеченных в патогенез АВА, представлен на рисунке 1.

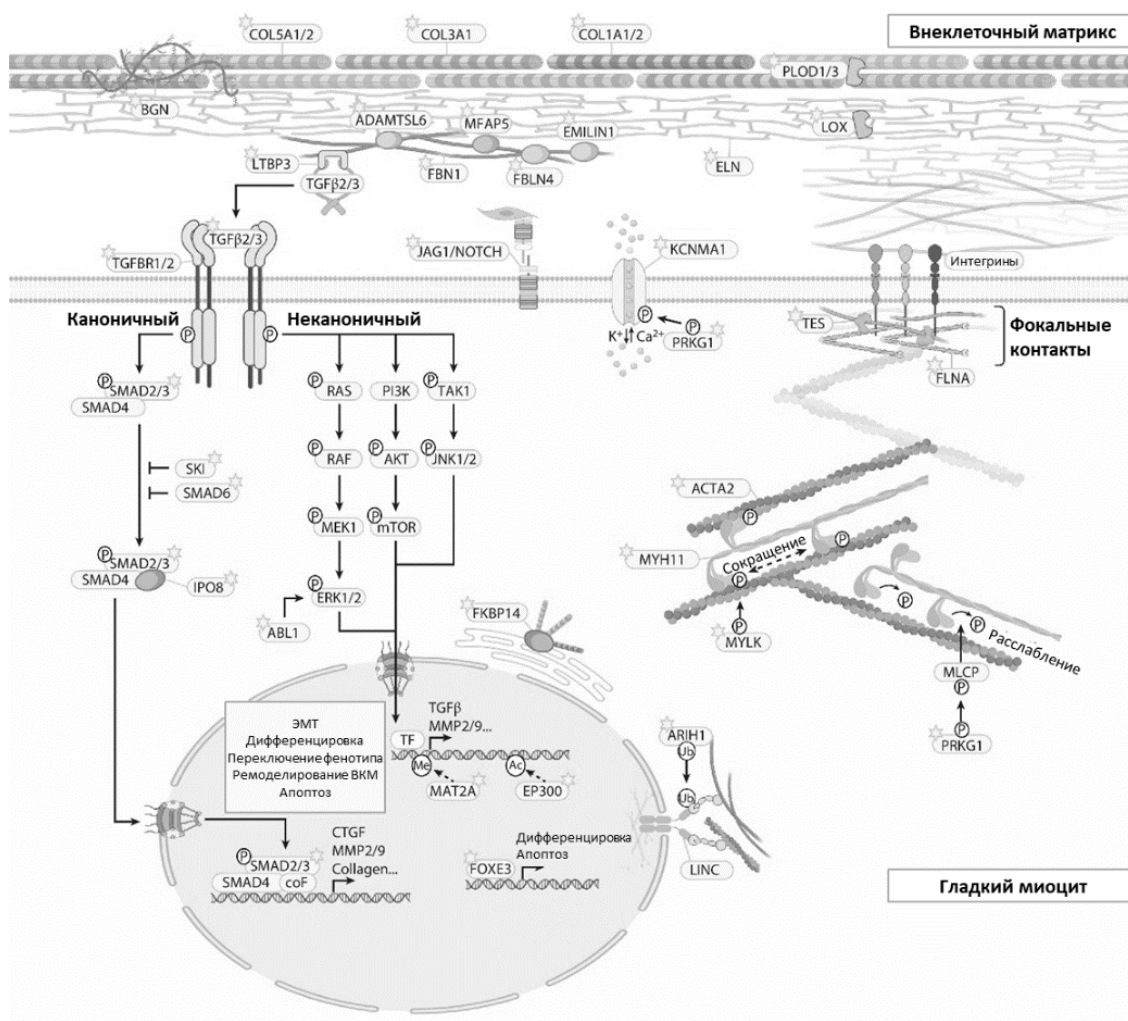


Рисунок 1 – Молекулярные пути и сигнальные молекулы, вовлеченные в патогенез аневризмы восходящей аорты (адаптировано из [Rodrigues Bento J. et al., 2022]): ЭМТ – эндотелиально-мезенхимальная трансформация, ВКМ – внеклеточный матрикс

Патофизиология АВА включает нарушение целостности ВКМ, являющегося ключом к поддержанию функции аортальной стенки [Wu L., 2018]. Изменение передачи сигналов в молекулярном каскаде TGF- β наряду со структурными нарушениями коллагена III типа и фибриллина приводят к нестабильности ВКМ [Takeda N. et al., 2016]. Появляется все больше данных, свидетельствующих о том, что именно изменения в передаче сигналов TGF- β являются основным этиологическим фактором большинства АВА [Bhandari R. et al., 2020].

1.1.4.3.1 Нарушения сигнального пути TGF- β

TGF- β — плейотропный цитокин, принадлежащий к суперсемейству внеклеточных полипептидов, которые регулируют разнообразную клеточную активность, включая адгезию, миграцию, деление, дифференцировку и выработку разнообразных компонентов ВКМ [Ruiz-Ortega M. et al., 2007]. Семейство цитокинов трансформирующего фактора роста β включает три белка - TGF- β 1, TGF- β 2 и TGF- β 3 - и дополнительные факторы роста и дифференцировки (ингибины, костные морфогенетические белки и др.). Показано, что мутации в некоторых членах семейства TGF- β , их рецепторах или сигнальных медиаторах вызывают наследственные нарушения соединительной ткани [MacFarlane E.G. et al., 2017]. TGF- β может стимулировать ГМК сосудов и фибробласты к увеличению синтеза коллагена (в т.ч. при АВА) [Wang X. et al., 2006], подавлять активность матриксных металлопротеиназ (ММП) [Theruvath T.P. et al., 2012], повышать активность тканевых ингибиторов металлопротеиназ (ТИМП), что в конечном счете приводит к накоплению межклеточного вещества в стенке сосуда [Ghosh J. et al., 2005].

TGF- β секретируется в латентной форме в виде комплекса, который включает сам белок, латентно-ассоциированный пептид и 1 из 3 членов семейства латентных TGF- β -связывающих белков. Этот комплекс сохраняет TGF- β в неактивной форме путем связывания с элементами внеклеточного матрикса, включая фибриллин-1 – происходит секвестрация TGF- β . Наряду с патогенными вариантами в генах белков семейства TGF- β (*TGFB2*, *TGFB3*) и их рецепторов (*TGFBR1*, *TGFBR2*) варианты в гене *FBN1*, изменяющие структуру конечного белкового продукта, нарушают последующее высвобождение молекул TGF- β и его активацию, что в конечном счете приводит к АВА [Daugherty A. et al., 2017].

1.1.4.3.2 Нарушения сигнального пути Notch

Notch представляет собой высококонсервативный сигнальный путь, который регулирует развитие и дифференцировку многих типов тканей и влияет на основные клеточные процессы, такие как пролиферация, дифференцировка и апоптоз клеток. У млекопитающих семейство Notch состоит из четырех рецепторов (Notch 1, -2, -3, -4) и пяти лигандов (Delta-like 1, -3, -4, Jagged (Serrate) 1, -2). Notch является ключевым сигнальным путем во время эмбриональной закладки клапанов сердца, который способствует эндотелиально-мезенхимальному переходу

эндокардиальных клеток с образованием зачатка клапана [Timmerman L.A. et al., 2004]. Гаплонедостаточность *NOTCH1* влияет на способность эндотелиальных клеток - производных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека - противостоять тангенциальному напряжению кровотока, что может объяснить патологию аорты в случае патогенного варианта *NOTCH1* [Theodoris C.V. et al., 2015].

Варианты в генах нескольких компонентов пути Notch были связаны с рядом врожденных пороков сердца, тем самым указывая на существенную роль передачи сигналов Notch в развитии сердечно-сосудистой системы и в ее поддержании в постнатальном периоде жизни человека. В частности, патогенные варианты гена *NOTCH1* связаны с врожденными аномалиями аортального клапана и аорты [Malashicheva A. et al., 2020]. Анализ экспрессии мРНК генов-белков сигнального пути Notch, генов-мишеней Notch и путей, с ним связанных показал, что эндотелиальные клетки пациентов с АВА с ТАК имеют нарушенную регуляцию путей Notch/BMP/WNT [Kostina D. et al., 2018]. В другом исследовании этого коллектива авторов было показано, что у пациентов с ДАК и дилатацией восходящей аорты передача сигналов Notch была ослаблена. Эндотелиальные клетки, полученные из аорты пациентов с ДАК/АВА, имели нарушенную Notch-зависимую индукцию эндотелиально-мезенхимального перехода [Kostina D. et al., 2016].

1.1.4.3.3 Дисбаланс системы синтеза/деградации внеклеточного матрикса

Матриксные металлопротеиназы и их ингибиторы играют важную роль в патогенезе аневризм аорты, поскольку они ответственны за гомеостаз соединительной ткани: деградация медиального слоя сосуда обусловлена преимущественно дисбалансом этих ферментов [Koullias G.J. et al., 2004; El-Hamamsy I., Yacoub M.H., 2009; Rabkin S.W., 2017]. В норме в аорте поддерживается строгий баланс между деградацией и синтезом внеклеточного матрикса. Расщепление эластина предполагает, что сайты его расщепления находятся в свободном доступе для ферментативной атаки ММП [Mecham R.P. et al., 1997].

Повышенная экспрессия ММП-1 обнаружена путем иммуногистохимического исследования ткани АВА [Koullias G.J. et al., 2004]. Было установлено, что активность ММП-1 в интима и меди аорты повышается за счет экспрессии в цитоплазме сосудистых ГМК [Ishii T., Asuwa N., 2000]. ММП-2 и ММП-9 (желатиназы А и В), а также их эндогенные тканевые ингибиторы ТИМП-1 и ТИМП-2, которые модулируют активность этих ферментов, разрушающих матрикс, являются важными регуляторами артериальной микроархитектуры и, следовательно, патогенеза АВА [Sokolis D.P., Iliopoulos D.C., 2014]. Иммуногистохимическая оценка ММП-2 в аорте пациентов с АВА показала увеличение экспрессии фермента по сравнению с группой контроля [Huusko T. et al., 2013]. Было выявлено значительное повышение активности ММП-9, а также снижение ТИМП-1 и ТИМП-2 в аорте у лиц с АВА по сравнению с

контролем [Rabkin S.W., 2014]. Помимо локального влияния протеиназ, было установлено, что концентрация ММП-9 в сыворотке крови пациентов с АВА может быть диагностическим маркером этого патологического состояния, однако для ММП-2 такого эффекта установлено не было [Tscheuschler A. et al., 2016; Li T. et al., 2018]. В экспериментальном исследовании Liu C. et al. (2018) показано влияние интерлейкина-3 на развитие АВА у мышей: данный цитокин стимулировал выработку ММП-12 в макрофагах по JNK- и ERK1/2-зависимому пути. Таким образом, IL-3/IL-3R β /ММП-12. может также являться важным патологическим механизмом прогрессирования АВА [Liu C. et al., 2018]. Помимо вышеупомянутых протеиназ, повышенная концентрация/активность в стенке аорты была показана для ММП-12, ММП-14 и ММП-19 [Jackson V. et al., 2012; Del Porto F. et al., 2014].

Лизилоксидаза, фермент, отвечающий за образование межмолекулярных связей между коллагеном и эластином, также играет роль в патогенезе АВА [Quintana R.A., Taylor W.R., 2019]. Согласно экспериментальным данным, функциональная недостаточность фермента из-за патогенных вариантов в гене *LOX* была фактором подверженности АВА ввиду неправильного развития аорты [Guo D. et al., 2016]. Ингибирование лизилоксидазы введением бета-аминопропионитрила лабораторным животным приводило к дегенерации меди (деградации эластических мембран, истончению медиального слоя стенки аорты, и апоптозу ГМК), следствием чего было развитие аневризмы аорты даже у молодых животных [Barnett B.D. et al., 1957; Simpson C.F. et al., 1968; Li J.-S. et al., 2013]. Интересно, что бета-аминопропионитрил естественным образом встречается в сладком зеленом горошке: кормление лабораторных или сельскохозяйственных животных сладким горошком приводило к развитию аневризм восходящей аорты [Bean W.B., Ponseti I.V., 1955].

1.1.4.3.4 Нарушения обмена гликозаминогликанов и протеогликанов

Помимо изменений в экспрессии белковых молекул, изменение распределения протеогликанов и гликозаминогликанов в стенке аорты также связано с аневризмой и расслоением восходящей аорты. Гликозаминогликаны (ГАГ) представляют собой линейные цепи повторяющихся дисахаридных единиц. Ковалентное добавление ГАГ к белковому кору приводит к образованию протеогликанов (ПГ). ГАГ и ПГ в большом количестве содержатся в *tunica intima* аорты. Считается, что эти отрицательно заряженные молекулы способствуют поддержанию давления в пространстве между окончатными мембранами путем секвестрации воды, тем самым сохраняя тургор в аорте [Humphrey J.D., 2013]. Кроме того, считается, что ПГ регулируют активность различных цитокинов, хемокинов и протеаз во внеклеточном матриксе [Wight T.N., 2018]. Хотя ГАГ и ПГ выполняют важные физиологические функции и помогают эластическим мембранам противостоять гемодинамическим воздействиям, накопление этих

молекул при АВА (за счет усиленного синтеза или сниженной деградации) тесно связано с расслоением и разрывом аорты в мышинной модели синдрома Марфана.

В исследовании Humphrey J.D. (2013) было показано, что множественные структурные нарушения происходят в результате локального накопления ГАГ, что вызывает отек в интраламеллярном пространстве и увеличение давления ГАГ на близлежащие окончатые эластические мембраны. Считается, что повышенное давление нарушает связи между эластическими волокнами, ГМК и коллагеном в матриксе, образуя нестабильную область с возможностью расслоения и разрыва [Humphrey J.D., 2013]. Это может составлять часть механизма положительной обратной связи, посредством которого локальное увеличение давления, вызванное накоплением ГАГ, может передаваться на соседние окончатые мембраны и распространять разрушение стенки аорты [Ahmadzadeh H. et al., 2019].

ADAMTS (ADAM-протеазы, содержащие мотив тромбоспондина) представляют собой семейство многодоменных внеклеточных протеазных ферментов, которые играют роль в деградации ПГ [Kelwick R. et al., 2015]. Хотя ADAMTS представляют собой группу ферментов, а не ГАГ или ПГ, они представляют интерес из-за их роли в деградации ПГ, которая может влиять на структуру ткани аорты. В четырех исследованиях сообщалось об изменениях уровней ADAMTS при АВА по сравнению с контролем: увеличение ADAMTS-1 и ADAMTS-4 наблюдалось в образцах ткани АВА и крови по сравнению с контролем [Ren P. et al., 2013, 2017; Gao J. et al., 2016], а анализ уровней мРНК ADAMTS-1, ADAMTS-4, ADAMTS-9, ADAMTS-15 и ADAMTS-20 не различался между контролем и АВА, в отличие от ADAMTS-5, уровень которого при АВА был снижен [Cikach F.S. et al., 2018].

1.2 Коморбидность аневризмы восходящей аорты и атеросклероза сосудов различных бассейнов

В отличие от аневризмы брюшной аорты, для которой доказана сильная ассоциация с другими проявлениями кардиоваскулярной патологии, в частности, с атеросклерозом и повышенным риском ишемической болезни сердца (ИБС) и инфаркта миокарда (ИМ), взаимоотношения аневризмы восходящей аорты и атеросклероза до сих пор остаются недостаточно ясными. АВА и атеросклероз различных сосудов длительное время протекают бессимптомно и являются относительно частыми патологическими состояниями, которые приводят к жизнеугрожающим и инвалидизирующим осложнениям, составляя существенный груз для общества и системы здравоохранения [Cho I.-J. et al., 2014; Rajbanshi B.G. et al., 2015; Wu L., 2018; Salameh M.J. et al., 2018; Hunta A. et al., 2025].

Аневризма восходящего отдела аорты и атеросклероз имеют общие факторы риска (пол, возраст, АГ, курение, отягощенный семейный анамнез, избыточная масса тела, нарушение обмена липидов...), однако, чаще всего, данные патологии исследуются отдельно друг от друга

в клинических и экспериментальных работах *in vitro* и *in vivo* с использованием разных объектов, методов и подходов. В связи с этим, необходимо понимать механизмы развития данных заболеваний у индивидов для разработки новых эффективных подходов к лечению, а также иметь биомаркеры предикции риска их осложненного течения – острых сосудистых катастроф.

Накапливается все больше данных о протективном эффекте АВА в отношении риска развития и осложненного течения атеросклероза через оценку его ранних и поздних эндотипов – отношение толщины интимы-медии (ТИМ) сонных артерий и степень кальцификации артерий различной локализации, соответственно [Chau K.H. et al., 2014; Curtis A. et al., 2015]. Действительно, оперирующие хирурги нередко отмечают, что у пациентов с АВА отсутствуют косвенные признаки атеросклероза, такие как жесткость артерий, их кальцификация и тромбоз [Achneck H. et al., 2005; Waldron C. et al., 2023]. Более того, у пациентов с АВА реже регистрируются такие клинические осложнения атеросклероза коронарных артерий, как ИБС и ИМ [Curtis A. et al., 2015].

Среди молекулярных механизмов атеропротекции при АВА рассматривается дисбаланс ММП и ТИМП, когда увеличение активности металлопротеиназ приводит к деградации внеклеточного матрикса и уменьшению размера атеросклеротических бляшек, но в то же время происходит истончение стенки аорты и развивается аневризма [Chau K.H. et al., 2014; Curtis A. et al., 2015]. Увеличение активности сигнального пути TGF- β является другим потенциальным механизмом протекции в отношении атеросклероза у пациентов с АВА: с одной стороны препятствуя пролиферации и миграции ГМК, увеличивая синтез белков ВКМ и, тем самым, уменьшая риск формирования атеросклеротических бляшек, а с другой – в случае наличия в сосуде атеросклеротических бляшек, обеспечивается их стабильность за счет ингибирования трансформации моноцитов в макрофаги и обеспечения продукции ВКМ в покрышке атеросклеротической бляшки [Chau K.H. et al., 2014; Curtis A. et al., 2015].

В исследовании Weininger G. et al. (2022) исследовали взаимосвязь уровня липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) у пациентов с АВА и контрольной популяции [Weininger G. et al., 2022]. Высокая концентрация ЛПНП плазмы крови ассоциирована с атеросклеротическим поражением артерий и его последствиями, включая ИБС, ИМ и инсульт. Сниженная концентрация ЛПНП (75 мг/дл) была связана с увеличением вероятности возникновения АВА (отношение шансов (OR) = 1,21), тогда как повышенные концентрации ЛПНП (150 и 200 мг/дл) были связаны с уменьшением вероятности развития АВА (OR = 0,62 и 0,29, соответственно). В более ранних исследованиях было показано, что концентрация ЛПНП в плазме крови пациентов с АВА не отличалась от таковой в группе здоровых индивидов [Schillinger M. et al., 2002], что говорит о неатеросклеротической этиологии этого заболевания.

Особый интерес в отношении изучения коморбидности АВА и атеросклероза представляет анализ генетической вариабельности и профиля метилирования ДНК в области локусов/генов, которые являются общими для данных заболеваний. Обе патологии имеют существенную генетическую составляющую.

Генетическая структура предрасположенности АВА включает как редкие патогенные варианты широкого спектра генов, являющиеся причинными для развития семейных или моногенных форм аневризм, так и частые варианты с малым эффектом, которые оказывают влияние на повышение риска спорадических случаев заболевания в течение жизни [LeMaire S.A. et al., 2011; McPherson R., Tybjaerg-Hansen A., 2016; Guo D. et al., 2016; Renard M. et al., 2018; Caspar S.M. et al., 2019; Pinard A. et al., 2019; Tcheandjieu C. et al., 2020; Ashvetiya T. et al., 2021; Roychowdhury T. et al., 2021].

В отличие от АВА, существенную часть структуры предрасположенности атеросклероза артерий различной локализации составляют частые однонуклеотидные варианты (SNV) с малым эффектом. В частности, локусы, которые модулируют фенотип и функциональные свойства ГМК, при атеросклерозе коронарных артерий, выявленные в результате широкогеномных исследований ассоциаций (GWAS), включают 9p21.3, а также варианты в области генов *TCF21*, *ADAMTS7*, *HHL1*, *GUCY1A1*, *PLPP3*, *FES*, *LMOD1*, *SIPA1*, *COL4A1/COL4A2*, *BMP1*, *LOX*, TGF β /SMAD сигнального пути (*TGFB1*, *SMAD3*, *SKI*, *BMP1*, *TENT5A*, *TMED10*, *FURIN*), PDGF сигнального пути (*PDGFD*, *PDGFRA*) [Turner A.W. et al., 2018; Liu B. et al., 2018; Wong D. et al., 2019].

Однако наши знания о редких вариантах других генов предрасположенности и осложненного течения атеросклеротического поражения артерий, за исключением общепризнанного вклада генов моногенных дислипидемий (*LDLR*, *APOB*, *PCSK9*, *LPA*) и появляющихся в последнее время отдельных сообщений о редких вариантах в генах *MEF2A*, *RNF213*, *APOA5*, *ANGPTL4*, *LPL*, *PDE5A*, *GUCY1A1*, *NOS3* и *SVEP1*, ограничены [Do R. et al., 2015; Myocardial Infarction Genetics and CARDIoGRAM Exome Consortia Investigators et al., 2016; Koyama S. et al., 2020; Dang T.A. et al., 2021]. В частности, редкие «loss-of-function» варианты (нонсенс, сдвиг рамки считывания и мутации в сайтах сплайсинга) в генах *NOS3* и *GUCY1A1*, белковый продукт последнего гена важен для миграции ГМК, связаны с увеличением уровня артериального давления и 3х-кратным увеличением риска ИБС [Kessler T. et al., 2017; Emdin S.A. et al., 2018]. Не исключено, что миссенс-мутации, которых существенно больше, чем вариантов «loss-of-function», также могут вносить вклад в риск заболевания.

Неясными остаются и другие вопросы. Какие есть особенности частоты и спектра коморбидных заболеваний у пациентов с аневризмой восходящей аорты? Почему АВА – это локальная патология, но она является протективной для атеросклероза, как системного

процесса, включающего такие признаки, как ТИМ сонных артерий и степень кальцификации коронарных артерий и аорты? С другой стороны, при каких условиях или действии каких факторов реализуется атеропротективный механизм АВА, если известно, что матриксные металлопротеиназы и сигнальный путь TGF- β оказывают дуалистическое влияние в зависимости от стадии заболевания. И, наконец, неизвестно существуют ли другие молекулярные механизмы атеропротекции при АВА.

1.2.1 Аневризма восходящей аорты и атеросклероз коронарных и сонных артерий

С клинической точки зрения особую роль в прогнозировании острых сердечно-сосудистых катастроф играют атеросклероз коронарных (КА) и каротидных (сонных) артерий (СА). Гемодинамически значимый атеросклероз данных сосудов (выраженный стеноз просвета $>75\%$) может приводить к развитию ИБС, ИМ и инсульта, что вносит существенный вклад в статистику инвалидизации и смертности людей во всем мире. Интересным является тот факт, что у пациентов с АВА реже наблюдаются осложнения атеросклероза КА и СА [Waldron C. et al., 2023].

Одним из косвенных признаков тяжелого атеросклеротического поражения коронарных артерий является степень их кальцификации. Получены сведения о том, что кальцификация КА чаще встречается у здоровых индивидов, чем в группах пациентов с АВА (с и без диссекции аорты) [Achneck H. et al., 2005]. У пациентов с ДАК, являющимся фактором риска АВА за счет изменения гемодинамических свойств крови, также наблюдалось снижение уровня кальцификации КА по сравнению с трехстворчатым аортальным клапаном [Dolmaci O.B. et al., 2023].

С клинической точки зрения логичной является оценка частоты коморбидности ИБС и ИМ в группе пациентов с АВА. В исследовании Chau K. et al. (2014) у пациентов с АВА наблюдалось резкое снижение встречаемости ИМ (с поправкой на возраст, пол, расу, индекс массы тела (ИМТ), семейный анамнез, гипертонию, дислипидемию, сахарный диабет и курение) [Chau K.H. et al., 2014]. Важно отметить, что пациенты с АВА имели более высокий ИМТ, чем пациенты контрольной группы, что, как известно, является фактором риска ИМ; тем не менее, частота ИМ в этой группе была снижена по сравнению с контролем. Таким образом, это исследование предоставляет убедительные доказательства атеропротективного эффекта АВА. Кроме того, отмечено, что строение аортального клапана не влияет на обратную коморбидность АВА и ИБС [Jackson V. et al., 2014].

В исследовании Hung A. et al. (2012) проведено сравнение ТИМ сонных артерий у пациентов с АВА и контрольной группы, сопоставимой по возрасту [Hung A. et al., 2012]. Было установлено, что у пациентов с АВА значения ТИМ сонных артерий были на 0,131 мм ниже, чем у контрольной группы. Важно отметить, что снижение ТИМ на 0,1 мм оказывает

существенное влияние на риск сопутствующих сердечно-сосудистых заболеваний, что соответствует снижению риска инсульта на 13–18% и снижению риска инфаркта миокарда на 10–15% [Lorenz M.W. et al., 2007].

Неоднозначно проявление данных патологий и на генетическом уровне. Одни и те же миссенс-мутации в гене *ACTA2* (например, p.R118Q, p.R149C, p.R258C/H), белковый продукт которого важен для поддержания сократительного фенотипа ГМК, предрасполагают не только к АВА, но и патологии других артерий с их окклюзией, формированием атеросклеротической бляшки и развитием ранней ИБС или ишемического инсульта [Guo D. et al., 2009]. В медиальном слое восходящей аорты пациентов-гетерозиготных носителей мутации отмечено накопление ГМК при иммуногистохимическом окрашивании на α -актин. В коронарных артериях пациента с мутацией p.R118Q отмечен стеноз просвета артерии из-за преимущественного накопления ГМК в интиме и меди, атеросклеротическая бляшка характеризовалась накоплением клеток и меньшим содержанием липидов, чем обычно. Миофибробласты, полученные из фибробластов кожи при их культивировании с TGF- β 1, и первичные культуры ГМК восходящей аорты пациентов-гетерозигот по мутациям в гене *ACTA2* отличались большей пролиферацией по сравнению с контролем. Недавнее исследование Kaw et al. (2023) пролило свет на молекулярный патогенез этого феномена: мисфолдинг молекулы альфа-актина (p.R149C) активирует фактор теплового шока-1, который повышает скорость биосинтеза эндогенного холестерина. Повышение уровня внутриклеточного холестерина вызывает стресс эндоплазматического ретикулума, а также активирует сигнальный каскад PERK-ATF4-KLF4, что и приводит к атеросклероз-ассоциированному изменению фенотипа гладких миоцитов даже в отсутствие экзогенного холестерина [Kaw K. et al., 2023].

Учитывая существенный объем накопленной информации о генетической структуре предрасположенности АВА и атеросклероза, можно предположить, что, кроме гена *ACTA2*, существуют другие локусы/гены/варианты/сигнальные и метаболические пути, которые являются общими для данных заболеваний. На данный момент, наиболее очевидными кандидатами для поиска общих «loss-of-function» и миссенс-вариантов являются гены TGF β /SMAD сигнального пути (*SMAD3*, *SKI*), а также фермента лизилоксидазы (*LOX*), который необходим для стабилизации внеклеточного матрикса за счет образования кросс-сшивков коллагена и эластина, так как редкие варианты данных генов связаны с АВА, а частые – с атеросклерозом коронарных артерий в результате GWAS. Общие сигнальные пути, по-видимому, включают гомеостаз внеклеточного матрикса, сигнальные пути TGF- β /SMAD, PDGF и NOTCH, так как они аннотированы в отношении обоих заболеваний [Ghosh S. et al., 2015; Chou E.L., Lindsay M.E., 2020].

В отличие от анализа ассоциаций частых генетических вариантов с такими клиническими фенотипами атеросклероза, как ИБС и ИМ, имеется очень мало работ, в которых анализируются частые варианты в отношении их связи с диаметром восходящей части аорты, риском развития аневризмы и диссекции грудной аорты в формате дизайна GWAS [LeMaire S.A. et al., 2011; Guo D. et al., 2016; Tcheandjieu C. et al., 2020; Ashvetiya T. et al., 2021; Roychowdhury T. et al., 2021; Klarin D. et al., 2023]. В одном из недавних исследований Aherrahrou R. et al. (2020) проанализировали связь частых генетических вариантов с формированием *in vitro* патологических атерогенных фенотипов ГМК аорты, взятых у здоровых доноров разного этнического происхождения при трансплантации сердца. В результате обнаружено три новых варианта (rs56062640 (*SLC8A1-AS1*), rs112162751 (*SYNPO2*, *SEC24D*, *METTL14*), rs12777350 (*LIPJ*)), связанных с кальцификацией, и вариант rs982228 (*CCNG1*, *NUDCD2*, *HMMR*, *MAT2B*), ассоциированный с пролиферацией ГМК. Более того, аллель G rs11216251 был связан с увеличением кальцификации ГМК и большей степенью кальцификации в атеросклеротических бляшках сонных артерий. В целом, из 158 локусов, ассоциированных с ИБС в результате GWAS, обнаружено 79 общих локусов, связанных с пролиферацией, миграцией и кальцификацией ГМК [Aherrahrou R. et al., 2020].

Кроме генетической вариабельности, эпигенетические факторы могут вносить вклад в коморбидные отношения АВА и атеросклероза. За последние несколько лет многочисленные исследования показали, что на паттерн метилирования ДНК в определенных локусах могут влиять генетические варианты или локусы количественных признаков, ассоциированных с метилированием ДНК (meQTLs) [Gaunt T.R. et al., 2016; Bonder M.J. et al., 2017]. Хорошо известно, что паттерны метилирования ДНК тканеспецифичны. Существенным ограничением исследований, когда метилирование ДНК анализируется в клетках периферической крови индивидов, является то, что в них могли быть не найдены многие причинные для патологии CpG-сайты, поскольку их вклад в заболевание обусловлен измененным метилированием ДНК в других тканях. Действительно, лишь в единичных работах разных коллективов исследователей характеризуется метилом аорты при АВА [Shah A.A. et al., 2015; Pan S. et al., 2017] и метилом коронарных артерий у пациентов с ИБС [Nazarenko M. et al., 2015], что затрудняет совокупный анализ этих результатов.

Интересными с точки зрения взаимоотношений АВА и атеросклероза молекулами выступают некодирующие РНК. При исследовании микроРНК в группе пациентов с АВА было установлено увеличение уровней циркулирующих miR-126-5p и miR-126-3p, являющихся атеропротекторными молекулами [Ekeidi A.V.N.B. et al., 2023]. Подобные эффекты (разнонаправленная экспрессия при АВА и атеросклерозе КА и СА) наблюдаются и для других микроРНК, например, miR-134-5p [Wang Y. et al., 2019; Xiong Y. et al., 2023], miR-143-3p

[Licholai S. et al., 2016; González-López P. et al., 2024], miR-191 [Licholai S. et al., 2016; Eken S.M. et al., 2017]. Снижение экспрессии длинной некодирующей РНК lincRNA-p21, подавляющей пролиферацию и усиливающей апоптоз ГМК, было показано в мышинной модели атеросклероза [Wu G. et al., 2014]. В то же время, экспрессия данной молекулы была увеличена в культуре ГМК аорты, подвергшейся механическому воздействию подобному тому, что испытывает аорта при развитии аневризмы [Mantella L. et al., 2017], что также косвенно свидетельствует об обратной коморбидности изучаемых патологий.

1.2.2 Аневризма и атеросклероз восходящей аорты

Поскольку атеросклероз – это системное заболевание, затрагивающее сосуды всех калибров, подобная обратная коморбидность АВА была отмечена и с атеросклерозом аорты. Так, в уже упомянутом исследовании Achneck H. et al. (2005) у пациентов без синдромальных форм АВА при помощи неинвазивных методов (КТ) оценивали степень кальцификации аорты [Achneck H. et al., 2005]. Было установлено, что кальцификация восходящей аорты встречалась чаще в группе без АВА, причем результаты не зависели от области, в которой производилось измерение (грудная, брюшная аорта или дуга аорты). Подобные результаты наблюдались и при гистопатологическом изучении восходящей аорты у пациентов с ДАК (предрасполагающим фактором АВА) и ТАК: степень поражения и количество атеросклеротических бляшек было больше в группе пациентов с ТАК (контрольная группа), а результаты исследования не зависели от наличия или отсутствия аневризмы у пациента [Dolmaci O.B. et al., 2023].

В недавнем исследовании Grewal N. et al. (2022) образцы аорты пациентов с несиндромальными АВА и контрольные образцы аорты, полученные в результате аутопсии, были изучены на предмет наличия атеросклеротических поражений [Grewal N. et al., 2022]. В результате было установлено, что интима аорты у пациентов с АВА была изменена незначительно, тогда как в контрольной группе в основном выявляли прогрессирующие атеросклеротические поражения сосуда (стадии III-VI по АНА [Virmani R. et al., 2000]). Толщина комплекса интима-медия аорты (как косвенный признак атеросклеротического поражения сосуда) также была снижена в группах пациентов с ДАК, синдромом Марфана и диссекцией аорты по сравнению с пациентами с ТАК [Grewal N., Poelmann R., 2023]. Другое исследование дополнительно подтверждает эти результаты, показывая, что в случае расслоения аорты типа В (затрагивающем нисходящую аорту) наблюдается более тяжелый атеросклероз, больше осложнений от ИБС и большее число коронарных стенозов, чем при расслоениях типа А (расслоения восходящей аорты) [Hashiyama N. et al., 2018].

Паттерн метилирования ДНК восходящей аорты в очаге атеросклероза (у пациентов без аневризмы) отличается от нормальной неизменной ткани. Дифференциальное метилирование наблюдается в генах, не только ранее ассоциированных с атеросклерозом (*FBN2*, *PDGFD*,

PLA2G10), но и связанных с ремоделированием сосудистой стенки (*DAAM1*), жизнедеятельностью ГМК (*EGFR*, *KCNMA1*, *RPTOR*, *PRRX1*, *PTK2*) и эндотелиальной функцией (*HOXA9*, *PLAT*, *PXDN*) [Zaina S. et al., 2014]. Дифференциально метилированные области в клетках атеросклеротических бляшек аорты, как правило, расположены в энхансерных регионах генома и гиперметилованы (85%) [Lacey M. et al., 2019].

Несмотря на многочисленные доказательства обратной коморбидности атеросклероза и АВА, в последнее время появляются свидетельства, противоречащие этому факту. В недавнем исследовании Doppler C. et al. (2023) было установлено, что атеросклероз восходящей аорты играет более важную роль в формировании АВА у пациентов с ТАК, чем считалось ранее, что говорит в пользу атерогенной этиологии аневризмы, а между степенью дегенерации меди и стадией атеросклероза наблюдалась положительная корреляция [Doppler C. et al., 2023].

Существующие в настоящее время амбивалентные взгляды на совместное течение АВА и атеросклероза КА, СА и аорты диктует необходимость поиска точек пересечения этих патологий на молекулярно-генетическом уровне. Выявление общих генетических вариантов и паттернов метилирования ДНК у пациентов с АВА с наличием или отсутствием сопутствующего атеросклероза или его клинических фенотипов углубит наше понимание патогенеза этих патологий, что послужит подспорьем для практической медицины.

1.3 Генетика аневризм восходящей аорты

Патогенез аневризмы и расслоения восходящей аорты часто обусловлен генетическим компонентом, кодирующим сократительный аппарат ГМК и белки внеклеточного матрикса. Основным фактором риска развития аневризм корня и восходящей части аорты являются патогенные варианты в генах, предрасполагающих к АВА. Эти гены (*ACTA2*, *COL3A1*, *FBN1*, *MYH11*, *SMAD3*, *TGFB2*, *TGFBR1*, *TGFBR2*, *MYLK*, *LOX*, *PRKG1*) предложены в качестве панели для таргетного тестирования пациентов с АВА [Milewicz D. et al., 2021]. Хотя генетический вклад очевиден именно для синдромальных аневризм, наибольший интерес представляют несиндромальные (как семейные, так и спорадические) формы АВА. Отсутствие патогномоничных особенностей и клинических проявлений, присущих несиндромальным формам, делает их своевременную диагностику особенно актуальной.

В настоящее время описано более 60 генов, потенциально вовлеченных в патогенез АВА (<https://panelapp.genomicsengland.co.uk/panels/700/>, дата доступа 8.03.2023) Тем не менее, только 24 гена из этого списка попали в базу ClinGen (из них, сильная связь с патологией была выявлена только для 11; Рисунок 2) [Renard M. et al., 2018].

Категория А	Категория В	Категория D
ACTA2	EFEMP2	ACVRL1 EMILIN1
COL3A1	ELN	ADAMTS10 ENG
FBN1	FBN2	B3GAT3 GATA5
LOX	FLNA	COL1A1 GJA1
MYH11	NOTCH1	COL1A2 JAG1
MYLK	SLC2A10	COL4A1 MED12
PRKG1	SMAD4	COL5A1 PLOD1
SMAD3	SKI	COL5A2 PLOD3
TGFB2	Категория С	COL9A1 SMAD6
TGFBR1	COL4A5	COL9A2 UPF3B
TGFB2	CBS	COL11A1 VCAN
	PKD1	COL18A1
	PKD2	

Рисунок 2 – Гены, ассоциированные с развитием аневризмы восходящей аорты (адаптировано из [Renard M. et al., 2018]): Категория А – гены с сильной доказанной связью с АВА, Категория В – «потенциальные» гены для диагностики АВА, Категория С – гены, косвенно влияющие на развитие АВА через другие патологии, Категория D – гены, связанные с АВА на основании экспериментальных данных

Генетический риск всех форм АВА имеет широкий спектр: от редких и высокопенетрантных генетических вариантов (например, синдром Марфана из-за патогенных вариантов в гене *FBN1*), до частых вариантов, обнаруживаемых в общей популяции, которые несут лишь минимальный риск развития заболевания. Частота аллеля и величина эффекта обычно обратно пропорциональны: редкие варианты имеют больший эффект (представляя собой мутации или патогенные варианты), а распространенные варианты имеют малый эффект [Pinard A. et al., 2019].

Современная классификация генетических вариантов основана на рекомендации Американского колледжа медицинской генетики (ACMG) по интерпретации вариантов последовательностей (ACMG standards and guidelines for the interpretation of sequence variants). Согласно этим рекомендациям, все варианты принято классифицировать в зависимости от степени патогенности: патогенные (pathogenic), вероятно патогенные (likely pathogenic), варианты неопределенного/неизвестного клинического значения (variants of uncertain significance, VUS), вероятно доброкачественные (likely benign) и доброкачественные (benign) [Richards S. et al., 2015; Рыжкова О.П. и др., 2019]. Выявленные редкие патогенные варианты (унаследованные или *de novo*) обычно вызывают более тяжелые проявления заболевания с ранней манифестацией (риск расслоения в возрасте до 55 лет) и обычно демонстрируют

доминантный тип наследования со сниженной пенетрантностью [Rodrigues Bento J. et al., 2022]. Эти генетические варианты, как правило, миссенс- или нонсенс-мутации, существенно изменяют белковый продукт гена и впоследствии нарушают сокращение ГМК сосудов, гомеостаз ВКМ или влияют на сигнальный путь TGF- β [Renard M. et al., 2018].

Известно, что генетическая составляющая аневризмы/расслоения восходящей аорты велика – приблизительно у 20% пациентов выявляется генетическая причина заболевания [Cecchi A.C. et al., 2022]. Течение АВА может сильно различаться у разных пациентов в зависимости от вовлеченного гена или патогенного варианта, что делает молекулярную диагностику актуальной для принятия клинических решений относительно последующего наблюдения и планового хирургического вмешательства [Hiratzka L.F. et al., 2010]. Работы, в которых выполнено молекулярно-генетическое обследование пациентов с АВА с использованием секвенирования экзома/клинического экзома, немногочисленны [Schubert J.A. et al., 2016; Zhao L.-Y. et al., 2020; Elbitar S. et al., 2021]. Вместе с тем, зачастую при проведении генетических исследований в одну группу объединяются семейные и спорадические случаи, а также аневризмы и диссекции аорты, тогда как, возможно, что для каждой из этих категорий существует уникальный спектр клинически значимых вариантов.

Кроме редких генетических вариантов, риск развития АВА может быть связан с частыми однонуклеотидными вариантами (SNVs), которые оказывают малый эффект на фенотип. В настоящее время имеется небольшое число работ, в которых анализируются частые варианты в отношении их связи с риском развития аневризмы и диссекции восходящей аорты в дизайне GWAS [LeMaire S.A. et al., 2011; Guo D. et al., 2016; van 't Hof F.N.G., 2016; Ashvetiya T. et al., 2021; Roychowdhury T. et al., 2021; Klarin D. et al., 2023]. Генетические детерминанты АВА остаются в значительной степени неизученными, при этом ранее опубликованные GWAS выявили только четыре локуса: зарегистрирован вклад частых интронных SNVs в области генов *FBN1*, *LRP1*, *TCF7L2*, а также миссенс-варианта rs2272007 в гене *ULK4*, в риск развития аневризмы и диссекции грудной аорты. Полиморфизм в интронах генов *LRP1* и *TCF7L2* влияет на их экспрессию в аорте [Boucher P. et al. 2003, 2007; Roychowdhury T. et al., 2021]. Недавнее исследование Klarin et al. (2023), также проведенное в формате «двухфазного» GWAS, расширило список ассоциированных с АВА генов до 21, подтвердив 4 известных (*FBN1*, *LRP1*, *TCF7L2*, *ULK4*) и описав 17 новых локусов [Klarin D. et al., 2023].

1.3.1 Генетика семейных форм аневризм восходящей аорты

Основным геном, ответственным за семейные случаи аневризм аорты (14-21%), является *ACTA2*, кодирующий белок альфа-гладкомышечный актин (Приложение А) [Takeda N., Komuro I., 2019]. *ACTA2* — высококонсервативный ген, относительно инвариантный в общей популяции. На сегодняшний день идентифицировано более 40 патогенных генетических

вариантов, предрасполагающих к семейным формам АВА, большинство из которых являются миссенс-мутациями [Milewicz D. et al., 2017]. Мутации *ACTA2* изменяют аминокислоты, расположенные во всех 4 субдоменах белка, и, вероятно, приводят к образованию структурно измененных мономеров актина. Это означает, что для проявления семейных форм АВА мутации *ACTA2* должны изменять жизненно важную структуру белка, т.к. нет доказательств того, что варианты *ACTA2*, приводящие к гаплонедостаточности, предрасполагают к заболеванию восходящей аорты [Salmasi M.Y. et al., 2023].

Варианты в генах *MYH11*, *MYLK* и *PRKG1* вместе составляют примерно 4% несиндромальных семейных случаев расслаивающей аневризмы аорты (Приложение А). Патогенные варианты *MYH11* связаны с семейными АВА и открытым артериальным протоком. Эти мутации обычно представляют собой делеции внутри рамки считывания (in-frame) в *MYH11*, что приводит к невозможности сборки толстых цепей миозина. Последующий анализ трех неродственных семей с АВА и открытым артериальным протоком выявил миссенс-мутации в гене *MYH11* в двух семьях (третья семья имела мутацию *TGFBR2*) [Pannu H. et al., 2007].

Мутации в *MYLK* (кодирует киназу легких цепей миозина) обычно представляют собой гетерозиготные мутации с утратой функции (loss-of-function). Они либо приводят к гаплонедостаточности, либо изменяют кальмодулин-связывающий домен, тем самым нарушая активацию функции киназы, что нарушает регуляцию актин-миозинового взаимодействия при сокращении ГМК [Salmasi M.Y. et al., 2023]. Миссенс-мутация в гене *PRKG1* приводит к ухудшению сократимости ГМК аорты в результате снижения фосфорилирования и усиления процессов дефосфорилирования легкой цепи миозина [Guo D. et al., 2013].

Мутации в генах *FBN1*, *TGFBR1*, *TGFBR2*, *SMAD3* и *TGFB2* были идентифицированы примерно в 2–8% семей с АВА, члены которых не имели клинических признаков синдрома Марфана или Лойса-Дитца (Приложение А) [Regalado E. et al., 2011; Guo D. et al., 2017].

1.3.2 Генетика спорадических форм аневризм восходящей аорты

Современное понимание патофизиологии АВА в значительной степени основано на исследовании и идентификации редких патогенных генетических вариантов в генах наследственных аневризм. Гены, для которых на сегодняшний день представлена связь с АВА по данным литературы, представлены в Приложении А.

Анализ спорадических случаев АВА показал наличие у пациентов патогенных вариантов генов, связанных с синдромами Марфана (*FBN1*) и Лойса-Дитца (*TGFBR1*, *TGFBR2*), а также редких вариаций числа копий (copy number variation, CNV) затрагивающих гены *MYH11*, *ELN*, *TGFB2*, мутации которых связаны с развитием семейных форм АВА (Приложение А) [Prakash S. et al., 2010, 2016; LeMaire S.A. et al., 2011; Cecchi A.C. et al., 2022; Meester J.A.N. et al., 2023].

У пациентов со спорадическими случаями расслоения аорты идентифицированы патогенные, вероятно патогенные варианты и CNV в генах наследственных аневризм, в том числе *FBN1*, *MYH11*, *EFEMP2*, *TGFBR2*, *FBN2*, *COL3A1* и *MYLK*, а 28% пациентов имели более одного варианта неопределенного клинического значения (VUS) в генах наследственных аневризм, что значимо выше, чем в контрольной группе (Приложение А) [Guo D. et al., 2017; Wang Z. et al., 2020; Chen Z.-R. et al., 2021].

Спорадические АВА могут быть связаны с редкими патогенными вариантами в генах, белковые продукты которых регулируют сокращение ГМК (*ACTA2*, *MYH11*, *MYLK*, *PRKG1*), их метаболизм (*MAT2A*) или выживание (*FOXO3*); поддерживают адгезию ГМК и белков внеклеточного матрикса (*FBN1*, *MFAP5* и *LOX*); регулируют TGFβ/SMAD сигнальный путь (*FBN1*, *TGFBR1*, *TGFBR2*, *SMAD3*, *TGFB2*, *TGFB3*, *SKI*, *SLC2A10*, *SMAD4*, *SMAD6*, *ACVRL1*, *ENG*, *SMAD2*; Приложение А) [Renard M. et al., 2018, 2019; Chou E.L., Lindsay M.E., 2020]. Более того активное использование технологии массового параллельного секвенирования привело к тому, что у пациентов с ранними спорадическими случаями диссекции восходящей аорты часто выявляются редкие варианты неопределенного клинического значения не только в генах моногенных форм АВА, связанных с ГМК (*ACTA2*, *TGFBR2*, *TGFBR1* и *MYLK*), но и в генах гипертрофической кардиомиопатии [Guo D. et al., 2017]. Патогенные варианты в генах *ACTA2* и *MYH11* связывают с дезорганизацией гладких миоцитов (признак медиальной дегенерации), что напоминает гистологическую картину при гипертрофической кардиомиопатии [Guo D. et al., 2007].

Кроме вариантов в генах, напрямую ответственных за молекулярно-клеточные нарушения, приводящие к дилатации аортальной стенки, появляются данные о вариантах в т.н. «неочевидных» участниках патогенеза АВА. Так, например, патогенные варианты в гене *NOTCH1*, приводившие к изменению структуры и функции его белкового продукта, встречались у пациентов со спорадической АВА (в том числе и с ДАК) [Иртюга О.Б. и др., 2018].

Таким образом, в развитии всех форм аневризм восходящей аорты вовлечены патогенные варианты в генах, белковые продукты которых отвечают за жизнедеятельность ГМК, структурную целостность компонентов ВКМ и некоторые внутриклеточные сигнальные пути. Далее более подробно будут рассмотрены варианты в генах, отвечающих за основные патогенетические механизмы формирования АВА.

1.3.3 Гены структуры и функции гладкомышечных клеток

Мутации в генах, кодирующих сократительные белки сосудистых ГМК, приводят к снижению силы сокращения и дестабилизации сократительного аппарата, что способствует развитию АВА. Наиболее распространенные мутации, вызывающие семейную форму АВА,

обнаруживаются в гене гладкомышечного актина *ACTA2* – варианты в этом гене отвечают за 14-21% всех случаев [Guo D. et al., 2007; Renard M. et al., 2013; Lu H. et al., 2015; Chen J. et al., 2017; Massett M. et al., 2020]. Нокаут *Acta2* способствовал индуцированному ангиотензином II расширению просвета аорты, апоптозу и фенотипической трансформации сосудистых ГМК у мышей [Cheng J. et al., 2018]. Изменения конформации, вызванные мутациями в гене *ACTA2*, влияют на стабильность актиновых филаментов и регуляцию их полимеризации [Guo D. et al., 2007; Malloy L.E. et al., 2012]. Потеря α -актиновых филаментов в ГМК приводит к снижению взаимодействию с интегрином для адгезии внеклеточного матрикса. Это уменьшенное взаимодействие между сосудистыми ГМК и ВКМ в сочетании со сниженной сократимостью делает клетки не способными генерировать внешнее воздействие для ремоделирования матрикса [Massett M. et al., 2020]. Кроме того, АВА, вызванная патогенными вариантами в гене *ACTA2*, иногда сочетается с преждевременным началом ишемической болезни сердца, инсульта и болезни Мойя-Мойя [Guo D. et al., 2009].

Мутации в *MYH11*, кодирующем другой основной белок миозин-11 из семейства тяжелых цепей миозина II класса, изменяют сократительную функцию сосудистых ГМК и могут способствовать развитию АВА. Было показано, что структурный дефект *MYH11* нарушает сократительную функцию гладкомышечных клеток и приводит к снижению растяжимости аорты и эластолизу, а также к очаговой сосудистой гиперплазии гладких миоцитов [Pannu H. et al., 2007]. Мутации гена *MYH11* представляют собой первый пример прямого изменения в специфическом белке сосудистых ГМК, приводящего к наследственным заболеваниям артерий [Zhu L. et al., 2006].

Гетерозиготные мутации с приобретением функции (gain-of-function) в *PRKG1* также связаны с АВА. *PRKG1* кодирует цГМФ-зависимую протеинкиназу I типа PKG-1, которая активируется при связывании цГМФ и контролирует расслабление ГМК. Повышенная активность PKG-1 приводит к снижению фосфорилирования регуляторной легкой цепи миозина в фибробластах и может потенциально вызывать снижение сократительной функции сосудистых ГМК [Guo D. et al., 2013; Gago-Díaz M. et al., 2016]. Наконец, гетерозиготные мутации с утратой функции (loss-of-function) в гене *MYLK* связаны с семейными формами АВА. Мыши со специфичным для ГМК нокдауном *Mylk* демонстрируют измененную экспрессию киназы легких цепей миозина, активация которой стимулирует сокращение ГМК, и патологический фенотип, соответствующий медиальной дегенерации аорты [Wang L. et al., 2010].

Расслоение аневризмы аорты при ее диаметре не более 5 см ассоциировано с патогенными вариантами в генах *ACTA2*, *MYLK*, *MYH11*, и *PRKG1*, а при мутациях в генах

ACTA2, *MYLK* – и при диаметре менее либо равном 4 см [Hiratzka L.F. et al., 2010; Morris S.A. et al., 2011].

Ген *FOXE3* кодирует фактор транскрипции, регулирующий антиапоптотическую защиту и выживание клеток. Было обнаружено, что мутации *FOXE3* способствуют развитию АВА: у мышей с дефицитом *FOXE3* наблюдалось снижение плотности и нарушения дифференцировки сосудистых ГМК в восходящей аорте [Kuang S.-Q. et al., 2016].

В ГМК интегрины связывают микрофибриллы с актиновыми микрофиламентами посредством белка филамина А. Мутации в гене филамина А (*FLNA*) вызывают перивентрикулярную нодулярную (узловую) гетеротопию, а также предрасполагают к развитию АВА [Sheen V.L. et al., 2005]. При мутациях с утратой функции (loss-of-function) в *FLNA* в 18% случаев возникает АВА, часто связанная с открытым артериальным протоком и аномалиями строения клапанов сердца [Chen M.H. et al., 2018].

1.3.4 Гены компонентов внеклеточного матрикса

Сократительный аппарат в ГМК прикреплен к компонентам ВКМ с помощью интегрин-содержащих фокальных контактов. Рецепторы интегрин в этих контактах связываются с эластином через микрофибриллы, основным белком которых является фибриллин-1 (кодируемый *FBN1*) [Rombouts K.B. et al., 2021]. Стенка аорты у пациентов с синдромом Марфана содержит мало фибриллина-1 и недифференцированные сосудистые ГМК [Grewal N., Gittenberger-de Groot A.C., 2018]. Диссоциация сосудистых ГМК и компонентов ВКМ вызывало фенотипический переход первых к синтетическому фенотипу и повышало экспрессию ММП-9 и эластина в мышечной модели синдрома Марфана [Bunton T.E. et al., 2001]. Потеря прикрепления сосудистых ГМК к компонентам ВКМ, вызванная патогенными вариантами *FBN1*, активирует программу синтеза и ремоделирования ВКМ, приводящую к дилатации аорты.

COL3A1 кодирует проколлаген III типа, который вместе с другими типами (I, II, V и XI) является частью семейства фибриллярных коллагенов. Проколлагены представляют собой форму-предшественник, которая секретируется, а затем расщепляется протеазой, что обеспечивает молекулам внеклеточную сборку. Синдром Элерса-Данлоса сосудистого типа обусловлен патогенными вариантами в гене *COL3A1* [D'hondt S. et al., 2018]. У пациентов с сосудистым синдромом Элерса-Данлоса (OMIM130050) наблюдается тонкая полупрозрачная кожа, крупные синяки, характерный внешний вид лица, хрупкость артерий, кишечника и/или матки и преждевременное старение кожи [Pinard A. et al., 2019].

Мутация в гене *LOX*, кодирующем фермент, который образует сшивки между молекулами коллагена и эластина в стенке аорты, вызывает потерю стабильности и эластичности последней [Lee V.S. et al., 2016]. У пациентов с патогенными вариантами в гене

LOX (OMIM617168) наблюдается веретенообразная (фузиформная) аневризма корня и восходящей части аорты в сочетании с различными скелетными проявлениями, подобные которым наблюдаются при синдроме Марфана [Pinard A. et al., 2019].

Несмотря на то, что эластин является основным белком медиального слоя стенки аорты, существует не так много свидетельств его вовлеченности в патогенез аневризм аорты. Было показано, что гетерозиготные патогенные варианты в гене эластина (*ELN*) вызывают аутосомно-доминантное заболевание кожи – генерализованный эластолиз (синдром «вялой кожи», *cutis laxa*). Эти сведения дополняются сообщениями о том, что у этих пациентов развивается сочетанная АВА [Szabo Z. et al., 2006]. Большой интерес представляют белки, участвующие в связывании с эластином для поддержания структурной целостности стенки аорты.

Гетерозиготные мутации с утратой функции (loss-of-function) в гене *MFAP5* нарушают синтез MAGP-2 – одного из белков, связанных с микрофибриллами эластина – предрасполагая к АВА [Barbier M. et al., 2014]. Другим белком с подобной функцией является эмили-1 (*EMILIN1*), гетерозиготная миссенс-замена в котором была найдена у пациента с аневризмами восходящей и нисходящей аорты и повышенной эластичностью кожи, что также позволяет предположить связь этого гена с патогенезом АВА [Szabo Z. et al., 2006; Capuano A. et al., 2016]. Наконец, рецессивные патогенные варианты в гене другого белка, участвующего в поддержании эластина, фибулина 4 (*EFEMP2*), также вызывают повышенную эластичность кожи при аневризмах аорты, а также извитость и стенозы сосудов артериального русла [Al-Hassnan Z.N. et al., 2012; Hibino M. et al., 2018].

Патогенные варианты в генах компонентов внеклеточного матрикса (*FBN1*, *FBN2*, *COL3A1*, *ELN*, *EFEMP2* и *LOX*) приводят к нарушению его гомеостаза, уменьшая механическую прочность сосуда, эластичность и способность сохранять TGF- β в латентном состоянии, что опосредованно влияет на функционирование ГМК [Chou E.L., Lindsay M.E., 2020]. Например, механизмом, объясняющим связь редкой миссенс-мутации (p.Arg373His) в гене *MMP17*, которая приводит к снижению активности данной металлопротеиназы, с АВА, может быть нарушение созревания ГМК и их соединения с эластической мембраной с увеличением чувствительности стенки аорты к воздействию ангиотензина II [Martín-Alonso M. et al., 2015; Papke C.L. et al., 2015]. Субстратом для ММП-17 является остеопонтин – белок внеклеточного матрикса, который высоко экспрессируется не только в аорте, но и в артериях, пораженных атеросклерозом, модулируя фенотип ГМК.

Гены основных ферментов ремоделирования ВКМ также вовлечены в патогенез АВА. Так, было показано, что полиморфизм генов *MMP9* (8202A>G) и *MMP1* (340A>G) связан с развитием АВА [Chen L. et al., 2006; Kato K. et al., 2012].

1.3.5 Гены TGF β /SMAD сигнального пути

Патогенные варианты в генах сигнального пути TGF- β (рецептор TGF- β 1/2, *SMAD2/3* или *TGFB2/3*) связаны с АВА при наследственных заболеваниях соединительной ткани, включая синдромы Лойса-Дитца и Марфана, что подчеркивает их роль в развитии патологии [Pinard A. et al., 2019; Lu H. et al., 2021]. Синдром Лойса-Дитца характеризуется мутациями в генах, кодирующих компоненты сигнального пути TGF- β (*TGFBR1*, *TGFBR2*, *SMAD3*, *TGFB2*, *TGFB3*) [Van Laer L. et al., 2014]. Генетический характер заболевания обуславливает тяжесть клинических проявлений: недостаточность *Tgfbr1* у взрослых мышей приводила к быстрой и тяжелой дегенерации восходящей аорты с развитием аневризмы со 100% пенетрантностью, а делеция *Tgfbr2* приводила к легкой степени этого заболевания [Yang P. et al., 2016].

TGFB2 кодирует TGF- β типа 2 в форме предшественника (полипептида из 442 аминокислот), из которого путем протеолитического расщепления образуется зрелый активный белок из 112 аминокислот. Пациенты с гетерозиготными патогенными вариантами в гене *TGFB2* имеют АВА и признаки синдромов Марфана и Лойса-Дитца (с вовлечением кожи и скелета). Сообщается, что у 1% пациентов с наследуемыми АВА имеется патогенный вариант гена *TGFB2* [Boileau C. et al., 2012].

SMAD3 кодирует внутриклеточный эффектор передачи сигналов TGF- β . У пациентов с синдромом аневризмы-остеоартрита (OMIM613795) наблюдаются ранние аномалии суставов, аневризмы и расслоения на всем протяжении аорты, возникающие в результате мутаций гена *SMAD3* [van de Laar I.M.B.H. et al., 2011]. У мышей с дефицитом *SMAD3* быстро развивалась АВА за счет активации иммунного ответа, однако интересным было то, что в стенке аорты не наблюдалось утраты сосудистых ГМК или повышенного синтеза ММП-9 [van der Pluijm I. et al., 2016]. Генетические варианты *SMAD4*, внутриклеточного вторичного мессенджера пути TGF- β , являются провоцирующими факторами апоптоза сосудистых ГМК, деградации протеогликанов и снижения экспрессии генов сократительных белков в патогенезе АВА у человека [Wang Y. et al., 2017; Duan X.-Y. et al., 2019].

Недавно было показано, что патогенные варианты в гене *LTBP3* в гомозиготном состоянии предрасполагают к АВА наряду с ранее описанными низкорослостью и аномалиями зубов. Кроме того, гетерозиготные редкие варианты *LTBP3* были обнаружены у лиц с острым расслоением аорты с ранней манифестацией [Guo D. et al., 2018]. *LTBP3* кодирует латентный TGF- β -связывающий белок-3 LTBP-3, который принадлежит к семейству белков, регулирующих активность TGF- β , обеспечивая его секрецию, направляя его в определенные участки внеклеточного матрикса и участвуя в его активации [Robertson I.B. et al., 2015].

1.3.6 Другие гены

MAT2A кодирует метионин-аденозилтрансферазу II альфа (МАТ-IIα), которая катализирует перенос аденозильного фрагмента от АТФ к L-метионину для синтеза S-аденозилметионина (SAM). SAM служит донором метильной группы для реакций метилирования с участием ДНК, РНК и белков [Frau M. et al., 2013]. После передачи метильной группы SAM превращается в S-аденозилгомоцистеин, который является конкурентным ингибитором метилтрансфераз и быстро гидролизует до гомоцистеина. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы определить, предрасполагает ли нарушение выработки SAM к аневризмам восходящей аорты [Pinard A. et al., 2019].

ARIH1 кодирует белок, входящий в состав комплекса LINC (линкер нуклео- и цитоскелета), влияющего на модификации хроматина, регуляцию транскрипции и процессинг мРНК. У пациентов с АВА были идентифицированы редкие варианты в гене *ARIH1* [Tan K.L. et al., 2018]. Редкие варианты *ARIH1* изменяют морфологию ядерной мембраны (кариолеммы) ГМК и предрасполагают к развитию АВА [Boerio M.L. et al., 2022].

В недавнем исследовании, реализующем подход глубокого обучения на данных МРТ аорты, был выявлен ген, кодирующий супервиллин (*SVIL*), который гиперэкспрессируется в ГМК сосудов и в значительной степени связан с расширением как восходящей, так и нисходящей аорты [Pirrussello J.P. et al., 2022].

Патогенные варианты в гене *ROBO4*, кодирующего трансмембранный рецептор, определяют предрасположенность к ДАК и АВА. Подавление экспрессии *ROBO4* или синтез мутантного варианта белка в культуре эндотелиальных клеток приводило к нарушению барьерной функции эндотелия и синтетическому фенотипу, указывающему на эндотелиально-мезенхимальный переход [Gould R.A. et al., 2019].

Помимо структурных белков, в ремоделировании аортальной стенки активно участвуют ADAM-протеазы. В исследовании Elbitar S. et al. (2021) впервые были описаны патогенные варианты в гене *THSD4*, белковый продукт которого (ADAMTSL6) участвует в организации внеклеточного матрикса за счет связывания с молекулами фибриллина-1. Были идентифицированы пять функциональных вариантов *THSD4*, два из которых приводили к преждевременной терминации трансляции. Гистологическое исследование образцов аорты пациента-носителя патогенного варианта *THSD4* и мышей *Thsd4^{+/-}* выявило диффузное разрушение внеклеточного матрикса [Elbitar S. et al., 2021].

Еще одной причиной развития АВА при ДАК могут быть мутации с утратой функции (loss-of-function) в гене *SMAD6* – эндотелиальные клетки с дефектным геном имели дефекты в барьерной функции наряду со снижением экспрессии генов, отвечающих за образование межклеточных контактов [Fahey J.K. et al., 2018; Luysckx I. et al., 2019].

1.4 Молекулярно-генетическая диагностика аневризм восходящей аорты

Диагностика аневризм аорты затруднена из-за асимптоматического течения: лишь в 5% случаев неосложненного течения АВА у пациентов встречаются клинические проявления [Elefteriades J.A., 2008]. АВА часто обнаруживается случайно во время обычного клинического обследования и таких методов визуализации, как эхокардиография, МРТ и КТ [Odofin X. et al., 2021]. Современные достижения в области визуализирующих технологий позволяют успешно диагностировать АВА у пациентов, подверженных риску ее расслоения или разрыва [Isselbacher E.M., 2005]. Многочисленные исследования подтвердили целесообразность скрининговой визуализации аорты у родственников пациентов с АВА с положительным семейным анамнезом [Hannuksela M. et al., 2015; Robertson E.N. et al., 2016; Mariscalco G. et al., 2018]. В случае отрицательного результата повторный скрининг может быть проведен через 5 лет для более молодых или через 10 лет для более взрослых членов семьи [Isselbacher E.M. et al., 2022].

Хотя клиническая идентификация пациентов с синдромальными аортопатиями несколько проще (по сравнению с несиндромальными) из-за множества экстрааортальных проявлений и их общей семейной природы, за последнее десятилетие молекулярная генетика стала приобретать все большее значение для диагностики как синдромальных, так и несиндромальных форм аневризм аорты [Ostberg N.P. et al., 2020]. «Молчащий» характер АВА диктует необходимость не только разработки эффективных методов, благодаря которым может быть осуществлена своевременная диагностика аневризм – не менее важно и заблаговременное выявление лиц с риском развития АВА в будущем.

Генетическая природа АВА позволяет проводить диагностику заболевания на основании генетического тестирования, однако данная технология доступна только пациентам из групп с максимальным риском развития АВА (синдромальные, семейные формы) [Odofin X. et al., 2021]. Выявленные патогенные генетические варианты могут помочь врачу с определением тактики лечения и проведением своевременного оперативного вмешательства, а также позволит проводить скрининг родственников из группы риска [Bowdin S.C. et al., 2016; Brownstein A.J. et al., 2018; Acharya M. et al., 2022]. Если у родственников пациентов выявлен патогенный вариант, для которого установлена сильная связь с развитием АВА, им может быть предложена дополнительная визуализация аорты (неинвазивная диагностика) [Hiratzka L.F. et al., 2010; Verhagen J.M.A. et al., 2018].

Панель генетического тестирования АВА в настоящее время включает 11 генов, которые, как подтверждено, имеют сильную причинно-следственную связь с развитием наследуемых форм АВА: *FBN1*, *LOX*, *COL3A1*, *TGFBR1*, *TGFBR2*, *SMAD3*, *TGFB2*, *ACTA2*, *MYH11*, *MYLK* и *PRKG1* [Renard M. et al., 2018]. Для этих генов имеется достаточно данных, чтобы заключить, что патогенные варианты в них создают высокопенетрантный риск развития

АВА и острого расслоения аорты (в сочетании с синдромальными признаками или без них). Мутации в этих генах можно идентифицировать в большинстве семей с синдромами Марфана или ЛДС, тем не менее, во многих семьях, в которых пациенты имеют изолированную аневризму аорты, данная панель будет неэффективна - изменения в известных генах аортопатии встречаются только в 30% семей с АВА без синдромальных особенностей [Pinard A. et al., 2019]. Следует иметь в виду, что наследуемые формы АВА могут быть также связаны с генетическими вариантами в новых, ранее не связанных с АВА генов [Isselbacher E.M. et al., 2022], поэтому на сегодняшний день наиболее актуальными для изучения генетических аспектов АВА представляются методы секвенирования экзона или генома.

Разработаны алгоритмы ведения пациентов с синдромальными или семейными формами АВА, включающие тестирование панели генов [De Backer J. et al., 2020; Milewicz D. et al., 2021; Isselbacher E.M. et al., 2022]. Вместе с тем, как было отмечено выше, у больных со спорадической формой заболевания выявляются не только различные новые варианты в генах синдромальных и наследственных форм, но и «новые» родственники с развившейся аневризмой аорты. Это может свидетельствовать о возникновении мутации *de novo* у «спорадических» пациентов, которая, впоследствии, может быть классифицирована как причина развития заболевания. В связи с этим, в настоящее время разрабатываются алгоритмы ведения больных со спорадическими аневризмами с рекомендациями визуализации восходящей аорты и генетического тестирования не только для пациентов, но и для родственников первой и второй степени родства [Mariscalco G. et al., 2018; Milewicz D. et al., 2021].

В настоящее время предложены критерии для профилактического протезирования восходящей аорты при аневризме, включающие в себя комбинацию из оценки диаметра аорты и генетического тестирования [Faggion Vinholo T. et al., 2019; Reddy P. et al., 2024]. Для хирурга важно учитывать генетические варианты при определении критериев хирургического вмешательства на восходящей аорте у пациентов со спорадическими АВА, предрасположенность к которой может ограничиваться не только известными вариантами в генах наследственных аневризм [Milewicz D. et al., 2021].

Основная проблема в диагностике АВА представляет собой раннее выявление заболевания, которое является «неуловимым», поскольку перед разрывом оно обычно развивается бессимптомно и, в большинстве случаев, приводит к смерти. Поэтому крайне важно выявить механизмы, связанные с развитием аневризмы, чтобы иметь возможность улучшить подходы к своевременной диагностике и лечению АВА.

1.5 Особенности метилирования ДНК при аневризме восходящей аорты

Эпигенетические модификации ДНК у пациентов с АВА проявляются на уровне метилирования ДНК, модификации гистонов, а также экспрессии различных регуляторных РНК

[Krishna S.M. et al., 2010; Jiang et al., 2015; Han et al., 2016; Toghil B.J. et al., 2018; Lino Cardenas C.L. et al., 2018; Greenway et al., 2020; Mangum, Farber, 2020; D'Amico et al., 2020; Rombouts K.B. et al., 2021]. Рассмотрению результатов исследований эпигенетических особенностей в контексте разнообразных факторов риска АВА (артериальная гипертензия, курение, возраст) посвящен ряд обзоров [Krishna S.M. et al., 2010; Forte A. et al., 2016; Davis F.M., Gallagher K.A., 2019]. Наиболее перспективным для изучения в контексте прогрессирования АВА является метилирование ДНК. Более подробно основные особенности метилирования ДНК при аневризме восходящей аорты были рассмотрены нами ранее в обзоре [Кучер А.Н. и др., 2024]. Известно, что метилирование ДНК может влиять на уровень экспрессии генов, белковые продукты которых участвуют в развитии АВА. Эпигенетические модификации могут служить маркерами развития патологии или стадии патологического процесса. Обратимость эпигенетических модификаций, в частности, метилирования, позволяет рассматривать их в качестве мишеней для терапевтического воздействия [Lino Cardenas C.L. et al., 2018; Portelli S.S. et al., 2018; Chang Z. et al., 2020; Tasopoulou K.-M. et al., 2023]. Актуальным является исследование эпигенетических характеристик при АВА, поскольку знание точек воздействия позволит расширить горизонты поиска новых лекарственных препаратов, нацеленных на основные пути патогенеза данного заболевания [Eilenberg W. et al., 2021; Bararu Bojan Bararu Bojan Bararu I. et al., 2023; Gao J. et al., 2023].

Уровень метилирования ДНК изменяется в зависимости от различных факторов: возраста, стажа курения, наличия сопутствующих заболеваний, таких как артериальная гипертензия, атеросклероз, сахарный диабет, нарушениях липидного обмена и др. [Kucher A.N. et al., 2017; Liu P. et al., 2021, 2022; Chu D.-T. et al., 2023; Mishra S. et al., 2023; da Silva Rodrigues G. et al., 2023; Krolevets M. et al., 2023]. Артериальная гипертензия является основным негенетическим фактором развития АВА, приводящим к механическому растяжению сосуда с последующим увеличением его диаметра. Показано, что общий уровень метилирования ДНК снижен в крови пациентов с АГ по сравнению с контрольной группой без АГ [Smolarek I. et al., 2010]. Основной причиной первичной АГ выступает повышение артериального давления, которое связывают с повышенным уровнем метилирования ДНК в генах гомеостаза ГМК сосудов (*IGFBP3*, *KCNK3*, *PDE3A*, *PRDM6*) и генах, связанных с функцией почек (*ARHGAP24*, *OSR1*, *SLC22A7*, *TBX2*) [Kato N. et al., 2015]. Изменения метилирования ДНК при АГ часто затрагивают гены ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (*ACE*, *PRCP*, *HSD11B2*) [Friso S. et al., 2008; Goyal R. et al., 2010; Wang X. et al., 2013; Wise I.A., Charchar F.J., 2016].

Факторы внешней среды также могут влиять на изменение метилирования ДНК при формировании аномалий сосудов. Например, регулярное курение способствовало повышению метилирования ДНК клеток крови в области промоторного региона гена *NOS1AP*, причем более

высокое метилирование данного региона также наблюдали у пациентов с внутрисердечной аневризмой по сравнению группой лиц с артериовенозной мальформацией сосудов головного мозга [Wang Z. et al., 2016]. Кроме того, зарегистрирована разница в уровне метилирования ДНК между пациентами в зависимости от пола в контрольной группе (у мужчин выше, чем у женщин) и в группе с артериовенозной мальформацией сосудов головного мозга (у женщин выше, чем у мужчин) [Wang Z. et al., 2016].

Ввиду того, что АВА – многофакторное заболевание, на развитие которого могут влиять как генетические, так и негенетические (внешнесредовые) факторы, а клинические фенотипы данного заболевания гетерогенны, поиск публикаций, связанных с анализом метилирования ДНК при развитии АВА является нетривиальной задачей. Всего в доступной литературе обнаружено четыре исследования, посвященных изучению метилирования ДНК при спорадических АВА (Приложение Б). Исследования проведены в образцах аорты [Shah A.A. et al., 2015; Pan S. et al., 2017; Björck H.M. et al., 2018; Liu P. et al., 2021], так и в отдельных популяциях клеток, входящих в состав аортальной стенки (эндотелиальных и гладкомышечных клетках аорты) [Björck H.M. et al., 2018].

Тканеспецифическое полногеномное профилирование метилирования ДНК, выполненное в образцах аорты пациентов с ДАК и АВА, выявило девять генов (*ERGIC1*, *GAPT*, *GLRX*, *KLHL6*, *LIMS2*, *MYO18A*, *PPTPN22*, *RIPK1*, *ZBP1*) со значительным дифференциальным метилированием и экспрессией по сравнению с образцами АВА пациентов с ТАК [Shah A.A. et al., 2015]. Наиболее существенные различия в уровне метилирования выявлены для гена *PPTPN22* (гиперметилирован), белковый продукт которого играет важную роль в регуляции иммунного ответа, увеличивает передачу сигналов Т-лимфоцитами (Приложение Б) [Burn G.L. et al., 2011]. Активированные Т-лимфоциты в стенке аорты могут привести к апоптозу сосудистых ГМК и дегенерации ВКМ [He R. et al., 2008], что является основным гистологическим субстратом медиальной дегенерации.

У пациентов с ДАК и АВА среди 333 CpG-сайтов генов, патогенные варианты в которых приводят к развитию данных патологий (*NOTCH1*, *AXIN1*, *EGFR*, *ENG*, *GATA5*, *NKX2-5*, *NOS3*, *PDIA2* и *TGFBR2*), дифференциальное метилирование регистрировали в 2 раза чаще, чем при анализе CpG-сайтов на случайно сформированном наборе из 500 генов (Приложение Б) [Pan S. et al., 2017].

Следует подчеркнуть, что характер изменения метилирования ДНК в пораженных участках аорты не всегда согласуется с таковыми при исследовании других тканей, участков сосудов или даже близлежащих непораженных участков аорты. Так, в работе Björck H.M. et al. (2018) были обнаружены аортоспецифичные отличия метилирования 39984 отдельных CpG-сайтов между пациентами с ДАК и ТАК (с расширенной аортой в обоих случаях), тогда как в

комплексе интима-медиа внутренних грудных артерий у тех же пациентов не наблюдали различий по глобальному и среднему уровню метилирования ДНК (Приложение Б) [Björck H.M. et al., 2018].

Среди дифференциально метилированных генов, выявленных между образцами аорты пациентов с ДАК и ТАК (в обоих случаях с нерасширенной аортой) и между эндотелиальными клетками, подвергшимися воздействию колебательного и ламинарного потоков, больше сходства по дифференциально метилированным генам выявлено у пациентов с предрасполагающими анатомическими особенностями (двустворчатый клапан) и при воздействии провоцирующих факторов (изменение тока крови; Приложение Б) [Björck H.M. et al., 2018].

Данные по дифференциальной экспрессии для эпигенетически модифицированных генов АВА наблюдались и в независимых исследованиях [Shah A.A. et al., 2015; Björck H.M. et al., 2018; Doppler C. et al., 2023]. Так, в том же исследовании Björck H.M. et al. (2018) было установлено снижение метилирования гена *MYLK* в аорте у пациентов с ДАК по сравнению с ТАК (как с расширенной, так и нерасширенной аортой) и чувствительность статуса метилирования ДНК к нарушению кровотока [Björck H.M. et al., 2018]. В работе Doppler C. et al. (2023) было отмечено увеличение экспрессии данного гена у пациентов с ДАК по сравнению с ТАК (с расширенной аортой) [Doppler C. et al., 2023]. Более высокую экспрессию белкового продукта гена *MYLK* в интима и меди аорты наблюдали у пациентов с ДАК по сравнению с ТАК (в обеих выборках – с нерасширенной аортой) [Maleki S. et al., 2016].

Однако обратная зависимость между уровнем метилирования гена и его экспрессией обнаруживается не во всех случаях. Так, для гена *ACTA2* установили дифференциальное метилирование, но не различия по уровню экспрессии между пациентами с АВА с ДАК и ТАК [Shah A.A. et al., 2015]; для гена *FBN1* более низкий уровень и метилирования [Björck H.M. et al., 2018], и экспрессии [Doppler C. et al., 2023] наблюдали у пациентов с расширенной аортой и двустворчатым аортальным клапаном по сравнению с трехстворчатым. Для двух НОХ-генов (*НОХА5*, *НОХВ6*) зарегистрирована положительная корреляция между уровнем метилирования и экспрессии и для одного (*НОХС6*) – отрицательная [Liu P. et al., 2021]. Противоречивость результатов, с одной стороны, может быть следствием высокой клинической гетерогенности АВА, а с другой - указывает на многогранность регуляторных процессов реализации генетической программы.

Несмотря на наши ограниченные знания в отношении метилирования ДНК при АВА, очевидным является факт влияния процессов метилирования на возникновение и прогрессирование данной патологии. Метилирование ДНК в клетках аорты при АВА или ее факторов риска наблюдается для генов, белковые продукты которых задействованы в

функционировании сердца и сосудов, а также в развитии других патологий сердечно-сосудистой системы. В то же время, из-за клинической гетерогенности аневризм и различий в подходах по исследованию метилирования ДНК полученные результаты являются недостаточными, данные из разных исследований сложно сравнить, а их результаты зачастую не согласуются между собой.

1.6 Заключение

Аневризма восходящей аорты и атеросклероз сосудов различных бассейнов длительное время протекают бессимптомно и являются относительно частыми патологическими состояниями, которые приводят к жизнеугрожающим и инвалидизирующим осложнениям, составляя существенный груз для общества и системы здравоохранения. Тем не менее, до сих пор остается неясной взаимосвязь между этими патологиями на клиническом, морфологическом и молекулярно-генетическом уровнях. Необходимо понимать механизмы формирования коморбидности данных заболеваний у индивидов для разработки новых эффективных подходов к лечению, а также иметь биомаркеры предикции риска их осложненного совместного течения – острых сосудистых катастроф.

Аневризма восходящей аорты и атеросклероз различных сосудов имеют существенную генетическую составляющую. Генетическая структура предрасположенности данных заболеваний – гетерогенная. Она включает как редкие патогенные варианты широкого спектра генов, являющиеся причинными для развития семейных или моногенных форм патологии, так и частые варианты с малым эффектом, которые оказывают влияние на повышение риска заболевания в течение жизни. Кроме генетической вариабельности, эпигенетические факторы могут вносить вклад в коморбидные отношения АВА и атеросклероза. Особый интерес в отношении изучения коморбидности этих патологий представляет анализ генетической вариабельности и профиля метилирования ДНК в области локусов/генов, которые являются общими для данных заболеваний и которые будут определены в результате настоящего исследования.

Полученные данные будут использованы для проверки гипотезы о том, что генетическая вариабельность и метилирование ДНК в аорте обеспечивают коморбидность АВА и атеросклероза сосудов различной локализации. С практической точки зрения, актуальной является оптимизация алгоритма молекулярно-генетической диагностики спорадических форм АВА, а накопление данных по метиломам грудной аорты (в том числе и в очаге ее атеросклеротического поражения) и других тканей при патологии станет основой для оценки риска развития АВА, особенно в случае, когда у пациентов не выявлено патогенных генетических вариантов.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Общая характеристика клинического материала

В исследование были включены пациенты с диагнозом аневризмы восходящей аорты мужского и женского пола, находившиеся на лечении в НИИ Кардиологии Томского НИМЦ (отделение сердечно-сосудистой хирургии, заведующий – д.м.н. Козлов Б.Н., хирург – д.м.н. Панфилов Д.С.) в период с 2013 по 2023 гг. Исследование было одобрено локальными этическими комитетами НИИ Медицинской генетики (протокол № 13 от 15.11.2021 г.) и НИИ Кардиологии (протокол № 213 от 12.05.2021 г.) ТНИМЦ и проведено в соответствии с основополагающими этическими принципами Хельсинкской Декларации. Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Медицинская геномика» Томского НИМЦ и ресурсов биобанка «Биобанк населения Северной Евразии» НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ.

Согласно сформулированным задачам, дизайн исследования был спланирован следующим образом (Рисунок 3). В целях решения задачи по оценке частоты/спектра сопутствующих заболеваний и анализу структуры коморбидности у больных с аневризмой восходящей аорты Сибирского региона были проанализированы клиничко-анамнестические данные 185 пациентов (128 мужчин, 57 женщин, средний возраст $57,1 \pm 11,6$ лет) с аневризмой/дилатацией восходящей аорты, которым было проведено открытое хирургическое лечение в НИИ кардиологии ТНИМЦ в период 2013-2022 гг.

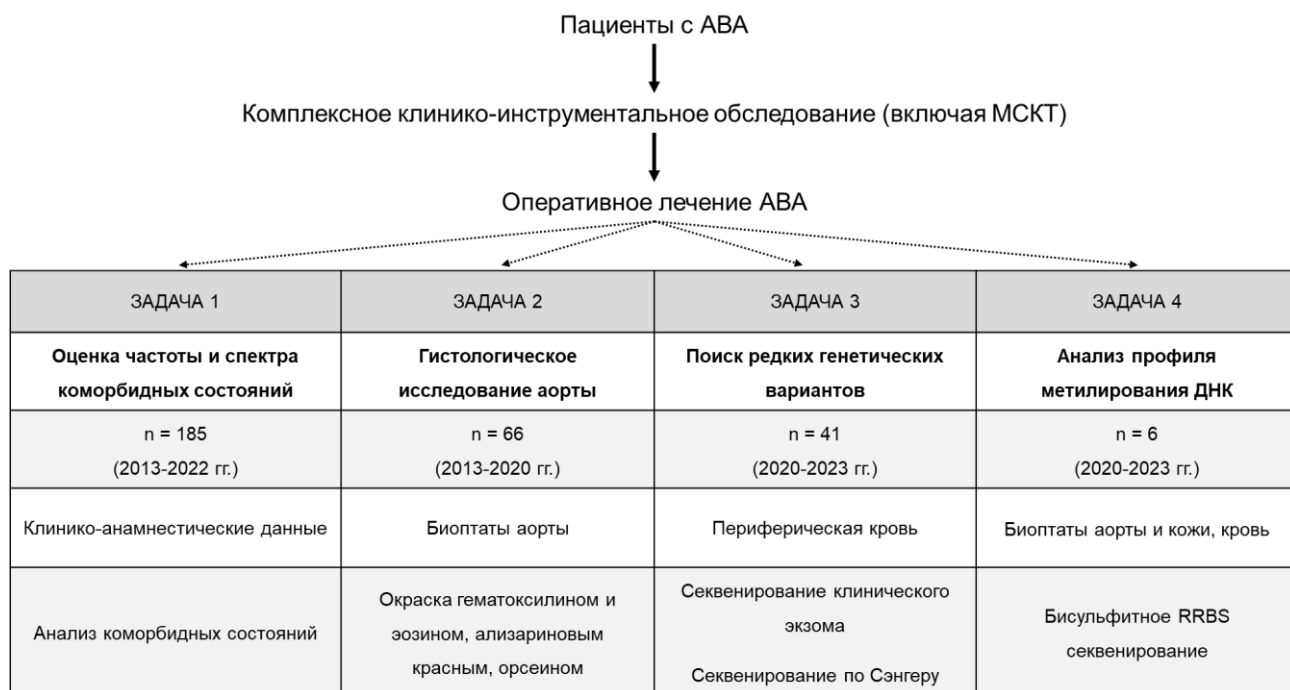


Рисунок 3 – Дизайн исследования

Для исследования морфологических особенностей аневризмы восходящей аорты был использован биопсийный материал от 66 пациентов (46 мужчин, 20 женщин, средний возраст $57,0 \pm 10,9$ лет) из трех зон восходящей аорты на уровне синотубулярного соединения (зона 1), тубулярной части восходящей аорты на уровне бифуркации легочного ствола (зона 2) и проксимального отдела восходящей аорты до места отхождения брахиоцефального ствола (зона 3). Формирование выборок для выполнения первых двух задач проводилось ретроспективно.

Для решения задач по поиску редких вариантов в генах наследственных аневризм восходящей аорты и выявлению специфического профиля метилирования ДНК в различных участках восходящей аорты при коморбидности аневризмы и атеросклероза аорты были сформированы выборки объемом 41 (27 мужчин, 14 женщин, медиана возраста 54 [48; 64] года) и 6 (мужчины, медиана возраста 53 [50,5; 58,5] года) пациентов с диагнозом аневризмы восходящей аорты, проходивших хирургическое лечение в НИИ кардиологии ТНИМЦ в период 2020-2023 гг. Формирование групп исследования проводилось по мере поступления пациентов в отделения института.

Критерии включения для пациентов: установленный диагноз аневризмы восходящей аорты с дифференцировкой на типы аннулоаортальная эктазия, супракоронарная аневризма и тубулярное диффузное расширение при компьютерной томографии с последующей хирургической коррекцией аневризмы; возраст больных старше 18 лет; расширение восходящей аорты $>5,5$ см без сочетанного поражения аортального клапана; расширение восходящей аорты $>4,5$ см при выраженном наличии стеноза аортального клапана или его недостаточности; подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения: возраст пациентов младше 18 лет; расслоение восходящей аорты; наличие в семье случаев аневризмы восходящей аорты; подтвержденный генетический синдром (Марфана, Лойса-Дитца, Элерса-Данло); повторное оперативное вмешательство на аорте; отказ от операции/участия в исследовании.

Больным проводили комплексное клиническое и лабораторно-инструментальное обследование, включающее в себя: выявление жалоб, сбор анамнеза, общий осмотр, определение общепринятых лабораторных показателей. Заключение о наличии сопутствующих патологий делали на основании анамнеза и инструментальных исследований, включающих дуплексное ультразвуковое исследование магистральных артерий (сонных, подключичных и бедренных), эхокардиографию, коронароангиографию.

Размеры аорты определяли с помощью мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ) перпендикулярно продольной оси с захватом стенки на нескольких уровнях в соответствии с национальными рекомендациями. МСКТ аорты выполнялась на томографе GE Discovery NM/CT 570C (GE Healthcare, США) со следующими параметрами: 200-400 мА, 100-

120 кВт. Изображения были реконструированы с толщиной среза 0,65 мм. Инъекцию контрастного вещества со скоростью 5 мл/сек проводили через локтевую вену при помощи автоматического инжектора. Общий объем контраста рассчитывали в зависимости от веса пациента в расчете 1 мл на 1 кг массы тела. С целью лучшей визуализации корня аорты и восходящего отдела и исключения артефактов выполняли ЭКГ-синхронизированное исследование от бифуркации сонных артерий до диафрагмы. Полученные изображения обрабатывали на специализированной рабочей станции Advantage Workstation 4.3 (GE Healthcare, США). С помощью компьютерной томографии определена степень кальцификации аорты и коронарных сосудов и рассчитан индекс Агатстона.

2.2 Медико-генетическое консультирование

Проведено клинико-генетическое обследование 41 пациента с аневризмой восходящего отдела аорты, оперированных в 2021-2023 годах в НИИ кардиологии Томского НИМЦ, в формате анкетирования и функционального тестирования (по шкале Марфана и Бейтона) для выявления признаков диспластических изменений соединительной ткани [Grahame R. et al., 2000; Loeys B. et al., 2010]. Для проведения клинико-генетического обследования больных с аневризмой восходящей аорты разработана регистрационная карта пациента (Приложение В).

2.3 Гистологическое исследование образцов восходящей аорты

Для гистологического исследования были получены образцы восходящей аорты от 66 пациентов с АВА, проходивших лечение в НИИ Кардиологии Томского НИМЦ в период с 2013 по 2020 гг.

Взятие биоптатов, соответствующих трем зонам восходящей аорты (1-синотубулярное соединение (СТС); 2-часть восходящей аорты на уровне бифуркации легочного ствола (средняя зона тубулярной части восходящей аорты); 3-проксимальная часть дуги аорты; Рисунок 4) проводилось во время одномоментного протезирования восходящего отдела аорты с резекцией дуги аорты по типу "полудуги" ("hemiarach"). Объем взятого образца из каждой зоны не превышал 10 мм³. Путем визуального осмотра биоптата аорты в операционной оценивалось наличие/отсутствие атеросклеротического поражения на любой из макроскопических стадий. В случае наличия атеросклеротического поражения из этой области брали биоптат размером 0,5*1,5 см. Оперативные вмешательства проводились на базе отделения сердечно-сосудистой хирургии (заведующий – д.м.н. Козлов Б.Н., хирург – д.м.н. Панфилов Д.С.) в плановом порядке. У всех пациентов наибольший диаметр аорты отмечался на уровне ее восходящего отдела.

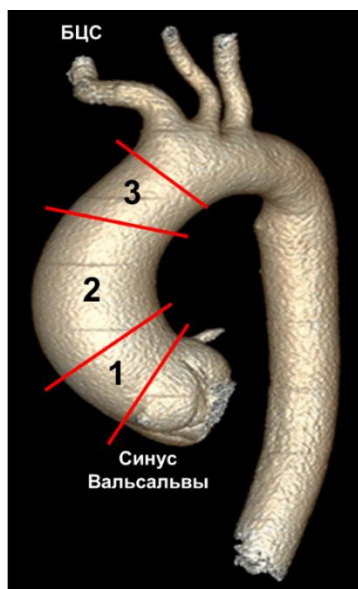


Рисунок 4 – Зоны аорты, из которых взят материал для исследования: 1 – синотубулярное соединение; 2 - часть восходящей аорты на уровне бифуркации легочного ствола; 3 - проксимальная часть дуги аорты. БЦС – брахиоцефальный (плечеголовной) ствол

Пробоподготовку гистологических препаратов осуществляли по стандартной методике. Сразу после взятия образцы помещали в 10% забуференный формалин (HistoSafe, БиоВитрум, Санкт-Петербург) на 24-48 часов. Затем следовали этапы промывки в проточной воде (24 ч) и обезвоживания в растворе изопропилового спирта IsoPrep (БиоВитрум, Санкт-Петербург). После обезвоживания образцы восходящей аорты заливали в гомогенизированную парафиновую среду для заливки HISTOMIX (БиоВитрум, Санкт-Петербург). Парафиновые срезы толщиной 4-5 мкм были получены при помощи автоматического ротационного микротомы HM 355 S (Thermo, США).

Срезы окрашивали по стандартной методике гематоксилином и эозином, а также ализариновым красным (Даль, 1952). Ализариновый красный – органическое соединение ряда оксиантрахинонов, применяется как индикатор для определения ионов двухвалентных металлов, в т.ч. кальция. Для оценки состояния эластического каркаса образцов восходящей аорты пациентов с АВА нами было проведено окрашивание срезов орсеином.

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

2.3.1 Морфометрия

Гистологическая характеристика микропрепаратов была дана на основании критериев, предложенных в недавних публикациях [Halushka M.K. et al., 2016; Leone O. et al., 2020; Surman T. L. et al., 2021]. Морфология срезов оценивалась опытным гистологом.

В список оцениваемых параметров вошли: разрыв интимы-меди (расслаивающая аневризма), потеря целостности эндотелия, субэндотелиальный фиброз, неоангиогенез, наличие атеросклероза, аортит, периаортит, интраламеллярное мукоидное набухание, трансламеллярное мукоидное набухание, коллапс эластических мембран, истончение эластических мембран, фрагментация и частичная утрата эластических мембран, дезорганизация эластических мембран, утрата ядер гладкомышечных клеток.

Подсчет морфометрических показателей производили при помощи программы ImageJ (США). Для этого с каждого среза было получено не менее 5 фотографий при итоговом увеличении $\times 400$ в случайных полях зрения на срезах, окрашенных гематоксилин-эозином и орсеином (для оценки состояния эластического каркаса). Воспаление определяли при наличии кластеров воспалительных клеток любого типа размером больше 20 клеток в любой из трех оболочек сосуда [Stone J.R. et al., 2015]. Качественные данные описывали частотой встречаемости кластеров. Количественный подсчет клеток воспалительного инфильтрата проводился методом точечного счета в пяти случайных полях зрения с помощью плагина Cell Counter (ImageJ, США). Оценку толщины комплекса интима-медиа аорты проводили на гистологических срезах, окрашенных гематоксилином и эозином путем многократного измерения линейного расстояния в различных частях среза (не менее 3-х измерений) при помощи программы ImageJ (США).

Для количественной оценки солей кальция в аорте пациентов измеряли процент площади положительного окрашивания, с помощью инструмента для автоматической или интерактивной установки нижнего и верхнего пороговых значений (threshold), сегментируя изображения в градациях серого на интересующие объекты и фон, предварительно конвертируя изображения в 8-битное представление при помощи программы ImageJ [Schindelin J. et al., 2012; Zhu L. et al., 2019]. Для этого с каждого среза было получено 5-7 изображений ($400\times$) с последующим подсчетом среднего значения площади положительного окрашивания (среднего процента кальцификации). Рассчитывали процент площади, на которой представлен маркер, от площади исследуемой ткани. Поскольку соли кальция являются диффузно распределенными в толще стенки аорты, за основу методики подсчета был взят алгоритм Crowe A.R. & Yue W. (2019) [Crowe A.R., Yue W., 2019] для анализа результатов иммуногистохимического окрашивания диффузно-экспрессированных маркёров.

2.4 Молекулярно-генетическое обследование пациентов с аневризмой восходящей аорты

Для решения данной задачи была сформирована выборка из 41 пациента с АВА. Большинство пациентов были мужчинами (65,9%). Возраст исследуемой выборки составил 54 [48; 64] года и значимо не отличался между мужчинами и женщинами ($p = 0,559$). Большинство пациентов (61,0%) имели двустворчатый аортальный клапан. Артериальная гипертензия (64,3%), ожирение (42,9%), гиперлипидемия (23,8%) и сахарный диабет 2 типа (СД2) (7,1%) также были зарегистрированы в исследуемой выборке. Распространенность этих факторов риска не различалась среди пациентов мужского и женского пола. Ишемическая болезнь сердца (ИБС), стенокардия или инфаркт миокарда (ИМ) были выявлены у 30,9% пациентов и чаще встречались у мужчин ($p = 0,039$).

Взятие венозной крови в объеме от 5 до 10 мл производили из подключичной вены интраоперационно в стерильные одноразовые пробирки, содержащие антикоагулянт ЭДТА, с помощью вакуумных систем сертифицированным медицинским персоналом. Пробирки с биологическим материалом маркировались непосредственно на месте процедуры. Образцы крови хранились при температуре -20°C .

2.4.1 Секвенирование клинического экзона и анализ данных

Выделение ДНК из лейкоцитов периферической крови выполняли с помощью фенол-хлороформной экстракции. ДНК растворяли в ТЕ-буфере, pH 8.0. Качество и количество ДНК проверяли на спектрофотометре Nanodrop 8000 (Thermo, США), флуориметре Qubit 3 (Thermo, США), а также с помощью 1% агарозного геля с 1X TAE-буфером, pH=8,0.

Пробоподготовку ДНК-библиотек выполняли с помощью набора Clinical Exome Solution (Sophia Genetics, Швейцария), KAPA Library Amplification kit KK2620 (Roche, Германия) и магнитных частиц Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter, США) по протоколу Clinical Exome Solution (Sophia Genetics, Швейцария). Анализ качества ДНК-библиотек проводили с помощью флуориметра Qubit 3 (Thermo, США) и системы капиллярного электрофореза Bioanalyzer 2100 (Agilent, США), согласно протоколу производителя.

Секвенирование ДНК-библиотек выполнено с помощью прибора NextSeq 500 (Illumina, США) с набором NextSeq 500/550 Mid Output Kit v2 (300 циклов в режиме секвенирования по 150 п.н. с обоих концов фрагментов ДНК-библиотеки), согласно протоколу производителя.

Прочтения выравнены на референсный геном (GRCh38) с использованием Illumina DRAGEN Bio-IT (Illumina, США). Аннотация вариантов выполнена с использованием программы ANNOVAR.

Поиск редких вариантов (частота минорного аллеля $<1\%$) проводился в экзонах и прилегающих интронных областях 53 генов наследственных и синдромальных форм аневризмы

восходящей аорты (Таблица 1). Выбор генов выполнен на основании данных, представленных в базе ClinGen и в научной литературе [Renard M. et al., 2018; Hamandi M. et al., 2020; Wang Z. et al., 2020; Elbitar S. et al., 2021; Li Y. et al., 2021; Rodrigues Bento J. et al., 2022].

Таблица 1 – Кандидатные гены для поиска генетических вариантов

Ген	Локус	Ген	Локус	Ген	Локус
<i>ACTA2</i>	10q23.31	<i>ELN</i>	7q11.23	<i>COL1A2</i>	7q21.3
<i>COL3A1</i>	2q32.2	<i>FBN2</i>	5q23.3	<i>COL4A1</i>	13q34
<i>FBN1</i>	15q21.1	<i>FLNA</i>	Xq28	<i>COL5A1</i>	9q34.3
<i>MYH11</i>	16p13.11	<i>HCN4</i>	15q24.1	<i>COL5A2</i>	2q32.2
<i>MYLK</i>	3q21.1	<i>MAT2A</i>	2p11.2	<i>COL9A1</i>	6q13
<i>SMAD3</i>	15q22.33	<i>NOTCH1</i>	9q34.3	<i>COL9A2</i>	1p34.2
<i>TGFB2</i>	1q41	<i>PKD1</i>	16p13.3	<i>EMILIN1</i>	2p23.3
<i>TGFBR1</i>	9q22.33	<i>PKD2</i>	4q22.1	<i>ENG</i>	9q34.11
<i>TGFBR2</i>	3p24.1	<i>SKI</i>	1p36.33-p36.32	<i>GATA5</i>	20q13.33
<i>LOX</i>	5q23.1	<i>SLC2A10</i>	20q13.12	<i>GJA1</i>	6q22.31
<i>PRKG1</i>	10q11.23-q21.1	<i>SMAD4</i>	18q21.2	<i>JAG1</i>	20p12.2
<i>EFEMP2</i>	11q13.1	<i>TGFB3</i>	14q24.3	<i>MED12</i>	Xq13.1
<i>FOXE3</i>	1p33	<i>ACVRL1</i>	12q13.13	<i>PLOD1</i>	1p36.22
<i>MFAP5</i>	12p13.31	<i>ADAMTS10</i>	19p13.2	<i>PLOD3</i>	7q22.1
<i>SMAD2</i>	18q21.1	<i>B3GAT3</i>	11q12.3	<i>SMAD6</i>	15q22.31
<i>BGN</i>	Xq28	<i>COL11A1</i>	1p21.1	<i>UPF3B</i>	Xq24
<i>CBS</i>	21q22.3	<i>COL18A1</i>	21q22.3	<i>VCAN</i>	5q14.2-q14.3
<i>COL4A5</i>	Xq22.3	<i>COL1A1</i>	17q21.33		

Классификацию выявленных вариантов по степени патогенности проводили согласно Стандартам и рекомендациям Американского колледжа медицинской генетики по интерпретации вариантов последовательностей (ACMG standards and guidelines for the interpretation of sequence variants) с использованием инструментов VarSome The Human Genomics Community (<https://varsome.com/>), AlphaMissense (<https://alphamissense.hegelab.org/>) [Tordai H. et al., 2023], а также баз данных RUSeq (дата доступа 20.06.2024), gnomAD (v4.1.0, дата доступа 20.06.2024) и ФМБА России (версия 59.1, дата доступа 05.06.2025).

2.5 Секвенирование по Сэнгеру

Валидацию отдельных идентифицированных вариантов в генах *COL3A1*, *FBN1*, *MYH11*, *COL4A5*, *NOTCH1* и *PLOD3* осуществляли при помощи прямого двунаправленного секвенирования по Сэнгеру на автоматическом секвенаторе 3730xl DNA Analyzer (Applied Biosystems, США). ПЦР проводили с использованием готовой реакционной смеси HS-Taq ПЦР-Color (2×) (Биолабмикс, Россия) и подобранными праймерами (Таблица 2) в соответствии с протоколом фирмы-изготовителя. Праймеры были подобраны по последовательности генома hg38 с помощью инструмента Primer Quest Tool и Primer Design and Search Tool. Для очистки

ПЦР продуктов использовали набор реагентов: термолабильная экзонуклеаза Eho I (Thermo Scientific, США), термолабильная щелочная фосфатаза креветки SAP (Thermo Scientific, США), вода деионизованная, ПЦР-продукт. Для последующей постановки секвенирующей реакции использовали набор реагентов: секвенирующий набор BigDye Sequencing kit v3.1 (Thermo Scientific, США), 5-х секвенирующий буфер, праймер прямой или обратный, ПЦР-продукт, вода деионизованная. Для очистки продуктов секвенирующей реакции использовали набор реагентов D-Pure (Nimagen, Нидерланды). Очистку проводили согласно протоколу, прилагаемому к набору.

Таблица 2 – Гены и последовательности праймеров для секвенирования по Сэнгеру

Ген	Экзон	Последовательность
<i>COL3A1</i>	ex36	F 5'- GCTGAGAGATTGCTGTTG -3' R 5'- GGTGCTGAGATTCATACTTG -3'
<i>FBN1</i>	ex64	F 5'- GACAGCCACACAGGTAA -3' R 5'- CATAGCAAGAAGCCACATC -3'
<i>MYH11</i>	ex35	F 5'- CAGAGGAGGACGAAATGA -3' R 5'- TGTGCAAAGCTGAACTG -3'
<i>COL4A5</i>	ex17	F 5'- CCAGTATTCTCATTTGCTTCTAT -3' R 5'- TATTTCTGCAACATGGACTG -3'
<i>NOTCH1</i>	ex6	F 5'- GGACACTCGCAGTAGAA -3' R 5'- TCCACAGAGCACAAAGA -3'
<i>PLOD3</i>	ex8	F 5'- GCTGGAAGATGCAACAC -3' R 5'- GGAAACGGTCCCCACTAA -3'

Визуализацию и анализ результатов секвенирования ДНК по Сэнгеру осуществляли с помощью программного обеспечения UGENE (v.42.0 Unipro, Россия).

2.6 Анализ уровня метилирования ДНК

Оценка уровня метилирования ДНК проведена в 27 образцах различных тканей у шести пациентов с аневризмой восходящей аорты: 6 биоптатов из области дилатированной тубулярной части восходящей аорты; 6 биоптатов из области нерасширенной проксимальной части дуги аорты (нормальная ткань); 4 атеросклеротические бляшки, локализованные в дилатированной части; 6 образцов периферической крови; 5 образцов кожи из зоны стернотомии. Сразу после взятия хирургом биоптаты размером ~0,5*1,5 см помещали в пробирку, содержащую реагент для стабилизации РНК и хранения образцов RNAlater (RNAlater Solutions for RNA Stabilization and Storage, Thermo, США) (1,5 мл) в +4°C на 24 часа с последующим переносом образцов в морозильную камеру (-80°C) для долгосрочного хранения.

Группа обследованных включала 6 мужчин (медиана возраста 53 [50,5; 58,5] года) с аортальным клапаном нормального строения (трикуспидальный). У всех пациентов

наблюдалась артериальная гипертензия, у трех – стенокардия, у четырех – ожирение и у одного пациента был сахарный диабет второго типа. Атеросклеротические бляшки восходящей аорты находились в проксимальном отделе дуги аорты и соответствовали разным стадиям атеросклеротического процесса: стадия «липидных полос» (один пациент) и стадия фиброзных бляшек (три пациента).

Метилирование ДНК оценивалось с помощью бисульфитного RRBS секвенирования. Для выполнения анализа 100 мкг ДНК/образец фрагментировали расщеплением MspI (Сибэнзим, Россия). Репарацию концов и А-хвостов фрагментов осуществляли с использованием набора для подготовки библиотеки ДНК NEBNext Ultra для Illumina (New England Biolabs, США) с последующим лигированием метилированных адаптеров (IDT, США) и очисткой продукта. Далее проводили отбор фрагментов по размеру 150-500 нуклеотидов при помощи магнитных шариков (Agencourt AMPure XP, Beckman Coulter, США). Лигированную с адаптером и очищенную ДНК обрабатывали бисульфитом натрия (D5001 EZ DNA Methylation Kit, Zymo Research, США) и амплифицировали с помощью ПЦР в течение 14 циклов (NEBNext Q5U Master Mix, NEB, США) с использованием универсальных и индексных праймеров (NEBNext Multiplex Oligos для Illumina). Продукт ПЦР очищали на магнитных шариках (Agencourt AMPure XP, Beckman Coulter, США). После контроля качества (Bioanalyzer 2100, Agilent) библиотеку RRBS секвенировали на приборе Illumina HiSeq1500 (2 × 150 п.н.).

Результаты RRBS секвенирования были обработаны с помощью DRAGEN Bio-IT v.3.9.5 (Illumina, США) и сопоставлены с геномом человека (сборка GRCh38). Для оценки качества использовали программу MultiQC v.1.11. На один образец приходилось 51,9 [47,45; 63,6] миллионов прочтений. Анализ дифференциального метилирования ДНК проводился с использованием пакетов methylKit (v.1.34.0) и limma (v.3.64.0). Минимальное покрытие составило 10×. Для анализа сохранялись позиции, которые присутствовали минимум в 2 образцах из каждой группы.

Дифференциальное метилирование ДНК оценено путем попарного сравнения уровня метилирования каждого CpG-сайта между группами образцов тканей восходящей аорты: дилатированная часть аорты (далее аневризма аорты)/атеросклеротическая бляшка аорты (АА/АБ); аневризма аорты/нормальная ткань аорты (АА/НА); аневризма аорты/кровь (АА/КВ); аневризма аорты/кожа (АА/КЖ); атеросклеротическая бляшка аорты/нормальная ткань аорты (АБ/НА); атеросклеротическая бляшка аорты/кровь (АБ/КВ); атеросклеротическая бляшка аорты/кожа (АБ/КЖ).

Дифференциальное метилирование ДНК оценивалось на разных уровнях значимости: общее число CpG-сайтов, различающихся между группами по уровню

метиляции ($p \leq 0,05$); CpG-сайты с разницей среднего уровня метилирования между группами образцов $|\Delta\beta| \geq 0,2$ и $FDR < 0,05$.

Аннотация регуляторных элементов транскрипционных факторов и CpG-островков проводилась в браузере UCSC (<https://genome.ucsc.edu/>), а биологических процессов и молекулярных функций белковых продуктов дифференциально метилированных генов (ДМГ) – в браузере UniProt (<https://www.uniprot.org/>). Анализ обогащения метаболических путей и биологических процессов белковых продуктов ДМГ выполнен в браузерах Metascape (<https://metascape.org/gp>) и WEB-based GENE SeT AnaLysis Toolkit (<https://www.webgestalt.org/>). Для проведения обогащения использовались все гены, значимыми считались результаты при $pFDR < 0,05$.

Для сравнения полученных данных о метилировании ДНК в аорте у пациентов с аневризмой и атеросклерозом восходящей аорты были привлечены внешние данные по метилированию ДНК в тканях аорты при расслоении или атеросклерозе без аневризмы, находящиеся в открытом доступе в базе данных NCBI в категории GEO DataSets (GSE202047, GSE84274, GSE46394, GSE46401), а также коронарных и сонных артерий при атеросклерозе [Назаренко М.С., 2018]

2.7 Методы статистического анализа

Статистический анализ данных производили при помощи программ MS Excel, IBM SPSS Statistics v.22.0.0.0 и JASP v.0.17. Для проверки нормальности распределения полученных данных использовали критерий нормальности Шапиро-Уилка (распределение считали нормальным при $p > 0,05$). При нормальном распределении для описания были использованы среднее и стандартное отклонение ($\text{Mean} \pm \text{S.D.}$), при распределении значений величин, отличающемся от нормального - непараметрические оценки распределения в виде $Me [Q1; Q3]$, где Me — медиана, $Q1$ — 1-й квартиль (25-й перцентиль), $Q3$ — 3-й квартиль (75-й перцентиль). Статистическую значимость межгрупповых различий количественных величин оценивали при помощи параметрического критерия Стьюдента или непараметрического критерия Манна-Уитни или критерия Краскала-Уоллиса, если количество групп сравнения превышало 2. В случае повторяющихся измерений для выявления различий между группами использовали критерий Фридмана. Статистическую значимость межгрупповых различий номинативных данных оценивали с использованием точного Z-критерия Фишера и критерия χ^2 . Оценку корреляционных связей между парами количественных признаков осуществляли с помощью непараметрического рангового коэффициента Спирмена. Различия считали статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Оценка спектра и частоты коморбидных состояний у пациентов с аневризмой восходящей аорты

Анализ структуры коморбидности у пациентов с АВА проведен с учетом широкого спектра сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), а также патологий других органов и систем (Таблица 3). Для решения этой задачи была проанализирована клинико-anamнестическая база данных 185 пациентов (средний возраст $57,1 \pm 11,6$ лет), проживающих на территории Сибирского Федерального округа (СФО) и проходивших лечение в НИИ кардиологии ТНИМЦ в 2013-2022 гг.

Таблица 3 – Спектр коморбидных состояний у пациентов с АВА

Патология		Все пациенты n=185	Мужчины n=128 (69,2%)	Женщины n=57 (30,8%)	p
		n / %			
Ишемическая болезнь сердца		59 / 31,9	48 / 37,5	11 / 19,3	0,017
Инфаркт миокарда		15 / 8,1	14 / 10,9	1 / 1,8	0,040
Хроническая сердечная недостаточность		53 / 28,6	39 / 30,5	14 / 24,6	0,482
Атеросклероз	Аорты	17 / 9,2	12 / 9,4	5 / 8,8	1,000
	Коронарных артерий	45 / 24,3	36 / 28,1	9 / 15,8	0,094
	Сонных артерий	19 / 10,3	12 / 9,4	7 / 12,3	0,602
	Висцеральных артерий	1 / 0,5	1 / 0,8	0 / 0	-
	Почечных артерий	1 / 0,5	1 / 0,8	0 / 0	-
	Бедренных артерий	8 / 4,3	4 / 3,1	4 / 7,0	0,253
Патологии сердца и сосудов	Гипертрофия левого желудочка	14 / 7,6	10 / 7,8	4 / 7,0	1,000
	Аневризма левого желудочка	4 / 2,2	3 / 2,3	1 / 1,8	-
	Аневризма коронарной артерии	1 / 0,5	0 / 0	1 / 1,8	-
	Мышечный мостик ПНА	2 / 1,1	1 / 0,8	1 / 1,8	-

Продолжение Таблицы 3

Патология		Все пациенты n=185	Мужчины n=128 (69,2%)	Женщины n=57 (30,8%)	p
		n / %			
Патология клапанов	Двустворчатый AoK (ДАК)	97 / 52,4	64 / 50,0	33 / 57,9	0,343
	Стеноз AoK	67 / 36,2	46 / 35,9	21 / 36,8	1,000
	Недостаточность AoK	88 / 47,6	65 / 50,8	23 / 40,4	0,205
	Стеноз МК	1 / 0,5	1 / 0,8	0 / 0	-
	Недостаточность МК	13 / 7,0	12 / 9,4	1 / 1,8	-
	Недостаточность ТК	5 / 2,7	5 / 3,9	0 / 0	-
Наследственные заболевания	Всего	3 / 1,6	3 / 2,3	0 / 0	-
	Марфаноподобный синдром	2 / 1,1	2 / 1,6	0 / 0	-
	Синдром Вильямса-Бойрена	1 / 0,5	1 / 0,8	0 / 0	-
Нарушения ритма	Фибрилляция предсердий	29 / 15,7	26 / 20,3	3 / 5,3	0,008
	Экстрасистолия	25 / 13,5	16 / 12,5	9 / 15,8	0,641
	Тахикардия	13 / 7,0	8 / 6,3	5 / 8,8	0,543
Нарушения проводимости	Атриовентрикулярная блокада	8 / 4,3	6 / 4,7	2 / 3,5	-
	Блокада ножек пучка Гиса	4 / 12,2	3 / 2,3	1 / 1,8	-
НМК	Острое	6 / 3,2	2 / 1,6	4 / 7,0	-
	Хроническое	19 / 10,3	10 / 7,8	9 / 15,8	0,118
Патология легких	ХОБЛ	13 / 7,0	10 / 7,8	3 / 5,3	0,757
	Легочная гипертензия	6 / 3,2	6 / 4,7	0 / 0	-
	Бронхиальная астма	3 / 1,6	2 / 1,6	1 / 1,8	-
	Пневмофиброз	2 / 1,	1 / 0,8	1 / 1,8	-
	Тромбоэмболия легочной артерии	1 / 0,5	1 / 0,8	0 / 0	-

Продолжение Таблицы 3

Патология		Все пациенты n=185	Мужчины n=128 (69,2%)	Женщины n=57 (30,8%)	p
		n / %			
Патология почек	Мочекаменная болезнь	10 / 5,4	7 / 5,5	3 / 5,3	1,000
	ХПН	8 / 4,3	6 / 4,7	2 / 3,5	-
	Кисты	9 / 4,9	7 / 5,5	2 / 3,5	-
Сахарный диабет 2 типа		9 / 4,9	6 / 4,7	3 / 5,3	1,000
Патологии ЖКТ ¹		16 / 8,6	9 / 7,0	7 / 12,3	0,263
Остеохондроз		8 / 4,3	5 / 3,9	3 / 5,3	0,715
Ожирение		60 / 32,4	38 / 29,7	22 / 38,6	0,239
Дислипидемия		15 / 8,1	9 / 7,0	6 / 10,5	0,400
Артериальная гипертензия		128 / 69,2	89 / 69,5	39 / 68,4	0,865
Варикозная болезнь вен нижних конечностей		8 / 4,3	4 / 3,1	4 / 7,0	0,254
Грыжи		6 / 3,2	3 / 2,3	3 / 5,3	0,374
Инфекционные заболевания ²		6 / 3,2	4 / 3,1	2 / 3,5	-

Примечание: AoК – аортальный клапан, ЖКТ – желудочно-кишечный тракт, МК – митральный клапан, НМК – нарушение мозгового кровообращения, ПНА – передняя нисходящая артерия, ТК – трёхстворчатый клапан, ХПН – хроническая почечная недостаточность, ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких; ¹ – панкреатит, желчнокаменная болезнь, хронический холецистит, язвенная болезнь желудка, хронический гастрит; ² – гепатит В/инфекционный эндокардит (в стадии ремиссии); p – уровень значимости получен методом χ^2 .

По результатам анализа, среди ССЗ у пациентов с АВА наиболее часто встречается артериальная гипертензия (АГ, 69,2%), патологии аортального клапана (двустворчатый аортальный клапан, ДАК – 52,4%, недостаточность – 47,6%, стеноз – 36,2%), ишемическая болезнь сердца (ИБС, 31,9%), хроническая сердечная недостаточность (28,6%).

Атеросклероз аорты, коронарных (КА) и сонных артерий (СА) встречается с частотой 9,2%, 24,3% и 10,3%, соответственно. Среди других форм патологий наиболее частыми являются ожирение (32,4%) и хроническая ишемия головного мозга (10,3%). У пациентов мужского пола чаще регистрировались инфаркт миокарда (ИМ) (мужчины – 10,9%, женщины – 1,8%, p=0,04) и ИБС (мужчины – 37,5%, женщины – 19,5%, p=0,017). Кроме того, мужчины

чаще были подвержены фибрилляции предсердий (мужчины – 20,3%, женщины – 5,3%, $p=0,008$).

Помимо встречаемости различной патологии в группе пациентов с АВА в зависимости от пола, оценивалась и «нагруженность» сопутствующими заболеваниями – среднее число патологий, одновременно встречающихся у одного пациента – в различных возрастных группах. «Нагруженность» сопутствующими заболеваниями в общей выборке пациентов с АВА варьировала от 0 до 15 на пациента (в среднем, $5,1 \pm 3,1$) и не зависела от пола пациента (мужчины – $5,2 \pm 3,1$, женщины – $4,8 \pm 2,9$, $p=0,439$). Число сопутствующих заболеваний увеличивалось с возрастом пациента и достигало максимума в возрастной группе мужчин и женщин с АВА 65-79 лет (23-43 года – $3,2 \pm 1,5$; 44-64 года – $5,2 \pm 3,2$; 65-79 лет – $5,8 \pm 3,0$, $p<0,001$; Рисунок 5).

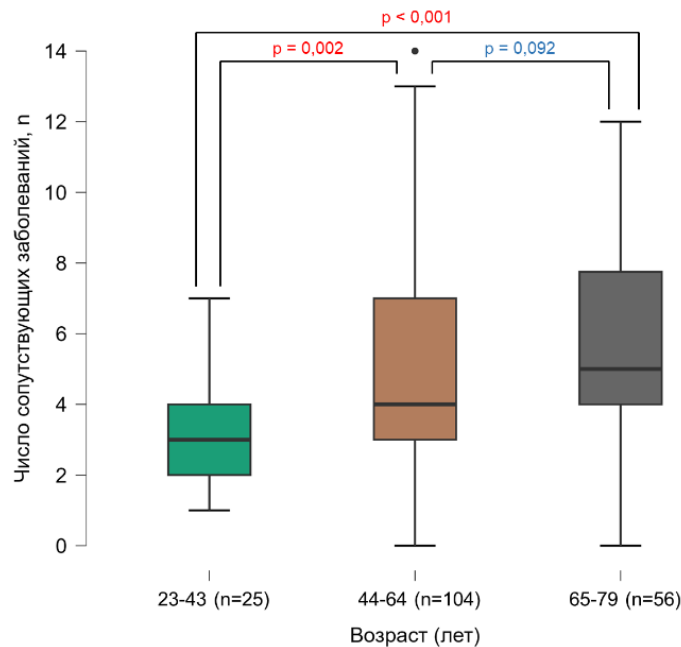


Рисунок 5 – Число сопутствующих заболеваний в разных возрастных группах больных с аневризмой восходящей аорты

Далее был проведен сравнительный анализ частот сопутствующих заболеваний в выборке пациентов с АВА Сибирского федерального округа (СФО, $n=185$) и в других выборках, ранее описанных в литературе. Частота артериальной гипертензии – основного фактора риска развития АВА - варьировала в разных выборках от 45,2 до 83,1%, а у пациентов с АВА СФО составила 69,2% (Рисунок 6). Данный показатель находится в пределах указанного диапазона, но статистически значимо отличается от его минимума и максимума среди других групп АВА (пациенты с АВА США) [Davies R.R. et al., 2007; Mori M. et al., 2021].

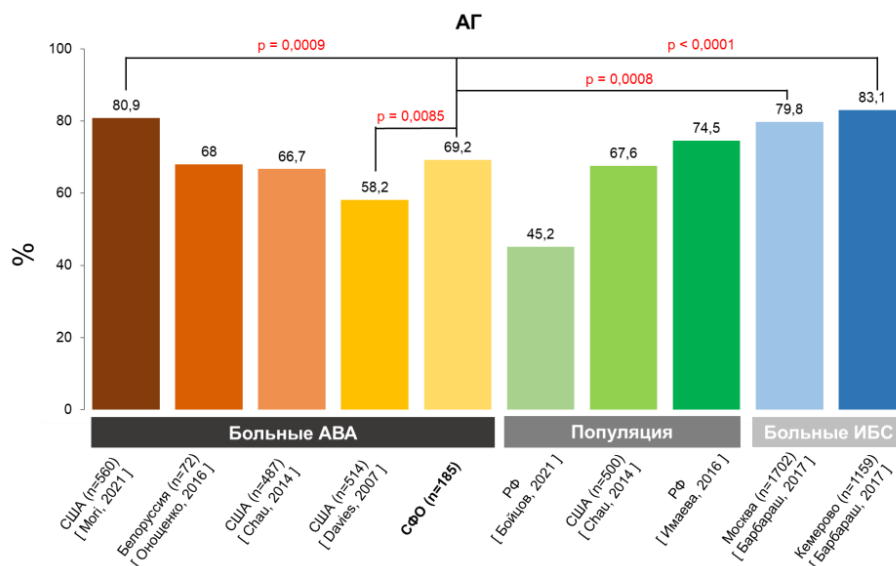


Рисунок 6 – Частоты встречаемости артериальной гипертензии у больных с АВА СФО, других группах с АВА, больных с ИБС и популяционных выборках: АВА – аневризма восходящей аорты, АГ – артериальная гипертензия, ИБС – ишемическая болезнь сердца, СФО – Сибирский федеральный округ

В различных популяциях частота АГ варьирует от 45,2% до 74,5%. По данным ЭССЕ-РФ (Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний и их факторов риска в регионах РФ) [Бойцов С.А. и др., 2021], частота АГ в РФ составляет в среднем 45,2%, однако в возрастной группе 55-64 года, к которой относятся большинство пациентов с АВА СФО, частота АГ в РФ составляет 74,5% [Имаева А.Э. и др., 2016], что статистически не отличается от частоты встречаемости АГ в изученной в данном исследовании группе пациентов. У больных с другим распространенным заболеванием сердечно-сосудистой системы – ИБС – частота АГ составила 79,8% (г. Москва) и 83,1% (г. Кемерово) [Барбараш О.Л. и др., 2017], что превосходит таковые значения у пациентов с АВА СФО в сопоставимой по возрасту выборке (Рисунок 6).

Частота атеросклероза восходящей аорты по данным МСКТ у пациентов АВА СФО (9,2%) отличалась от таковой у пациентов с АВА из штата Массачусетс, США (17,2%, $p=0,008$) [Varnik J.S. et al., 2016] (Рисунок 7А). Вместе с тем, в нашей выборке пациентов частота встречаемости атеросклероза восходящей аорты была значительно ниже, чем в популяционных выборках (24%, 42,9%, 58,6% и 62,8%, $p<0,0001$).

Атеросклероз – важный независимый фактор риска развития дилатации брюшной аорты [Toghill B.J. et al., 2017], что подтверждается многочисленными исследованиями [Zarins C.K. et al., 2001; Tung W.S. et al., 2001; Kuhlencordt P.J. et al., 2001; Singh K. et al., 2001]. Однако эти данные не воспроизводятся при патологии восходящей аорты. Показано, что атеросклероз или кальцификация аорты (по данным КТ или МРТ) довольно редко встречается при спорадических

аневризмах корня и восходящей аорты в сравнении с нисходящей аортой: 8–9% против 80–88%, соответственно [Varnik J.S. et al., 2016]. На сегодняшний день появляется все больше доказательств того, что АВА и аневризма брюшной аорты представляют собой отдельные заболевания с разными генетическими, эмбриологическими, анатомическими, гистологическими и биохимическими характеристиками, поэтому их этиологические факторы могут в значительной степени отличаться друг от друга [Waldron C. et al., 2023].

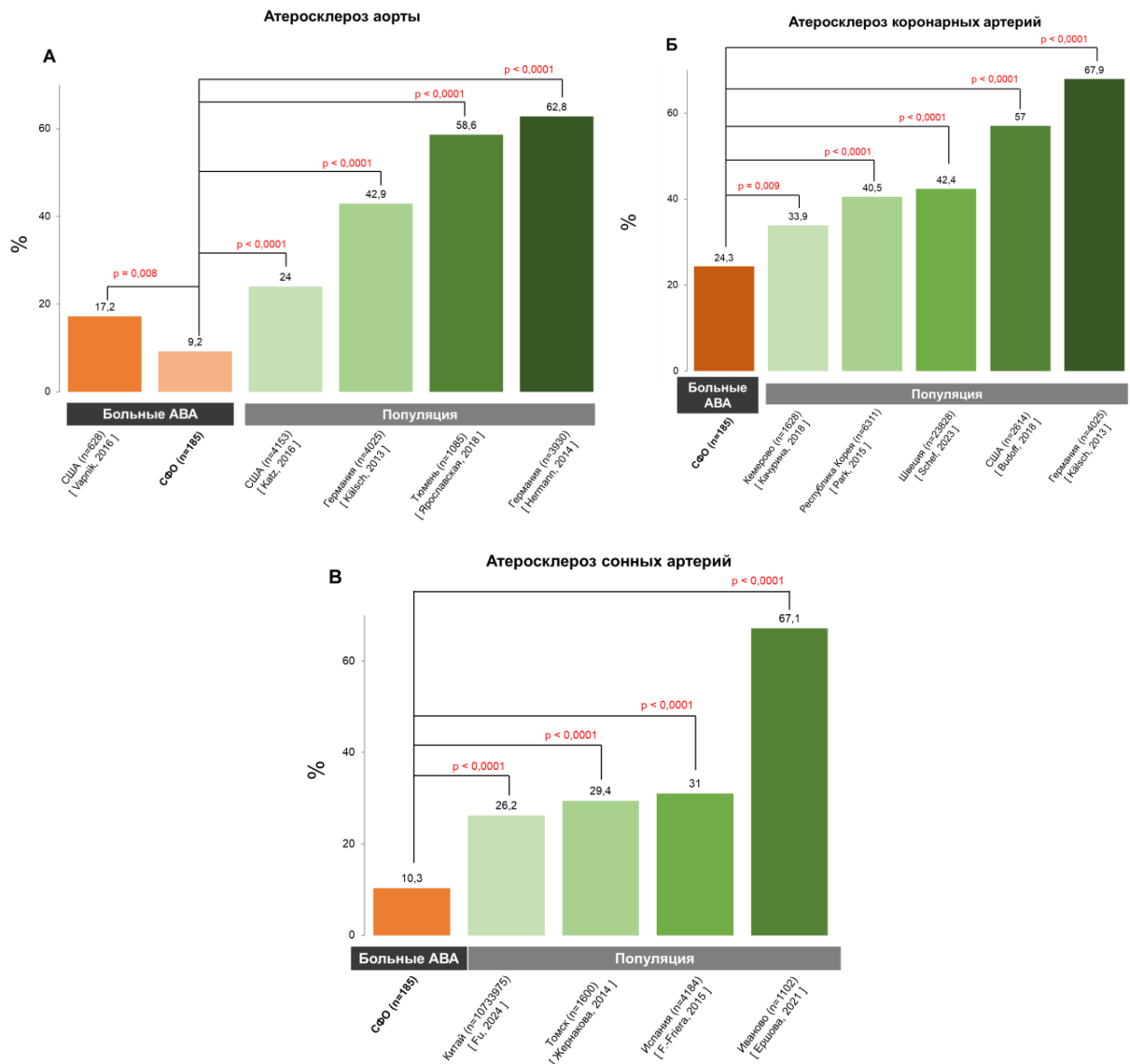


Рисунок 7 – Частоты встречаемости атеросклероза восходящей аорты (А), коронарных (Б) и сонных артерий (В) у больных с АВА СФО, других группах с АВА и популяционных выборках: АВА – аневризма восходящей аорты, СФО – Сибирский федеральный округ

Данные о частотах встречаемости атеросклероза КА и СА у больных АВА в анализируемых источниках литературы не приводятся. Это связано с тем, что в англоязычных публикациях АВА относят к подгруппе так называемых «торакальных» аневризм, включающих также аневризмы дуги, нисходящей части грудной аорты и торакоабдоминальные аневризмы,

вследствие чего данные патологии рассматривают совместно. Распространенность атеросклероза КА по данным лучевых методов исследования у пациентов с АВА в исследуемой группе (24,3%) была снижена по сравнению с другими популяционными выборками РФ (33,9%, $p=0,009$), а также Республики Корея (40,5%, $p<0,0001$), стран Европы (Швеции – 42,4%, Германии - 67,9%, $p<0,0001$) и США (57%, $p<0,0001$; Рисунок 7Б). Аналогичным образом, атеросклероз СА, оцененный ультразвуковым методом, встречался реже среди пациентов с АВА СФО, чем в популяционных выборках Китая и Испании (10,3% vs. 26,2% и 31%, соответственно), а также среди населения Томска (29,4%, $p<0,0001$) и Иваново (67,1%, $p<0,0001$; Рисунок 7В).

Предполагается, что АВА имеет обратную корреляционную связь с частотой атеросклероза сосудов других бассейнов, в особенности КА и СА [Achneck H. et al., 2005; Hung A. et al., 2012; Chau K., Elefteriades J.A., 2014; Waldron C. et al., 2023]. В качестве маркера атеросклеротического поражения используется толщина комплекса интима-медия (ТИМ) СА, степень кальцификации КА (индекс Агатстона) или общего содержания ионов кальция в организме. По результатам настоящего исследования частота атеросклероза в КА, СА и аорте снижена по сравнению с общей популяцией (Рисунок 7), что может служить косвенным признаком атеропротективного эффекта АВА.

Феномен атеропротекции уже был ранее описан у пациентов с АВА: Achneck H. et al. (2005) было отмечено уменьшение системного атеросклероза в группе пациентов с аневризмой корня аорты и диссекцией по сравнению с группой контроля [Achneck H. et al., 2005]. В недавнем исследовании Waldron C. et al. (2023) показано, что уровень кальцификации в КА и аорте (как маркера запущенного течения атеросклероза) снижен в группе пациентов с АВА по сравнению с аналогичной дилатацией брюшной аорты [Waldron C. et al., 2023]. Кроме того, снижение концентрации липопротеинов низкой плотности в сыворотке крови было ассоциировано с повышенным риском развития АВА [Weininger G. et al., 2022], что может свидетельствовать об обратной коморбидности АВА и системного атеросклероза.

Закономерным жизнеугрожающим осложнением атеросклероза КА является инфаркт миокарда. Частота встречаемости ИМ у больных с АВА СФО и у пациентов с АВА США (8,1% и 2,2%, соответственно) была выше, чем в исследовании [Максимов С.А. и др., 2024], но значительно ниже, чем в других популяционных выборках [Бетуганова Л.В. и др., 2014; Chau K., Elefteriades J.A., 2014] (Рисунок 8), что согласуется с результатами анализа распространенности атеросклероза КА – основного звена в патогенезе ИМ. Для того, чтобы понять, распространяется ли атеропротективный эффект АВА на ИБС, в исследовании Chau K. & Elefteriades J.A. (2014) проанализирована взаимосвязь между АВА и ИМ [Chau K., Elefteriades J.A., 2014]. Было отмечено, что у пациентов с АВА значительно снижен риск развития ИМ по

сравнению с контрольной группой. Примечательно, что в данном исследовании индекс массы тела (ИМТ), который наряду с другими показателями является фактором риска развития ИМ, у пациентов с АВА был выше, чем в контрольной группе, что в конечном счете не влияло на атеропротективный эффект аневризмы.

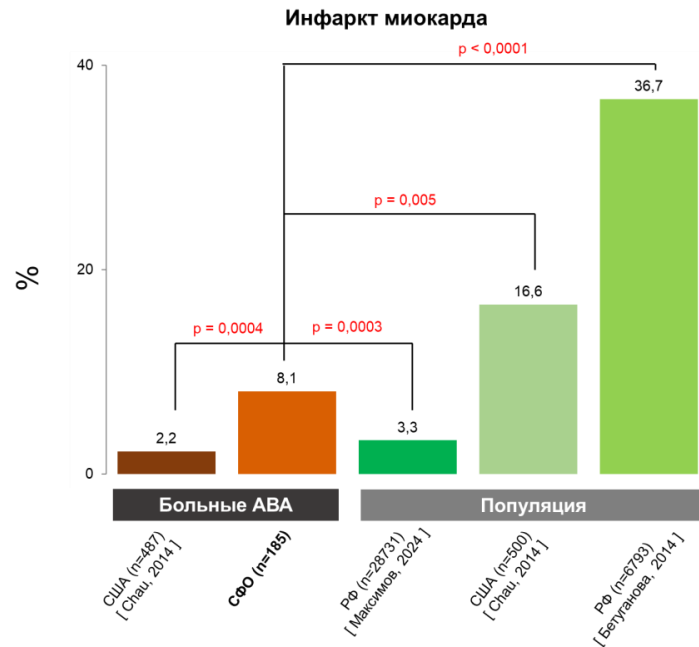


Рисунок 8 – Частоты встречаемости инфаркта миокарда у больных с АВА СФО, других группах с АВА и популяционных выборках: АВА – аневризма восходящей аорты, ИМ – инфаркт миокарда, СФО – Сибирский федеральный округ

Другим сосудистым осложнением, которое может быть связано с атеросклеротическим поражением СА, является острое нарушение мозгового кровообращения – инсульт. Частота инсульта в исследуемой выборке (3,2%) была снижена по сравнению с пациентами с АВА США (7%), статистически не отличалась от отдельных популяционных выборок РФ и в среднем по РФ, однако была значимо ниже по сравнению с группой пациентов с ИБС (г. Кемерово; Рисунок 9) [Барбараш О.Л. и др., 2017; Ершова А.И. и др., 2021; Максимов С.А. и др., 2024]. Ограничением данного анализа было отсутствие данных о природе нарушения мозгового кровообращения (ишемический или геморрагический инсульт). Тем не менее, в литературе имеются данные о том, что ТИМ СА является надежным предиктором неблагоприятных сердечно-сосудистых исходов: уменьшение толщины ТИМ на 0,1 мм приводит к снижению риска инсульта на 13–18% и снижению риска ИМ на 10–15% [Lorenz M.W. et al., 2007]. В исследовании Waldron C. et al. (2023) было установлено, что средний показатель ТИМ у пациентов с АВА составил 0,5 мм против 0,6 мм в контрольной группе (что является нормой для данной возрастной категории пациентов), что также опосредованно свидетельствует о

потенциальном снижении риска сосудистых осложнений у пациентов с АВА [Waldron C. et al., 2023].

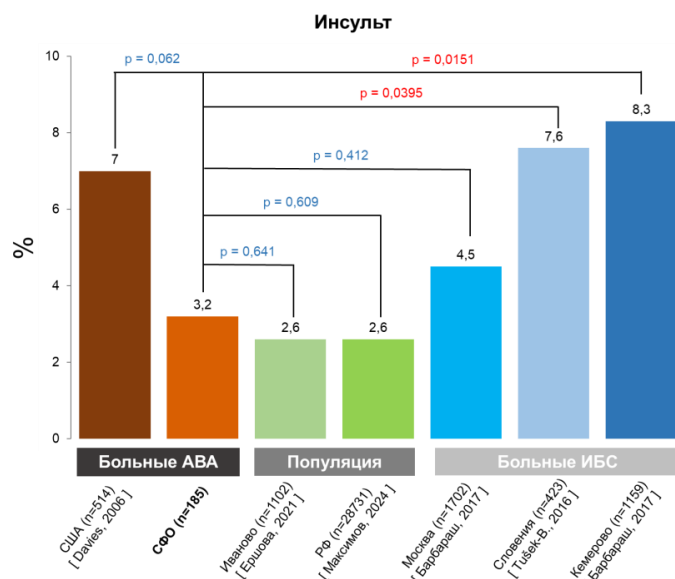


Рисунок 9 – Частоты встречаемости инсульта у больных с АВА СФО, других группах с АВА, больных с ИБС и популяционных выборках: АВА – аневризма восходящей аорты, ИБС – ишемическая болезнь сердца, СФО – Сибирский федеральный округ

Распространенность сахарного диабета 2 типа (СД2) в исследуемой выборке составила 4,9%, что сопоставимо с частотой для пациентов с АВА в США, кроме исследования Mori M. (2021) (Рисунок 10) [Mori M. et al., 2021].

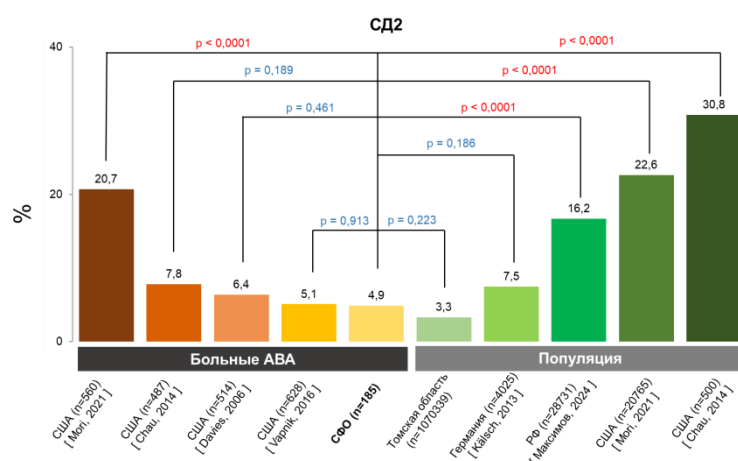


Рисунок 10 – Частоты встречаемости сахарного диабета 2 типа у больных с АВА СФО, других группах с АВА и популяционных выборках: АВА – аневризма восходящей аорты, СД2 – сахарный диабет 2 типа, СФО – Сибирский федеральный округ

При сравнении с популяционными выборками частота СД2 в изученной группе (4,9%) сопоставима с частотой распространенности данной патологии в Томской области (3,3%) и

Германии (7,5%), но ниже, чем в других популяционных выборках [Kälsch H. et al., 2013; Chau K., Elefteriades J.A., 2014; Mori M. et al., 2021; Максимов С.А. и др., 2024]. Данные о связи СД2 и АВА противоречивы. Так, в исследовании Mori M. et al. (2021) частота СД2 не отличалась между группой больных с АВА и лицами без данной патологии и составила 20,7% и 22,6%, соответственно (Рисунок 12) [Mori M. et al., 2021]. В исследовании Chau K. & Elefteriades J.A. (2014), напротив, частоты СД2 значительно различались и составили 7,8% в группе больных АВА и 30,8% у лиц без аневризмы ($p=0,001$; Рисунок 10) [Chau K., Elefteriades J.A., 2014].

3.1.1 Анализ структуры коморбидности у пациентов с аневризмой аорты с учетом строения аортального клапана

Двустворчатый аортальный клапан – установленный фактор риска развития АВА с последующим расслоением аневризмы (ДАК-ассоциированной аортопатии) [Larson E.W., Edwards W.D., 1984; Roberts C.S., Roberts W.C., 1991]. Наиболее масштабное исследование 416 пациентов с ДАК (возраст 35 ± 21 год) с самым длительным на сегодняшний день периодом наблюдения (в среднем 16 ± 7 лет) показало, что риск развития аневризмы (диаметр корня или восходящей аорты ≥ 45 мм) через 25 лет после первоначального обнаружения ДАК в ходе эхокардиографического исследования составляет 26%, что примерно в 80 раз превосходит риск развития АВА в популяции [Michelena H.I. et al., 2011]. Риск расслоения АВА у пациентов с ДАК в 9 раз превышает таковой у пациентов с аортальным клапаном нормального строения [Goudot G. et al., 2019]. Поскольку ДАК – широко известный фактор риска развития АВА, нами дополнительно были проанализированы подвыборки пациентов с АВА с аортальным клапаном различного строения (ДАК и ТАК). Результаты представлены в Таблице 4.

Таблица 4 – Спектр коморбидных состояний у пациентов с АВА с двустворчатым и трехстворчатым аортальным клапаном

Патология		ДАК n=97 (52,4%)	ТАК n=88 (47,6%)	P
		n / %		
Ишемическая болезнь сердца		25 / 25,8	34 / 38,6	0,082
Инфаркт миокарда		7 / 7,2	8 / 9,1	0,788
Хроническая сердечная недостаточность		26 / 26,8	27 / 30,7	0,626
Атеросклероз	Аорты	3 / 3,1	14 / 15,9	0,004
	Коронарных артерий	19 / 19,6	26 / 29,5	0,126
	Сонных артерий	6 / 6,2	13 / 14,8	0,088

Продолжение Таблицы 4

Патология		ДАК n=97 (52,4%)	ТАК n=88 (47,6%)	P
		n / %		
	Висцеральных артерий	1 / 1	0 / 0	-
	Почечных артерий	0 / 0	1 / 1,1	-
	Бедренных артерий	4 / 4,1	4 / 4,5	1,000
Патологии сердца и сосудов	Гипертрофия левого желудочка	9 / 9,3	5 / 5,7	0,414
	Аневризма левого желудочка	2 / 2,1	2 / 2,3	1,000
	Аневризма коронарной артерии	0 / 0	1 / 1,1	-
	Мышечный мостик ПНА	0 / 0	2 / 2,3	-
Патология клапанов	Стеноз AoK	53 / 54,6	14 / 15,9	<0,001
	Недостаточность AoK	42 / 43,3	46 / 52,3	0,241
	Стеноз МК	0 / 0	1 / 1,1	-
	Недостаточность МК	6 / 6,2	7 / 8,0	0,776
	Недостаточность ТК	2 / 2,1	3 / 3,4	0,669
Наследственн ые заболевания	Всего	1 / 1	2 / 2,3	-
	Марфаноподобный синдром	1 / 1	1 / 1,1	-
	Синдром Вильямса-Бойрена	0 / 0	1 / 1,1	-
Нарушение ритма	Фибрилляция предсердий	12 / 12,4	17 / 19,3	0,227
	Экстрасистолия	13 / 13,4	12 / 13,6	1,000
	Тахикардия	4 / 4,1	9 / 10,2	0,149
Нарушение проводимости	Атриовентрикулярная блокада	6 / 6,2	2 / 2,3	0,283
	Блокада ножек пучка Гиса	1 / 1	3 / 3,4	0,348
НМК	Острое	1 / 1	5 / 5,7	0,104
	Хроническое	5 / 5,2	14 / 15,9	0,027

Продолжение Таблицы 4

Патология		ДАК n=97 (52,4%)	ТАК n=88 (47,6%)	P
		n / %		
Патология легких	ХОБЛ	8 / 8,2	5 / 5,7	0,573
	Легочная гипертензия	2 / 2,1	4 / 4,5	0,426
	Бронхиальная астма	0 / 0	3 / 3,4	0,106
	Пневмофиброз	1 / 1	1 / 1,1	-
	Тромбоэмболия легочной артерии	0 / 0	1 / 1,1	-
Патология почек	Мочекаменная болезнь	2 / 2,1	8 / 9,1	0,049
	ХПН	5 / 5,2	3 / 3,4	0,723
	Кисты	5 / 5,2	4 / 4,5	1,000
Сахарный диабет 2 типа		3 / 3,1	6 / 6,8	0,313
Патологии ЖКТ ¹		8 / 8,2	8 / 9,1	1,000
Остеохондроз		4 / 4,1	4 / 4,5	1,000
Ожирение		26 / 26,8	34 / 38,6	0,116
Дислипидемия		9 / 9,3	6 / 6,8	0,599
Артериальная гипертензия		55 / 56,7	73 / 83,0	<0,001
Варикозная болезнь вен нижних конечностей		2 / 2,1	6 / 6,8	0,153
Грыжи		4 / 4,1	2 / 2,3	0,685
Инфекционные заболевания ²		3 / 3,1	3 / 3,4	1,000
Онкологические заболевания ³		2 / 2,1	8 / 9,1	0,049

Примечание. АоК – аортальный клапан, ДАК – двустворчатый аортальный клапан, ЖКТ – желудочно-кишечный тракт, МК – митральный клапан, НМК – нарушение мозгового кровообращения, ПНА – передняя нисходящая артерия, ТАК – трехстворчатый аортальный клапан, ТК – трёхстворчатый клапан, ХПН – хроническая почечная недостаточность, ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких; ¹ – панкреатит, желчнокаменная болезнь, хронический холецистит, язвенная болезнь желудка, хронический гастрит; ² – гепатит В, инфекционный эндокардит; ³ – легких, мочевого пузыря, почек, позвоночника, простаты, толстого кишечника, p – уровень значимости получен методом χ^2 .

Двустворчатый аортальный клапан в популяции встречается в 1-2% случаев и является наиболее часто встречающейся врожденной аномалией сердца [Borger M.A. et al., 2018; Verma R. et al., 2023]. В нашей выборке ДАК был зарегистрирован более, чем в половине случаев АВА (52,4%, Таблица 4). Среднее количество сопутствующих патологических состояний на пациента было сходно в группах с ДАК и ТАК ($5,1 \pm 2,9$ vs. $5,1 \pm 3,3$, $p=0,881$).

Медиана возраста пациентов с ДАК и ТАК составила 56 [46; 63] лет и 62 [54,75; 68] года, соответственно ($p<0,001$). Различия в возрасте могут объясняться общепринятым фактом, что пациенты с ДАК и АВА требуют оперативного вмешательства на восходящей аорте в более раннем возрасте [Michelena H.I. et al., 2014; Yang L.-T. et al., 2020]. Это связано с тем, что скорость увеличения диаметра восходящей аорты выше у пациентов с двустворчатым по сравнению с трехстворчатым аортальным клапаном: по разным оценкам, она составляет от 0,2 до 1,9 мм/год [Verma R. et al., 2023].

Нами было выявлено различие встречаемости атеросклероза аорты по данным КТ-исследования – данный признак регистрировался чаще у пациентов с ТАК (15,9% vs. 3,1%, $p=0,004$, Таблица 4). Вместе с тем, частота встречаемости атеросклероза восходящей аорты у пациентов с АВА и ТАК была значительно ниже, чем в популяционных выборках (15,9% vs. 24%, $p=0,067$; 42,9%, 58,6% и 62,8%, $p<0,0001$; Рисунок 7А).

В литературе в отношении распространенности атеросклероза у пациентов с ДАК и ТАК в настоящее время встречаются взаимоисключающие данные. В недавнем исследовании коллектива авторов из Национального медицинского исследовательского центра им. В.А. Алмазова (г. Санкт-Петербург) не было выявлено различий во встречаемости атеросклероза аорты на любой из микроскопических стадий между пациентами с ДАК и ТАК и дилатацией восходящей аорты [Пугина М.Ю. и др., 2023]. В исследовании Dolmaci O. et al. атеросклеротические бляшки оценивались как с помощью гистологии, так и при помощи КТ (кальцификация). Установлено, что степень поражения и количество атеросклеротических бляшек по результатам гистологии больше в группе пациентов с ТАК по сравнению с ДАК, однако КТ не выявило различий в кальцификации стенки аорты, при этом результаты не зависели от наличия или отсутствия аневризмы у пациента [Dolmaci O.B. et al., 2023]. Не исключено, что атеросклероз восходящей аорты может играть более важную роль в формировании АВА у пациентов с ТАК, чем считалось ранее, что говорит в пользу атерогенной этиологии аневризмы у этих пациентов [Doppler C. et al., 2023].

Помимо атеросклероза, этиологическим фактором в развитии АВА у пациентов с ТАК считается артериальная гипертензия [Isselbacher E.M. et al., 2022]. Частота встречаемости этого признака в нашей выборке была значительно выше у пациентов с ТАК (83,0% vs. 56,7%, $p<0,001$, Таблица 4). АГ является наиболее распространенным сопутствующим заболеванием у

пациентов с АВА, распространенность которой в предыдущих наблюдательных исследованиях составляла от 43% до 100% [Howard D.P.J. et al., 2013; Pape L.A. et al., 2015; Mussa F.F. et al., 2016; Inoue Y. et al., 2020; Zhou Z. et al., 2022]. Современные рекомендации по ведению пациентов с аневризмой аорты учитывают наличие АГ как провоцирующего фактора роста и расслоения аневризмы, однако не учитывают сопутствующую морфологию аортального клапана [Isselbacher E.M. et al., 2022]. Вероятно, АГ является основным патогенетическим звеном в развитии АВА у пациентов с ТАК, в то время как у пациентов с ДАК таковым является именно строение аортального клапана [Borger et al., 2018]. Наши результаты согласуются с более ранними исследованиями, в которых было показано, что для пациентов с ТАК характерны более высокие частота встречаемости АГ [Çelik M. et al., 2021] и показатели артериального давления [Пугина М.Ю. и др., 2023].

В настоящем исследовании стеноз аортального клапана чаще встречался у пациентов с АВА с ДАК (54,6% vs. 15,9%, $p < 0,001$, Таблица 4). Хотя патологии аортального клапана, такие как аортальный стеноз, аортальная регургитация и эндокардит, являются наиболее распространенными осложнениями ДАК, общепризнано, что дилатация и/или аневризма корня аорты, восходящей аорты и дуги (т.н. бicuspidальные аортопатии) наблюдаются у 50% людей с ДАК [Verma R. et al., 2023]. При двустворчатой анатомии аортального клапана аортальный стеноз встречается ~ в 70% случаев, недостаточность аортального клапана – в 15-30% случаев [Yuan S.-M., Jing H., 2010]. ДАК относят к наиболее частым причинам аортального стеноза у лиц моложе 60 лет из-за первичного анатомического сужения клапана [Иртыга О.Б. и др., 2013; Dutta P. et al., 2021]. Существуют данные о том, что у пациентов с ДАК наблюдается более быстрое гемодинамическое и анатомическое прогрессирование аортального стеноза по сравнению с пациентами с ТАК с аналогичным возрастом и профилем риска [Shen M. et al., 2020], а ДАК в сочетании с аортальным стенозом приводит к более агрессивному росту аневризмы и меньшей стабильности стенки аорты, чем у пациентов с ТАК [Jabagi H. et al., 2023].

Согласно проведенному в настоящем исследовании анализу, частота встречаемости ДАК в исследуемой выборке составила 52,4%, что значительно выше, чем в других группах больных с АВА США (30,6% и 12,6%, соответственно, $p < 0,0001$) [Kim J.B. et al., 2016; Vapnik J.S. et al., 2016] и РФ (4,8%, $p < 0,0001$) [Иртыга О. et al., 2022] (Рисунок 11). Сопоставимая частота встречаемости ДАК в выборке пациентов с АВА, превышающая 50%, была обнаружена только в одном исследовании Amemiya K. et al. (2020), в котором верификация морфологии клапана, установленной с помощью лучевых исследований, производилась путем интраоперационного осмотра клапана врачом-хирургом [Amemiya K. et al. 2020]. Частота встречаемости ДАК у пациентов с АВА во всех описанных в литературе выборках значительно превосходит таковую

в популяции (Рисунок 11), что в очередной раз подтверждает роль анатомии клапана в развитии и прогрессировании АВА.

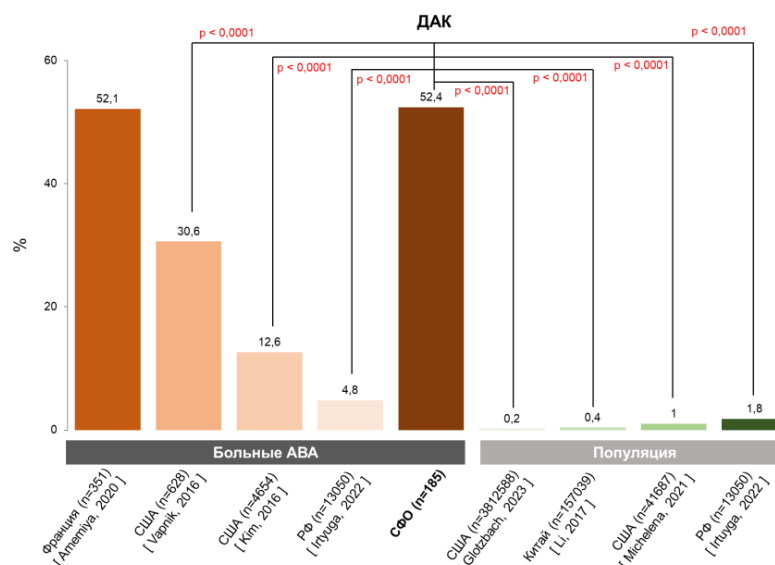


Рисунок 11 – Частоты встречаемости двустворчатого аортального клапана у больных с АВА СФО, других группах с АВА и популяционных выборках: АВА – аневризма восходящей аорты, ДАК – двустворчатый аортальный клапан, СФО – Сибирский федеральный округ

Таким образом, пациенты с АВА имеют сложную структуру коморбидности, включающую как патологию аорты (морфофункциональные патологии аортального клапана, атеросклероз аорты), так и другие ССЗ (АГ, атеросклероз КА и СА, и их осложнения – ИМ и инсульт), а также хронические неинфекционные заболевания (СД2). Структура коморбидности АВА имеет гендерные особенности: у мужчин чаще, чем у женщин, встречаются ИБС, ИМ и фибрилляция предсердий. Двустворчатая морфология аортального клапана при АВА чаще приводит к развитию его стеноза, однако у таких пациентов реже, чем у пациентов с ТАК, встречается АГ и атеросклероз аорты. При АВА реже, чем в популяционных выборках, регистрируется атеросклероз аорты, коронарных и сонных артерий, а также инфаркт миокарда, что может служить косвенным подтверждением наличия обратной коморбидности между данными патологиями.

3.2 Гистологические особенности в синотубулярном соединении, области аорты на уровне бифуркации легочного ствола и проксимальной части дуги аорты у пациентов с аневризмой восходящей аорты

Гистологически исследована стенка восходящей аорты 66 пациентов с АВА без расслоения, синдромальных и семейных форм. Среди пациентов преобладали мужчины (n=46, 69,7%; Таблица 5). Возраст пациентов составил 59,5 [52; 65] лет и не различался между мужчинами и женщинами (p=0,438). Среди сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с

АВА наблюдалась АГ (72,7%), ДАК (37,9%), ИБС (33,3%), ХСН (31,8%) и ИМ (10,6%). Сахарный диабет был зарегистрирован в 4,5% случаев и встречался только у мужчин (Таблица 5). Атеросклероз аорты, КА и СА, выявленный при помощи лучевых исследований различной модальности на дооперационном этапе, был зарегистрирован у 13,6%, 25,8% и 18,2% пациентов, соответственно (Таблица 5). Различий во встречаемости вышеперечисленных признаков между мужчинами и женщинами выявлено не было.

Таблица 5 – Характеристика пациентов с аневризмой восходящей аорты (n=66), которым проведено гистологическое исследование аорты

Характеристики		Все пациенты n = 66	Мужчины n = 46 (69,7%)	Женщины n = 20 (30,3%)	p
Возраст, лет (Me [Q1; Q3])		59,5 [52; 65]	59,5 [53; 65]	59 [46,5; 62,5]	0,438*
Двустворчатый аортальный клапан, n (%)		25 (37,9)	16 (34,8)	9 (45)	0,583
Индекс массы тела, (Me [Q1; Q3])		26,8 [24,4; 31]	26,8 [24,5; 31]	28,5 [24,3; 31,]	0,782*
Артериальная гипертензия, n (%)		48 (72,7)	36 (78,3)	12 (60)	0,144
Ишемическая болезнь сердца, n (%)		22 (33,3)	17 (37,0)	5 (25)	0,405
Хроническая сердечная недостаточность, n (%)		21 (31,8)	15 (32,6)	6 (30)	1,000
Инфаркт миокарда, n (%)		7 (10,6)	7 (15,2)	0 (0)	-
Сахарный диабет, n (%)		3 (4,5)	3 (6,5)	0 (0)	-
Скорость клубочковой фильтрации, мл/мин/1,73 м ² (Me [Q1; Q3])		93 [73,3; 105,5]	94 [73,8; 115,6]	93 [74,9; 99,6]	0,392*
Атеросклероз	Аорты, n (%)	9 (13,6)	7 (15,2)	2 (10)	0,712
	Коронарных артерий, n (%)	17 (25,8)	13 (28,3)	4 (20)	0,555
	Сонных артерий, n (%)	12 (18,2)	9 (19,6)	3 (15)	0,743
	Висцеральных артерий, n (%)	1 (1,5)	1 (2,2)	0 (0)	-
	Почечных артерий, n (%)	1 (1,5)	0 (0)	1 (5)	-
	Бедренных артерий, n (%)	4 (6,1)	3 (6,5)	1 (5)	-

Продолжение Таблицы 5

Характеристики	Все пациенты n = 66	Мужчины n = 46 (69,7%)	Женщины n = 20 (30,3%)	p
Средний диаметр восходящей аорты, мм (Me [Q1; Q3])	45 [40; 50]	46 [40; 50]	43 [36,5; 50]	0,216*
Диаметр синотубулярного соединения, мм (Me [Q1; Q3])	44,5 [38; 48]	45 [38,8; 49]	41 [35,5; 46]	0,131*
Диаметр тубулярной части восходящей аорты, мм (Me [Q1; Q3])	51 [48,3; 54,8]	50 [48; 55,5]	52 [50; 53]	0,467*
Диаметр проксимальной части дуги аорты, мм (Me [Q1; Q3])	40 [36,8; 43]	41 [38; 43,8]	38,5 [35; 40,8]	0,022*

Примечание: Me – медиана, Q1 – нижний квартиль, Q3 – верхний квартиль. p – уровень значимости получен методом χ^2 ; * - уровень значимости получен критерием Манна-Уитни.

Медиана диаметра восходящей аорты по данным МСКТ трех зон составила 45 [40; 50] мм и также не различалась между пациентами мужского и женского пола ($p=0,216$). При анализе диаметров восходящей аорты в трех зонах, откуда выполнено взятие биопсийного материала (1-синотубулярное соединение (СТС); 2-часть восходящей аорты на уровне бифуркации легочного ствола; 3-проксимальная часть дуги аорты), были выявлены различия в диаметре ($p<0,001$) - наибольший диаметр аорты наблюдали в тубулярной части восходящей аорты на уровне проекции легочного ствола (зона 2) - 51 [48,3; 54,8] мм (Таблица 5, Рисунок 12).

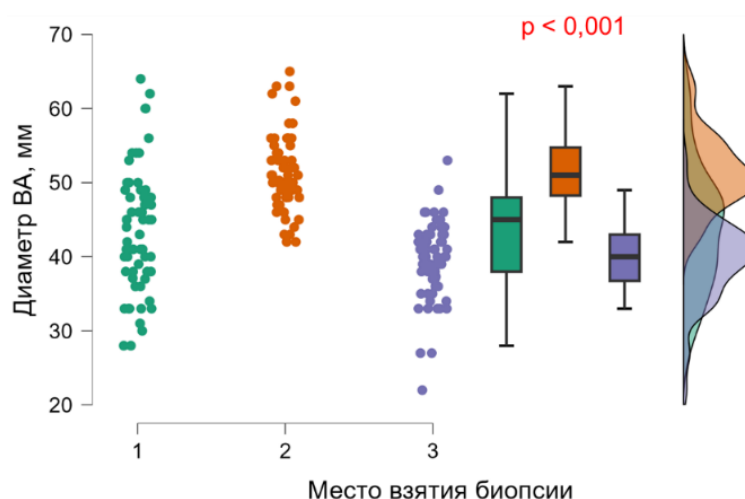


Рисунок 12 – Сравнение диаметров восходящей аорты в различных местах взятия биопсии при АВА: ВА – восходящая аорта; 1 – синотубулярное соединение; 2 - часть восходящей аорты на уровне бифуркации легочного ствола; 3 - проксимальная часть дуги аорты

При гистологическом анализе препаратов оценивали признаки, соответствующие трем диагностическим группам по Leone O. et al. (2020): дегенеративные изменения в меди аорты (интраламеллярное и трансламеллярное мукоидное набухание, коллапс эластических мембран, истончение, фрагментация и утрата эластических мембран, дезорганизация эластических мембран, утрата ядер гладкомышечных клеток; Рисунок 13 А-В); наличие воспалительного инфильтрата в меди (аортит) или адвентиции (периаортит) аорты (>20 клеток воспалительного инфильтрата в поле зрения; Рисунок 13 Г-Д); атеросклероза аорты (Рисунок 13Е) [Leone O. et al., 2020]. Атеросклероз оценивался как легкий, умеренный или тяжелый и классифицировался с использованием упрощенной классификации AECVP/SCVP [Stone J.R. et al., 2015].

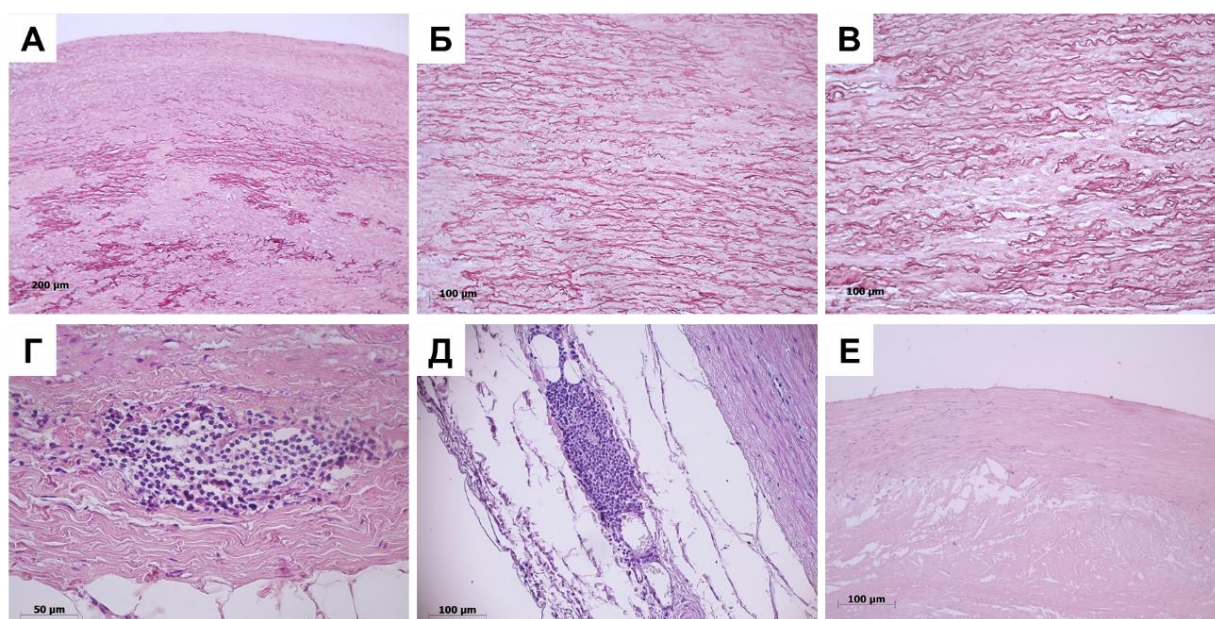


Рисунок 13 – Основные гистологические «субстраты» аневризмы восходящей аорты по Leone O. et al. (2020): А-В – дегенерация меди аорты, Г-Д – воспалительный инфильтрат в меди и адвентиции аорты, Е – атеросклеротическая бляшка аорты с кристаллами холестерина. Окраска: А-В – орсеин, Г-Е – гематоксилин и эозин

Во всех трех зонах отмечался неоангиогенез, а также очаговое истончение эластических мембран, нарушение ламеллярной структуры медиальной оболочки стенки сосуда с расширением межмембранных пространств, что подтверждалось при окраске орсеином (Рисунок 14).

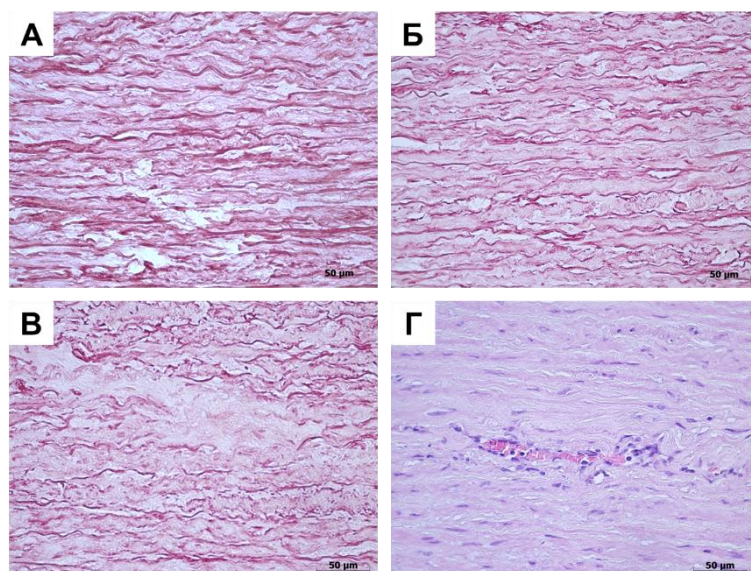


Рисунок 14 – Стенка восходящей аорты у пациентов с АВА: А – фрагментация и частичная утрата эластических мембран, Б – интраламеллярное мукоидное набухание, В – трансламеллярное мукоидное набухание с утратой эластических мембран, Г – неоангиогенез, в просвете сосуда видны эритроциты. Окраска А-В – орсеин, Г – гематоксилин-эозин

В соответствии с классификацией Leone O. et al. (2020), в настоящем исследовании пациенты были распределены на группы согласно наличию дегенеративного, воспалительного или атеросклеротического морфологического субстрата АВА [Stone J.R. et al., 2015; Halushka M.K. et al., 2016; Leone O. et al., 2020]. Результаты сравнительного анализа морфологических признаков (атеросклероза, воспаления и дегенерации) в зависимости от места взятия биоптатов у пациентов с АВА представлены в Таблице 6.

Таблица 6 – Распределение морфологических признаков в зависимости от места взятия биоптатов при АВА

Признак	Синотубулярное соединение (n=66)	Тубулярная часть восходящей аорты (n=63)	Проксимальная часть дуги аорты (n=62)	P
Субэндотелиальный фиброз, n (%)	17 (25,8)	18 (28,6)	18 (29)	0,919
Неоангиогенез, n (%)	25 (37,9)	42 (66,7)	44 (71)	0,006
АТЕРОСКЛЕРОЗ , n (%)	21 (31,8)	17 (27,0)	20 (32,3)	0,650
Легкий атеросклероз, n (%)	15 (22,7)	10 (15,9)	13 (21)	0,705
Умеренный атеросклероз, n (%)	4 (6,0)	4 (6,3)	2 (3,2)	0,549

Продолжение Таблицы 6

Признак	Синотубулярное соединение (n=66)	Тубулярная часть восходящей аорты (n=63)	Проксимальная часть дуги аорты (n=62)	Р
Выраженный атеросклероз, n (%)	2 (3,0)	0 (0)	1 (1,6)	-
Атеросклероз с кальцинатами, n (%)	0 (0)	2 (3,2)	4 (6,5)	-
Атеросклероз с разрывом бляшки и поверхностным тромбом, n (%)	0 (0)	1 (1,6)	0 (0)	-
ВОСПАЛЕНИЕ , n (%)	22 (33,3)	17 (27,0)	18 (29,0)	0,723
Аортит, n (%)	12 (18,2)	10 (15,9)	12 (19,4)	0,876
Периаортит, n (%)	15 (22,7)	11 (17,5)	11 (17,7)	0,586
ДЕГЕНЕРАЦИЯ МЕДИИ , n (%)	59 (89,4)	60 (95,2)	57 (91,9)	0,466
Интраламеллярное мукоидное набухание, n (%)	54 (81,8)	50 (79,4)	49 (79)	0,916
Трансламеллярное мукоидное набухание, n (%)	28 (42,4)	21 (33,3)	20 (32,2)	0,358
Коллапс эластических мембран, n (%)	5 (7,6)	6 (9,5)	1 (1,6)	0,104
Истончение эластических мембран, n (%)	16 (24,2)	21 (33,3)	23 (37,1)	0,308
Фрагментация и частичная утрата эластических мембран, n (%)	57 (86,4)	57 (90,5)	51 (82,3)	0,847
Дезорганизация эластических мембран, n (%)	24 (36,4)	18 (28,6)	18 (29)	0,460
Утрата ядер гладкомышечных клеток, n (%)	21 (31,8)	25 (39,7)	20 (32,3)	0,621
Кальцификация меди, Me [Q1; Q3]% (ализариновый красный)	7,85 [2,2; 15,4]	10,45 [3,83; 22,35]	10,95 [4,65; 18,63]	0,216*

Примечание: Me – медиана, Q1 – нижний квартиль, Q3 – верхний квартиль; p – уровень значимости получен методом χ^2 ; * - уровень значимости получен критерием Краскала-Уоллиса.

В настоящем исследовании медиальная дегенерация была наиболее часто встречающимся морфологическим субстратом АВА: в изолированной или комбинированной форме дегенерация меди хотя бы в одной из изученных зон восходящей аорты наблюдалась у 100% пациентов. Наиболее часто дегенеративные изменения меди встречались в тубулярной части восходящей аорты (зона 2 - 95,2%). При исследовании биоптатов СТС (зона 1) и

проксимальной части дуги аорты (зона 3) встречаемость данного признака также была высока и составила 89,4% и 91,9%, соответственно (Таблица 6). Среди морфологических признаков дегенерации медики во всех трех зонах преобладали (по убыванию встречаемости) фрагментация и частичная утрата эластических мембран (зона 1 – 86,4%, зона 2 – 90,5%, зона 3 – 82,3%), интраламеллярное (зона 1 – 81,8%, зона 2 – 79,4%, зона 3 – 79%) и трансламеллярное мукоидное набухание (зона 1 – 42,4%, зона 2 – 33,3%, зона 3 – 37,1%; Таблица 6). Чаще всего проявление этих признаков имело легкую степень, а их распределение носило мультифокальный характер. Более подробное описание морфологических признаков медиальной дегенерации представлено в Приложении Г.

Атеросклероз хотя бы в одной из исследованных зон восходящей аорты присутствовал более, чем у половины пациентов с АВА (34 пациента, 51,5%), причем у 16 пациентов (24,2%) стадия поражения была умеренной или выраженной. Частота встречаемости атеросклероза аорты не зависела от локализации и составила 31,8%, 27,0% и 32,3% для зон 1, 2 и 3, соответственно ($p=0,650$, Таблица 6). В 100% случаев атеросклероз был ассоциирован с дегенеративным морфологическим паттерном, в то время как комбинация атеросклероз-аортит без дегенеративных изменений в исследованной выборке не встречалась. Выраженный атеросклероз, атеросклероз с кальцинатами и разрывом бляшки встречался только у пациентов с ТАК.

Интересным наблюдением стал тот факт, что частота встречаемости атеросклероза восходящей аорты по результатам гистологического исследования (34 пациента (51,5%), Таблица 6) значительно отличалась от результатов, полученных с помощью МСКТ восходящей аорты (9 пациентов (13,6%), Таблица 5, $p<0,0001$). В литературе редко встречаются исследования, посвященные оценке атеросклероза аорты, еще реже – атеросклерозу восходящей аорты (Рисунок 7А). Исключения составляют случаи пенетрирующей атеросклеротической язвы аорты – острого состояния, требующего корректной дифференциальной диагностики с другими аортальными синдромами, а также описание нестабильных бляшек перед операцией на восходящей аорте, т.к. они могут стать причиной периоперационных инсультов [Kataoka Y. et al., 2016].

Атеросклероз – «побочная» находка при описании КТ АВА, поскольку атеросклеротическая бляшка в данном сосуде ввиду его крупного диаметра редко достигает гемодинамически значимых размеров. Аналогичные результаты были получены в исследовании Dolmasci O.B. et al. (2023), где гистологическое исследование показало себя как более точный метод в обнаружении и классификации атеросклеротических бляшек по сравнению с КТ [Dolmasci O.B. et al., 2023]. Кроме того, «золотым стандартом» в диагностике атеросклероза аорты является чреспищеводная эхокардиография [Vrublevsky A.V., Saushkin V.V., 2024],

поэтому не исключено, что данные об атеросклерозе аорты по результатам МСКТ в настоящем исследовании занижены. Другой возможной причиной данного феномена является то, что МСКТ позволяет определять только запущенные кальцинированные атеросклеротические бляшки, в то время как гистологически возможно выявление субклинического атеросклероза, что делает гистологию более точным методом в диагностике ранних атеросклеротических поражений в крупных сосудах [Jużwik-Korasz E. et al., 2024]. Вследствие этого, дальнейшее разделение пациентов на группы «с и без» атеросклероза аорты будет производиться на основании гистологического исследования.

Аортит встречался у 23 пациентов (34,8%), из них сопутствующий периаортит встречался у 17 человек (73,9%), при этом у 6 пациентов очаги воспаления обнаруживались сразу в нескольких исследованных зонах восходящей аорты. Изолированно периаортит встречался у 10 пациентов. Различий в частоте встречаемости воспалительного субстрата АВА в исследованных зонах восходящей аорты выявлено не было (Таблица 6).

Среди прочих признаков в медиі часто выявлялся неоангиогенез (зона 1 – 37,9%, зона 2 – 66,7%, зона 3 – 71%, $p=0,006$; Таблица 6). Примечательно, что неоангиогенез статистически значимо чаще встречался в дистальной части восходящей аорты вблизи БЦС. Ангиогенез – один из основных компонентов как физиологической, так и патологической перестройки тканей, характеризующийся пролиферацией и миграцией эндотелиальных клеток с формированием новых капилляров. Было показано, что локальный ангиогенез наружного медиального слоя указывает на активное ремоделирование стенки аорты, связанное с риском расслоения аневризмы [Niinimäki E. et al., 2018]. Возможным источником неоангиогенеза в медиі аорты при АВА являются *vasa vasorum* адвентициальной оболочки сосуда, которые при наличии ангиогенных факторов «прорастают» в наружные отделы медиі [Kessler K. et al., 2014].

Морфологические особенности строения стенки восходящей аорты в зоне аневризмы ограниченно коррелировали с диаметром сосуда. В нашем исследовании из всех изученных морфологических признаков положительная корреляционная связь слабой силы с максимальным диаметром восходящей аорты была найдена только для степени ($p=0,326$, $p=0,009$) и объема ($p=0,335$, $p=0,007$) трансламеллярного мукоидного набухания медиі аорты (Приложение Г). Аналогичные результаты были получены в исследовании Stejskal V. et al. (2023) [Stejskal V. et al., 2023]. Также степень дегенеративных изменений в медиі аорты имела положительную корреляцию с диаметром аорты при аневризме и диссекции в исследовании Amemiya K. et al. (2020) [Amemiya K. et al., 2020].

3.2.1 Особенности морфологии стенки аорты у пациентов с аневризмой и атеросклерозом аорты

Поскольку патогенетические взаимоотношения между АВА и атеросклерозом неоднозначны, нами был произведен поиск различий встречаемости клинικο-морфологических параметров в зависимости от наличия атеросклероза аорты (хотя бы в одной из исследованных зон; Таблица 7).

Таблица 7 – Клинικο-морфологическая характеристика пациентов с АВА в зависимости от наличия атеросклероза аорты

Признак	Без атеросклероза аорты (n=32)	С атеросклерозом аорты (n=34)	p
Мужчины, n (%)	25 (78,1)	21 (65,6)	0,263
Возраст, лет (Me [Q1; Q3])	57,5 [44,8; 63,3]	62 [55,3; 67,5]	0,039*
Индекс массы тела, (Me [Q1; Q3])	26,8 [24,7; 29,8]	29,7 [24,2; 33,1]	0,207*
Артериальная гипертензия, n (%)	20 (62,5)	28 (82,4)	0,072
Двустворчатый аортальный клапан, n (%)	18 (56,3)	7 (20,6)	0,003
Сахарный диабет, n (%)	1 (3,1)	2 (5,9)	0,588
Атеросклероз КА, n (%)	8 (25)	9 (26,4)	0,897
Атеросклероз СА, n (%)	3 (9,4)	9 (26,4)	0,076
Ишемическая болезнь сердца, n (%)	9 (28,1)	13 (28,2)	0,993
Инфаркт миокарда, n (%)	4 (12,5)	3 (8,8)	0,628
Хроническая сердечная недостаточность, n (%)	10 (31,3)	11 (32,4)	0,924
Инсульт, n (%)	1 (3,1)	1 (2,9)	0,959
Средний диаметр восходящей аорты, мм (Me [Q1; Q3])	51,5 [50; 56]	51 [48,8; 54,5]	0,553*
Диаметр синотубулярного соединения, мм (Me [Q1; Q3])	43,5 [37,8; 48]	44,5 [38; 49]	0,930*
Диаметр тубулярной части восходящей аорты, мм (Me [Q1; Q3])	51,5 [50; 55,8]	50 [48; 53]	0,203*

Продолжение Таблицы 7

Признак	Без атеросклероза аорты (n=32)	С атеросклерозом аорты (n=34)	p
Субэндотелиальный фиброз, n (%)	1 (3,1)	17 (50)	< 0,001
Неоангиогенез, n (%)	9 (28,1)	17 (50)	0,071
ВОСПАЛЕНИЕ , n (%)	9 (28,1)	13 (28,2)	0,993
Аортит, n (%)	2 (6,3)	10 (29,4)	0,016
Периаортит, n (%)	8 (25)	7 (20,6)	0,672
ДЕГЕНЕРАЦИЯ МЕДИИ , n (%)	32 (100)	34 (100)	1,000
Интраламеллярное мукоидное набухание, n (%)	29 (90,6)	25 (73,5)	0,074
Трансламеллярное мукоидное набухание, n (%)	13 (40,6)	15 (44,1)	0,775
Коллапс эластических мембран, n (%)	1 (3,1)	4 (11,8)	0,185
Истончение эластических мембран, n (%)	3 (9,4)	13 (28,2)	0,054
Фрагментация и частичная утрата эластических мембран, n (%)	28 (87,5)	29 (85,3)	0,796
Дезорганизация эластических мембран, n (%)	11 (34,4)	13 (28,2)	0,589
Утрата ядер гладкомышечных клеток, n (%)	6 (18,8)	15 (44,1)	0,029
Кальцификация меди, Me [Q1; Q3]% (ализариновый красный)	10,8 [5,7; 17,5]	7 [5; 17,8]	0,635*

Примечание: КА – коронарные артерии, СА – сонные артерии, Me – медиана, Q1 – нижний квартиль, Q3 – верхний квартиль, p – уровень значимости получен методом χ^2 , * – уровень значимости получен критерием Манна-Уитни.

Пациенты с АВА и атеросклерозом были старше пациентов без атеросклеротического поражения восходящей аорты (62 [55,3; 67,5] vs. 57,5 [44,8; 63,3], $p=0,039$, Таблица 7). Встречаемость атеросклероза КА ($p=0,897$) и его осложнений – ИБС ($p=0,993$), ИМ ($p=0,628$) и ХСН ($p=0,924$) – в группах пациентов с и без атеросклероза восходящей аорты статистически значимо не различалась. Это же утверждение справедливо и для частоты встречаемости атеросклероза СА ($p=0,076$) и наличия инсульта в анамнезе ($p=0,959$; Таблица 7). Средний диаметр восходящей аорты не зависел от наличия сопутствующего атеросклеротического

поражения аорты ($p=0,553$). Двустворчатый аортальный клапан чаще встречался у пациентов с АВА без атеросклероза аорты ($p=0,003$).

В стенке аорты пациентов с атеросклерозом восходящей части сосуда чаще встречались субэндотелиальный фиброз ($p<0,001$), аортит ($p=0,016$) и утрата ядер ГМК ($p=0,029$; Таблица 7). Вышеупомянутые морфологические признаки характерны для атеросклероза [Stone J.R. et al., 2015]. Стадия атеросклероза аорты, установленная по результатам гистологического исследования (Таблица 6), не зависела от наличия сопутствующего атеросклероза КА ($p=0,771$) или СА ($p=0,454$).

В нашей выборке у 51,5% пациентов ($n=34$) присутствовали гистологические признаки атеросклероза аорты разной степени тяжести (определяемые в любой из зон восходящей аорты), что согласуется с данными, полученными Sazonova S. et al. (2024), где атеросклероз аорты наблюдался у 13 из 30 пациентов (43,3%, $p=0,459$) с АВА и был так же оценен гистологически [Sazonova S. et al., 2024].

У большинства пациентов с АВА (54%, $n=36$) гистологически выявлен одиночный паттерн – дегенеративные изменения меди, представленные коллапсом эластических окончательных мембран, их дезорганизацией, истончением или фрагментацией, а также утратой ядер гладкомышечных клеток (Рисунок 15). Это соотносится с результатами исследования Leone O. et al. (2020), где у 68% пациентов наблюдался одиночный дегенеративный паттерн гистологических изменений, а изолированный атеросклероз и аортит составили 4% и 3%, соответственно (Рисунок 15) [Leone O. et al., 2020].

Примечательно, что в нашем исследовании воспалению и атеросклерозу (умеренному или выраженному) всегда сопутствовала дегенерация меди; остальные 46% наблюдений пришлись на комбинацию основных морфологических субстратов: дегенерация-аортит (21%, $n=14$), дегенерация-атеросклероз (11%, $n=7$), дегенерация-атеросклероз-аортит (14%, $n=9$; Рисунок 15). Отличия частоты встречаемости атеросклеротических поражений в нашем исследовании и работе Leone O. et al. (2020) может объясняться различиями в выборках: в нашем исследовании отсутствовали пациенты с синдромальными формами АВА (подтвержденный генетический синдром был критерием невключения пациента в исследование), у которых реже регистрируются атеросклеротические поражения в аорте, а преобладающим морфологическим субстратом является дегенерация, возникающая в более раннем возрасте [Waters K.M. et al., 2017; Leone O. et al., 2020].

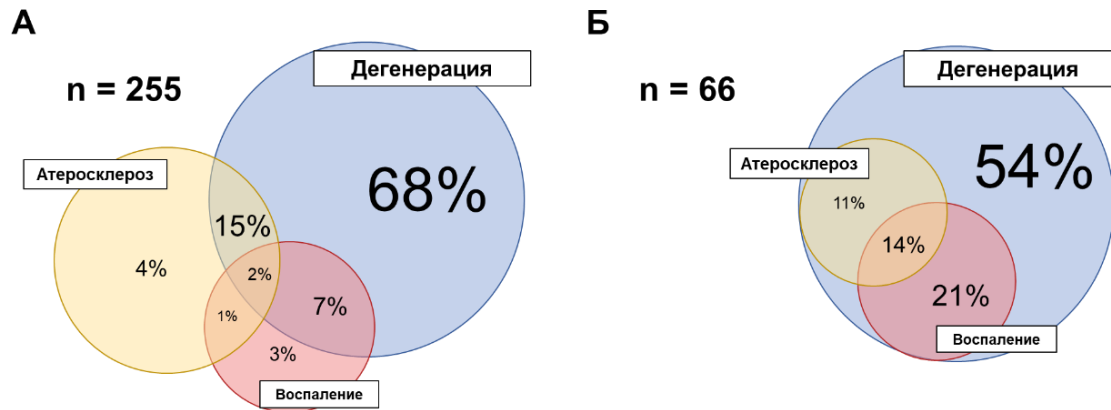


Рисунок 15 – Частота встречаемости атеросклероза, воспаления и дегенеративных изменений в образцах аневризмы восходящей аорты по результатам гистологического исследования: А – Leone O. et al. (2020), Б – настоящее исследование

В исследовании Nuhta A. et al. (2025), в котором гистологическая оценка аневризмы и диссекции восходящей аорты также проводилась согласно критериям Leone O. et al. [Leone O. et al., 2025], в 100% образцов отмечалась дегенерация меди, что соотносится с результатами настоящего исследования и говорит о том, что медиальная дегенерация – неотъемлемый сопутствующий признак АВА. В той же работе в 50,3% случаев дегенерация меди сопровождалась умеренным или выраженным атеросклерозом аорты, что превышает встречаемость соответствующих степеней атеросклеротических поражений в нашей выборке более чем в 2 раза (16 пациентов, 24,2%, $p=0,0003$), что может быть объяснено различиями в выборках: в исследование Nuhta A. et al. (2025) были включены пациенты как с АВА, так и с дилатацией (диаметр аорты <45 мм) или диссекцией аневризмы, а так же с патологией аортального клапана без аневризмы, что повысило гетерогенность исследуемой выборки [Nuhta A. et al., 2025].

3.2.2 Особенности морфологии стенки аорты у пациентов с аневризмой аорты с учетом строения аортального клапана

В соответствии с алгоритмом, примененном при анализе структуры коморбидности, нами был произведен поиск различий морфологических признаков у пациентов с АВА (хотя бы в одной из исследованных зон восходящей аорты) в зависимости от наличия особенностей строения аортального клапана. Результаты представлены в Таблице 8.

Таблица 8 – Распределение морфологических признаков в зависимости от строения аортального клапана при АВА

Признак	ДАК (n=25)	ТАК (n=41)	Р
Субэндотелиальный фиброз, n (%)	5 (20)	13 (31,7)	0,304
Неоангиогенез, n (%)	9 (36)	17 (41,5)	0,659
АТЕРОСКЛЕРОЗ , n (%)	7 (28)	27 (65,9)	0,003
Легкий атеросклероз, n (%)	4 (16)	15 (36,6)	0,075
Умеренный атеросклероз, n (%)	3 (12)	3 (7,3)	0,355
Выраженный атеросклероз, n (%)	0 (0)	4 (9,8)	-
Атеросклероз с кальцинатами, n (%)	0 (0)	5 (12,2)	-
Атеросклероз с разрывом бляшки и поверхностным тромбом, n (%)	0 (0)	1 (2,4)	-
ВОСПАЛЕНИЕ , n (%)	7 (28)	15 (36,6)	0,475
Аортит, n (%)	3 (12)	9 (22)	0,311
Периаортит, n (%)	4 (16)	11 (26,8)	0,313
ДЕГЕНЕРАЦИЯ МЕДИИ , n (%)	25 (100)	41 (100)	1,000
Интраламеллярное мукоидное набухание, n (%)	21 (84)	33 (80,5)	0,723
Трансламеллярное мукоидное набухание, n (%)	6 (24)	22 (53,7)	0,019
Коллапс эластических мембран, n (%)	1 (4)	4 (9,8)	0,392
Истончение эластических мембран, n (%)	3 (12)	13 (31,7)	0,072
Фрагментация и частичная утрата эластических мембран, n (%)	21 (84)	36 (87,8)	0,655
Дезорганизация эластических мембран, n (%)	9 (36)	15 (36,6)	0,961
Утрата ядер гладкомышечных клеток, n (%)	4 (16)	17 (41,5)	0,032
Кальцификация меди, Ме [Q1; Q3]% (ализариновый красный)	10,8 [4,9; 17,4]	12,5 [5,1; 18,4]	0,884*

Примечание: ДАК – двустворчатый аортальный клапан, ТАК – трехстворчатый аортальный клапан, Ме – медиана, Q1 – нижний квартиль, Q3 – верхний квартиль, р – уровень значимости получен методом χ^2 , * - уровень значимости получен критерием Манна-Уитни.

В нашей работе атеросклероз на любой из микроскопических стадий чаще встречался у пациентов с ТАК, чем ДАК (65,9% vs. 28%, $p=0,003$; Таблица 8). Различия достигались в основном за счет стадий IV-VI по АНА [Virmani R. et al., 2000]. У пациентов с ДАК регистрировался только легкий и умеренный атеросклероз. Существуют данные о том, что роль атеросклероза как «драйвера» развития АВА может быть более значимой у пациентов с ТАК. В работе Doppler C. et al. (2023) атеросклероз аорты, оцененный гистологически, наблюдался у 70,6% пациентов с ДАК, в то время как у пациентов с ТАК встречаемость этого признака достигала 100%, что говорит о роли атеросклероза в развитии АВА у пациентов с аортальным клапаном нормального строения [Doppler C. et al., 2023]. Результаты гистологического исследования согласуются с ранее полученными нами данными о коморбидности атеросклероза восходящей аорты и АВА при ТАК, описанными в разделе 3.1.1 «Анализ структуры коморбидности у пациентов с аневризмой аорты с учетом строения аортального клапана», где атеросклероз аорты также превалировал в группе пациентов с ТАК.

Среди признаков медиальной дегенерации трансламеллярное мукоидное набухание и утрата ядер ГМК в нашей выборке встречались чаще у пациентов с ТАК, чем у пациентов с ДАК (53,7% vs. 24%, $p=0,019$; 41,5% vs. 16%, $p=0,032$). Это в значительной степени подтверждает результаты предыдущих исследований, описывающих наличие дегенеративных изменений восходящей аорты преимущественно у пациентов с ТАК [Leone O. et al., 2020; Mennander A. et al., 2022; Doppler C. et al., 2023; Stejskal V. et al., 2023]. Несмотря на более раннее возникновение, дилатация восходящей аорты у пациентов с ДАК не приводит к таким серьезным дегенеративным изменениям в стенке аорты, как у пациентов с ТАК [Doppler C. et al., 2023]. Вероятно, имеет место разный патогенез АВА у пациентов с различной морфологией аортального клапана при наличии сопутствующего атеросклероза аорты: расширение восходящей аорты у пациентов с ДАК не связано с повышенной (по сравнению с пациентами с ТАК) дегенерацией стенки аорты [Buja L.M. et al., 2024].

3.2.3 Гистологический анализ кальцификации стенки аорты у пациентов с аневризмой восходящего отдела

По результатам визуальной оценки препаратов, окрашенных ализариновым красным, преципитаты кальция в восходящей аорте визуализировались преимущественно в медиі сосуда и имели диффузный характер распределения (Рисунок 16). Такая локализация позволяет предположить, что процесс отложения солей кальция при АВА не связан с атеросклерозом, при котором кальцинаты визуализируются в подэндотелиальном слое интимы [Lanzer P. et al., 2021].

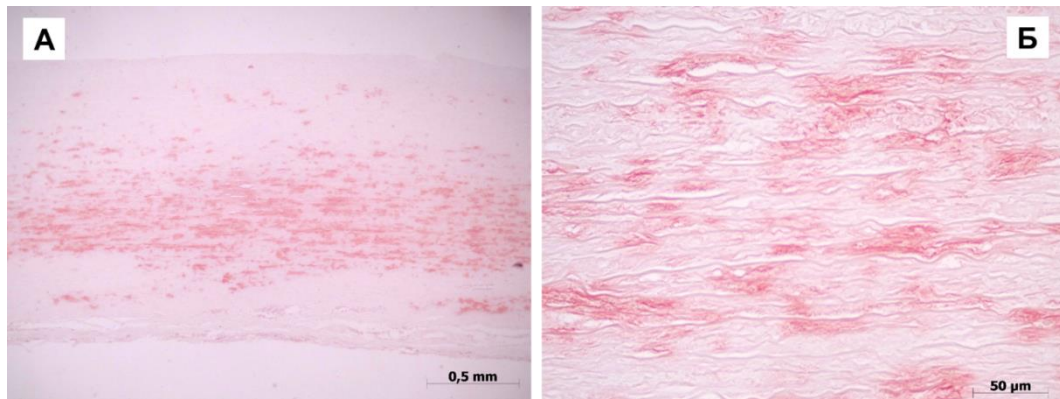


Рисунок 16 – Соли кальция в *tunica media* аорты у пациентов с АВА. Увеличение: 50х (А) и 400х (Б), окраска ализариновым красным

В нашем исследовании у пациентов с АВА процентное содержание кальция измеряли в трех различных зонах аорты: для СТС (зона 1) средний процент кальцификации составил 7,85 [2,2; 15,4]%, в тубулярной части восходящей аорты (зона 2) — 10,45 [3,83; 22,35]%, а в проксимальной части дуги аорты (зона 3) — 10,95 [4,65; 18,63]%. Различия в содержании кальция в различных зонах восходящей аорты не достигали статистически значимых величин ($p=0,216$, Рисунок 17, Таблицы 6-8). Ввиду отсутствия статистически значимых различий в проценте кальцификации между зонами было принято решение в дальнейшем рассматривать кальцификацию аорты в среднем без учета зон взятия биопсии.

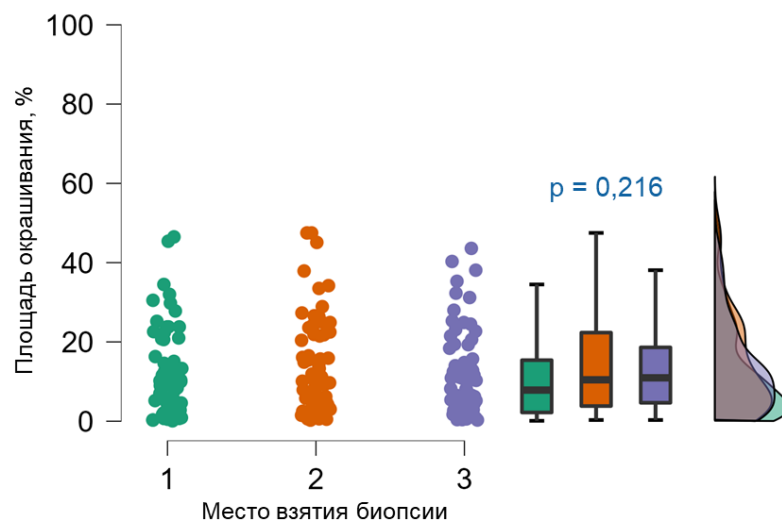


Рисунок 17 – Сравнение процента кальцификации в разных зонах взятия биоптатов аорты: 1 – синотубулярное соединение; 2 – часть восходящей аорты на уровне бифуркации легочного ствола; 3 – проксимальная часть дуги аорты

Причиной патологического расширения сосуда при АВА может быть повышенная деградация молекул эластина, которая приводит к накоплению солей кальция в медиальной

оболочке стенки сосуда [Senser E.M. et al., 2021; Downey R.T., Aron R.A., 2022]. Потенциальный механизм заключается в комбинации эффектов трансформирующего фактора роста-бета (TGF- β) и продуктов деградации эластина, стимулирующих накопление ионов кальция в культуре сосудистых ГМК и остеогенную трансдифференцировку особого клеточного типа – миофибробластов – которые представляют собой переходную форму между зрелыми фибробластами и гладкими миоцитами. Миграция адвентициальных миофибробластов в *tunica media* аорты, способствующая отложению солей кальция на молекулах эластина, подавление пролиферации сосудистых ГМК и избыточный синтез компонентов внеклеточного матрикса делают TGF- β одним из основных факторов ремоделирования сосудистой стенки при АВА [Simionescu A. et al., 2007; Chau K.H. et al., 2014].

При анализе особенностей сосудистой кальцификации у пациентов с синдромальными формами АВА (синдром Марфана) увеличение микрокальцификации наблюдалось в зонах повышенной деградации эластических мембран в меди. Молекула эластина имеет несколько сайтов, которые в случае его патологической деградации становятся ядрами кристаллизации [Perrotta I. et al., 2011]. Продукты деградации эластина, представляющие собой небольшие пептиды, повышают активность щелочной фосфатазы и снижают экспрессию матриксного белка Gla, который в свою очередь является ингибитором кальцификации ГМК [Proudfoot D. et al., 2000; Ewence A.E. et al., 2008; Wanga S. et al., 2017; Дзгоева Ф.У. и др., 2020]. В ответ на различные стрессовые сигналы сосудистые ГМК могут вызывать и усиливать кальцификацию с помощью нескольких механизмов, включая усиление апоптоза, высвобождение внеклеточных везикул и потерю естественных ингибиторов кальцификации, таких как уже упомянутый матриксный белок Gla [Kapustin A.N. et al., 2015; Lanzer P. et al., 2021].

В настоящем исследовании было проведено сравнение процента кальцификации стенки аорты в зависимости от различных клиничко-морфологических параметров (Рисунок 18). В качестве группирующих признаков выбраны: наличие гемодинамически значимого атеросклероза сонных и/или коронарных артерий по данным историй болезни и/или атеросклероза аорты по данным гистологии; средний диаметр восходящей аорты по данным компьютерной томографии; пол пациента; строение аортального клапана; морфологический субстрат АВА (дегенерация/атеросклероз/воспаление). Однако статистически значимых различий между группами пациентов выявлено не было.

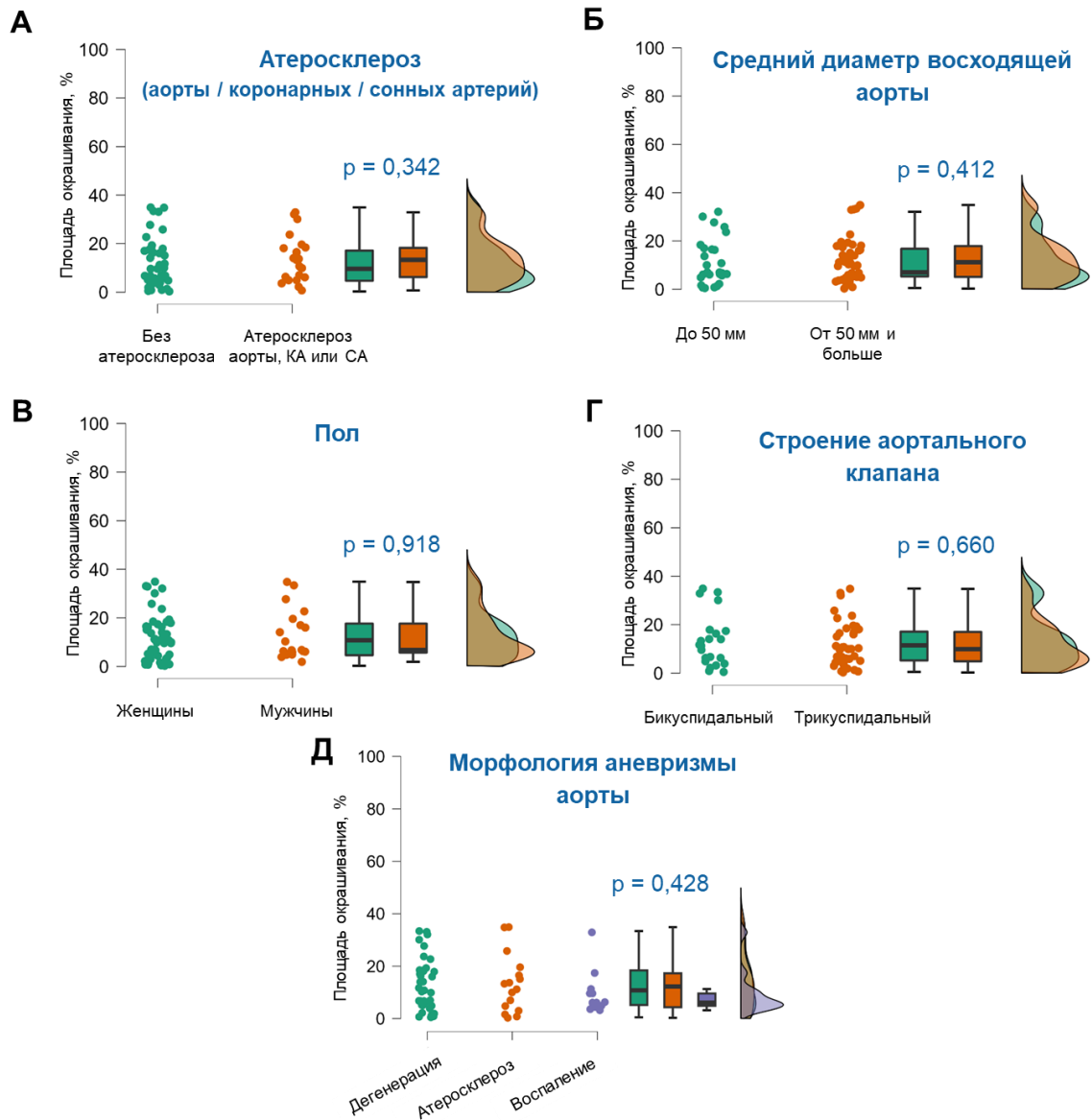


Рисунок 18 – Сравнение процента кальцификации восходящей аорты в зависимости от различных клинико-морфологических параметров пациентов с АВА: А – от атеросклероза аорты/коронарных/сонных артерий, Б – от среднего диаметра восходящей аорты, В – от пола, Г – от строения аортального клапана, Д – от морфологического субстрата аневризмы аорты по результатам гистологического исследования

Пациенты с АВА были разделены на две группы в зависимости от среднего процентного содержания кальция в трех зонах восходящей аорты. Пациентов относили в ту или иную группу на основании порогового значения кальцификации (threshold), которое было установлено на уровне медианного значения (10,3%) для всего ряда наблюдений. В первой группе процент солей кальция в *tunica media* аорты был значительно выше (17,20 [13,78; 25,28]%) по сравнению со второй группой, где кальция было значительно меньше (2,2 [4,9; 6,3]%). Пациенты с высокими значениями кальцификации оказались старше (63 [56; 66] лет) по сравнению с

пациентами с низкими значениями кальцификации (57 [43; 22] лет, $p=0,010$). Различий в проценте кальцификации между мужчинами и женщинами выявлено не было (10,7 [5,2; 17,9]% vs. 10,4 [6,1; 20,4]%, $p = 0,918$).

Далее было проведено сравнение возрастов пациентов с максимальным процентом кальцификации в одной из трех зон восходящей аорты. Было показано, что пациенты, у которых максимальный процент кальцификации регистрировался в зоне 3, были моложе (53 [41; 62] лет), чем пациенты с более выраженной кальцификацией в проксимальных отделах восходящей аорты (зона 1 (64 [58; 68] лет), зона 2 (60 [55,25; 65] лет), $p = 0,035$; Рисунок 19).

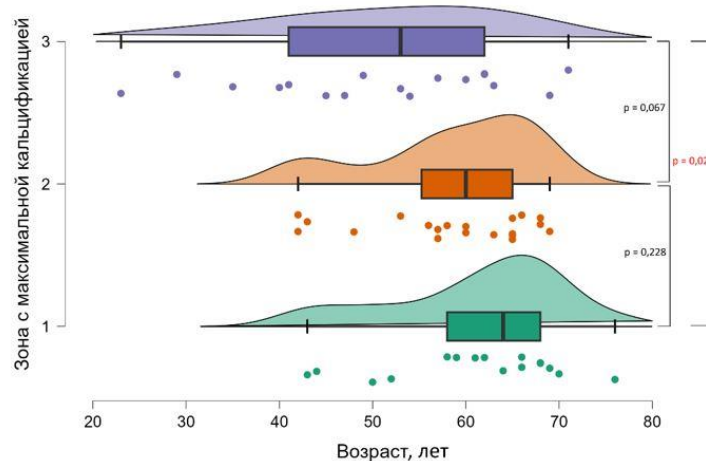


Рисунок 19 – Различия в возрасте пациентов с максимальной кальцификацией в различных участках восходящей аорты: 1 – синотубулярное соединение; 2 - часть восходящей аорты на уровне бифуркации легочного ствола; 3 - проксимальная часть дуги аорты

Поскольку у самых молодых пациентов процент кальцификации в дистальной части восходящей аорты выше, можно предположить, что первоначальная кальцификация восходящей аорты происходит дистальнее, рядом с брахиоцефальным стволом, и с возрастом распространяется в проксимальном направлении. Это наблюдение подтверждается экспериментальными данными Leroux-Berger M. et al. (2011): было показано, что эмбриональное происхождение сосудистых ГМК влияет на их способность к минерализации. Согласно результатам исследования, *tunica media* дуги аорты, где ГМК происходят из клеток нервного гребня, кальцифицируется значительно раньше, чем нисходящая аорта, где ГМК происходят из мезодермы [Leroux-Berger M. et al., 2011].

При анализе связи процента кальцификации аорты с другими клинико-морфологическими параметрами выявлена положительная корреляционная связь слабой силы для возраста пациента ($p=0,350$, $p=0,004$; Рисунок 20А). В то же время, слабая отрицательная корреляция обнаружена для процента кальцификации и скорости клубочковой фильтрации ($p=-0,378$, $p=0,009$; Рисунок 20Б).

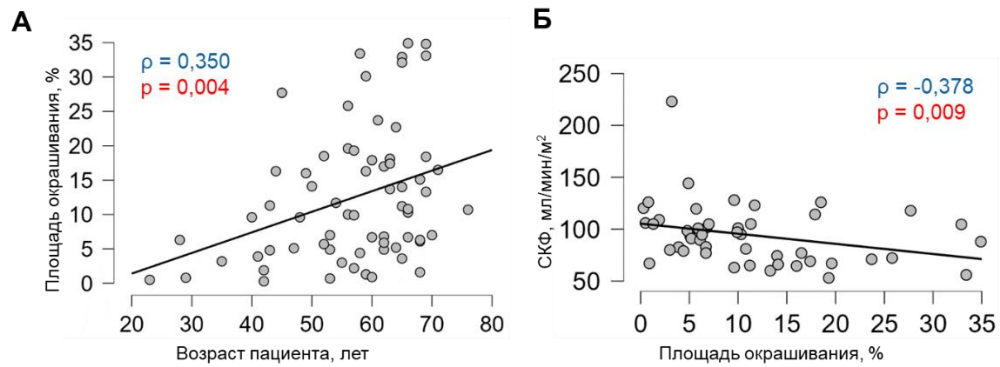


Рисунок 20 – Связь процента кальцификации аорты с возрастом (А) и скоростью клубочковой фильтрации (Б)

В литературе встречаются исследования, в которых были описаны схожие результаты для людей без патологии аорты: по данным КТ-исследования 557 пациентов без АВА была установлена связь кальцификации восходящей аорты с возрастом пациента, а кальцификация аортального клапана коррелировала со сниженной скоростью клубочковой фильтрации [Samaha H. et al., 2022]. В наше исследование были включены пациенты с патологией восходящей аорты, для которых такая ассоциация выявлена впервые. Показано, что кальцификация медики крупных (эластических и мышечно-эластических) артерий значительно увеличивается с возрастом и имеет сильную положительную корреляцию с жесткостью артерий [Duca L. et al., 2016]. Одним из возможных ключевых «игроков» данного события является мембранный белок из надсемейства рецепторных тирозинкиназ DDR1, который считывает сигнал о повышении жесткости внеклеточного матрикса и передает его в ГМК, что способствует остеогенной дифференцировке и кальцификации [Ngai D. et al., 2020]. В свою очередь, медиальная кальцификация снижает эластичность артериальной стенки, что может способствовать развитию атеросклероза и снижению перфузии органов [Mustapha J.A. et al., 2017].

Таким образом, преобладающими морфологическими характеристиками в стенке аорты у пациентов со спорадической формой АВА независимо от уровня взятия биопсийного материала являются фрагментация и частичная утрата эластических окончательных мембран, интраламеллярное и трансламеллярное мукоидное набухание. Дегенерация медики аорты встречается в 100% случаев, а атеросклероз и аортит лишь сопутствуют дегенеративным изменениям стенки сосуда. Атеросклероз и дегенерация медики аорты играют большую роль в развитии АВА у пациентов с аортальным клапаном нормального строения по сравнению с пациентами с двустворчатым аортальным клапаном. У пациентов с аневризмой восходящей аорты отложения солей кальция локализованы в медики сосуда и распределены равномерно на всем протяжении восходящей аорты; не зависят от наличия сочетанных гемодинамически значимых атеросклеротических поражений аорты, коронарных или сонных артерий, диаметра

восходящей аорты, строения аортального клапана и пола пациента, а также гистологических особенностей стенки аорты; имеют слабую положительную корреляцию с возрастом и слабую отрицательную корреляцию со скоростью клубочковой фильтрации. Предположено, что отложения кальция у пациентов с АВА первично возникают в дистальных отделах этого участка, что дополняет сведения о патогенезе АВА.

На сегодняшний день в литературе отсутствуют работы с подходом к детализации морфологии аорты на всем протяжении восходящего отдела сосуда (синотубулярное соединение, часть восходящей аорты на уровне бифуркации легочного ствола, проксимальная часть дуги аорты), реализованным в настоящем исследовании. Ранее было показано, что морфология аневризм корня аорты отличается от аневризм тубулярной части, однако в исследование были включены биоптаты от разных пациентов, что может быть причиной найденных различий [Surman T. L. et al., 2021].

Для выполнения аналогичной задачи коллектив авторов под руководством Stejskal V. (2022) использовали методику «квадрантов», согласно которой для исследования брали 4 биоптата аорты перпендикулярно продольной оси сосуда [Stejskal V. et al., 2022, 2023]. Однако и в этом случае оценка морфологии была произведена лишь на одном уровне восходящей аорты (на равном удалении от корня аорты), в то время как морфологические особенности могут быть обусловлены различиями в гемодинамике на разных уровнях сосуда [Petuchova A., Maknickas A., 2022], а также особенностями эмбрионального происхождения ГМК аорты.

Самая проксимальная область аорты – корень, лежит в области основания сердца и состоит из клеток глоточной мезодермы [Dyer L.A., Kirby M.L., 2009], дуга аорты, сонные артерии, а также небольшие участки подключичных артерий происходят из клеток нервного гребня [Jiang X. et al., 2000], а вся нисходящая часть (включая как грудной, так и брюшной отделы), происходит из мезодермы сомитов [Wasteson P. et al., 2008].

Различия в гемодинамике на разных уровнях восходящей аорты могут приводить к «мозаичности» структурных нарушений стенки сосуда, поэтому для более точного описания морфологических процессов рекомендовано взятие материала сразу на нескольких уровнях сосуда. Подобная тактика была предложена Успенским В.Е. и соавт. (2023), которые рекомендовали интраоперационный забор стенки ВА в виде циркулярного среза [Успенский В.Е. и др., 2023].

В нашем исследовании различий в дегенеративном, воспалительном или атеросклеротическом поражении стенки аорты на разных уровнях от корня аорты выявлено не было, что может быть обусловлено небольшим размером исследуемой выборки. Однако неоангиогенез в медиі статистически значимо чаще встречался в дистальной части восходящей аорты вблизи БЦС (зона 1 – 37,9%, зона 2 – 66,7%, зона 3 – 71%, $p=0,006$).

3.3 Поиск редких вариантов в генах наследственных форм аневризмы восходящей аорты

Для поиска генетических маркеров развития спорадических АВА была сформирована выборка из 41 пациента обоего пола с установленным диагнозом нерасслаивающейся аневризмы восходящей аорты. Подробная характеристика выборки представлена в Таблице 9.

Таблица 9 – Описание пациентов, включенных в исследование по поиску редких генетических вариантов

Характеристики	Все пациенты (n=41)	Мужчины (n=27)	Женщины (n=14)	P
Средний возраст, лет (Me [Q1; Q3])	54 [48; 64]	58,0 [48,0; 62,5]	53,0 [48,8; 68,5]	0,559*
Диаметр корня аорты, мм (Me [Q1; Q3])	42 [38,2; 46]	44,0 [39,9; 52,3]	39,0 [37,0; 40,9]	0,011*
Диаметр восходящей аорты, мм (Me [Q1; Q3])	52 [49; 54]	51,9 [46,5; 54,0]	52,0 [50,3; 52,9]	0,541*
Диаметр проксимальной части дуги, мм (Me [Q1; Q3])	39,5 [36; 42,5]	39,5 [36,0; 41,8]	39,5 [36,0; 43,0]	0,965*
Двустворчатый аортальный клапан, n (%)	25 (61,0)	14 (51,8)	11 (78,6)	0,105
Артериальная гипертензия, n (%)	27 (64,3)	18 (64,3)	9 (64,3)	0,879
Гиперлипидемия, n (%)	10 (23,8)	7 (25,0)	3 (21,4)	0,751
Ожирение (ИМТ>30), n (%)	18 (42,9)	12 (42,9)	6 (42,9)	1
СД2 или нарушение толерантности к глюкозе, n (%)	3 (7,1)	2 (7,1)	1 (7,1)	1
Стенокардия, ИБС или инфаркт миокарда, n (%)	13 (30,9)	12 (42,8)	1 (7,1)	0,039*
Атеросклероз сосудов различных бассейнов, n (%):	20 (50)	16 (59,2)	4 (28,6)	0,055
Коронарных артерий, n (%)	6 (14,3)	6 (22,2)	0	-
Сонных, n (%)	4 (9,7)	2 (7,4)	2 (14,3)	0,489
Почечных, n (%)	1 (2,4)	1 (3,7)	0	-
Коронарных и сонных, n (%)	4 (9,5)	4 (14,8)	0	-
Коронарных и бедренных, n (%)	1 (2,4)	1 (3,7)	0	-
Коронарных, сонных, бедренных, n (%)	4 (9,5)	2 (7,4)	2 (14,3)	0,489
Кальцификация коронарных артерий (КА) и аорты				
Измерена (n)	26	18	8	-
Уровень кальцификации в КА (индекс Агатстона)	71,2	94,9	17,9	0,461
Уровень кальцификации аорты (индекс Агатстона)	107	121	75,5	0,461

Продолжение Таблицы 9

Характеристики		Все пациенты (n=41)	Мужчины (n=27)	Женщины (n=14)	p
Индекс Агатстона КА/аорта, n (%)	0/0	11 (42,3)	6 (33,3)	5 (62,5)	0,174
	5-331/0	4 (15,4)	3 (16,7)	1 (12,5)	0,786
	0/28-159	3 (11,5)	3 (16,7)	0	-
	8-581/41-937	8 (30,8)	6 (33,3)	2 (25,0)	0,672

Примечание: ИМТ – индекс массы тела, КА – коронарные артерии, СД2 – сахарный диабет 2-го типа, ИБС – ишемическая болезнь сердца, Me – медиана, Q1 – нижний квартиль, Q3 – верхний квартиль, Mean – среднее значение, S.D. – стандартное отклонение, p – уровень значимости получен методом χ^2 ; * – уровень значимости получен критерием Манна-Уитни.

У 26 пациентов с помощью компьютерной томографии была оценена степень кальцификации стенки аорты и КА (Таблица 9). В качестве инструментального метода оценки кальцификации сосудов в клинической практике широко распространен расчет индекса Агатстона (Ca-score), который рассчитывается как произведение взвешенной плотности (фактора плотности) для зоны с высоким ослаблением излучения на площадь кальцинированной бляшки [Agatston A.S. et al., 1990]. В большинстве случаев картина кальцификации между КА и аортой является конкордантной: отсутствие кальцификации в КА и аорте встречалось у 42,3% пациентов; наличие кальцификации как в КА, так и в аорте – у 30,8% пациентов.

В результате секвенирования клинического экзона в 53 генах синдромальных и наследственных АВА у пациентов не выявлено патогенных или вероятно патогенных вариантов по классификации ACMG. Идентифицированные варианты были классифицированы следующим образом: 34 доброкачественных (benign), 5 вероятно доброкачественных (likely-benign) и 6 вариантов неопределенного клинического значения (VUS) (Приложение Д). Варианты неопределенного клинического значения обнаружены в генах различных категорий, классифицированных на основании силы ассоциации с наследственными АВА согласно ресурсу ClinGen [Renard M. et al., 2018]. Наиболее сильная связь с патологией определена для патогенных вариантов генов *FBN1*, *COL3A1* и *MYH11*, которые относятся к первой категории (A), *NOTCH1* отнесен ко второй (B) категории генов, связь для которых описана с другими клиническими проявлениями патологии, но которые потенциально могут быть вовлечены в патогенез АВА. Ген *COL4A5* относится к третьей категории генов (C) с ограниченными доказательствами влияния на развитие АВА, а *PLOD3* ассоциирован с заболеваниями грудной аорты по данным экспериментальных исследований без клинических доказательств вовлечения этого гена в патогенез (четвертая категория (D); Таблица 10). Далее приведено более подробное описание пациентов с выявленными VUS.

Таблица 10 – Клиническая характеристика пациентов с VUS

ID пациента	Возраст (лет)	Пол	Категория гена ([Renard M. et al., 2018], фенотип)	Диаметр ВА: корня/ тубулярной части/ проксимальной части дуги/ дуги (мм по МСКТ)	Индекс Агастона по КТ		Клапан аорты	ИБС	Факторы риска ССЗ (АГ/СД2/ГПЛ/О)	Атеросклероз	Предикция патогенности VUS		
					КА	ВА					VarSome (п / VUS / д)	CADD (PHRED)	AlphaMissense
13	58	м	<i>COL4A5</i> (С, Альпорта)	70/45/45/34	-	-	ДАК	да	да/ нет/да/ да	Аорты; КА	3 / 4 / 16	16,9	likely benign
36	67	ж	<i>NOTCH1</i> (В, -)	36/62/45/35	49	237	ТАК	да	да/нет/-/нет	Аорты; СА - до 20%	8 / 10 / 1	25,0	ambiguous
43	72	м	<i>MYH11</i> (А, -)	41/69/48/36	423	937	ТАК	да	да/ нет/ да/ нет	КА; СА - до 20%	11 / 9 / 1	32	likely benign
54	48	м	<i>FBN1</i> (А, Марфана)	45/50/35/30	0	0	ТАК	нет	да/ нет/ нет/ нет	нет	1 / 7 / 17	23,6	likely benign
			<i>COL3A1</i> (А, Элерса-Данлоса (тип IV))								8 / 12 / 3	28,5	likely pathogenic
			<i>PLOD3</i> (D, -)								11 / 10 / 1	25,6	ambiguous

Примечание: VUS – вариант неопределенного клинического значения, АГ – артериальная гипертензия, ВА – восходящая аорта, ГПЛ – гиперлипидемия, д – доброкачественный, ДАК – двустворчатый аортальный клапан, ж – женщина, ИБС – ишемическая болезнь сердца, КА – коронарные артерии, КТ – компьютерная томография, м – мужчина, МСКТ – мультиспиральная компьютерная томография, О – ожирение, п – патогенный, СА – сонные артерии, СД2 – сахарный диабет 2-го типа, ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания, ТАК – трикуспидальный аортальный клапан. Гены были классифицированы по категориям в зависимости от силы ассоциации с наследственной аневризмой восходящего отдела аорты: А - доказанная, В - сильная, С - умеренная, D – без клинических подтверждений [Renard M. et al., 2018].

У пациента №54 (мужчина, 48 лет, диаметр восходящей аорты – 5 см) выявлено три миссенс-варианта неопределенного клинического значения в генах *FBN1*, *COL3A1* и *PLOD3* (Рисунок 21, Таблица 10). Вариант в гене *COL3A1* не зарегистрирован в популяционных базах gnomAD (v.4.1.0), RUSeq (дата доступа 20.06.2024 г.) и ФМБА (версия 59.1). По результатам инструментального обследования у пациента не выявлено атеросклеротических бляшек в КА, СА или аорте. Среди других сопутствующих заболеваний у пациента диагностирована артериальная гипертензия, мочекаменная болезнь.

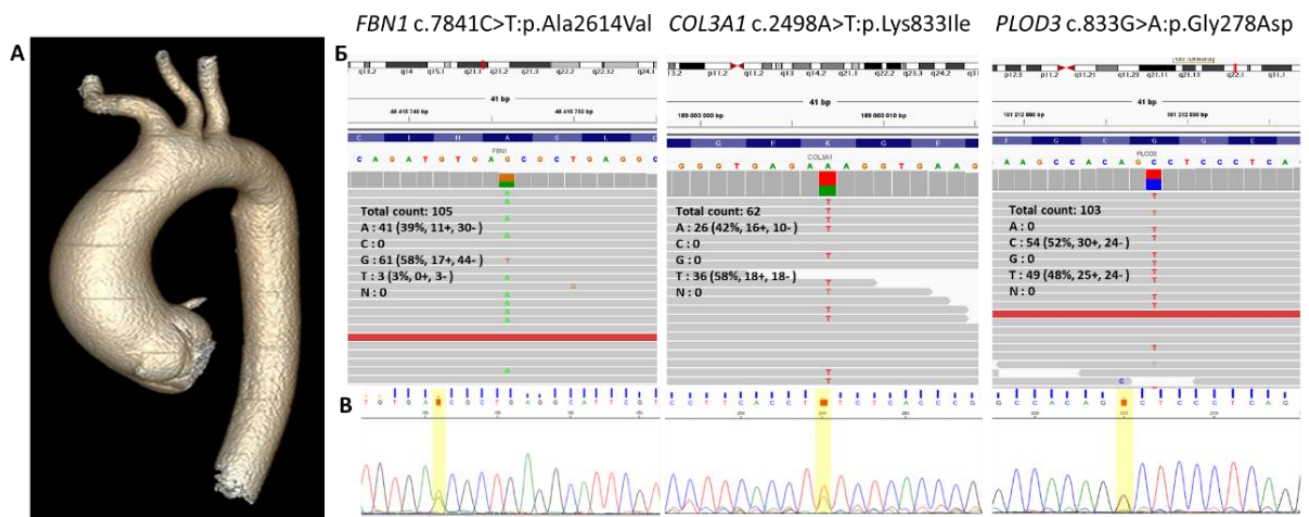


Рисунок 21 – Идентификация варианта с.7841C>T (p.Ala2614Val) в гене *FBN1*, варианта с.2498A>T (p.Lys833Ile) в гене *COL3A1* и варианта с.833G>A (p.Gly278Asp) в гене *PLOD3* у пациента №54: (А) мультиспиральная компьютерная томография грудного отдела аорты; (Б) молекулярно-генетическое тестирование пациента путем секвенирования клинического экзоза; (В) валидация генетических вариантов секвенированием по Сэнгеру

Вариант с.7841C>T (p.Ala2614Val) в гене *FBN1* (Рисунок 21) у пациента с аневризмой восходящей аорты идентифицирован впервые. Ген локализован на длинном плече 15-ой хромосомы (15q21.1) и включает 68 экзонов. Фибриллин-1 представляет собой большой гликопротеин массой 350 кДа, продуцируемый и секретируемый фибробластами и включенный во внеклеточный матрикс в виде нерастворимых микрофибрилл. Эти микрофибриллы служат каркасом для отложения эластина и необходимы для построения структуры, обеспечивающей эластичность соединительных тканей [Kielty C.M. et al., 2005]. Помимо эластогенеза и обеспечения структурной целостности эластических ламелл, некоторые функциональные домены фибриллина участвуют в секвестрации латентного TGF- β [Dietz H.C. et al., 2005]. кДНК гена *FBN1* была идентифицирована в 1991 году и картирована в соответствии с локусом синдрома Марфана [Maslen C.L. et al., 1991; Sakai L.Y. et al., 2016]. Последующие исследования

подтвердили, что мутации в гене *FBN1* являются причиной синдрома Марфана (OMIM 154700). Вариант зарегистрирован в базах gnomAD (частота аллеля - $6,8 \times 10^{-7}$) и ФМБА (частота аллеля - $5,8 \times 10^{-5}$).

Потенциальная патогенность варианта c.7841C>T (p.Ala2614Val) исследовалась с использованием нескольких инструментов *in silico*. По оценкам VarSome этот вариант оценен как патогенный по данным только одного предиктора (MutPred), тогда как 7 предикторов (BLOSUM, DANN, FATHMM, FATHMM-MKL, MVP, PrimateAI, SIFT4G) оценивали вариант как VUS и 15 – как benign (доброкачественный). По шкале CADD (PHRED) данный вариант оценивается как патогенный (CADD Score – 23,6). Согласно инструменту AlphaMissense, замена p.Ala2614Val в белке FBN1 классифицируется как вероятно доброкачественная (likely benign). В той же позиции (chr15:48415746) описан другой вариант c.7841C>A p.(Ala2614Asp), который по шкалам предикции патогенности VarSome также отнесен к VUS. Для данного варианта так же нет информации по связи с заболеваниями.

Второй VUS у пациента №54 c.2498A>T (p.Lys833Ile) выявлен в гене *COL3A1* (Рисунок 21). В геноме человека *COL3A1*, кодирующий $\alpha 1$ -цепь коллагена III типа, расположен на длинном плече хромосомы 2 (2q32.2) и имеет 51 экзон. Продукт этого гена - основной белок сосудистой стенки и полых органов [Byers P.H. et al., 2017]. Мутации в этом гене связаны с синдромом Элерса-Данлоса сосудистого типа (OMIM 210180), аневризмами аорты и других артерий [Lui M.M. et al., 2023]. К настоящему времени было идентифицировано более 500 патогенных вариантов *COL3A1*, вызывающих синдром Элерса-Данлоса, при этом 50% пораженных лиц наследуют мутации от больных родителей, а у 50% они возникают *de novo* [Gu G. et al., 2018].

Данный вариант c.2498A>T не представлен в популяционных базах gnomAD, RUSseq и ФМБА, его связь с патологией неизвестна. Шкала предикции патогенности VarSome по 8 предикторам относит этот вариант к патогенным (DEOGEN2, FATHMM-MKL, SIFT, PROVEAN, M-CAP и др.), 12 предикторов характеризуют вариант как VUS, 3 - benign, и по CADD (PHRED) вариант так же относится к патогенным (CADD Score – 28,5). Инструмент AlphaMissense классифицирует замену p.Lys833Ile в белке *COL3A1* как вероятно патогенную (likely pathogenic). По данным ресурса ClinVar, в этой позиции (chr2:189003007) ранее описан rs371344739 (c.2498A>G, p.Lys833Arg, ID199701), частота которого для европеоидов составляет 0,00013 (gnomAD) и который также является VUS.

Третий VUS c.833G>A (rs1041461490, p.Gly278Asp) у пациента №54 идентифицирован в гене *PLOD3* (Рисунок 21). Ген локализован на длинном плече 7-ой хромосомы (7q22.1) и включает 19 экзонов. Белок, кодируемый этим геном, представляет собой связанный с мембраной гомодимерный фермент, локализованный в цистернах шероховатого

эндоплазматического ретикулума [Scietti L. et al., 2018]. Фермент PLOD3 катализирует гидроксилирование остатков лизина в коллагеноподобных пептидах. Образующиеся в результате гидроксилизильные группы являются местами прикрепления углеводов в коллагене и, таким образом, имеют решающее значение для стабильности межмолекулярных поперечных связей [Salo A.M. et al., 2008]. Вариант зарегистрирован в базах gnomAD (частота аллеля – $6,8 \times 10^{-6}$), RUSeq (частота аллеля – $5,9 \times 10^{-4}$) и ФМБА (частота аллеля – $1,2 \times 10^{-4}$), в базе ClinVar (ID1386463) обозначен как VUS, но о его связи с патологиями информации нет.

Согласно VarSome, 11 предикторов относят данный вариант к патогенным (MutPred, DEOGEN2, FATHMM-MKL, EIGEN, PROVEAN и др.), 10 – к VUS и лишь 1 предиктор классифицирует данный вариант как доброкачественный (FATHMM). Шкала предикции патогенности CADD (PHRED) относит данный вариант к патогенным (CADD Score – 25,6). Инструмент AlphaMissense классифицирует замену аминокислот p.Gly278Asp в белке PLOD3 как неоднозначную (ambiguous), не относя ее ни к патогенным, ни к доброкачественным. К настоящему времени накапливаются данные о связи патогенных вариантов гена *PLOD3* с патологией соединительной ткани с сосудистыми осложнениями, семейными и спорадическими аневризмами артерий различной локализации в некоторых популяциях [Ewans L.J. et al., 2019; Koenig S.N. et al., 2022; Song Y. et al., 2022]. Патогенные варианты *PLOD3* приводят к состоянию, подобному синдрому Стиклера - заболеванию соединительной ткани с сосудистыми осложнениями [Ewans L.J. et al., 2019].

Гены *FBN1*, *COL3A1* и *PLOD3*, VUS в которых выявлены у пациента №54, по данным литературы, имеют разное влияние на развитие патологии: два VUS (*FBN1* с.7841C>T (p.Ala2614Val) и *COL3A1* с.2498A>T (p.Lys833Ile)) локализованы в генах с доказанным максимальным эффектом мутаций на развитие патологии [Renard M. et al., 2018]. Третий ген *PLOD3*, в котором был найден вариант с.833G>A (p.Gly278Asp), связан с заболеваниями восходящей аорты на основании экспериментальных исследований, однако в клинической практике его роль пока что не доказана [Renard M. et al., 2018].

У пациента №43 (мужчина, 72 года, диаметр восходящей аорты – 6,9 см) выявлен VUS с.4993C>T (rs768569707, p.Arg1665Cys) в гене *MYH11* (Рисунок 22). Помимо АВА, у пациента также диагностирована артериальная гипертензия, гиперлипидемия, атеросклероз КА и СА, ИБС и хроническая ишемия головного мозга (Таблица 10). Наблюдается прогрессирующая кальцификация коронарных сосудов и аорты с индексами Агатстона 423 и 937, соответственно. Среди других выявленных заболеваний – поликистоз почек, варикозное расширение вен, хронический гастрит, эзофагит и остеохондроз шейного отдела позвоночника.

MYH11 c.4993C>T:p.Arg1665Cys

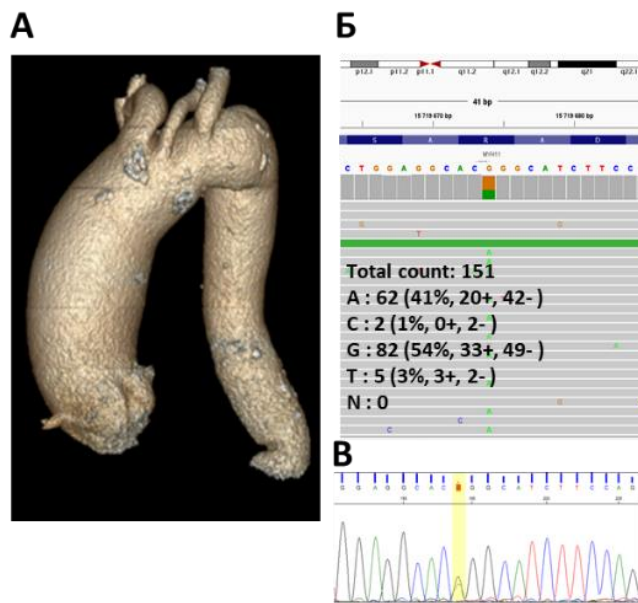


Рисунок 22 – Идентификация варианта c.4993C>T (p.Arg1665Cys) в гене *MYH11*: (А) мультиспиральная компьютерная томография грудного отдела аорты; (Б) молекулярно-генетическое тестирование пациента путем секвенирования клинического экзона; (В) валидация генетических вариантов секвенированием по Сэнгеру

Ген *MYH11* локализован на коротком плече 16-й хромосомы (16p13.11) и имеет 43 экзона. Белок, кодируемый этим геном – миозин гладких мышц, принадлежащий к семейству тяжелых цепей миозина. Продукт гена представляет собой субъединицу гексамерного белка, состоящую из двух субъединиц тяжелой цепи и двух пар неидентичных субъединиц легкой цепи. Он функционирует как основной сократительный белок, преобразовывая химическую энергию в механическую за счет гидролиза АТФ. Патогенные варианты в гене *MYH11* ассоциированы с семейными случаями развития аневризмы восходящей аорты. Изменение белковой структуры *MYH11* нарушает цитоскелет и сократительную функцию ГМК и увеличивает внутриклеточное напряжение *in vitro*, что приводит к ремоделированию восходящей аорты [Negishi K. et al., 2022].

Вариант rs768569707 встречается с частотой $4,4 \times 10^{-5}$ по данным gnomAD, не представлен в популяционных базах RUSeq и ФМБА. Согласно шкале прогнозирования патогенности VarSome, 11 предикторов относят данный вариант к патогенным (LIST-S2, PROVEAN, DEOGEN2, EIGEN, EIGEN PC, FATHMM-XF и др.), 9 предикторов относят вариант к VUS и лишь по результатам одного предиктора данный вариант может быть классифицирован, как доброкачественный (MVP). По шкале CADD (PHRED) данный вариант также классифицирован, как патогенный (CADD Score – 32,0). Согласно инструменту AlphaMissense,

замена p.Arg1665Cys в белке MYH11 классифицируется как вероятно доброкачественная (likely benign). В базе данных ClinVar этот вариант (ID405480) описан у пациентов с семейными формами АВА, а также у детей с некомпактным миокардом левого желудочка, наследственной формой кардиомиопатии [Hirono K. et al., 2020].

У пациента №13 (мужчина, 58 лет, диаметр восходящей аорты – 4,5 см) был обнаружен вариант c.953C>G (chrX:108582900, rs1449979085, p.Pro318Arg) в гене COL4A5 (Рисунок 23). Ген локализован на X хромосоме (Xq22.3) и состоит из 57 экзонов. Этот ген кодирует одну из шести субъединиц коллагена IV типа, основного структурного компонента базальных мембран. У пациента диагностированы АВА в области корня, ДАК, артериальная гипертензия, гиперлипидемия и ожирение (Таблица 10), хроническая болезнь почек (в 3б стадии) со скоростью клубочковой фильтрации 52 мл/мин/1,73 м².

COL4A5 c.953C>G:p.Pro318Arg

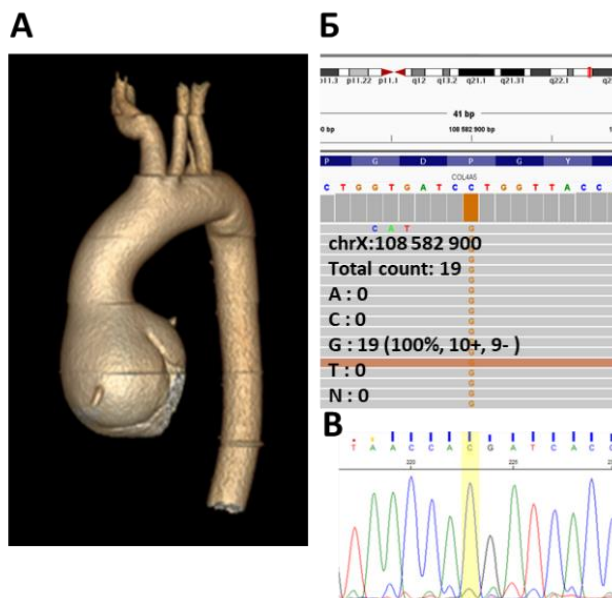


Рисунок 23 – Идентификация варианта c.953C>G (p.Pro318Arg) в гене COL4A5: (А) мультиспиральная компьютерная томография грудного отдела аорты; (Б) молекулярно-генетическое тестирование пациента путем секвенирования клинического экзона; (В) валидация генетических вариантов секвенированием по Сэнгеру

Частота встречаемости rs1449979085 составляет $8,3 \times 10^{-6}$, а среди европейцев – $1,1 \times 10^{-5}$ (gnomAD); частота аллеля согласно ФМБА – $8,7 \times 10^{-5}$. VarSome определил этот вариант как патогенный на основании 3 предикторов (в т.ч. DEOGEN2, M-CAP), 4 предиктора классифицируют вариант, как VUS, 16 – как доброкачественный. По шкале CADD (PHRED) Score составил 16,9. Согласно инструменту AlphaMissense, замена p.Pro318Arg в белке COL4A5 классифицируется как вероятно доброкачественная (likely benign). Хотя VUS, выявленный у

пациента №13, описан в ClinVar (ID2485585), его ассоциация с соответствующими патологиями, включая АВА, отсутствует в литературе и общедоступных базах данных. Патогенные варианты в этом гене связаны с X-сцепленным синдромом Альпорта, также известным как наследственный нефрит [Gubler M.C., 2008]. Одним из редких осложнений синдрома Альпорта является его сосудистая форма, при которой у пациентов наблюдается дилатация и расслоение аорты и других сосудов [Kashtan C.E. et al., 2010].

У пациента №36 (женщина, 67 лет, диаметр восходящей аорты – 6,2 см) идентифицирован вариант с.964G>A (p.Val322Met) в гене *NOTCH1* (Рисунок 24). Ген локализован на длинном плече 9-ой хромосомы (9q34.3) и включает 34 экзона. Помимо основного диагноза, у пациентки наблюдалось расширение нисходящей аорты, гипертония, пароксизмальная тахикардия, ИБС, атеросклероз СА и хроническая ишемия головного мозга (Таблица 10). Аортальный клапан нормального строения. Примечательно, что в КА наблюдается низкая, а в аорте высокая степень кальцификации (индекс Агатстона 49 и 237, соответственно).

NOTCH1 с.964G>A:p.Val322Met

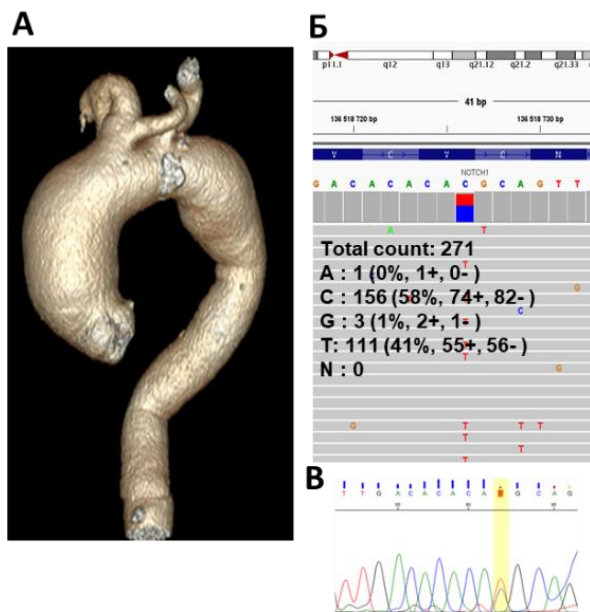


Рисунок 24 – Идентификация варианта с.964G>A (p.Val322Met) в гене *NOTCH1*: (А) мультиспиральная компьютерная томография грудного отдела аорты; (Б) молекулярно-генетическое тестирование пациента путем секвенирования клинического экзона; (В) валидация генетических вариантов секвенированием по Сэнгеру

Согласно популяционным базам gnomAD и ФМБА, вариант с.964G>A в гене *NOTCH1* встречается с частотой $2,1 \times 10^{-6}$ и 8×10^{-6} , соответственно. Восемь шкал предсказания патогенности VarSome однозначно классифицируют этот вариант как патогенный (DEOGEN2,

EIGEN PC, FATHMM-MKL, LIST-S2, LRT, M-CAP, PrimateAI, SIFT4G), 10 – как VUS, в то время, как только один предиктор классифицирует его, как доброкачественный (Mutation assessor). Оценка CADD (PHRED) в 25,0 баллов подтверждает патогенность этого варианта. Инструмент AlphaMissense классифицирует замену аминокислот p.Val322Met в белке NOTCH1 как неоднозначную (ambiguous).

Патогенные варианты *NOTCH1* вовлечены в развитие нескольких типов врожденных пороков сердца, включая синдром гипоплазии левых отделов сердца [Ye S. et al., 2023]. Мутации *NOTCH1* являются факторами риска врожденного ДАК и приобретенной кальцификации аортального клапана у человека [Garg V. et al., 2005]. Гаплонедостаточность *Notch1* усугубляет течение аневризмы корня аорты, наблюдаемое в мышинной модели синдрома Марфана [Koenig S.N. et al., 2017]. Недостаточность продукта гена *Notch1* в ГМК ограничивает расширение брюшной аорты за счет сохранения сократительного фенотипа ГМК, предотвращения ремоделирования внеклеточного матрикса сосуда [Sachdeva J. et al., 2017], торможения рекрутирования макрофагов и ослабления воспалительной реакции в сосуде [Hans C.P. et al., 2012]. Хотя ранее зарегистрированный вариант (c.964C>G, rs1317299348, p.Val322Leu) в тех же геномных координатах (chr9:136518726) классифицируется как VUS, нет никаких доказательств, связывающих его с каким-либо заболеванием. В настоящее время нет подтверждения и связи варианта c.964G>A (p.Val322Met) в гене *NOTCH1* с какой-либо патологией, в т.ч. и с АВА.

Существуют рекомендации по проведению генетического тестирования в сочетании с визуализацией восходящей аорты для более точной оценки индивидуального риска пациента [Reddy P. et al., 2024]. Описаны более 60 генов, которые могут быть связаны с АВА. Из них лишь 24 гена реферируются в базе данных ClinGen, и только для 11 из них была установлена достоверная ассоциация с патологией [Renard M. et al., 2018]. Эти гены, включая *FBN1* и *COL3A1*, рекомендуются в качестве панели для таргетного генетического тестирования пациентов с АВА. Ген *PLOD3* не включен в эту панель из-за отсутствия доказанной ассоциации с развитием патологии, однако миссенс-вариант VUS c.534C>A (p.Ser178Arg) в гомологичном гене *PLOD1* был связан с аутосомно-доминантной семейной формой АВА с высокой пенетрантностью.

Рекомендованные для тестирования гены – это гены наследственных аневризм, но возможно, что в патогенез спорадических АВА вовлечены иные, неочевидные гены-кандидаты, что было подтверждено в нескольких исследованиях [Li J. et al., 2021; Salmasi M.Y. et al., 2023]. Также известно, что варианты в генах, ответственных за наследуемые формы АВА, могут вызывать спорадические случаи аневризм – у таких пациентов, несмотря на отсутствие патогенных вариантов, выявляется повышенный груз VUS, в том числе и в генах *FBN1*,

COL3A1 и *MYH11* [Guo D. et al., 2017; Li Y. et al., 2021], а также *NOTCH1* [Li J. et al., 2021]. Кроме того, было отмечено, что носительство VUS ассоциировано с более ранней манифестацией АБА, возрастом на момент первого и частотой повторного оперативного вмешательства на аорте [Yang H. et al., 2023]. В настоящее время роль VUS в патогенезе АБА ставится под сомнение – рекомендуется не учитывать эти варианты для определения тактики ведения их носителей. Однако, семьям-носителям VUS должно быть уделено особое внимание, поскольку в процессе изучения функциональной значимости VUS их класс может измениться [Isselbacher E.M. et al., 2022]. Все это диктует необходимость дальнейшей классификации этих вариантов для перевода их из категории «неопределенного клинического значения» в категорию «патогенных» или же, наоборот, «доброкачественных».

Белковые продукты генов, в которых были найдены VUS, в основном являются структурными компонентами внеклеточного матрикса (*FBN1*, *COL3A1* и *COL4A5*). Другие гены кодируют сократительный белок гладкомышечных клеток – миозин (*MYH11*), трансмембранный рецептор сигнального пути Notch (*NOTCH1*) и фермент, отвечающий за стабильность межмолекулярных коллагеновых сшивок (*PLOD3*). Следует отметить, что мы не обнаружили патогенных, вероятно патогенных вариантов или VUS в генах сигнального пути TGF- β , который играет важную роль в патогенезе АБА [Ostberg N.P. et al., 2020]. Это может быть отчасти объяснено небольшим размером выборки.

В нашем исследовании было установлено, что у 4-х пациентов (9,8%) с несиндромальными АБА без расслоения имелся, по крайней мере, один вариант неопределенного клинического значения. Эти результаты согласуются с предыдущими исследованиями смешанных групп пациентов с аневризмой и расслоением грудной аорты, включая синдромальные, семейные и спорадические случаи [Weerakkody R. et al., 2018; Arnaud P. et al., 2019]. Так, например, в группах больных с аневризмой и расслоением аорты доля пациентов с идентифицированными VUS составляет от 2% до 40% [Arnaud P. et al., 2019; Abood Z. et al., 2024; Mahlmann A. et al., 2024]. В другом исследовании, анализировавшем пациентов с предположительно унаследованными формами АБА (на основании положительного семейного анамнеза, раннего возраста манифестации заболевания или отсутствия дополнительных причин, которые могли вызвать расширение восходящей аорты) частота VUS составила 12,8% [Yang H. et al., 2023]. Напротив, в выборке пациентов со спорадическим расслоением аорты была отмечена более высокая доля лиц с хотя бы одним VUS (28%), большинство из которых приходились на гены *FBN1*, *MYH11* и *COL3A1* [Guo D. et al., 2017]. В нашей работе идентифицированные VUS были миссенс-вариантами, что согласуется с исследованием Arnaud P. et al. (2019) [Arnaud P. et al., 2019].

У одного пациента (№54) с тремя VUS наблюдался ранний возраст манифестации заболевания (48 лет). По результатам экзомного секвенирования у 30% пациентов с аневризмой восходящей аорты и диссекцией с ранней манифестацией (<56 лет) выявляются 1-3 VUS в генах наследственных аневризм [Guo D. et al., 2017]. Медико-генетическое консультирование может быть рекомендовано родственникам (в особенности – детям) пациентов со спорадическими АВА с ранней манифестацией даже в отсутствие «синдромальных» признаков [Abbasiano R.G. et al., 2022].

На сегодняшний день нет однозначного подтверждения тому, что VUS могут спровоцировать дилатацию восходящей аорты, поэтому некоторые исследователи считают, что эти варианты не должны учитываться при проведении диагностики и оценке индивидуального риска развития АВА [Isselbacher E.M. et al., 2022]. Другие исследователи заявляют, что VUS должны быть учтены, а их патогенность должна определяться индивидуально с учетом генетического консультирования [Abood Z. et al., 2024]. Значение редких вариантов в генетике многофакторных заболеваний растет, поскольку они имеют более сильное влияние на функцию и экспрессию генов и существенную популяционную специфичность. Проведение новых исследований может подтвердить функциональную значимость генетических вариантов, что приведет к смещению оценки патогенности и смене категорий вариантов. Даже варианты неопределенного клинического значения могут повышать риск развития аневризмы восходящей аорты в сочетании с другими генетическими и негенетическими факторами риска [Kwartler C.S. et al., 2018]. Поэтому пациенты с выявленными в ходе генетического тестирования VUS должны находиться под наблюдением, включая периодическую визуализацию аорты, до тех пор, пока диагноз не будет подтвержден или опровергнут.

У пациента №54 было одновременно идентифицировано 3 VUS в генах, связанных со структурой и метаболизмом внеклеточного матрикса (*FBN1*, *COL3A1*, *PLOD3*). Изолированная оценка вклада каждого из этих генетических вариантов возможна – существует множество биоинформатических инструментов для предсказания патогенности вариантов в генах менделирующих заболеваний. Однако интерес представляет прогнозирование потенциально патогенных комбинаций из 2-х и более вариантов, что с развитием и распространением технологий массового параллельного секвенирования становится ключевой задачей в области медицинской генетики. Наиболее современные инструменты способны предсказывать патогенность для дигенетических (билокусных) комбинаций вариантов (VarCoPP2.0, ORVAL) [Renaux A. et al., 2019; Versbraegen N. et al., 2023], однако остается открытым вопрос достоверного предсказания патогенности для группы из более чем 2-х вариантов, встречающихся у пациента одновременно, т.к. зачастую их совместное влияние может быть

модифицировано за счет эпистатического взаимодействия и отличаться от простой суммы их индивидуальных эффектов.

Варианты в одних и тех же генах могут приводить к прогрессированию различных сердечно-сосудистых заболеваний. В настоящем исследовании у 3-х пациентов с VUS был диагностирован сопутствующий атеросклероз аорты, КА или СА. Согласно ресурсу GWAS Catalog, в генах *FBN1*, *COL3A1*, *MYH11* и *NOTCH1* зарегистрированы 9 SNP, ассоциированные с биохимическими или клиническими (эндо)фенотипами атеросклероза: уровнем метаболитов липидного обмена в плазме (*MYH11*, rs6498570 и rs77466193; *NOTCH1*, rs4382584), ИБС (*MYH11*, rs9972711, rs216158 и rs12691049), толщиной комплекса интима-медиа в СА (*FBN1*, rs24559254; *COL3A1*, rs73047627) и кальцификацией КА (*NOTCH1*, rs2229973).

Частые варианты, связанные с АВА/диаметром/размером восходящей аорты, среди списка генов с VUS в настоящем исследовании описаны только для гена *FBN1* (11 вариантов). Кроме того, к АВА может приводить артериальная гипертензия. Согласно ресурсу GWAS Catalog, в генах наследственных аневризм встречаются полиморфизмы, показавшие связь с артериальным давлением: 26 вариантов в гене *FBN1*, 5 вариантов (rs3915499, rs8044595, rs7192541, rs3915425, rs72772056) в гене *MYH11*, 1 вариант (rs3125001) в гене *NOTCH1*. Примечательно, что полиморфизмы двух локусов rs1036477 и rs7174973 гена *FBN1* показали ассоциацию с артериальным давлением и аневризмой/размером аорты одновременно.

В литературе встречаются экспериментальные подтверждения плеiotропности генов в отношении сердечно-сосудистых заболеваний. Например, редкий вариант (VUS) в гене *MYH11* (с.5676G>C), приводящий к замене глутаминовой кислоты на аспарагиновую кислоту (p.Glu1892Asp), обуславливал одновременно увеличение размеров восходящей аорты с повышенной деградацией эластина и гипертрофии миокарда у мышей [Zhou Z. et al., 2024]. В исследовании Guo D. et al. (2009) было показано, что мутации в гене *ACTA2*, кодирующем сократительный белок актин в гладких миоцитах, могут приводить не только к АВА, но и к ишемическому инсульту, в т.ч. и в раннем возрасте (p.R258C, p.R258H), или развитию ишемической болезни сердца (p.R118Q, p.R149C) [Guo D. et al., 2009]. Согласно ресурсу GWAS Catalog, среди генов, ассоциированных с АВА по результатам GWAS, так же встречаются те, частые однонуклеотидные варианты в которых приводят к развитию АВА и фенотипов атеросклероза (*ULK4* – ишемический инсульт, *LRP1* и *TCF7L2* – ИБС). Поиск новых общих локусов для АВА и атеросклероза в различных его проявлениях позволит более точно идентифицировать функциональные связи между этими патологиями.

Рисунок 25 – Распределение образцов восходящей аорты, кожи и цельной крови пациентов с АВА в зависимости от уровня метилирования ДНК в пространстве главных компонент: АА – аневризма аорты, НА – нерасширенная (нормальная) аорта, АБ – атеросклеротическая бляшка аорты; **зеленым** обозначены образцы кожи (ТАА_s), **синим** – кровь (ТАА_b), **голубым** – атеросклеротическая бляшка (ТАА_a), **желтым** – дилатированная часть (ТАА_), **красным** – нерасширенная аорта (ТАА_n) пациентов с АВА

Всего прошло контроль качества и в дальнейшем было проанализировано 2322700 CpG-сайтов. Попарное сравнение уровня метилирования каждого CpG-сайта между образцами восходящей аорты, кожи и периферической крови пациентов с АВА выявило, что при заданных критериях определения ДМС ($FDR \leq 0,05$; $|\Delta\beta| \geq 0,2$) их максимальное количество наблюдается между аневризмой аорты (АА) / клетками крови (КВ) – 126502 и атеросклеротическими бляшками (АБ) / КВ – 49240 (Таблица 11).

Таблица 11 – Количество дифференциально метилированных (ДМ) CpG-сайтов (генов) между образцами восходящей аорты, кожи и периферической крови у пациентов с АВА

ДМ CpG-сайты (гены)	Аневризма аорты и другие образцы, (n)				Атеросклеротическая бляшка аорты и другие образцы (n)		
Ткани	АА / АБ	АА / НА	АА / КВ	АА / КЖ	АБ / НА	АБ / КВ	АБ / КЖ
Количество ДМ CpG-сайтов (число генов)	586 (752)	2 (1)	126502 (16350)	27371 (9172)	480 (612)	49240 (11751)	5017 (3526)

Примечание: АА - аневризма аорты; АБ - атеросклеротическая бляшка аорты; НА - нерасширенная аорта; КВ - кровь; КЖ - кожа. Если CpG-сайт приходился на межгенный регион, то учитывалось оба гена.

Минимальное количество ДМС выявлено между дилатированной (АА) и нерасширенной частями аорты (НА) – 2 сайта (chr5:93573113 и chr5:93573147, GRCh38; Таблица 11). Данные ДМС локализованы в интроне 1 гена длинной некодирующей РНК (днРНК) *NR2F1-AS1* в области CpG-островка (Рисунок 26). Оба эти сайта гипометилированы в дилатированной аорте относительно ее нерасширенной части: средний уровень метилирования chr5:93573113 в АА – $4,6\% \pm 3,4\%$, в НА – $34,9\% \pm 7,6\%$, $\Delta\beta = -0,30$; средний уровень метилирования chr5:93573147 в АА – $10,1\% \pm 4,1\%$, в НА – $53,0\% \pm 6,8\%$, $\Delta\beta = -0,43$. Данные CpG-сайты также входят в протяженный гипометилированный регион 39024 пар оснований (chr5:93544844-93583868), в котором расположены два ДМ CpG-сайта (chr5:93573147 $\Delta\beta = -0,28$ и chr5:93563824 $\Delta\beta = -0,37$, соответственно) между атеросклеротическими бляшками (АБ) и нерасширенной частью (НА) аорты.

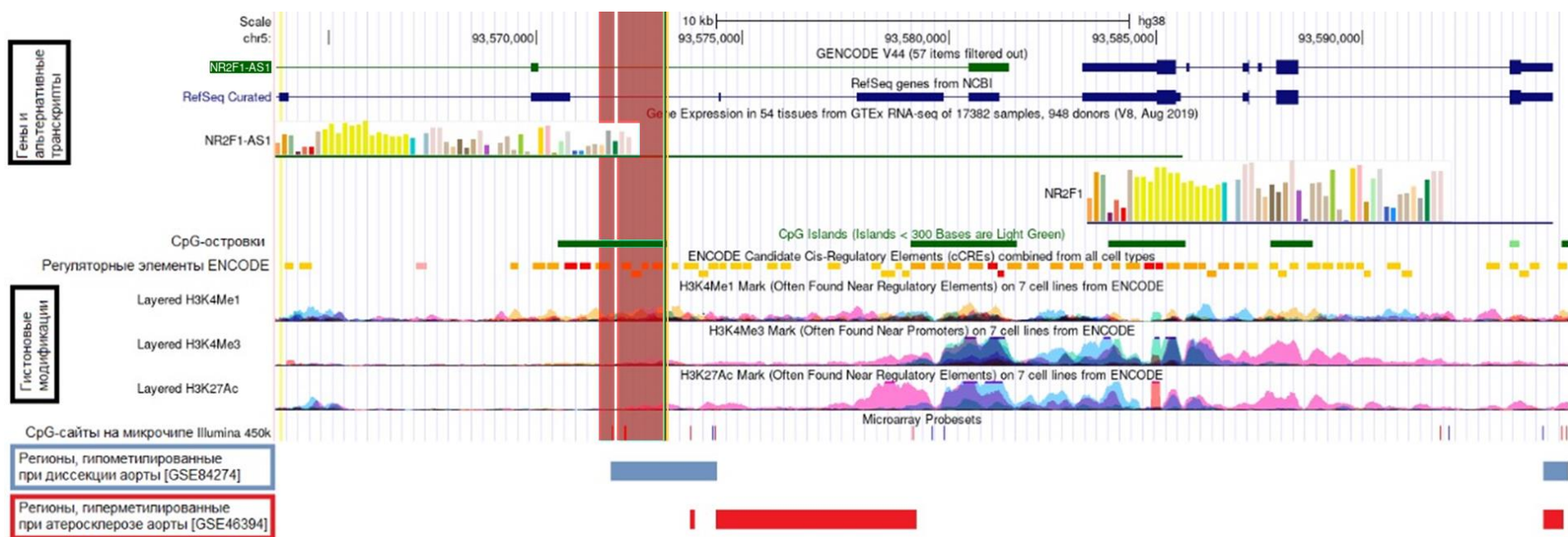


Рисунок 26 – Локализация и эпигенетический контекст в области генов *NR2F1/NR2F1-AS1*: тонкими цветными вертикальными линиями отмечены три дифференциально метилированных CpG-сайта между аневризмой/атеросклеротической бляшкой и нерасширенной частью восходящей аорты; широкими **красными** вертикальными полосами обозначены гиперметилированные регионы в аорте при атеросклерозе [Lasey M. et al., 2019]; **красные** горизонтальные линии обозначают регионы гиперметилированных CpG-сайтов при атеросклерозе аорты по сравнению с неповрежденной аортой (GSE46394), **синие** горизонтальные линии – регионы гипометилированных CpG-сайтов при расслоении аорты (GSE84274); все треки получены и/или выравнены на UCSC Genome Browser (GRCh38)

В исследовании Lacey M. et al. (2019) при атеросклерозе восходящей аорты без аневризмы в гене *NR2F1-AS1* выявлено пять гиперметилованных регионов, в том числе chr5:93571579-93571913 и chr5:93572011-93573146 ($\Delta\beta=0,25$ и $\Delta\beta=0,32$, соответственно [Lacey M. et al., 2019]), в последовательности которых в настоящем исследовании обнаружены гипометилованные сайты между АА/АБ и НА. Разнонаправленный характер метилирования гена *NR2F1-AS1* также наблюдается при расслоении аорты типа А по Стенфордской классификации и атеросклерозе аорты (Рисунок 26), где красные горизонтальные линии обозначают регионы гиперметилованных CpG-сайтов при атеросклерозе аорты по сравнению с непораженной аортой (GSE46394), а синие горизонтальные линии – регионы гипометилованных CpG-сайтов при расслоении относительно непораженных тканей аорты (GSE84274).

Недавние исследования показали, что длинные некодирующие РНК (днРНК) могут участвовать в регуляции экспрессии генов за счет различных механизмов, внося свой вклад в прогрессирование в том числе и сердечно-сосудистых заболеваний [Zhang H. et al., 2021]. Так, сниженная экспрессия днРНК lncRNA_1421 приводила к снижению экспрессии генов *ACTA2* (сокращение ГМК), *FBLN5* и *TIMP3* (гомеостаз ВКМ) при диссекции восходящей аорты [Sun J. et al., 2018]. Нокдаун *NR2F1-AS1* в сосудистых ГМК приводил к снижению экспрессии генов-маркеров сократительной активности ГМК (*ACTA2*, *CNN1* и *TAGLN*) [Lim Y.-H. et al., 2020]. В другом исследовании было показано, что в пульпозном ядре пациентов с дегенерацией межпозвоночного диска наблюдалась повышенная экспрессия *NR2F1-AS1*, что способствовало апоптозу клеток пульпозного ядра и дегенерации ВКМ [Du L. et al., 2022].

В нашем исследовании у пациентов с АВА при аневризме и коморбидности аневризмы и атеросклероза аорты относительно нерасширенного участка аорты отмечено снижение метилирования гена *NR2F1-AS1*, что косвенно может указывать на более высокую транскрипционную активность данного гена, и, следовательно, возможно предположить сходный вышеописанному эффект гибели ГМК и дегенерации ВКМ, что является одним из ключевых звеньев в патогенезе дилатации аорты. В то же время, гиперметилование в области атеросклеротической бляшки по сравнению с интактной частью восходящей аорты у пациентов без аневризмы [Lacey M. et al., 2019] может обусловить снижение экспрессии *NR2F1-AS1*, что способствует переходу ГМК из сократительного фенотипа в секреторный. Тем не менее, для понимания механизмов связи метилирования ДНК и экспрессии *NR2F1-AS1* необходимо проведение дополнительных исследований по таргетной оценке метилирования в области гена *NR2F1-AS1* и анализу содержания продукта этого гена в аорте при данных патологиях.

Между группами АА и АБ по уровню метилирования более чем на 20% ($FDR \leq 0,05$) различаются 586 CpG-сайтов, из которых 323 (55%) сайта гипометилированы и 263 (45%)

гиперметилованы в области аневризмы по сравнению с атеросклеротической бляшкой аорты (Таблица 12). Большинство как гипер-, так и гипометилированных ДМС локализовано в некодирующих областях генома – интронах генов и межгенных регионах.

Таблица 12 – Локализация дифференциально метилированных CpG-сайтов в аневризме аорты относительно атеросклеротической бляшки аорты, крови и кожи пациентов с АВА

Локализация CpG-сайтов	Гипер-М ДМС (n (%))			Гипо-М ДМС (n (%))		
	АА / АБ (263)	АА / КВ (47102)	АА / КЖ (11872)	АА / АБ (323)	АА / КВ (79400)	АА / КЖ (15499)
Экзон гена	10 (3,8)	3281 (7,0)	772 (6,5)	25 (7,7)	6668 (8,4)	1274 (8,2)
Интрон гена	102 (38,7)	20117 (42,7)	4647 (39,1)	145 (44,9)	34758 (43,8)	7431 (47,9)
Межгенный регион	106 (40,3)	16540 (35,1)	4554 (38,4)	115 (35,6)	26557 (33,4)	4982 (32,1)
5'UTR	1 (0,4) - <i>CNOT6</i> (chr5:180541732)	510 (1,1)	110 (0,9)	4 (1,2)	911 (1,1)	99 (0,6)
3'UTR	7 (2,7)	1179 (2,5)	277 (2,3)	3 (0,9)	1999 (2,5)	352 (2,3)
«Выше» гена (upstream)	5 (1,9)	1269 (2,7)	359 (3,0)	12 (3,7)	2897 (3,6)	257 (1,7)
«Ниже» гена (downstream)	4 (1,5)	832 (1,8)	177 (1,5)	1 (0,3) – <i>MIR12118</i> (chr5:173304804)	1152 (1,5)	238 (1,5)
Сайт сплайсинга	1 (0,4) - <i>PCYT2</i>	9 (0,02)	0	0	18 (0,02)	2 (0,01)
нкРНК, экзон	0	749 (1,6)	216 (1,8)	3 (0,9)	984 (1,2)	150 (1,0)
нкРНК, интрон	27 (10,3)	2616 (5,5)	760 (6,4)	15 (4,6)	3456 (4,4)	714 (4,6)
CpG-островок	15 (5,7)	393 (0,8)	1502 (12,6)	36 (11,4)	245 (0,3)	1638 (10,6)

Примечание: АА / АБ – аневризма аорты / атеросклеротическая бляшка аорты; АА / КВ – аневризма аорты / кровь; АА / КЖ – аневризма аорты / кожа; Гипер-М – гиперметилованные; Гипо-М – гипометилованные; ДМС – дифференциально метилированные сайты; UTR – нетранслируемый регион (untranslated region); нкРНК – некодирующая РНК.

Между группами АА и КВ по уровню метилирования более чем на 20% ($FDR \leq 0,05$) различаются 126502 CpG-сайта, из которых 79400 (63%) сайтов гипо- и 47102 (37%) CpG-сайта гиперметилованы. Гипер- и гипометилованные ДМС между аневризмой аорты и периферической кровью, в основном, локализованы в интронах и межгенных регионах генома (Таблица 12).

Между группами АА и КЖ выявлено 27371 ДМС: 15499 (57%) сайтов гипометилированы и 11872 (43%) CpG-сайта гиперметилированы в аневризме аорты относительно кожи (Таблица 12). Как и в предыдущих парах сравнений, основное количество ДМС также находятся в интронах и межгенных регионах.

Следующим этапом было сравнение уровня метилирования ДНК клеток атеросклеротической бляшки и нерасширенной аорты, периферической крови и кожи пациентов с АВА (Таблица 13). Между группами АБ и НА выявлено 480 CpG-сайтов, среди которых 234 (49%) гипер- и 246 (51%) гипометилированы в АБ.

Таблица 13 – Локализация дифференциально метилированных CpG-сайтов в атеросклеротической бляшке аорты относительно нерасширенной аорты, крови и кожи пациентов с АВА

Локализация CpG-сайтов	Гипер-М ДМС (n (%))			Гипо-М ДМС (n (%))		
	АБ / НА (234)	АБ / КВ (19345)	АБ / КЖ (2548)	АБ / НА (246)	АБ / КВ (29895)	АБ / КЖ (2469)
Экзон гена	10 (4,3)	1336 (6,9)	164 (6,4)	19 (7,7)	2497 (8,4)	226 (9,2)
Интрон гена	110 (47,0)	8495 (43,9)	1018 (40,0)	112 (45,5)	13373 (44,7)	1055 (42,7)
Межгенный регион	84 (35,9)	6600 (34,1)	1012 (39,7)	82 (33,3)	9740 (32,6)	863 (35,0)
5'UTR	2 (0,8)	233 (1,2)	29 (1,1)	6 (2,4)	412 (1,4)	19 (0,8)
3'UTR	5 (2,1)	492 (2,5)	47 (1,8)	2 (0,8)	819 (2,7)	39 (1,6)
«Выше» гена (upstream)	3 (1,3)	487 (2,5)	84 (3,3)	7 (2,8)	969 (3,2)	47 (1,9)
«Ниже» гена (downstream)	4 (1,7)	365 (1,9)	33 (1,3)	4 (1,6)	376 (1,3)	39 (1,6)
Сайт сплайсинга	1 (0,4) - PCYT2	2 (0,01)	0	0	7 (0,02)	1 (0,04) - PCYT2
нкРНК, экзон	0	256 (1,3)	44 (1,7)	2 (0,8)	392 (1,3)	26 (1,1)
нкРНК, интрон	15 (6,4)	1079 (5,6)	117 (4,6)	12 (4,9)	1310 (4,4)	154 (6,2)
CpG-островок	5 (2,1)	1688 (8,7)	292 (11,5)	5 (2,0)	3495 (11,7)	414 (16,8)

Примечание: АБ / НА – атеросклеротическая бляшка аорты / нерасширенная аорта; АБ / КВ – атеросклеротическая бляшка аорты / кровь; АБ / КЖ – атеросклеротическая бляшка аорты / кожа; Гипер-М – гиперметилированные; Гипо-М – гипометилированные; ДМС – дифференциально метилированные сайты; UTR – нетранслируемый регион (untranslated region); нкРНК – некодирующая РНК.

Между группами АБ и КВ выявлено 49240 CpG-сайтов, среди которых 19345 (39%) сайтов гипер- и 29895 (61%) сайтов гипометилированы. Между группами АБ и КЖ выявлено 5017 CpG-сайтов, из них 2548 (51%) сайтов гипер- и 2469 (49%) сайтов гипометилированы (Таблица 13).

По результатам нашего исследования, можно заключить, что у пациентов с АВА сохраняется выраженная тканеспецифичность по уровню метилирования ДНК между тканями восходящей аорты, клетками крови и кожи. Маркером развития АВА, может выступать ген *NR2F1-AS1*, характер метилирования которого различается при изолированных и сочетанных формах аневризмы и атеросклероза восходящей аорты: гипометилирование в дилатированной ее части и в области атеросклеротической бляшки у пациентов с АВА, но гиперметилирование в области атеросклеротической бляшки у пациентов с атеросклерозом аорты без аневризмы.

3.4.2 Метилирование генов наследственных аневризм аорты при аневризме восходящей аорты и ее коморбидности с атеросклерозом аорты

В последовательности 67 генов, структурные варианты которых предрасполагают к развитию наследственных и синдромальных форм АВА (Таблица 1 и Приложение А), не выявлено дифференциально метилированных CpG-сайтов (ДМС; $|\Delta\beta| \geq 0,2$ и $\text{pFDR} < 0,05$) между образцами дилатированной (АА) и нерасширенной аорты (НА). В АБ у пациентов с аневризмой обнаружены ДМС в генах *NOTCH1* и *GATA5* относительно НА (Таблица 14).

Один гиперметилированный CpG-сайт chr9:136516253 (сборка GRCh38/hg38; $\Delta\beta=0,4$; Таблица 14) выявлен в 9 интроне гена *NOTCH1*, в области энхансера EN38E2736741 (согласно ENCODE), в АБ относительно НА. Однако согласно внешним данным, в данном гене другие позиции chr9:136511900 (cg14065526; 15 интрон) и chr9:136543838 (cg01909856; 2 интрон) были гиперметилированы ($\Delta\beta=0,44$ и $0,27$) в восходящей аорте при ее острой диссекции относительно контрольной интактной ткани (GSE202047). Последний CpG-сайт был умеренно гипометилирован в АБ восходящей аорты у пациентов с атеросклерозом по сравнению с ее интактными областями ($\Delta\beta=-0,06$) (GSE46401) [Zaina S. et al., 2014].

В 5'-области гена *GATA5* выявлен CpG-сайт chr20:62476553 гиперметилированный в АБ как относительно НА ($\Delta\beta=0,33$), так и АА ($\Delta\beta=0,30$; Таблица 14). В данном регионе, содержащим энхансер EN38E2128121 (согласно ENCODE), также зарегистрировано умеренное гипометилирование при острой диссекции ($\Delta\beta=-0,06$ -(-0,08)) (GSE202047, GSE84274), но гиперметилирование при атеросклерозе ($\Delta\beta=0,08$) (GSE46401) [Zaina S. et al., 2014; Pan S. et al., 2017; Chen Y. et al., 2022].

Таблица 14 – Дифференциально метилированные CpG-сайты в генах *NOTCH1* и *GATA5* в различных сегментах восходящей аорты, коже и крови пациентов с аневризмой восходящей аорты

Группа	CpG-сайт, локализация относительно генов (GRCh38); $\Delta\beta$ (pFDR)	
	<i>GATA5</i>	<i>NOTCH1</i>
АБ/АА	1 сайт «выше» гена (upstream) chr20:62476553 , 558 п.о. от TSS гена <i>GATA5</i> ; $\Delta\beta = 0,30$ (pFDR=0,018)	нет
АА/КЖ	8 интронных (3/6) chr20:62469875-62473265 ; $\Delta\beta$ от $-0,51$ до $0,46$ (pFDR<0,05)	3 интронных (2/33) chr9:136526042 , $\Delta\beta = -0,33$ (pFDR=0,012) chr9:136526020 , $\Delta\beta = -0,32$ (pFDR=0,032) chr9:136544209 , $\Delta\beta = 0,27$ (pFDR=0,035)
	15 межгенных <i>GATA5</i> ; <i>MIR1-1HG-AS1</i> chr20:62478384-62538507 ; $\Delta\beta$ от $-0,42$ до $0,53$ (pFDR<0,05)	
	10 межгенных <i>RBBP8NL</i> ; <i>GATA5</i> chr20:62430451-62455465 ; $\Delta\beta$ от $-0,41$ до $0,44$ (pFDR<0,05)	
АА/КВ	5 интронных (2/6 и 3/6) chr20:62467074-62473863 $\Delta\beta$ от $-0,64$ до $0,43$ (pFDR<0,05)	40 интронных (2/33-15/33) chr9:136512580-136533724 $\Delta\beta$ от $-0,71$ до $0,65$ (pFDR<0,05)
	1 сайт «выше» гена (upstream) chr20:62476976 , 981 п.о. от TSS гена <i>GATA5</i> ; $\Delta\beta = -0,23$ (pFDR=0,004)	3 межгенных <i>C9orf163</i> ; <i>NOTCH1</i> chr9:136488401-136488443 $\Delta\beta$ от $-0,74$ до $-0,67$ (pFDR<0,05)
	33 межгенных <i>GATA5</i> ; <i>MIR1-1HG-AS1</i> chr20:62478384-62539459 ; $\Delta\beta$ от $-0,53$ до $0,71$ (pFDR<0,05)	
АБ/НА	1 сайт «выше» гена (upstream) chr20:62476553 , 558 п.о. от TSS гена <i>GATA5</i> ; $\Delta\beta = 0,33$ (pFDR=0,010)	1 интронный (9/33) chr9:136516253 $\Delta\beta = 0,36$ (pFDR=0,026)
АБ/КЖ	5 интронных (3/6) chr20:62469884-62469956 $\Delta\beta$ от $0,38$ до $0,51$ (pFDR<0,05)	нет
	1 сайт «выше» гена (upstream) chr20:62476553 , 558 п.о. от TSS гена <i>GATA5</i> ; $\Delta\beta = 0,26$ (pFDR=0,038)	
	8 межгенных <i>GATA5</i> ; <i>MIR1-1HG-AS1</i> chr20:62512923-62513099 ; $\Delta\beta$ от $0,40$ до $0,52$ (pFDR<0,05)	

Продолжение Таблицы 14

Группа	СрG-сайт, локализация относительно генов (GRCh38); $\Delta\beta$ (pFDR)	
	<i>GATA5</i>	<i>NOTCH1</i>
АБ/КВ	1 сайт «выше» гена (upstream) chr20:62476553 , 558 п.о. от TSS гена <i>GATA5</i> ; $\Delta\beta = 0,28$ (pFDR=0,009)	1 экзонный (2/34) chr9:136544082 $\Delta\beta = -0,21$ (pFDR=0,009)
	22 межгенных <i>GATA5</i> ; <i>MIR1-1HG-AS1</i> chr20:6247384-62539433 ; $\Delta\beta$ от -0,73 до 0,65 (pFDR<0,05)	8 интронных (2/33) chr9:136526471-136533652 $\Delta\beta$ от -0,58 до 0,63 (pFDR<0,05)
	12 межгенных <i>RBBP8NL</i> ; <i>GATA5</i> chr20:62433564-62461472 ; $\Delta\beta$ от -0,58 до 0,51 (pFDR<0,05)	1 межгенный <i>C9orf163</i> ; <i>NOTCH1</i> chr9:136488443 $\Delta\beta = -0,58$ (pFDR=0,011)

Примечание: АА / АБ аневризма аорты / атеросклеротическая бляшка аорты; АА / КЖ - аневризма аорты / кожа; АА / КВ - аневризма аорты / кровь; АБ / НА - атеросклеротическая бляшка аорты / нерасширенная аорта; АБ / КЖ - атеросклеротическая бляшка аорты / кожа; АБ / КВ - атеросклеротическая бляшка аорты / кровь; TSS – точка начала транскрипции (transcription start site); UTR – нетранслируемый регион (untranslated region). В скобках указан номер экзона (интрона) / количество экзонов (интронов).

Следует отметить, что у пациентов с ДАК и аневризматической дилатацией в ткани восходящей аорты часто регистрировали дифференциальное метилирование в генах наследственных аневризм, в том числе это были *NOTCH1* и *GATA5* [Pan S. et al., 2017]. В нашей работе метилирование ДНК оценивалось у индивидов с нормальной морфологией клапана аорты. Однако в недавнем исследовании идентифицированы патогенные варианты (крупная делеция и миссенс-замена) в гене *NOTCH1* у пациентов с ТАК и дилатацией восходящей аорты [Torres-Juan L. et al., 2023].

Отдельные СрG-сайты в межгенных и интронных областях *NOTCH1* и *GATA5* были также дифференциально метилированы в тканях аорты и кожи/крови (Таблица 14), что может маркировать *cis*-регуляторные элементы в клетках данных тканей и обеспечивать специфичность фенотипа клеток. В частности, существенное гипометилирование выявлено в СрG-сайтах, которые занимают регион-энхансер протяженностью 2,8 кб, в области интрона 2 гена *NOTCH1* в миоблестах, мышечных трубочках и скелетных мышцах по сравнению с другими тканями [Terragni J. et al., 2014]. Более того, дифференциальное (гидрокси)метилирование ДНК в области *NOTCH1* в миоблестах и мышечных трубочках по сравнению с «немышечными» клетками, наблюдалось, в основном, в «теле» гена, а не в промоторной или вышележащей области. Это согласуется с данными о связи внутригенных дифференциально метилированных регионов с *cis*-регуляторными элементами [Meissner A. et al., 2008].

Важная роль дифференциального метилирования ДНК в области энхансеров аорты также показана при формировании атеросклероза [Lacey M. et al., 2019]. Однако функциональные последствия дифференциального метилирования ДНК в области энхансеров в отношении регуляции экспрессии генов остаются в настоящее время дискуссионными. Как было показано в работе Kreibich E. et al. (2023) большинство энхансеров не чувствительны к метилированию ДНК [Kreibich E. et al., 2023].

Белковые продукты генов *NOTCH1* и *GATA5* важны для процессов развития сердечно-сосудистой системы. Белок NOTCH1 служит рецептором внеклеточных сигналов и участвует в нескольких сигнальных путях в процессе развития сердечно-сосудистой системы. Патогенные варианты в гене *NOTCH1* связывают с врожденными аномалиями аортального клапана и аорты [Malashicheva A. et al., 2020]. *GATA5* – транскрипционный фактор, также важен для развития сердечно-сосудистой системы и ее структурного ремоделирования. Белковый продукт гена *GATA5* участвует в таких процессах, как развитие сердца (GO:0007507) и развитие клапанов сердца (GO:0003170). Патологические варианты в гене *GATA5* связывают с целым перечнем ССЗ, такими как ДАК, артериальная гипертензия, аритмии, врожденные пороки сердца, аневризма аорты и др. [Verhagen J.M.A. et al., 2018; Song Z.P., Yan B., 2020]. Кроме того, NOTCH1 и *GATA5* вовлечены в развитие и прогрессирование атеросклероза сосудов различной локализации и аневризмы восходящей аорты [Hong O.K. et al., 2016; Meester J.A.N. et al., 2019; Malashicheva A. et al., 2020; Peng X. et al., 2023]. Тем не менее, исследования GWAS не показали ассоциации вариантов в генах *NOTCH1* и *GATA5* с аневризмой восходящей аорты, однако встречаются ассоциации с повышенным артериальным давлением (*GATA5*) и эндотипами атеросклероза (*NOTCH1*) [<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>].

Таким образом, в настоящем исследовании установлено, что у пациентов с ТАК и аневризмой восходящей аорты дифференциальное метилирование затрагивает области энхансеров генов *NOTCH1* и *GATA5* в атеросклеротической бляшке относительно нерасширенной аорты. При сопоставлении результатов с внешними данными, показан разнонаправленный характер метилирования данных CpG-сайтов при коморбидности аневризмы/атеросклероза восходящей аорты и изолированных патологиях аорты (расслоение и атеросклероз).

3.4.3 Сравнительный анализ спектра генов, дифференцирующих пораженную ткань аорты при аневризме или ее коморбидности с атеросклерозом, а также при атеросклерозе сосудов различных бассейнов

К анализу привлечены данные по уровню метилирования ДНК, полученные с помощью миточипов Illumina, в различных сосудах при аневризме/расслоении аорты [Pan S. et al., 2017;

Chen Y. et al., 2022], атеросклерозе коронарных и сонных артерий [Назаренко М.С., 2018], а также данные GWAS Catalog (<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>, дата обращения март 2025).

В настоящем исследовании между АА и АБ выявлено 752 дифференциально метилированных гена (ДМГ), АА и КВ – 16350 ДМГ, АА и КЖ – 9172 гена (Таблица 11). Среди всех пар сравнений идентифицировано 531 «общий» ген (Рисунок 27А). Данные гены отличают дилатированную аорту от других изученных тканей пациентов с аневризмой восходящего отдела. Между атеросклеротической бляшкой аорты и нормальной тканью выявлено 612 ДМГ, АБ и КВ – 11751, АБ и КЖ – 3526 ДМГ (Таблица 11). Среди пар сравнений АБ с другими тканями выявлено 387 генов, которые отличают атеросклеротическую бляшку аорты от всех других тканей пациентов с аневризмой (Рисунок 27Б).

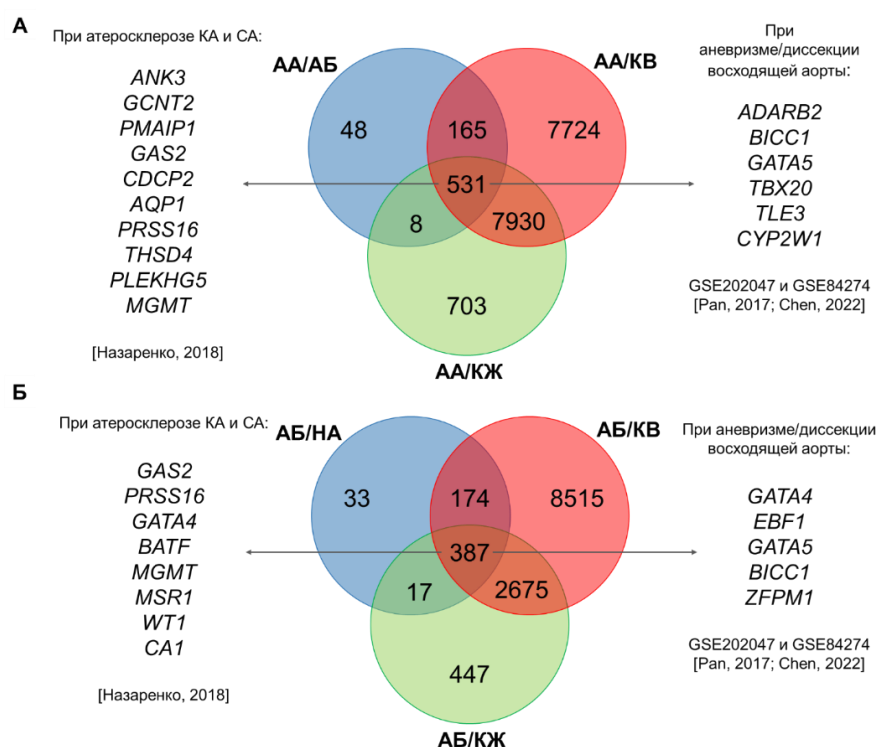


Рисунок 27 – Дифференциально метилированные гены между аневризмой, атеросклеротической бляшкой аорты (АА/АБ), кровью (АА/КВ) и кожей (АА/КЖ; А) и атеросклеротической бляшкой аорты, нерасширенной аортой (АБ/НА), кровью (АБ/КВ) и кожей (АБ/КЖ; Б) пациентов с АВА: КА – коронарные артерии, СА – сонные артерии; стрелки указывают на дифференциально метилированные гены, общие между настоящим исследованием и литературными данными

При сравнении с внешними данными, среди 531 гена, отличающих АА от других тканей, *ADARB2*, *BICC1*, *GATA5*, *TBX20*, *TLE3* перекрывались со списком ДМГ между тканями восходящей аорты в норме и при ее расслоении; ген *CYP2W1* является ДМГ между аневризмой и расслоением восходящей аорты (объединенные данные GSE202047 и GSE84274) [Pan S. et al.,

2017; Chen Y. et al., 2022]. Десять генов (*ANK3*, *GCNT2*, *PMAIP1*, *GAS2*, *CDCP2*, *AQP1*, *PRSS16*, *THSD4*, *PLEKHG5*, *MGMT*) пересекаются с ДМГ между атеросклеротическими бляшками коронарных или сонных артерий и интактными внутренними грудными артериями [Назаренко М.С., 2018] (Рисунок 27А). Среди «общих» между настоящим исследованием и изученными в публикациях ДМГ (Рисунок 27А) некоторые локусы показали ассоциацию с такими признаками, как диаметр/аневризма восходящей аорты (*THSD4*, *TBX20*), атеросклероз или его эндотипы - ИБС (*ANK3*, *THSD4*, *BICC1*, *ADARB2*, *TBX20*), концентрация липидов в плазме (*AQP1*, *BICC1*, *TLE3*, *CYP2W1*), артериальное давление (*ANK3*, *AQP1*, *THSD4*, *BICC1*, *GATA5*, *TBX20*) [<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>].

Среди 387 генов, которые отличают атеросклеротическую бляшку аорты от всех других тканей пациентов с аневризмой, *GATA4*, *EBF1*, *GATA5*, *BICC1* пересекаются со списком ДМГ между пораженными и интактными тканями аорты при расслоении, а ген *ZFPM1* – с ДМГ между аневризмой и нормальной аортой (объединенные данные GSE202047 и GSE84274) [Pan S. et al., 2017; Chen Y. et al., 2022]. Восемь генов из категории «общих» (*GAS2*, *PRSS16*, *GATA4*, *BATF*, *MGMT*, *MSR1*, *WT1*, *CA1*) пересекаются с ДМГ между атеросклеротическими бляшками коронарных или сонных артерий и интактных внутренних грудных артерий [Назаренко М.С., 2018] (Рисунок 27Б). Полиморфизмы в генах *GATA4*, *EBF1*, *BICC1*, *MSR1*, *WT1* ранее показали ассоциацию с атеросклерозом/эндотипами атеросклероза/ИБС; варианты в генах *GATA4*, *EBF1*, *BICC1*, *ZFPM1*, *MSR1* – с концентрацией липидов плазмы; в генах *GATA4*, *EBF1*, *GATA5*, *BICC1*, *WT1* – с артериальным давлением [<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>].

Функциональная аннотация белковых продуктов «общих» ДМГ между всеми группами сравнений показала, что среди первых 10 наиболее представленных биологических процессов по Gene Ontology (<https://metascape.org/>) присутствуют «развитие сердца» (GO:0007507, 42/531 и 40/387 генов, $pFDR < 0,001$) и «развитие клапанов сердца» (GO:0003170, 23 гена, $pFDR < 0,001$) (Таблица 15).

Таблица 15 – Функциональная аннотация белковых продуктов «общих» ДМГ (представлены топ-10 процессов)

Биологические процессы		Количество генов	Доля от общего числа (%)	Р Log10(q)
Номер	Описание			
Аневризма аорты относительно других тканей				
GO:0007507	Развитие сердца	42	7,91	-3,71
GO:0044057	Регуляция системных процессов	69	12,99	-3,37
GO:0034330	Организация межклеточных контактов	29	5,46	-3,37
GO:0000902	Клеточный морфогенез	56	10,54	-3,37

Продолжение Таблицы 15

Биологические процессы		Количество генов	Доля от общего числа (%)	P Log10(q)
Номер	Описание			
GO:0003170	Развитие клапанов сердца	23	4,33	-2,86
GO:0010975	Регуляция развития проекций нейронов	46	8,66	-2,86
GO:0006468	Фосфорилирование белков	27	5,08	-2,47
GO:0007423	Развитие органов чувств	27	5,08	-2,40
GO:0048729	Морфогенез тканей	52	9,79	-2,38
GO:0030029	Процессы, связанные с актиновыми филаментами	35	6,59	-2,38
Атеросклеротическая бляшка аорты относительно других тканей				
GO:0007507	Развитие сердца	40	10,34	-3,17
GO:0007423	Развитие органов чувств	25	6,46	-3,03
GO:0099536	Синаптическая передача	30	7,75	-2,16
GO:0000902	Клеточный морфогенез	34	8,79	-2,15
GO:0050772	Положительная регуляция аксоногенеза	42	10,85	-2,08
GO:0008285	Отрицательная регуляция пролиферации клеточных популяций	36	9,30	-2,04
GO:0030099	Дифференцировка миелоидных клеток	40	10,34	-2,04
GO:0030029	Процессы, связанные с актиновыми филаментами	29	7,49	-2,04
GO:0006979	Ответ на оксидативный стресс	17	4,39	-1,85
GO:0071407	Клеточный ответ на органические циклические соединения	39	10,08	-1,76

Для установления роли выявленных в настоящем исследовании ДМГ в развитии АВА и атеросклероза сосудов различной локализации проведен сравнительный анализ спектра ДМГ с группами генов, показавших ассоциации с диаметром аорты или АВА (группа 1, 229 генов), атеросклерозом аорты, КА и СА, ИБС, инфарктом миокарда, ишемическим инсультом (группа 2, 2119 генов). Поиск генов проводился по GWAS-каталогу (<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>) и научным публикациям, имеющимся в доступе на ресурсе PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Общих генов между всеми четырьмя группами сравнения выявлено не было (Рисунок 28). Анализ обогащения метаболических путей и биологических процессов, проведенный с помощью инструмента <https://www.webgestalt.org/>, показал, что для белковых продуктов 89 «общих» генов между ДМГ АА (и другими тканями), ДМГ АБ (и другими тканями), а также генов, ассоциированных с атеросклерозом и его клиническими проявлениями и диаметром восходящей аорты/аневризмой, общими являются такие биологические процессы, как процессы

развития (GO:0051094, $pFDR=0,003$), развитие сердечно-сосудистой системы (GO:0072359, $pFDR=0,005$), подвижность клеток (GO:0048870, $pFDR=0,024$), регуляция внутриклеточной передачи сигналов (GO:1902531, $pFDR=0,028$), адгезия клеток (GO:0007155, $pFDR=0,031$).

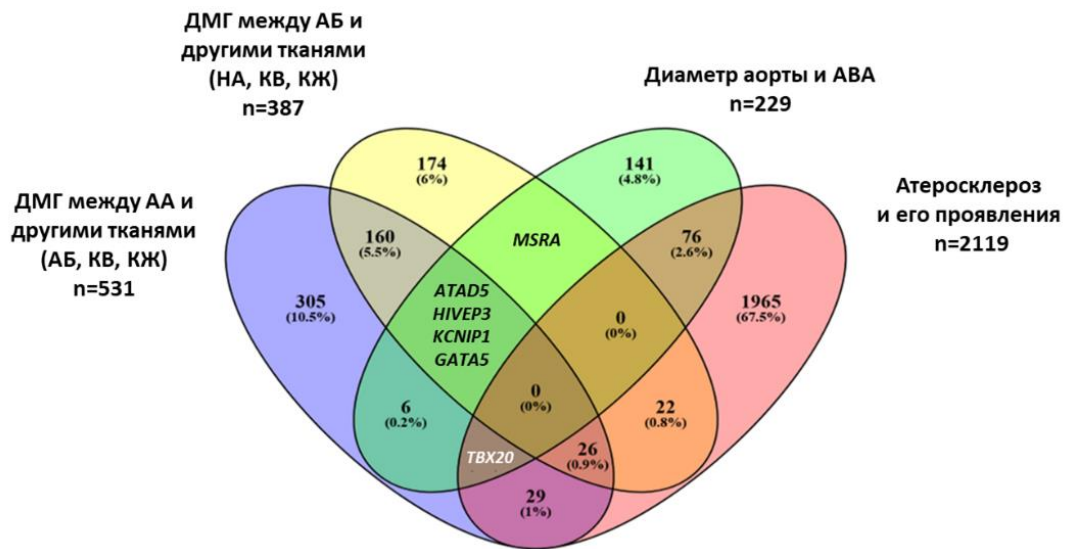


Рисунок 28 – «Общие» гены при сравнении спектра ДМГ, полученного в настоящем исследовании, с группами генов, показавших ассоциации GWAS с атеросклерозом и его клиническим проявлениями и с аневризмой/расслоением и диаметром восходящей аорты, а также с генами наследственных аневризм восходящей аорты

Особый интерес среди локусов, ассоциированных с аневризмой восходящей аорты и атеросклерозом сосудов различной локализации, представляет ген *TBX20*, который является общим между ДМГ АА и другими тканями, генами, ассоциированными с атеросклерозом и АВА по результатам GWAS (Рисунок 28). Ген *TBX20* относится к подсемейству Tbx1 Т-бокс-содержащих генов, контролирующих различные транскрипционные факторы, необходимые для эмбрионального развития и органогенеза. Tbx20 важен для развития сердечно-сосудистой системы и участвует в ремоделировании сердца в ответ на патофизиологические триггеры [Chen Y. et al., 2021].

В последнее время в литературе появляется все больше данных о роли гена *TBX20* в развитии аортопатий. В исследованиях GWAS в области гена *TBX20* выявлены 18 частых однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs), ассоциированных с диаметром восходящей аорты, аневризмой аорты и атеросклерозом КА и СА и их эндотипами [Sollis E. et al., 2022]. Редкие патогенные варианты *TBX20* у человека ассоциированы со сложным спектром врожденных пороков сердца: дефектами формирования перегородок и клапанов, коарктацией аорты, АВА в сочетании с ДАК [Kirk E.P. et al., 2007; Luuyckx I. et al., 2019; Tcheandjieu C. et al., 2022]. Кроме генетических вариантов, эпигенетические модификации также могут влиять на

нарушение нормальной анатомии аорты и прогрессирование ее дилатации [Liu P. et al., 2021]. Высокая активность гена *TBX20* выявлена в фибробластах и ГМК аорты у пациентов с АБА и контрольной группы [Li Y. et al., 2020; Ma W.F. et al., 2022]. В то же время, данные по изменению метилирования в области гена *TBX20* в восходящей аорте при ее аневризме отсутствуют. Также малоизучена роль *TBX20* в развитии атеросклероза артерий различной локализации. С помощью технологии секвенирования транскриптома отдельных клеток была выявлена высокая экспрессия *TBX20* в ГМК и фибробластах поражённых атеросклерозом КА человека - показано, что в ГМК и фибробластах область данного гена «насыщена» участками открытого хроматина [Hodonsky C.J. et al., 2023].

В настоящей работе выявлено гипометилирование пяти CpG-сайтов в 5'-регионе гена *TBX20* (локус 7p14.2), расположенных на расстоянии 5179-7757 п.н. от 5'UTR гена *TBX20* в области гена нкРНК ENSG00000226063, в АБ по сравнению с АА у больных с АБА. Уровень метилирования в АБ по сравнению с АА снижен на 44,1-58,4% (pFDR<0,05). Согласно геномному браузеру UCSC (<https://genome.ucsc.edu/>), четыре из выявленных ДМ CpG-сайтов приходятся на сайты связывания транскрипционных факторов (ТФ) (Таблица 16). При этом число ТФ, способных связываться с областью, включающей конкретный CpG-сайт, варьирует от 2 (для chr7:35259293) до 24 (для chr7:35261291) (Таблица 16).

Таблица 16 – Дифференциально метилированные CpG-сайты, локализованные в 5' регионе гена *TBX20* в различных отделах восходящей аорты

CpG-сайты	Локализация CpG-сайтов	Предсказанные сайты связывания ТФ (UCSC/Haploreg v4.2)	SNP/ MAF GnomAD v.4.0.0	Уровень метилирования			Разница уровня метилирования		
				АБ n=6	АА n=4	НА n=4	АБ/ АА pFDR	АБ/ НА pFDR	АА/ НА pFDR
chr7:35258799	Инtron гена нкРНК AC009531.2 (ENSG00000226063 .1)	EBF1, Ebf2, EBF3	rs78696287/ T=0,0001	39,4±17,9	83,5±4,6	46,1±13,9	-44,1 (p=0,025)	-6,7 (-)	37,4 (p=0,384)
chr7:35259293	Инtron гена нкРНК AC009531.2 (ENSG00000226063 .1)	ZNF528, ZNF343	нет	20,7±10,2	78,5±7,4	54,5±17,1	-57,8 (p=0,001)	-33,8 (p=0,241)	24,0 (p=0,936)
chr7:35259405	Экзон 1 гена нкРНК AC009531.2 (ENSG00000226063 .1)	IRF7, IRF8 / AP-1, SETDB1, Znf143	rs78661208/ C= 0,3876	22,4±11,4	70,7±12,0	54,7±14,9	-48,3 (p=0,024)	-32,3 (p=0,415)	16,0 (p=0,936)

Продолжение Таблицы 16

CpG-сайты	Локализация CpG-сайтов	Предсказанные сайты связывания ТФ (UCSC/Haploreg v4.2)	SNP/MAF GnomAD v.4.0.0	Уровень метилирования			Разница уровня метилирования		
				АБ n=6	АА n=4	НА n=4	АБ/ АА pFD R	АБ/ НА pFD R	АА/ НА pFD R
chr7:35 261291	Энхансер ЕН38Е2547742	KLF1, KLF2, KLF4, KLF5, KLF7, KLF10, KLF12, KLF14, KLF15, MAZ, PATZ1, PRDM9, SP1, SP2, SP3, SP4, SP9, FAP2A, TFAP2B, TFAP2C, Wt1, ZNF148, ZNF263, ZNF281	нет	4,8±6 ,7	63,2± 5,9	32,7± 23,3	-58,4 (p=0, 017)	-27,9 (p=0, 688)	30,5 (p=0, 936)
chr7:35 261357	Энхансер ЕН38Е2547742	нет	нет	14,3± 5,8	69,3± 10,3	33,7± 20,0	-55,0 (p=0, 010)	-19,4 (-)	35,6 (p=0, 299)

Примечание: ТФ – транскрипционные факторы, SNP – однонуклеотидные полиморфизмы, MAF – частота минорного аллеля (для европеоидных популяций), pFDR – уровень значимости p с поправкой на множественные сравнения, АБ – атеросклеротическая бляшка, АА – дилатированная часть, НА – нерасширенная часть дуги восходящей аорты, нкРНК – некодирующая РНК.

Кроме этого, два CpG-сайта локализованы непосредственно в последовательности энхансера ЕН38Е2547742 и три в области гена нкРНК *ENSG00000226063* (Таблица 16, Рисунок 29). Один из ДМС, chr7:35259405, представляет собой однонуклеотидный полиморфизм (SNP) с высокой частотой минорного аллеля среди представителей европейской популяции (rs78661208, MAF C=0,3876; Таблица 16). При расслоении аорты в отдельных CpG-сайтах региона chr7:35253926-35262250 выявлено статистически значимое гиперметилование (разница уровня метилирования по сравнению с непораженной тканью составляла от 1,39% до 17,70%), при этом гиперметилованные сайты группировались в 3 региона (GSE84274; Рисунок 29). При атеросклерозе аорты, напротив, выявлены 3 региона, в которых CpG-сайты были гипометилированы (с разницей уровня метилирования от -3,16% до -15,50%) по сравнению с непораженной тканью аорты (GSE46394; Рисунок 29). Таким образом, при расслоении и атеросклерозе аорты уровень метилирования ДНК региона chr7:35253926-35262250 (в области генов нкРНК *ENSG00000289335* и *ENSG00000226063*) изменяется разнонаправленно.

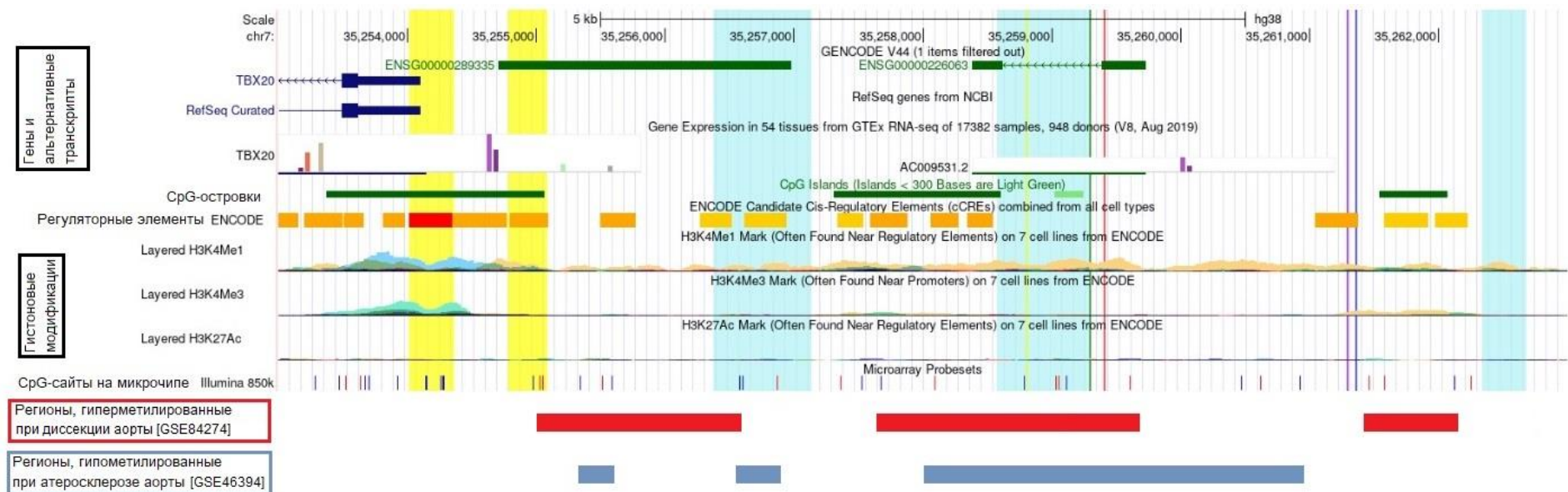


Рисунок 29 – Локализация и эпигенетический контекст исследуемой 5'-области гена *TBX20*: тонкими цветными вертикальными линиями отмечены пять дифференциально метилированных CpG-сайтов между атеросклеротической бляшкой, дилатированной и нерасширенной частью восходящей аорты; широкими вертикальными полосами обозначены: **жёлтым** – регионы, гипометилированные в миокарде при тетраде Фалло [Yang X. et al., 2018; Gong J. et al., 2019], **голубым** – гипометилированные регионы в аорте при атеросклерозе [Lasey M. et al., 2019]; **красные** горизонтальные линии обозначают регионы гиперметилированных CpG-сайтов при расслоении аорты (GSE84274), **синие** горизонтальные линии – регионы гипометилированных CpG-сайтов при атеросклерозе аорты по сравнению с непораженной аортой (GSE46394); все треки получены и/или выравнены на UCSC Genome Browser (GRCh38)

В результате настоящего исследования были выявлены гипометилированные в атеросклеротической бляшке аорты CpG-сайты, локализованные в 5'-UTR регионе гена *TBX20* или непосредственной близости от него, что согласуется с более ранними исследованиями [Lacey M. et al., 2019]. Показано, что и промоторная область гена *TBX20*, находящаяся в 5000-8000 п.н. от изученного в данном исследовании региона, гипометилирована в тканях миокарда при тетраде Фалло [Yang X. et al., 2018; Gong J. et al., 2019].

Выявленные в настоящем исследовании гипометилированные в атеросклеротической бляшке аорты CpG-сайты локализованы в регионе концентрации регуляторных элементов, в частности энхансеров (Рисунок 29), и являются сайтами связывания различных ТФ. В частности, среди ТФ, предположительно способных связываться с областью CpG-сайта chr7:35261291, отмечен SP1, который способствует активации гена *TBX20*. Можно предположить, что снижение метилирования этого сайта при атеросклерозе аорты приведет к повышению активности гена *TBX20* в атеросклеротической бляшке (преимущественно в ГМК и фибробластах). Это предположение косвенно подтверждается данными о повышении экспрессии гена *TBX20* при снижении уровня метилирования другого сайта связывания ТФ SP1 в области промотора *TBX20* в тканях миокарда при тетраде Фалло [Gong J. et al., 2019].

В настоящей работе показано, что ДМС chr7:35259405 является полиморфизмом с достаточно высокой частотой (36%) в европеоидных популяциях (Таблица 16). Поскольку метилированию в молекуле ДНК подвергается цитозин, в случае SNP замена нуклеотида может приводить к утрате существующего или формированию нового сайта метилирования. Для установления роли SNP, а также участков связывания с ТФ в данном локусе генома требуется проведение дополнительных исследований.

Таким образом, метилирование ДНК в клетках восходящей аорты при ее аневризме у пациентов с АВА тканеспецифично: наибольшие различия наблюдаются между метилированием в аневризматически расширенной аорте и клетках крови. Среди ДМГ, отличающих АВА и атеросклеротическую бляшку, локализованную в аневризме, встречаются гены, в том числе связанные с развитием аневризмы/расслоения аорты и атеросклероза сосудов и его эндофенотипов, повышенным артериальным давлением, ИБС согласно ранее проведенным исследованиям и GWAS Catalog [Pan S. et al., 2017; Назаренко М.С., 2018; Chen Y. et al., 2022; <https://www.ebi.ac.uk/gwas/>]. Среди прочих биологических процессов, белковые продукты данных генов участвуют в процессах развития (GO:0051094, pFDR=0,003), развитии сердечно-сосудистой системы (GO:0072359, pFDR=0,005), клеточной подвижности (GO:0048870, pFDR=0,024), регуляции внутриклеточной передачи сигналов (GO:1902531, pFDR=0,028) и адгезии клеток (GO:0007155, pFDR=0,031).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате работы был реализован комплексный подход к изучению аневризмы восходящей аорты: изучен спектр сопутствующих заболеваний у пациентов с аневризмой восходящей аорты СФО, оценена морфология аортальной стенки в нескольких участках восходящей части сосуда, проанализирована нуклеотидная изменчивость кодирующих регионов и прилегающих к ним интронов генов наследственных аневризм, а также выполнен анализ профиля метилирования ДНК сразу в нескольких тканях (3 участка на разных уровнях восходящей аорты, кожа, кровь) у пациентов с несиндромальными формами АВА.

Структура коморбидности при АВА включает как патологию аорты (патологии аортального клапана, атеросклероз аорты), так и другие сопутствующие ССЗ (артериальную гипертензию, атеросклероз коронарных и сонных артерий), и их осложнения – инфаркт миокарда и инсульт, а также хронические неинфекционные заболевания (СД2). Примечательно, что у больных СФО при АВА реже, чем в популяционных выборках, регистрируется атеросклероз аорты, коронарных и сонных артерий и инфаркт миокарда, что соответствует литературным данным о наличии обратной коморбидности (дистропии) между АВА и атеросклерозом [Achneck H. et al., 2005; Hung A. et al., 2012; Chau K., Elefteriades J.A., 2014; Grewal N. et al., 2022; Weininger G. et al., 2022; Waldron C. et al., 2023]. У пациентов с бicuspidальным клапаном чаще встречается его стенозирование, а у пациентов с трикуспидальным клапаном – сопутствующие атеросклероз аорты и артериальная гипертензия.

Гистологический анализ стенки восходящей аорты у пациентов с несиндромальными формами АВА выявил в медиальном слое преобладание дегенеративных изменений, встречающихся у всех пациентов, в сочетании с атеросклерозом и воспалением различной степени выраженности. Дегенерация меди в основном представлена фрагментацией и утратой эластических окончательных мембран и мукоидным набуханием. Неоангиогенез преобладает в проксимальных отделах дуги аорты. Аневризма восходящей аорты независимо от наличия атеросклеротического поражения характеризуется диффузной кальцификацией меди сосуда, процент которой коррелирует со скоростью клубочковой фильтрации, а также с возрастом. Предположено, что отложения кальция у пациентов с АВА первично возникают в дистальных отделах этой части аорты, что дополняет сведения о патогенезе заболевания. Кроме того, у пациентов с трикуспидальным аортальным клапаном наблюдалась повышенная дегенерация меди аорты, а также чаще регистрировался атеросклероз выраженной степени по сравнению с пациентами с ДАК, что соответствует имеющимся представлениям о разном патогенезе АВА в зависимости от строения аортального клапана [Leone O. et al., 2020; Mennander A. et al., 2022; Doppler C. et al., 2023; Stejskal V. et al., 2023; Buja L.M. et al., 2024].

В результате секвенирования клинического экзона в 53 генах синдромальных и семейных аневризм восходящей аорты в нашей выборке несиндромальных форм АВА не выявлено патогенных или вероятно патогенных вариантов. Однако у 9,8% (4 из 41) пациентов было обнаружено 6 вариантов неопределенного клинического значения (VUS), расположенных в генах наследственных аневризм (*FBN1*, *COL3A1*, *PLOD3*, *MYH11*, *COL4A5*, *NOTCH1*).

Гены *FBN1*, *COL3A1* и *MYH11* входят в категорию генов с доказанной максимальной связью с АВА; *NOTCH1* потенциально вовлечен в патогенез АВА; *COL4A5* относится к генам с ограниченными доказательствами связи с АВА, а *PLOD3* ассоциирован с заболеваниями восходящей аорты по данным экспериментальных исследований, однако его клиническая связь с патологией не доказана. Наибольшее влияние на развитие АВА могут иметь варианты в «структурных» генах, белковые продукты которых формируют основу аортальной стенки - *FBN1*, *COL3A1* и *MYH11*, что согласуется с литературными данными [Guo D. et al., 2017; Li Y. et al., 2021; Li J. et al., 2021]. Таким образом, несиндромальные АВА развиваются с вовлечением тех же патогенетических путей, что наследственные и синдромальные формы. Тем не менее, паттерн найденных генетических вариантов при спорадических случаях уникален.

Вариант в гене *COL3A1* с.2498A>T (p.Lys833Ile) ранее не был описан в популяционных базах данных gnomAD, RuSeq и ФМБА. Для 5 из 6 вариантов, обнаруженных в нашей выборке (*FBN1* с.7841C>T (p.Ala2614Val), *NOTCH1* с.964G>A (p.Val322Met), *COL4A5* с.953C>G (p.Pro318Arg), *COL3A1* с.2498A>T (p.Lys833Ile) и *PLOD3* с.833G>A (p.Gly278Asp)) ранее не было отмечено ассоциации с АВА. Поскольку доля пациентов с АВА с идентифицированными VUS в генах наследственных аневризм в некоторых популяциях может достигать 40% [Mahlmann A. et al., 2024], а некоторые VUS в дальнейшем могут быть реклассифицированы в разряд патогенных/вероятно патогенных, нельзя недооценивать их вклад в развитие несиндромальных форм АВА. Принимая во внимание тот факт, что носительство не только патогенных вариантов, но и VUS ассоциировано с более ранней манифестацией АВА, а также частотой повторного оперативного вмешательства на аорте [Yang H. et al., 2023], результаты генетического тестирования могут иметь возможную прогностическую ценность для оценки периоперационного риска и своевременной стратификации пациентов.

В настоящей работе установлено, что у пациентов с АВА и ТАК наблюдаются выраженные межтканевые различия в уровне метилирования ДНК, где максимальное количество ДМС выявлено между дилатированной частью восходящей аорты и кровью. Между дилатированной частью, атеросклеротической бляшкой, нерасширенной аортой, кровью и кожей пациентов выявлены дифференциально метилированные гены, в том числе вовлеченные в развитие аневризмы/расслоения аорты и атеросклероза сосудов различных бассейнов, согласно ранее проведенным исследованиям [Pan S. et al., 2017; Назаренко М.С., 2018; Chen Y.

et al., 2022]. Белковые продукты данных генов участвуют в широком спектре биологических процессов, в том числе процессах развития (GO:0051094, $pFDR=0,003$), развитии сердечно-сосудистой системы (GO:0072359, $pFDR=0,005$), подвижности клеток (GO:0048870, $pFDR=0,024$), регуляции внутриклеточной передачи сигналов (GO:1902531, $pFDR=0,028$), адгезии клеток (GO:0007155, $pFDR=0,031$). У пациентов с АВА и ТАК дифференциальное метилирование затрагивает области энхансеров генов *NOTCH1* и *GATA5* в атеросклеротической бляшке относительно нерасширенной аорты. Результаты настоящего исследования согласуются с таковыми Lacey M. et al. (2019), которые показали важную роль дифференциального метилирования ДНК в области энхансеров в ГМК аорты при атеросклерозе [Lacey M. et al., 2019]. Однако при сопоставлении результатов, полученных в нашей работе, с внешними данными, выявлен разнонаправленный характер метилирования регионов генов *NOTCH1* и *GATA5* при коморбидности аневризмы/атеросклероза восходящей аорты и изолированных патологиях аорты (расслоение и атеросклероз).

У пациентов с аневризмой аорты дилатированная область аорты характеризуется сходным профилем метилирования ДНК по сравнению с нерасширенной ее частью, за исключением CpG-сайтов гена *NR2F1-AS1*. При некоторых заболеваниях повышенная экспрессия днРНК *NR2F1-AS1* способствует деградации экстрацеллюлярного матрикса [Du L. et al., 2022], что согласуется с результатами настоящего исследования, поскольку в дилатированных тканях аорты относительно нерасширенной ее части, при аневризме восходящей аорты наблюдается снижение уровня метилирования данного гена. При сопоставлении уровня метилирования в гене *NR2F1-AS1* в области атеросклеротических бляшек восходящей аорты и интактной части сосуда [Zaina S. et al., 2015, Lacey M. et al., 2019], выявлено, наоборот, гиперметилирование при данной патологии. В этом случае, возможно, происходит снижение экспрессии *NR2F1-AS1*, что способствует переходу ГМК из сократительного фенотипа в секреторный, поскольку нокдаун *NR2F1-AS1* в сосудистых ГМК приводил к снижению экспрессии генов-маркеров сократительной активности ГМК (*ACTA2*, *CNN1* и *TAGLN*) [Lim Y.-H. et al., 2020]. Следует отметить, что гены *NR2F1-AS1* и *NR2F1* расположены рядом. Не исключено, что изменение уровня метилирования *NR2F1-AS1* способствует изменению экспрессии данной днРНК и *NR2F1* в клетках аорты. Как было показано, белок Nr2f1b контролирует венозную спецификацию и ангиогенный паттерн во время развития сосудов у *Danio rerio*, что опосредовано передачей сигналов Notch [Li R.F. et al., 2015].

Кроме того, в настоящем исследовании установлено гипометилирование 5 CpG-сайтов, расположенных на расстоянии примерно 5000 п.н. от гена *TBX20* (в области гена нкРНК *ENSG00000226063*), в тканях атеросклеротической бляшки аорты по сравнению с ее дилатированным участком у больных с аневризмой восходящей аорты. Показано, что при

диссекции аорты и атеросклерозе аорты уровень метилирования ДНК региона chr7:35253926-35262250 (в области генов нкРНК *ENSG00000289335* и *ENSG00000226063*) изменяется разнонаправленно.

Таким образом, полученные в данной работе результаты свидетельствуют о разнонаправленном изменении уровня метилирования в области генов нкРНК, расположенных в области генов транскрипционных факторов, связанных с процессами развития – *NR2F1-AS1* и *NR2F1*, а также (*ENSG00000289335* и *ENSG00000226063*) и *TBX20*, как при аневризме, так и при атеросклеротическом поражении восходящей аорты. Эти результаты получены впервые, поскольку до сих пор не было работ, в которых анализировался профиль метилирования ДНК в клетках аорты в дилатированной и нерасширенной областях, а также в атеросклеротических бляшках у пациентов со несиндромальной формой аневризмы восходящей аорты.

Основным направлением развития представленной диссертационной работы может быть проведение экзомного/полногеномного секвенирования у пациентов с АВА, а также исследование функциональной значимости найденных генетических вариантов с целью определения степени их патогенности. Актуальным является создание системы классификации вариантов в генах, ассоциированных с развитием АВА, выходящей за рамки «патогенных» и «доброкачественных», а также проведение генетического тестирования по расширенной панели генов, разработка которой является актуальной прикладной задачей современной медицины. Большой интерес представляет изучение генов некодирующих РНК, поскольку они могут играть ключевую роль в развитии аневризмы и атеросклероза восходящей аорты. Дифференциально метилированные гены при аневризме аорты, как в сочетании, так и без атеросклеротического поражения сосуда, могут послужить основой для разработки панели маркеров для неинвазивной диагностики развития и прогрессирования заболевания.

ВЫВОДЫ

1. В структуре коморбидности несиндромальной аневризмы восходящей аорты у пациентов Сибирского федерального округа наиболее частыми заболеваниями сердечно-сосудистой системы являются артериальная гипертензия (69,2%), двустворчатый аортальный клапан (52,4%) и его патологии, ишемическая болезнь сердца (31,9%). У пациентов с аневризмой восходящей аорты реже, чем в популяционных выборках, регистрируется атеросклероз аорты (9,2%), коронарных (24,3%), сонных артерий (10,3%) и инфаркт миокарда (8,1%).
2. Дегенерация меди и является преобладающей морфологической характеристикой у пациентов с аневризмой восходящей аорты (100%), а атеросклероз выявляется чаще в случае сочетания аневризмы и аортального клапана нормального строения (65,9%) по сравнению с теми, кто имеет бicuspidальный клапан (28%, $p=0,003$). Неоангиогенез чаще регистрируется в проксимальном отделе дуги аорты (71%) по сравнению с синотубулярным соединением (37,9%) и частью восходящей аорты на уровне бифуркации легочного ствола (66,7%, $p=0,006$).
3. При несиндромальной форме аневризмы восходящей аорты отложения солей кальция диффузно распределены в меди аорты и имеют положительную корреляцию с возрастом ($p=0,350$, $p=0,004$) и отрицательную ($p=-0,378$, $p=0,009$) – со скоростью клубочковой фильтрации. Пациенты с максимальной кальцификацией в дистальных областях восходящей аорты отличаются более молодым возрастом 53 [41; 62] лет по сравнению с теми, у кого максимальная кальцификация регистрируется на уровне синотубулярного соединения (64 [58; 68] лет) и в восходящей аорте на уровне бифуркации легочного ствола (60 [55,25; 65] лет, $p=0,035$).
4. У пациентов с несиндромальной формой аневризмы восходящей аорты не обнаружены патогенные и вероятно патогенные варианты в генах наследственных аневризм аорты. В 9,8% случаев идентифицированы генетические варианты неопределенного клинического значения (VUS) в генах *FBN1* с.7841C>T (p.Ala2614Val); *COL3A1* с.2498A>T (p.Lys833Ile); *MYH11* с.4993C>T (rs768569707, p.Arg1665Cys); *NOTCH1* с.964G>A (p.Val322Met); *COL4A5* с.953C>G (rs1449979085, p.Pro318Arg); *PLOD3* с.833G>A (rs1041461490, p.Gly278Asp).
5. У пациентов с аневризмой и аортальным клапаном нормального строения дифференциально метилированные гены между клетками восходящей аорты, крови и кожи участвуют в процессах развития (GO:0051094, $pFDR=0,003$), развитии сердечно-сосудистой системы (GO:0072359, $pFDR=0,005$), подвижности клеток (GO:0048870, $pFDR=0,024$), регуляции внутриклеточной передачи сигналов (GO:1902531, $pFDR=0,028$), адгезии клеток (GO:0007155, $pFDR=0,031$). Атеросклеротические бляшки, локализованные вблизи брахиоцефального ствола восходящей аорты, характеризуются изменением метилирования

ДНК в области энхансеров генов наследственных аневризм *NOTCH1* и *GATA5* относительно нерасширенной ее части.

6. Установлены различия уровня метилирования гена нкРНК *NR2F1-AS1* при изолированных и сочетанных формах аневризмы и атеросклероза восходящей аорты: гипометилирование в дилатированной области и атеросклеротической бляшке аорты у пациентов с аневризмой, гиперметилирование в области атеросклеротической бляшки при атеросклерозе аорты без аневризмы.

7. В генах *TBX20*, *ENSG00000289335* и *ENSG00000226063* выявлены регионы с разнонаправленным метилированием ДНК, которые гипометилированы в атеросклеротической бляшке, как при изолированном атеросклерозе аорты, так и в сочетании с аневризмой и гиперметилированы при расслоении восходящей аорты.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

CpG – динуклеотид цитозин-гуанин

FDR – False Discovery Rate (вероятность ложноположительного результата)

GWAS – широкогеномные исследования ассоциаций

miR – микроРНК

RRBS – метод бисульфитного секвенирования ограниченных наборов геномных локусов

SNV – однонуклеотидный вариант

VUS – variant of uncertain significance (вариант неопределенного/неизвестного значения)

АВА – аневризма восходящей аорты

АГ – артериальная гипертензия

БЦС – брахиоцефальный (плечеголовной) ствол

ВКМ – внеклеточный матрикс

ГМК – гладкомышечные клетки

ДАК – двустворчатый (бicuspidальный) аортальный клапан

днРНК – длинная некодирующая РНК

ДМГ (ДМС) – дифференциально метилированные гены/сайты

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИМ – инфаркт миокарда

КА – коронарные артерии

ЛПНП – липопротеины низкой плотности

ММП – матриксная металлопротеиназа

МСКТ – мультиспиральная компьютерная томография

СА – сонные артерии

СД2 – сахарный диабет 2 типа

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

СТС – синотубулярное соединение

ТАК – трехстворчатый аортальный клапан

ТИМ – толщина комплекса интима-медия

ТИМП – тканевый ингибитор металлопротеиназ

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абугов С. А., Аверина Т. Б., Аксельрот Б. А. и др. Клинические рекомендации. Рекомендации по диагностике и лечению заболеваний аорты // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. – 2018. – Т. 11, № 1. – С. 7–67.
2. Барбараш О. Л., Семенов В. Ю., Самородская И. В. и др. Коморбидная патология у больных ишемической болезнью сердца при коронарном шунтировании: опыт двух кардиохирургических центров // Российский кардиологический журнал. – 2017. – № 3 (0). – С. 6–13.
3. Бетуганова Л. В., Эльгаров А. А., Байсултанова М. Б. и др. Инфаркт миокарда - частота, половозрастные, профессиональные и клинические особенности // CardioСоматика. – 2014. – № 2 (5). – С. 10–14.
4. Бойцов С. А., Драпкина О. М., Шляхто Е. В. и др. Исследование ЭССЕ-РФ (Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний и их факторов риска в регионах Российской Федерации). Десять лет спустя // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2021. – № 5 (20). – С. 3007. doi: 10.15829/1728-8800-2021-3007.
5. Брагина Е.Ю., Пузырев В.П. Генетическая канва герменевтики феномена сочетания болезней человека // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2023. – 27(1). – 7-17. – DOI 10.18699/VJGB-23-03.
6. Гаврилюк Н.Д. Значение полиморфизмов кандидатных генов в развитии аневризмы восходящего отдела аорты : дис. ... канд. мед. наук. / Н.Д. Гаврилюк. – Санкт-Петербург, 2021. – С. 94.
7. Гаврилюк Н. Д., Успенский В. Е., Малашичева А. Б. и др. Аневризма восходящего отдела аорты: от молекулярно-генетических особенностей патогенеза до выбора метода лечения // Трансляционная медицина. – 2016. – № 1 (3). – С. 6–20.
8. Дзгоева Ф. У., Ремизов О. В., Голоева В. Г. и др. Обновленные механизмы кальцификации сердечно-сосудистой системы и ее коррекции при хронической болезни почек // Нефрология. – 2020. – № 5 (24). – doi: 10.36485/1561-6274-2020-24-5-18-28.
9. Ершова А. И., Балахонова Т. В., Мешков А. Н. и др. Распространенность атеросклероза сонных и бедренных артерий среди населения Ивановской области: исследование АТЕРОГЕН-Иваново // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2021. – № 5 (20). – С. 2994. doi: 10.15829/1728-8800-2021-2994.
10. Жернакова Ю. В., Кавешников В. С., Серебрякова В. Н. и др. Распространенность каротидного атеросклероза в неорганизованной популяции Томска // Системные гипертензии. – 2014. – № 4 (11). – С. 37–42.

11. Жуков В. А., Жернаков А. И., Гаврилюк Н. Д. и др. Анализ аллельного полиморфизма гена АСТА2 у пациентов с несемейной аневризмой восходящего отдела аорты с помощью пиросеквенирования // Молекулярная медицина. – 2016. – Т. 14. – № 2. – С. 45-49.
12. Имаева А. Э., Туаева Е. М., Шальнова С. А. и др. Ишемическая болезнь сердца и факторы риска у населения пожилого возраста // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2016. – № 2 (15). – С. 93–99. doi: 10.15829/1728-8800-2016-2-93-99.
13. Иртюга О. Б., Жидулева Е. В., Казакова Е. Е. и др. Особенности патогенеза аортального стеноза у пациентов с артериальной гипертензией // Артериальная гипертензия. – 2013. – № 6 (19). – С. 495–501. doi: 10.18705/1607-419X-2013-19-6-495-501.
14. Иртюга О. Б., Фрейлихман О. А., Кривоносов Д. С. и др. Роль гена NOTCH1 в формировании аневризмы аорты // Российский кардиологический журнал. – 2018. – № 7 (0). – С. 53–59. doi: 10.15829/1560-4071-2018-7-53-59.
15. Качурина Е. Н., Коков А. Н., Кареева А. И. и др. Оценка распространенности коронарного кальциноза у лиц, проживающих на территории Западной Сибири (по данным исследования ЭССЕ-РФ) // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. – 2018. – № 4 (7). – С. 33–40. doi: 10.17802/2306-1278-2018-7-4-33-40.
16. Костина Д. А. Роль нарушений дифференцировки гладкомышечных клеток в патогенезе аневризмы грудной аорты : дис. ... канд. мед. наук / Д.А. Костина. – Санкт-Петербург, 2021. – С. 128.
17. Кучер А. Н., Шипулина С. А., Гончарова И. А. и др. Метилирование ДНК при аневризме аорты различной локализации // Генетика. – 2024. – Т. 60. – №6. – С. 3-21. doi: 10.31857/S0016675824060018
18. Назаренко М. С. Структурная и эпигенетическая вариабельность генома человека при атеросклеротическом поражении коронарных и сонных артерий : дис. ... док. мед. наук / М.С. Назаренко. – Томск, 2018. – С. 313.
19. Онощенко А. И., Янушко А. В., Толмачев В. И. и др. К вопросу о причинах формирования аневризмы грудного отдела аорты // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2016. – № 1 (53). – С. 33–35.
20. Пугина М. Ю., Гареев Д. А., Коржова М. А. и др. Патоморфологические особенности осложнений у пациентов с бicuspidальным аортальным клапаном // Южно-Российский журнал терапевтической практики. – 2023. – № 3 (4). – С. 62–69. doi: 10.21886/2712-8156-2023-4-3-62-69.
21. Пузырев В.П., Фрейдин М.Б. Генетический взгляд на феномен сочетанных заболеваний человека // Acta Naturae. – 2009. – Т. 1. – № 3. – С. 57–63.

22. Пузырев В.П. Генетические основы коморбидности у человека // Генетика. – 2015. – Т. 51. – № 4. – С. 491–502. doi: 10.7868/S0016675815040098
23. Рудой А. С., Бова А. А., Мрочек А. Г. и др. Национальные (международные) рекомендации по наследуемым аневризмам и расслоениям грудной аорты // Медицинский Вестник Северного Кавказа. – 2018. – № 1–2 (13). doi: 10.14300/mnnc.2018.13038.
24. Рыжкова О. П., Кардымон О. Л., Прохорчук Е. Б. и др. Руководство по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) (редакция 2018, версия 2) // Медицинская генетика. – 2019. – № 2 (18). – С. 3–23. doi: 10.25557/2073-7998.2019.02.3-23.
25. Семякина А. Н., Адян Т. А., Харабадзе М. Н. и др. Клинико-генетическая характеристика синдрома Марфана у больных из России // Генетика. – 2015. – Т. 51. – № 7. – С. 812. doi: 10.7868/S0016675815070115.
26. Успенский В. Е., Сапранков В. Л., Мазин В. И. и др. Машинное Обучение При Поиске Взаимоотношений Размеров И Структуры Стенки Восходящей Аорты При Ее Расширении Различной Степени // Российский Кардиологический Журнал. – 2023. – № 11 (28). – С. 135–143. doi: 10.15829/1560-4071-2023-5527.
27. Максимов С. А., Котова М.Б., Шальнова С.А. и др. Ассоциации инфраструктуры района проживания с сердечно-сосудистыми заболеваниями и их факторами риска: результаты эпидемиологического исследования ЭССЕ-РФ-3 // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2024. – № 23 (12). – С. 25–34.
28. Ярославская Е. И., Кузнецов В. А., Горбатенко Е. А. Диагностика необструктивного коронарного атеросклероза у мужчин с подозрением на ишемическую болезнь сердца // Атеросклероз. – 2018. – № 14. – С. 56–66. doi: <https://doi.org/10.15372/ATER20180406>.
29. Abbasciano R.G., Mariscalco G., Barwell J., et al. Evaluating the Feasibility of Screening Relatives of Patients Affected by Nonsyndromic Thoracic Aortic Diseases: The REST Study // Journal of the American Heart Association. – 2022. – 11(8). – e023741. doi:10.1161/JAHA.121.023741
30. Abood Z., Fuad Jan M., Zlochiver V., et al. Clinical Interpretation of Genetic Variants in the Evaluation and Management of Thoracic Aortic Aneurysm and Dissection // The American journal of medicine. – 2024. doi:10.1016/j.amjmed.2024.04.034
31. Acharya M., Maselli D., Mariscalco G. Genetic screening in heritable thoracic aortic disease-rationale, potentials and pitfalls // Indian Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. – 2022. – № Suppl 1 (38). – С. 24–35. doi: 10.1007/s12055-020-01124-7.

32. Achneck H., Modi B., Shaw C., et al. Ascending thoracic aneurysms are associated with decreased systemic atherosclerosis // *Chest*. – 2005. – № 3 (128). – C. 1580–1586. doi: 10.1378/chest.128.3.1580.
33. Acilan C., Serhatli M., Kacar O., et al. Smooth Muscle Cells Isolated from Thoracic Aortic Aneurysms Exhibit Increased Genomic Damage, but Similar Tendency for Apoptosis // *DNA and Cell Biology*. – 2012. – № 10 (31). – C. 1523–1534. doi: 10.1089/dna.2012.1644.
34. Adiguzel Z., Arda N., Kacar O., et al. Evaluation of apoptotic molecular pathways for smooth muscle cells isolated from thoracic aortic aneurysms in response to oxidized sterols // *Molecular Biology Reports*. – 2014. – № 12 (41). – C. 7875–7884. doi: 10.1007/s11033-014-3681-9.
35. Agatston A. S., Janowitz W. R., Hildner F. J., et al. Quantification of coronary artery calcium using ultrafast computed tomography // *Journal of the American College of Cardiology*. – 1990. – № 4 (15). – C. 827–832. doi: 10.1016/0735-1097(90)90282-t.
36. Aherrahrou R., Guo L., Nagraj V. P., et al. Genetic Regulation of Atherosclerosis-Relevant Phenotypes in Human Vascular Smooth Muscle Cells // *Circulation Research*. – 2020. – № 12 (127). – C. 1552–1565. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.120.317415.
37. Ahmadzadeh H., Rausch M. K., Humphrey J. D. Modeling lamellar disruption within the aortic wall using a particle-based approach // *Scientific Reports*. – 2019. – № 1 (9). – C. 15320. doi: 10.1038/s41598-019-51558-2.
38. Ailawadi G., Moehle C. W., Pei H., et al. Smooth muscle phenotypic modulation is an early event in aortic aneurysms // *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. – 2009. – № 6 (138). – C. 1392–1399. doi: 10.1016/j.jtcvs.2009.07.075.
39. Albin P. T., Segura A. M., Liu G., et al. Advanced atherosclerosis is associated with increased medial degeneration in sporadic ascending aortic aneurysms // *Atherosclerosis*. – № 232(2). – C. 361–368. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2013.10.035
40. Albornoz G., Coady M. A., Roberts M., et al. Familial thoracic aortic aneurysms and dissections--incidence, modes of inheritance, and phenotypic patterns // *The Annals of Thoracic Surgery*. – 2006. – № 4 (82). – C. 1400–1405. doi: 10.1016/j.athoracsur.2006.04.098.
41. Albrecht C., Preusch M. R., Hofmann G., et al. Egr-1 deficiency in bone marrow-derived cells reduces atherosclerotic lesion formation in a hyperlipidaemic mouse model // *Cardiovascular Research*. – 2010. – № 2 (86). – C. 321–329. doi: 10.1093/cvr/cvq032.
42. Al-Hassnan Z. N., Almesned A. R., Tulbah S., et al. Recessively inherited severe aortic aneurysm caused by mutated EFEMP2 // *The American Journal of Cardiology*. – 2012. – № 11 (109). – C. 1677–1680. doi: 10.1016/j.amjcard.2012.01.394.

43. Amemiya K., Mousseaux E., Ishibashi-Ueda H., et al. Impact of histopathological changes in ascending aortic diseases // *International Journal of Cardiology*. – 2020. – (311). – C. 91–96. doi: 10.1016/j.ijcard.2020.04.011.
44. Amemiya K., Ishibashi-Ueda H., Mousseaux E., et al. Comparison of the damage to aorta wall in aortitis versus noninflammatory degenerative aortic diseases // *Cardiovascular Pathology: The Official Journal of the Society for Cardiovascular Pathology*. – 2021. – (52). – C. 107329. doi: 10.1016/j.carpath.2021.107329.
45. Arnaud P., Hanna N., Benarroch L., et al. Genetic diversity and pathogenic variants as possible predictors of severity in a French sample of nonsyndromic heritable thoracic aortic aneurysms and dissections (nshTAAD) // *Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics*. – 2019. – № 9 (21). – C. 2015–2024. doi: 10.1038/s41436-019-0444-y.
46. Ashvetiya T., Fan S. X., Chen Y.-J., et al. Identification of novel genetic susceptibility loci for thoracic and abdominal aortic aneurysms via genome-wide association study using the UK Biobank Cohort // *PloS One*. – 2021. – № 9 (16). – C. e0247287. doi: 10.1371/journal.pone.0247287.
47. Bararu Bojan Bararu I., Pleșoianu C. E., Badulescu O. V., et al. Molecular and Cellular Mechanisms Involved in Aortic Wall Aneurysm Development // *Diagnostics (Basel, Switzerland)*. – 2023. – № 2 (13). – C. 253. doi: 10.3390/diagnostics13020253.
48. Barbier M., Gross M.-S., Aubart M., et al. MFAP5 Loss-of-Function Mutations Underscore the Involvement of Matrix Alteration in the Pathogenesis of Familial Thoracic Aortic Aneurysms and Dissections // *American Journal of Human Genetics*. – 2014. – № 6 (95). – C. 736–743. doi: 10.1016/j.ajhg.2014.10.018.
49. Barnett B. D., Bird H. R., Lalich J. J., et al. Toxicity of beta-amino-propionitrile for turkey poult // *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.). – 1957. – № 1 (94). – C. 67–70.
50. Bean W. B., Ponseti I. V. Dissecting aneurysm produced by diet // *Circulation*. – 1955. – № 2 (12). – C. 185–192. doi: 10.1161/01.cir.12.2.185.
51. Bhandari R., Aatre R. D., Kanthi Y. Diagnostic approach and management of genetic aortopathies // *Vascular Medicine*. – 2020. – № 1 (25). – C. 63–77. doi: 10.1177/1358863X19886361.
52. Biddinger A., Rocklin M., Coselli J., et al. Familial thoracic aortic dilatations and dissections: a case control study // *Journal of Vascular Surgery*. – 1997. – № 3 (25). – C. 506–511. doi: 10.1016/s0741-5214(97)70261-1.
53. Björck H. M., Du L., Pulignani S., et al. Altered DNA methylation indicates an oscillatory flow mediated epithelial-to-mesenchymal transition signature in ascending aorta of patients with bicuspid aortic valve // *Scientific Reports*. – 2018. – № 1 (8). – C. 2777. doi: 10.1038/s41598-018-20642-4.

54. Boerio M. L., Engelhardt N., Cuddapah S., et al. Further Evidence that ARIH1 Rare Variants Predispose to Thoracic Aortic Disease // *Circulation. Genomic and precision medicine*. – 2022. – № 6 (15). – C. e003707. doi: 10.1161/CIRCGEN.122.003707.
55. Boileau C., Guo D.-C., Hanna N., et al. TGFB2 loss of function mutations cause familial thoracic aortic aneurysms and acute aortic dissections associated with mild systemic features of the Marfan syndrome // *Nature genetics*. – 2012. – № 8 (44). – C. 916–921. doi: 10.1038/ng.2348.
56. Bonder M. J., Luijk R., Zhernakova D. V., et al. Disease variants alter transcription factor levels and methylation of their binding sites // *Nature Genetics*. – 2017. – № 1 (49). – C. 131–138. doi: 10.1038/ng.3721.
57. Borger M. A., Fedak P. W. M., Stephens E. H., et al. The American Association for Thoracic Surgery consensus guidelines on bicuspid aortic valve-related aortopathy: Full online-only version // *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. – 2018. – № 2 (156). – C. e41–e74. doi: 10.1016/j.jtcvs.2018.02.115.
58. Boucher P., Gotthardt M., Li W.-P., et al. LRP: role in vascular wall integrity and protection from atherosclerosis // *Science (New York, N.Y.)*. – 2003. – № 5617 (300). – C. 329–332. doi: 10.1126/science.1082095.
59. Boucher P., Li W.-P., Matz R. L., et al. LRP1 functions as an atheroprotective integrator of TGFbeta and PDGF signals in the vascular wall: implications for Marfan syndrome // *PloS One*. – 2007. – № 5 (2). – C. e448. doi: 10.1371/journal.pone.0000448.
60. Bowdin S. C., Laberge A.-M., Verstraeten A., et al. Genetic Testing in Thoracic Aortic Disease—When, Why, and How? // *Canadian Journal of Cardiology*. – 2016. – № 1 (32). – C. 131–134. doi: 10.1016/j.cjca.2015.09.018.
61. Branchetti E., Poggio P., Sainger R., et al. Oxidative stress modulates vascular smooth muscle cell phenotype via CTGF in thoracic aortic aneurysm // *Cardiovascular Research*. – 2013. – № 2 (100). – C. 316–324. doi: 10.1093/cvr/cvt205.
62. Braverman A. C., Mittauer E., Harris K. M., et al. Clinical Features and Outcomes of Pregnancy-Related Acute Aortic Dissection // *JAMA cardiology*. – 2021. – № 1 (6). – C. 58–66. doi: 10.1001/jamacardio.2020.4876.
63. Brownstein A. J., Kostiuk V., Ziganshin B. A., et al. Genes Associated with Thoracic Aortic Aneurysm and Dissection: 2018 Update and Clinical Implications // *Aorta (Stamford, Conn.)*. – 2018. – № 1 (6). – C. 13–20. doi: 10.1055/s-0038-1639612.
64. Budoff M. J., Young R., Burke G., et al. Ten-year association of coronary artery calcium with atherosclerotic cardiovascular disease (ASCVD) events: the multi-ethnic study of atherosclerosis (MESA) // *European Heart Journal*. – 2018. – № 25 (39). – C. 2401–2408. doi: 10.1093/eurheartj/ehy217.

65. Buja L. M., Zhao B., Sadaf H., et al. Insights From the Histopathologic Analysis of Acquired and Genetic Thoracic Aortic Aneurysms and Dissections // *Texas Heart Institute Journal*. – 2024. – № 1 (51). – C. e238253. doi: 10.14503/THIJ-23-8253.
66. Butnariu L. I., Russu G., Luca A.-C., et al. Identification of Genetic Variants Associated with Hereditary Thoracic Aortic Diseases (HTADs) Using Next Generation Sequencing (NGS) Technology and Genotype-Phenotype Correlations // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2024. – № 20 (25). – C. 11173. doi: 10.3390/ijms252011173.
67. Bunton T. E., Biery N. J., Myers L., et al. Phenotypic alteration of vascular smooth muscle cells precedes elastolysis in a mouse model of Marfan syndrome // *Circulation Research*. – 2001. – № 1 (88). – C. 37–43. doi: 10.1161/01.res.88.1.37.
68. Burn G. L., Svensson L., Sanchez-Blanco C., et al. Why is PTPN22 a good candidate susceptibility gene for autoimmune disease? // *FEBS letters*. – 2011. – № 23 (585). – C. 3689–3698. doi: 10.1016/j.febslet.2011.04.032.
69. Byers P. H., Belmont J., Black J., et al. Diagnosis, natural history, and management in vascular Ehlers-Danlos syndrome // *American Journal of Medical Genetics. Part C, Seminars in Medical Genetics*. – 2017. – № 1 (175). – C. 40–47. doi: 10.1002/ajmg.c.31553.
70. Calero A., Illig K. A. Overview of aortic aneurysm management in the endovascular era // *Seminars in Vascular Surgery*. – 2016. – № 1–2 (29). – C. 3–17. doi: 10.1053/j.semvascsurg.2016.07.003.
71. Capuano A., Buccioti F., Farwell K. D., et al. Diagnostic Exome Sequencing Identifies a Novel Gene, EMILIN1, Associated with Autosomal-Dominant Hereditary Connective Tissue Disease // *Human Mutation*. – 2016. – № 1 (37). – C. 84–97. doi: 10.1002/humu.22920.
72. Caspar S. M., Dubacher N., Matyas G. More Genes for Thoracic Aortic Aneurysms and Dissections // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2019. – № 4 (73). – C. 528–529. doi: 10.1016/j.jacc.2018.09.094.
73. Cassandri M., Smirnov A., Novelli F., et al. Zinc-finger proteins in health and disease // *Cell death discovery*. – 2017. – (3). – doi: 10.1038/cddiscovery.2017.71.
74. Cecchi A. C., Drake M., Campos C., et al. Current state and future directions of genomic medicine in aortic dissection: A path to prevention and personalized care // *Seminars in vascular surgery*. – 2022. – № 1 (35). – C. 51–59. doi: 10.1053/j.semvascsurg.2022.02.003.
75. Çelik M., Milojevic M., Durko A. P., et al. Differences in baseline characteristics and outcomes of bicuspid and tricuspid aortic valves in surgical aortic valve replacement // *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery: Official Journal of the European Association for Cardio-Thoracic Surgery*. – 2021. – № 6 (59). – C. 1191–1199. doi: 10.1093/ejcts/ezaa474.

76. Chakraborty A., Li Y., Zhang C., et al. Epigenetic Induction of Smooth Muscle Cell Phenotypic Alterations in Aortic Aneurysms and Dissections // *Circulation*. – 2023. – № 12 (148). – C. 959–977. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.123.063332.
77. Chang Z., Zhao G., Zhao Y., et al. BAF60a Deficiency in Vascular Smooth Muscle Cells Prevents Abdominal Aortic Aneurysm by Reducing Inflammation and Extracellular Matrix Degradation // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2020. – № 10 (40). – C. 2494–2507. doi: 10.1161/ATVBAHA.120.314955.
78. Chau K., Elefteriades J. A. Ascending thoracic aortic aneurysms protect against myocardial infarctions // *The International Journal of Angiology: Official Publication of the International College of Angiology, Inc.* – 2014. – № 3 (23). – C. 177–182. doi: 10.1055/s-0034-1382288.
79. Chau K. H., Bender J. R., Elefteriades J. A. Silver lining in the dark cloud of aneurysm disease // *Cardiology*. – 2014. – № 4 (128). – C. 327–332. doi: 10.1159/000358123.
80. Chen J., Peters A., Papke C. L., et al. Loss of Smooth Muscle α -Actin Leads to NF- κ B-Dependent Increased Sensitivity to Angiotensin II in Smooth Muscle Cells and Aortic Enlargement // *Circulation Research*. – 2017. – № 12 (120). – C. 1903–1915. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.310563.
81. Chen L., Wang X., Carter S. A., et al. A single nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase 9 gene (-8202A/G) is associated with thoracic aortic aneurysms and thoracic aortic dissection // *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. – 2006. – № 5 (131). – C. 1045–1052. doi: 10.1016/j.jtcvs.2006.01.003.
82. Chen M. H., Choudhury S., Hirata M., et al. Thoracic Aortic Aneurysm in Patients with Loss of Function Filamin A Mutations: Clinical Characterization, Genetics, and Recommendations // *American journal of medical genetics. Part A*. – 2018. – № 2 (176). – C. 337–350. doi: 10.1002/ajmg.a.38580.
83. Chen Y., Xiao D., Zhang L., et al. The Role of Tbx20 in Cardiovascular Development and Function // *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. – 2021. – (9). – C. 638542. doi: 10.3389/fcell.2021.638542.
84. Chen Y., Xu X., Chen Z., et al. DNA methylation alternation in Stanford- A acute aortic dissection // *BMC cardiovascular disorders*. – 2022. – № 1 (22). – C. 455. doi: 10.1186/s12872-022-02882-5.
85. Chen Z., Schunkert H. Genetics of coronary artery disease in the post-GWAS era // *Journal of Internal Medicine*. – 2021. – 290. – 980–992. <https://doi.org/10.1111/joim.13362>.

86. Chen Z.-R., Bao M.-H., Wang X.-Y., et al. Genetic variants in Chinese patients with sporadic Stanford type A aortic dissection // *Journal of Thoracic Disease*. – 2021. – № 7 (13). – C. 4008–4022. doi: 10.21037/jtd-20-2758.
87. Cheng J., Zhou X., Jiang X., et al. Deletion of ACTA2 in mice promotes angiotensin II induced pathogenesis of thoracic aortic aneurysms and dissections // *Journal of Thoracic Disease*. – 2018. – № 8 (10). – C. 4733–4740. doi: 10.21037/jtd.2018.07.75.
88. Cheung K., Boodhwani M., Chan K.-L., et al. Thoracic Aortic Aneurysm Growth: Role of Sex and Aneurysm Etiology // *Journal of the American Heart Association*. – 2017. – № 2 (6). – C. e003792. doi: 10.1161/JAHA.116.003792.
89. Cho I.-J., Heo R., Chang H.-J., et al. Correlation between coronary artery calcium score and aortic diameter in a high-risk population of elderly male hypertensive patients // *Coronary artery disease*. – 2014. – № 8 (25). – C. 698–704. doi: 10.1097/MCA.0000000000000150.
90. Chou E. L., Lindsay M. E. The genetics of aortopathies: Hereditary thoracic aortic aneurysms and dissections // *American Journal of Medical Genetics. Part C, Seminars in Medical Genetics*. – 2020. – № 1 (184). – C. 136–148. doi: 10.1002/ajmg.c.31771.
91. Chou E., Pirruccello J. P., Ellinor P. T., et al. Genetics and mechanisms of thoracic aortic disease // *Nature Reviews. Cardiology*. – 2023. – № 3 (20). – C. 168–180. doi: 10.1038/s41569-022-00763-0.
92. Chu D.-T., Bui N.-L., Vu Thi H., et al. Role of DNA methylation in diabetes and obesity // *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. – 2023. – (197). – C. 153–170. doi: 10.1016/bs.pmbts.2023.01.008.
93. Chung A. W. Y., Au Yeung K., Cortes S. F., et al. Endothelial dysfunction and compromised eNOS/Akt signaling in the thoracic aorta during the progression of Marfan syndrome // *British Journal of Pharmacology*. – 2007. – № 8 (150). – C. 1075–1083. doi: 10.1038/sj.bjp.0707181.
94. Chung J., Coutinho T., Chu M. W. A., et al. Sex differences in thoracic aortic disease: A review of the literature and a call to action // *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. – 2020. – № 3 (160). – C. 656–660. doi: 10.1016/j.jtcvs.2019.09.194.
95. Cikach F. S., Koch C. D., Mead T. J., et al. Massive aggrecan and versican accumulation in thoracic aortic aneurysm and dissection // *JCI insight*. – 2018. – № 5 (3). – C. e97167, 97167. doi: 10.1172/jci.insight.97167.
96. Coady M. A., Davies R. R., Roberts M., et al. Familial patterns of thoracic aortic aneurysms // *Archives of Surgery (Chicago, Ill.: 1960)*. – 1999. – № 4 (134). – C. 361–367. doi: 10.1001/archsurg.134.4.361.

97. Crousillat D., Briller J., Aggarwal N., et al. Sex Differences in Thoracic Aortic Disease and Dissection: JACC Review Topic of the Week // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2023. – № 9 (82). – C. 817–827. doi: 10.1016/j.jacc.2023.05.067.
98. Crowe A. R., Yue W. Semi-quantitative Determination of Protein Expression using Immunohistochemistry Staining and Analysis: An Integrated Protocol // *Bio-Protocol*. – 2019. – № 24 (9). – C. e3465. doi: 10.21769/BioProtoc.3465.
99. Curtis A., Smith T., Ziganshin B. A., et al. Ascending Aortic Proaneurysmal Genetic Mutations with Antiatherogenic Effects // *The International Journal of Angiology : Official Publication of the International College of Angiology, Inc.* – 2015. – № 3 (24). – C. 189–197. doi: 10.1055/s-0035-1556075.
100. Czerny M., Grabenwöger M., Berger T., et al. EACTS/STS Guidelines for diagnosing and treating acute and chronic syndromes of the aortic organ // *European journal of cardio-thoracic surgery*. – №65 (2). – ezad426. <https://doi.org/10.1093/ejcts/ezad426>.
101. D’Amico F., Doldo E., Pisano C., et al. Specific miRNA and Gene Deregulation Characterize the Increased Angiogenic Remodeling of Thoracic Aneurysmatic Aortopathy in Marfan Syndrome // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2020. – № 18 (21). – C. 6886. doi: 10.3390/ijms21186886.
102. Dang T. A., Kessler T., Wobst J., et al. Identification of a Functional PDE5A Variant at the Chromosome 4q27 Coronary Artery Disease Locus in an Extended Myocardial Infarction Family // *Circulation*. – 2021. – № 8 (144). – C. 662–665. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.052975.
103. Daugherty A., Chen Z., Sawada H., et al. Transforming Growth Factor- β in Thoracic Aortic Aneurysms: Good, Bad, or Irrelevant? // *Journal of the American Heart Association: Cardiovascular and Cerebrovascular Disease*. – 2017. – № 1 (6). – C. e005221. doi: 10.1161/JAHA.116.005221.
104. Davies R. R., Goldstein L. J., Coady M. A., et al. Yearly rupture or dissection rates for thoracic aortic aneurysms: simple prediction based on size // *The Annals of Thoracic Surgery*. – 2002. – № 1 (73). – C. 17–27; discussion 27-28. doi: 10.1016/s0003-4975(01)03236-2.
105. Davies R. R., Kaple R. K., Mandapati D., et al. Natural history of ascending aortic aneurysms in the setting of an unreplaced bicuspid aortic valve // *The Annals of Thoracic Surgery*. – 2007. – № 4 (83). – C. 1338–1344. doi: 10.1016/j.athoracsur.2006.10.074.
106. Davis F. M., Gallagher K. A. Epigenetic Mechanisms in Monocytes/Macrophages Regulate Inflammation in Cardiometabolic and Vascular Disease // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2019. – № 4 (39). – C. 623–634. doi: 10.1161/ATVBAHA.118.312135.
107. De Backer J., Bondue A., Budts W., et al. Genetic counselling and testing in adults with congenital heart disease: A consensus document of the ESC Working Group of Grown-Up Congenital

Heart Disease, the ESC Working Group on Aorta and Peripheral Vascular Disease and the European Society of Human Genetics // *European Journal of Preventive Cardiology*. – 2020. – № 13 (27). – C. 1423–1435. doi: 10.1177/2047487319854552.

108. De Cario R., Giannini M., Cassioli G., et al. Tracking an Elusive Killer: State of the Art of Molecular-Genetic Knowledge and Laboratory Role in Diagnosis and Risk Stratification of Thoracic Aortic Aneurysm and Dissection // *Diagnostics (Basel, Switzerland)*. – 2022. – № 8 (12). – C. 1785. doi: 10.3390/diagnostics12081785.

109. Del Porto F., Cifani N., Proietta M., et al. MMP-12 and macrophage activation in acute aortic dissection // *Cardiology*. – 2014. – № 4 (128). – C. 314–315; discussion 316. doi: 10.1159/000361039.

110. Della Corte A., Michelena H. I., Citarella A., et al. Risk Stratification in Bicuspid Aortic Valve Aortopathy: Emerging Evidence and Future Perspectives // *Current Problems in Cardiology*. – 2021. – № 3 (46). – C. 100428. doi: 10.1016/j.cpcardiol.2019.06.002.

111. Deng J., Li D., Zhang X., et al. Murine model of elastase-induced proximal thoracic aortic aneurysm through a midline incision in the anterior neck // *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. – 2023. – (10). –

112. Dhaouadi N., Li J., Feugier P., et al. Computational identification of potential transcriptional regulators of TGF- β 1 in human atherosclerotic arteries // *Genomics*. – 2014. – № 5–6 (103). – doi: 10.1016/j.ygeno.2014.05.001.

113. D'hondt S., Van Damme T., Malfait F. Vascular phenotypes in nonvascular subtypes of the Ehlers-Danlos syndrome: a systematic review // *Genetics in Medicine*. – 2018. – № 6 (20). – C. 562–573. doi: 10.1038/gim.2017.138.

114. Dietz H. C., Loeys B., Carta L., et al. Recent progress towards a molecular understanding of Marfan syndrome // *American Journal of Medical Genetics. Part C, Seminars in Medical Genetics*. – 2005. – № 1 (139C). – C. 4–9. doi: 10.1002/ajmg.c.30068.

115. Do R., Stitzel N. O., Won H.-H., et al. Exome sequencing identifies rare LDLR and APOA5 alleles conferring risk for myocardial infarction // *Nature*. – 2015. – № 7537 (518). – C. 102–106. doi: 10.1038/nature13917.

116. Dolmaci O. B., Klautz R. J. M., Poelmann R. E., et al. Thoracic aortic atherosclerosis in patients with a bicuspid aortic valve; a case-control study // *BMC cardiovascular disorders*. – 2023. – № 1 (23). – C. 363. doi: 10.1186/s12872-023-03396-4.

117. Doppler C., Messner B., Mimler T., et al. Noncanonical atherosclerosis as the driving force in tricuspid aortic valve associated aneurysms - A trace collection // *Journal of Lipid Research*. – 2023. – № 3 (64). – C. 100338. doi: 10.1016/j.jlr.2023.100338.

118. Downey R. T., Aron R. A. Thoracic and Thoracoabdominal Aneurysms: Etiology, Epidemiology, and Natural History // *Anesthesiology Clinics*. – 2022. – № 4 (40). – C. 671–683. doi: 10.1016/j.anclin.2022.08.011.
119. Du L., Li X., Gao Q., et al. LncRNA nuclear receptor subfamily 2 group F member 1 antisense RNA 1 (NR2F1-AS1) aggravates nucleus pulposus cell apoptosis and extracellular matrix degradation // *Bioengineered*. – 2022. – № 2 (13). – C. 2746–2762. doi: 10.1080/21655979.2021.2016087.
120. Duan X.-Y., Guo D.-C., Regalado E. S., et al. SMAD4 rare variants in individuals and families with thoracic aortic aneurysms and dissections // *European journal of human genetics: EJHG*. – 2019. – № 7 (27). – C. 1054–1060. doi: 10.1038/s41431-019-0357-x.
121. Duca L., Blaise S., Romier B., et al. Matrix ageing and vascular impacts: focus on elastin fragmentation // *Cardiovascular Research*. – 2016. – № 3 (110). – C. 298–308. doi: 10.1093/cvr/cvw061.
122. Dutta P., James J. F., Kazik H., et al. Genetic and Developmental Contributors to Aortic Stenosis // *Circulation Research*. – 2021. – № 9 (128). – C. 1330–1343. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.120.317978.
123. Dyer L. A., Kirby M. L. The role of secondary heart field in cardiac development // *Developmental Biology*. – 2009. – № 2 (336). – C. 137–144. doi: 10.1016/j.ydbio.2009.10.009.
124. Egorova A. D., Heiden K. van der, Poelmann R. E., et al. Primary cilia as biomechanical sensors in regulating endothelial function // *Differentiation; Research in Biological Diversity*. – 2012. – № 2 (83). – C. S56-61. doi: 10.1016/j.diff.2011.11.007.
125. Egorova A. D., Khedoe P. P. S. J., Goumans M.-J. T. H., et al. Lack of primary cilia primes shear-induced endothelial-to-mesenchymal transition // *Circulation Research*. – 2011. – № 9 (108). – C. 1093–1101. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.110.231860.
126. Eilenberg W., Zagrapan B., Bleichert S., et al. Histone citrullination as a novel biomarker and target to inhibit progression of abdominal aortic aneurysms // *Translational Research*. – 2021. – (233). – C. 32–46. doi: 10.1016/j.trsl.2021.02.003.
127. Ekedı A. V. N. B., Rozhkov A. N., Shchekochikhin D. Y., et al. Evaluation of microRNA Expression Features in Patients with Various Types of Arterial Damage: Thoracic Aortic Aneurysm and Coronary Atherosclerosis // *Journal of Personalized Medicine*. – 2023. – № 7 (13). – C. 1161. doi: 10.3390/jpm13071161.
128. Eken S. M., Jin H., Chernogubova E., et al. MicroRNA-210 Enhances Fibrous Cap Stability in Advanced Atherosclerotic Lesions // *Circulation Research*. – 2017. – № 4 (120). – C. 633–644. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.309318.

129. Elbitar S., Renard M., Arnaud P., et al. Pathogenic variants in THSD4, encoding the ADAMTS-like 6 protein, predispose to inherited thoracic aortic aneurysm // *Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics*. – 2021. – № 1 (23). – C. 111–122. doi: 10.1038/s41436-020-00947-4.
130. Elefteriades J. A. Thoracic aortic aneurysm: reading the enemy's playbook // *Current Problems in Cardiology*. – 2008. – № 5 (33). – C. 203–277. doi: 10.1016/j.cpcardiol.2008.01.004.
131. El-Hamamsy I., Yacoub M. H. Cellular and molecular mechanisms of thoracic aortic aneurysms // *Nature Reviews. Cardiology*. – 2009. – № 12 (6). – C. 771–786. doi: 10.1038/nrcardio.2009.191.
132. Emdin C. A., Khera A. V., Klarin D., et al. Phenotypic Consequences of a Genetic Predisposition to Enhanced Nitric Oxide Signaling // *Circulation*. – 2018. – № 3 (137). – C. 222–232. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.028021.
133. Ewans L. J., Colley A., Gaston-Massuet C., et al. Pathogenic variants in PLOD3 result in a Stickler syndrome-like connective tissue disorder with vascular complications // *Journal of Medical Genetics*. – 2019. – № 9 (56). – C. 629–638. doi: 10.1136/jmedgenet-2019-106019.
134. Ewence A. E., Bootman M., Roderick H. L., et al. Calcium phosphate crystals induce cell death in human vascular smooth muscle cells: a potential mechanism in atherosclerotic plaque destabilization // *Circulation Research*. – 2008. – № 5 (103). – C. e28-34. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.108.181305.
135. Faggion Vinholo T., Brownstein A. J., Ziganshin B. A., et al. Genes Associated with Thoracic Aortic Aneurysm and Dissection: 2019 Update and Clinical Implications // *Aorta (Stamford, Conn.)*. – 2019. – № 4 (7). – C. 99–107. doi: 10.1055/s-0039-3400233.
136. Fahey J. K., Williams S. M., Tyagi S., et al. The Intercellular Tight Junction and Spontaneous Coronary Artery Dissection // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2018. – № 14 (72). – C. 1752–1753. doi: 10.1016/j.jacc.2018.07.040.
137. Fan L. M., Douglas G., Bendall J. K., et al. Endothelial cell-specific reactive oxygen species production increases susceptibility to aortic dissection // *Circulation*. – 2014. – № 25 (129). – C. 2661–2672. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.005062.
138. Fernández-Friera L., Peñalvo J. L., Fernández-Ortiz A., et al. Prevalence, Vascular Distribution, and Multiterritorial Extent of Subclinical Atherosclerosis in a Middle-Aged Cohort: The PESA (Progression of Early Subclinical Atherosclerosis) Study // *Circulation*. – 2015. – № 24 (131). – C. 2104–2113. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.014310.
139. Flachskampf F. A., Daniel W. G. Aortic dissection // *Cardiology Clinics*. – 2000. – № 4 (18). – C. 807–817, ix. doi: 10.1016/s0733-8651(05)70181-8.

140. Forte A., Della Corte A., Grossi M., et al. Differential expression of proteins related to smooth muscle cells and myofibroblasts in human thoracic aortic aneurysm // *Histology and Histopathology*. – 2013. – № 6 (28). – C. 795–803. doi: 10.14670/HH-28.795.
141. Forte A., Galderisi U., Cipollaro M., et al. Epigenetic regulation of TGF- β 1 signalling in dilative aortopathy of the thoracic ascending aorta // *Clinical Science (London, England: 1979)*. – 2016. – № 16 (130). – C. 1389–1405. doi: 10.1042/CS20160222.
142. Frau M., Feo F., Pascale R. M. Pleiotropic effects of methionine adenosyltransferases deregulation as determinants of liver cancer progression and prognosis // *Journal of Hepatology*. – 2013. – № 4 (59). – C. 830–841. doi: 10.1016/j.jhep.2013.04.031.
143. Freiholtz D., Bergman O., Pradhananga S., et al. SPP1/osteopontin: a driver of fibrosis and inflammation in degenerative ascending aortic aneurysm? // *Journal of Molecular Medicine (Berlin, Germany)*. – 2023. – № 10 (101). – C. 1323–1333. doi: 10.1007/s00109-023-02370-z.
144. Friso S., Pizzolo F., Choi S.-W., et al. Epigenetic control of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase 2 gene promoter is related to human hypertension // *Atherosclerosis*. – 2008. – № 2 (199). – C. 323–327. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2007.11.029.
145. Fu J., Deng Y., Ma Y., et al. National and Provincial-Level Prevalence and Risk Factors of Carotid Atherosclerosis in Chinese Adults // *JAMA network open*. – 2024. – № 1 (7). – C. e2351225. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2023.51225.
146. Gago-Díaz M., Blanco-Verea A., Teixidó G., et al. PRKG1 and genetic diagnosis of early-onset thoracic aortic disease // *European Journal of Clinical Investigation*. – 2016. – № 9 (46). – C. 787–794. doi: 10.1111/eci.12662.
147. Gao J., Cao H., Hu G., et al. The mechanism and therapy of aortic aneurysms // *Signal Transduction and Targeted Therapy*. – 2023. – № 1 (8). – C. 55. doi: 10.1038/s41392-023-01325-7.
148. Gao Y., Wu W., Yu C., et al. A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motif 1 (ADAMTS1) expression increases in acute aortic dissection // *Science China. Life Sciences*. – 2016. – № 1 (59). – C. 59–67. doi: 10.1007/s11427-015-4959-4.
149. Garg V., Muth A. N., Ransom J. F., et al. Mutations in NOTCH1 cause aortic valve disease // *Nature*. – 2005. – № 7056 (437). – C. 270–274. doi: 10.1038/nature03940.
150. Gaunt T. R., Shihab H. A., Hemani G., et al. Systematic identification of genetic influences on methylation across the human life course // *Genome Biology*. – 2016. – № 1 (17). – C. 61. doi: 10.1186/s13059-016-0926-z.
151. Ghosh J., Murphy M. O., Turner N., et al. The role of transforming growth factor beta1 in the vascular system // *Cardiovascular Pathology: The Official Journal of the Society for Cardiovascular Pathology*. – 2005. – № 1 (14). – C. 28–36. doi: 10.1016/j.carpath.2004.11.005.

152. Ghosh S., Vivar J., Nelson C. P., et al. Systems Genetics Analysis of GWAS reveals Novel Associations between Key Biological Processes and Coronary Artery Disease // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. – 2015. – № 7 (35). – C. 1712–1722. doi: 10.1161/ATVBAHA.115.305513.
153. Gioia C. R. T. di, Ascione A., Carletti R., et al. Thoracic Aorta: Anatomy and Pathology // *Diagnostics* (Basel, Switzerland). – 2023. – № 13 (13). – C. 2166. doi: 10.3390/diagnostics13132166.
154. Glotzbach J. P., Hanson H. A., Tonna J. E., et al. Familial Associations of Prevalence and Cause-Specific Mortality for Thoracic Aortic Disease and Bicuspid Aortic Valve in a Large-Population Database // *Circulation*. – 2023. – № 8 (148). – C. 637–647. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.122.060439.
155. Goncharova I. A., Zarubin A. A., Shipulina S. A., et al. DNA Methylation Profiling in Aneurysm and Comorbid Atherosclerosis of the Ascending Aorta // *Molecular Biology*. – 2024. – № 3 (58). – C. 439–449. doi: 10.1134/S0026893324700079.
156. Gong J., Sheng W., Ma D., et al. DNA methylation status of TBX20 in patients with tetralogy of Fallot // *BMC medical genomics*. – 2019. – № 1 (12). – C. 75. doi: 10.1186/s12920-019-0534-3.
157. González-López P., Yu Y., Lin S., et al. Dysregulation of micro-RNA 143-3p as a Biomarker of Carotid Atherosclerosis and the Associated Immune Reactions During Disease Progression // *Journal of Cardiovascular Translational Research*. – 2024. – doi: 10.1007/s12265-024-10482-1.
158. Goudot G., Mirault T., Bruneval P., et al. Aortic Wall Elastic Properties in Case of Bicuspid Aortic Valve // *Frontiers in Physiology*. – 2019. – (10). – C. 299. doi: 10.3389/fphys.2019.00299.
159. Gould R. A., Aziz H., Woods C. E., et al. ROBO4 Variants Predispose Individuals to Bicuspid Aortic Valve and Thoracic Aortic Aneurysm // *Nature genetics*. – 2019. – № 1 (51). – C. 42–50. doi: 10.1038/s41588-018-0265-y.
160. Goyal R., Goyal D., Leitzke A., et al. Brain renin-angiotensin system: fetal epigenetic programming by maternal protein restriction during pregnancy // *Reproductive Sciences* (Thousand Oaks, Calif.). – 2010. – № 3 (17). – C. 227–238. doi: 10.1177/1933719109351935.
161. Grahame R., Bird H. A., Child A. The revised (Brighton 1998) criteria for the diagnosis of benign joint hypermobility syndrome (BJHS) // *The Journal of Rheumatology*. – 2000. – № 7 (27). – C. 1777–1779.

162. Greenway J., Gilreath N., Patel S., et al. Profiling of Histone Modifications Reveals Epigenomic Dynamics During Abdominal Aortic Aneurysm Formation in Mouse Models // *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. – 2020. – (7). – C. 595011. doi: 10.3389/fcvm.2020.595011.
163. Grewal N., Dolmaci O., Jansen E., et al. Are acute type A aortic dissections atherosclerotic? // *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. – 2022. – (9). – C. 1032755. doi: 10.3389/fcvm.2022.1032755.
164. Grewal N., Gittenberger-de Groot A. C. Pathogenesis of aortic wall complications in Marfan syndrome // *Cardiovascular Pathology: The Official Journal of the Society for Cardiovascular Pathology*. – 2018. – (33). – C. 62–69. doi: 10.1016/j.carpath.2018.01.005.
165. Grewal N., Poelmann R. Is the intimal thickness a key contributor to thoracic aortopathy? // *Indian Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. – 2023. – № Suppl 2 (39). – C. 233–238. doi: 10.1007/s12055-023-01528-1.
166. Gu G., Yang H., Cui L., et al. Vascular Ehlers-Danlos Syndrome With a Novel Missense COL3A1 Mutation Present With Pulmonary Complications and Iliac Arterial Dissection // *Vascular and Endovascular Surgery*. – 2018. – № 2 (52). – C. 138–142. doi: 10.1177/1538574417745432.
167. Gubler M. C. Inherited diseases of the glomerular basement membrane // *Nature Clinical Practice. Nephrology*. – 2008. – № 1 (4). – C. 24–37. doi: 10.1038/ncpneph0671.
168. Guo D., Regalado E., Casteel D. E., et al. Recurrent Gain-of-Function Mutation in PRKG1 Causes Thoracic Aortic Aneurysms and Acute Aortic Dissections // *The American Journal of Human Genetics*. – 2013. – № 2 (93). – C. 398–404. doi: 10.1016/j.ajhg.2013.06.019.
169. Guo D., Regalado E. S., Gong L., et al. LOX Mutations Predispose to Thoracic Aortic Aneurysms and Dissections // *Circulation research*. – 2016. – № 6 (118). – C. 928–934. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.307130.
170. Guo D., Regalado E. S., Pinard A., et al. LTBP3 Pathogenic Variants Predispose Individuals to Thoracic Aortic Aneurysms and Dissections // *American Journal of Human Genetics*. – 2018. – № 4 (102). – C. 706–712. doi: 10.1016/j.ajhg.2018.03.002.
171. Guo D.-C., Grove M. L., Prakash S. K., et al. Genetic Variants in LRP1 and ULK4 Are Associated with Acute Aortic Dissections // *American Journal of Human Genetics*. – 2016. – № 3 (99). – C. 762–769. doi: 10.1016/j.ajhg.2016.06.034.
172. Guo D.-C., Hostetler E. M., Fan Y., et al. Heritable Thoracic Aortic Disease Genes in Sporadic Aortic Dissection // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2017. – № 21 (70). – C. 2728–2730. doi: 10.1016/j.jacc.2017.09.1094.

173. Guo D.-C., Pannu H., Tran-Fadulu V., et al. Mutations in smooth muscle α -actin (ACTA2) lead to thoracic aortic aneurysms and dissections // *Nature Genetics*. – 2007. – № 12 (39). – C. 1488–1493. doi: 10.1038/ng.2007.6.
174. Guo D.-C., Papke C. L., Tran-Fadulu V., et al. Mutations in smooth muscle alpha-actin (ACTA2) cause coronary artery disease, stroke, and Moyamoya disease, along with thoracic aortic disease // *American Journal of Human Genetics*. – 2009. – № 5 (84). – C. 617–627. doi: 10.1016/j.ajhg.2009.04.007.
175. Haldar S. M., Lu Y., Jeyaraj D., et al. Klf15 Deficiency Is a Molecular Link Between Heart Failure and Aortic Aneurysm Formation // *Science translational medicine*. – 2010. – № 26 (2). – C. 26ra26. doi: 10.1126/scitranslmed.3000502.
176. Halushka M. K., Angelini A., Bartoloni G., et al. Consensus statement on surgical pathology of the aorta from the Society for Cardiovascular Pathology and the Association For European Cardiovascular Pathology: II. Noninflammatory degenerative diseases - nomenclature and diagnostic criteria // *Cardiovascular Pathology: The Official Journal of the Society for Cardiovascular Pathology*. – 2016. – № 3 (25). – C. 247–257. doi: 10.1016/j.carpath.2016.03.002.
177. Hamandi M., Bolin M. L., Fan J., et al. A Newly Discovered Genetic Disorder Associated With Life-Threatening Aortic Disease in a 6-Year-Old Boy // *Journal of Investigative Medicine High Impact Case Reports*. – 2020. – (8). – C. 2324709620909234. doi: 10.1177/2324709620909234.
178. Han Y., Tanios F., Reeps C., et al. Histone acetylation and histone acetyltransferases show significant alterations in human abdominal aortic aneurysm // *Clinical Epigenetics*. – 2016. – (8). – C. 3. doi: 10.1186/s13148-016-0169-6.
179. Hannuksela M., Stattin E.-L., Johansson B., et al. Screening for Familial Thoracic Aortic Aneurysms with Aortic Imaging Does Not Detect All Potential Carriers of the Disease // *Aorta (Stamford, Conn.)*. – 2015. – № 1 (3). – C. 1–8. doi: 10.12945/j.aorta.2015.14-052.
180. Hans C. P., Koenig S. N., Huang N., et al. Inhibition of Notch1 signaling reduces abdominal aortic aneurysm in mice by attenuating macrophage-mediated inflammation // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2012. – № 12 (32). – C. 3012–3023. doi: 10.1161/ATVBAHA.112.254219.
181. Hashiyama N., Goda M., Uchida K., et al. Stanford type B aortic dissection is more frequently associated with coronary artery atherosclerosis than type A // *Journal of Cardiothoracic Surgery*. – 2018. – (13). – C. 80. doi: 10.1186/s13019-018-0765-y.
182. He R., Guo D.-C., Sun W., et al. Characterization of the inflammatory cells in ascending thoracic aortic aneurysms in patients with Marfan syndrome, familial thoracic aortic

aneurysms, and sporadic aneurysms // *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. – 2008. – № 4 (136). – C. 922–929, 929.e1. doi: 10.1016/j.jtcvs.2007.12.063.

183. Henriques T., Zhang X., Yiannikouris F. B., et al. Androgen increases AT1a receptor expression in abdominal aortas to promote angiotensin II-induced AAAs in apolipoprotein E-deficient mice // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2008. – № 7 (28). – C. 1251–1256. doi: 10.1161/ATVBAHA.107.160382.

184. Hermann D. M., Lehmann N., Gronewold J., et al. Thoracic aortic calcification is associated with incident stroke in the general population in addition to established risk factors // *European Heart Journal. Cardiovascular Imaging*. – 2015. – № 6 (16). – C. 684–690. doi: 10.1093/ehjci/jeu293.

185. Hibino M., Sakai Y., Kato W., et al. Ascending Aortic Aneurysm in a Child With Fibulin-4 Deficiency // *The Annals of Thoracic Surgery*. – 2018. – № 2 (105). – C. e59–e61. doi: 10.1016/j.athoracsur.2017.08.041.

186. Hiratzka L. F., Bakris G. L., Beckman J. A., et al. 2010 ACCF/AHA/AATS/ACR/ASA/SCA/SCAI/SIR/STS/SVM guidelines for the diagnosis and management of patients with Thoracic Aortic Disease: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines, American Association for Thoracic Surgery, American College of Radiology, American Stroke Association, Society of Cardiovascular Anesthesiologists, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society of Interventional Radiology, Society of Thoracic Surgeons, and Society for Vascular Medicine // *Circulation*. – 2010. – № 13 (121). – C. e266–369. doi: 10.1161/CIR.0b013e3181d4739e.

187. Hirono K., Hata Y., Miyao N., et al. Increased Burden of Ion Channel Gene Variants Is Related to Distinct Phenotypes in Pediatric Patients With Left Ventricular Noncompaction // *Circulation. Genomic and Precision Medicine*. – 2020. – № 4 (13). – C. e002940. doi: 10.1161/CIRCGEN.119.002940.

188. Hodonsky C. J., Turner A. W., Khan M. D., et al. Integrative multi-ancestry genetic analysis of gene regulation in coronary arteries prioritizes disease risk loci // *medRxiv: The Preprint Server for Health Sciences*. – 2023. – C. 2023.02.09.23285622. doi: 10.1101/2023.02.09.23285622.

189. Hof F. N. G. van 't, Ruigrok Y. M., Lee C. H., et al. Shared Genetic Risk Factors of Intracranial, Abdominal, and Thoracic Aneurysms // *Journal of the American Heart Association*. – 2016. – № 7 (5). – C. e002603. doi: 10.1161/JAHA.115.002603.

190. Hollister D. W., Godfrey M., Sakai L. Y., et al. Immunohistologic abnormalities of the microfibrillar-fiber system in the Marfan syndrome // *The New England Journal of Medicine*. – 1990. – № 3 (323). – C. 152–159. doi: 10.1056/NEJM199007193230303.

191. Hong O.K., Yoo S.J., Son J.W., et al. High glucose and palmitate increases bone morphogenic protein 4 expression in human endothelial cells // *The Korean journal of physiology & pharmacology*. – 2016. – 20(2). – 169-175. doi:10.4196/kjpp.2016.20.2.169.
192. Howard D. P. J., Banerjee A., Fairhead J. F., et al. Population-Based Study of Incidence and Outcome of Acute Aortic Dissection and Premorbid Risk Factor Control // *Circulation*. – 2013. – № 20 (127). – C. 2031–2037. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.000483.
193. Humphrey J. D. Possible mechanical roles of glycosaminoglycans in thoracic aortic dissection and associations with dysregulated transforming growth factor- β // *Journal of Vascular Research*. – 2013. – № 1 (50). – C. 1–10. doi: 10.1159/000342436.
194. Hung A., Zafar M., Mukherjee S., et al. Carotid intima-media thickness provides evidence that ascending aortic aneurysm protects against systemic atherosclerosis // *Cardiology*. – 2012. – № 2 (123). – C. 71–77. doi: 10.1159/000341234.
195. Huhta A., Paavonen T., Mennander A., et al. Interplay of atherosclerosis and medial degeneration in human ascending aorta // *Cardiovascular Pathology*. – 2025. – (74). – C. 107702. doi: 10.1016/j.carpath.2024.107702.
196. Huusko T., Salonurmi T., Taskinen P., et al. Elevated messenger RNA expression and plasma protein levels of osteopontin and matrix metalloproteinase types 2 and 9 in patients with ascending aortic aneurysms // *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. – 2013. – № 4 (145). – C. 1117–1123. doi: 10.1016/j.jtcvs.2012.04.008.
197. Inoue Y., Matsuda H., Uchida K., et al. Analysis of Acute Type A Aortic Dissection in Japan Registry of Aortic Dissection (JRAD) // *The Annals of Thoracic Surgery*. – 2020. – № 3 (110). – C. 790–798. doi: 10.1016/j.athoracsur.2019.12.051.
198. Irtyuga O., Kopanitsa G., Kostareva A., et al. Application of Machine Learning Methods to Analyze Occurrence and Clinical Features of Ascending Aortic Dilatation in Patients with and without Bicuspid Aortic Valve // *Journal of Personalized Medicine*. – 2022. – № 5 (12). – C. 794. doi: 10.3390/jpm12050794.
199. Ishii T., Asuwa N. Collagen and elastin degradation by matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of matrix metalloproteinase in aortic dissection // *Human Pathology*. – 2000. – № 6 (31). – C. 640–646. doi: 10.1053/hupa.2000.7642.
200. Isselbacher E. M. Thoracic and abdominal aortic aneurysms // *Circulation*. – 2005. – № 6 (111). – C. 816–828. doi: 10.1161/01.CIR.0000154569.08857.7A.
201. Isselbacher E. M., Preventza O., Hamilton Black J., et al. 2022 ACC/AHA Guideline for the Diagnosis and Management of Aortic Disease: A Report of the American Heart Association/American College of Cardiology Joint Committee on Clinical Practice Guidelines // *Circulation*. – 2022. – № 24 (146). – C. e334–e482. doi: 10.1161/CIR.0000000000001106.

202. Jabagi H., Levine D., Gharibeh L., et al. Implications of Bicuspid Aortic Valve Disease and Aortic Stenosis/Insufficiency as Risk Factors for Thoracic Aortic Aneurysm // *Reviews in Cardiovascular Medicine*. – 2023. – № 6 (24). – C. 178. doi: 10.31083/j.rcm2406178.
203. Jackson V., Eriksson M. J., Caidahl K., et al. Ascending aortic dilatation is rarely associated with coronary artery disease regardless of aortic valve morphology // *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. – 2014. – № 6 (148). – C. 2973-2980.e1. doi: 10.1016/j.jtcvs.2014.08.023.
204. Jackson V., Olsson T., Kurtovic S., et al. Matrix metalloproteinase 14 and 19 expression is associated with thoracic aortic aneurysms // *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. – 2012. – № 2 (144). – C. 459–466. doi: 10.1016/j.jtcvs.2011.08.043.
205. Jana S., Hu M., Shen M., et al. Extracellular matrix, regional heterogeneity of the aorta, and aortic aneurysm // *Experimental & Molecular Medicine*. – 2019. – № 12 (51). – C. 1–15. doi: 10.1038/s12276-019-0286-3.
206. Jiang H., Xia Q., Xin S., et al. Abnormal Epigenetic Modifications in Peripheral T Cells from Patients with Abdominal Aortic Aneurysm Are Correlated with Disease Development // *Journal of Vascular Research*. – 2015. – № 6 (52). – C. 404–413. doi: 10.1159/000445771.
207. Jiang X., Rowitch D. H., Soriano P., et al. Fate of the mammalian cardiac neural crest // *Development (Cambridge, England)*. – 2000. – № 8 (127). – C. 1607–1616. doi: 10.1242/dev.127.8.1607.
208. Jung I., Schmitt A., Diao Y., et al. A compendium of promoter-centered long-range chromatin interactions in the human genome // *Nature Genetics*. – 2019. – № 10 (51). – C. 1442–1449. doi: 10.1038/s41588-019-0494-8.
209. Juźwik-Kopacz E., Kozak A., Rzepecka-Woźniak E., et al. Postmortem diagnosis of arterial atherosclerosis in autopsy, postmortem computed tomography and histopathological examinations in medico-legal aspect // *Archiwum Medycyny Sadowej I Kryminologii*. – 2024. – № 1 (74). – C. 50–63. doi: 10.4467/16891716AMSIK.24.004.19649.
210. Kälisch H., Lehmann N., Möhlenkamp S., et al. Prevalence of thoracic aortic calcification and its relationship to cardiovascular risk factors and coronary calcification in an unselected population-based cohort: the Heinz Nixdorf Recall Study // *The International Journal of Cardiovascular Imaging*. – 2013. – № 1 (29). – C. 207–216. doi: 10.1007/s10554-012-0051-3.
211. Kapustin A. N., Chatrou M. L. L., Drozdov I., et al. Vascular smooth muscle cell calcification is mediated by regulated exosome secretion // *Circulation Research*. – 2015. – № 8 (116). – C. 1312–1323. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.305012.

212. Karunakaran D., Thrush A. B., Nguyen M.-A., et al. Macrophage Mitochondrial Energy Status Regulates Cholesterol Efflux and is Enhanced by Anti-miR33 in Atherosclerosis // *Circulation research*. – 2015. – № 3 (117). – C. 266–278. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.305624.
213. Kashtan C. E., Segal Y., Flinter F., et al. Aortic abnormalities in males with Alport syndrome // *Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. – 2010. – № 11 (25). – C. 3554–3560. doi: 10.1093/ndt/gfq271.
214. Kataoka Y., Puri R., Pisaniello A. D., et al. Aortic atheroma burden predicts acute cerebrovascular events after transcatheter aortic valve implantation: insights from volumetric multislice computed tomography analysis // *EuroIntervention: Journal of EuroPCR in Collaboration with the Working Group on Interventional Cardiology of the European Society of Cardiology*. – 2016. – № 6 (12). – C. 783–789. doi: 10.4244/EIJV12I6A127.
215. Kato K., Tokuda Y., Inagaki N., et al. Association of a matrix metalloproteinase 1 gene polymorphism with long-term outcome of thoracic aortic aneurysm // *International Journal of Molecular Medicine*. – 2012. – № 1 (29). – C. 125–132. doi: 10.3892/ijmm.2011.804.
216. Kato N., Loh M., Takeuchi F., et al. Trans-ancestry genome-wide association study identifies 12 genetic loci influencing blood pressure and implicates a role for DNA methylation // *Nature genetics*. – 2015. – № 11 (47). – C. 1282–1293. doi: 10.1038/ng.3405.
217. Katz R., Budoff M. J., O'Brien K. D., et al. The metabolic syndrome and diabetes mellitus as predictors of thoracic aortic calcification as detected by non-contrast computed tomography in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis // *Diabetic Medicine: A Journal of the British Diabetic Association*. – 2016. – № 7 (33). – C. 912–919. doi: 10.1111/dme.12958.
218. Kaw K., Chattopadhyay A., Guan P., et al. Smooth muscle α -actin missense variant promotes atherosclerosis through modulation of intracellular cholesterol in smooth muscle cells // *European Heart Journal*. – 2023. – № 29 (44). – C. 2713–2726. doi: 10.1093/eurheartj/ehad373
219. Kelwick R., Desanlis I., Wheeler G. N., et al. The ADAMTS (A Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondin motifs) family // *Genome Biology*. – 2015. – № 1 (16). – C. 113. doi: 10.1186/s13059-015-0676-3.
220. Kessler K., Borges L.F., Ho-Tin-Noé B., et al. Angiogenesis and remodelling in human thoracic aortic aneurysms // *Cardiovascular Research*. – 2014. – 104(1). – C. 147–159. doi:10.1093/cvr/cvu196
221. Kessler T., Wobst J., Wolf B., et al. Functional characterization of the GUCY1A3 coronary artery disease risk locus // *Circulation*. – 2017. – № 5 (136). – C. 476–489. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.024152.

222. Kielty C. M., Sherratt M. J., Marson A., et al. Fibrillin microfibrils // *Advances in Protein Chemistry*. – 2005. – (70). – C. 405–436. doi: 10.1016/S0065-3233(05)70012-7.
223. Kim J. B., Spotnitz M., Lindsay M. E., et al. Risk of Aortic Dissection in the Moderately Dilated Ascending Aorta // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2016. – № 11 (68). – C. 1209–1219. doi: 10.1016/j.jacc.2016.06.025.
224. Kirk E. P., Sunde M., Costa M. W., et al. Mutations in cardiac T-box factor gene TBX20 are associated with diverse cardiac pathologies, including defects of septation and valvulogenesis and cardiomyopathy // *American Journal of Human Genetics*. – 2007. – № 2 (81). – C. 280–291. doi: 10.1086/519530.
225. Klarin D., Devineni P., Sendamarai A. K., et al. Genome-wide association study of thoracic aortic aneurysm and dissection in the Million Veteran Program // *Nature Genetics*. – 2023. – № 7 (55). – C. 1106–1115. doi: 10.1038/s41588-023-01420-z.
226. Kodolitsch Y. von, De Backer J., Schüler H., et al. Perspectives on the revised Ghent criteria for the diagnosis of Marfan syndrome // *The Application of Clinical Genetics*. – 2015. – (8). – C. 137–155. doi: 10.2147/TACG.S60472.
227. Koenig S. N., Cavus O., Williams J., et al. New mechanistic insights to PLOD1-mediated human vascular disease // *Translational Research: The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. – 2022. – (239). – C. 1–17. doi: 10.1016/j.trsl.2021.08.002.
228. Koenig S. N., LaHaye S., Feller J. D., et al. Notch1 haploinsufficiency causes ascending aortic aneurysms in mice // *JCI insight*. – 2017. – № 21 (2). – C. e91353, 91353. doi: 10.1172/jci.insight.91353.
229. Kontopodis N., Pantidis D., Dedes A., et al. The – Not So – Solid 5.5 cm Threshold for Abdominal Aortic Aneurysm Repair: Facts, Misinterpretations, and Future Directions // *Frontiers in Surgery*. – 2016. – (3). –
230. 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 // *Atherosclerosis Supplements*. – 2018. – (35). – C. e6–e13. doi: 10.1016/j.atherosclerosissup.2018.08.002.
231. Kostina A. S., Uspensky V. E., Irtyuga O. B., et al. Notch-dependent EMT is attenuated in patients with aortic aneurysm and bicuspid aortic valve // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. – 2016. – № 4 (1862). – C. 733–740. doi: 10.1016/j.bbadis.2016.02.006.
232. Koullias G. J., Ravichandran P., Korkolis D. P., et al. Increased tissue microarray matrix metalloproteinase expression favors proteolysis in thoracic aortic aneurysms and dissections // *The Annals of Thoracic Surgery*. – 2004. – № 6 (78). – C. 2106–2110; discussion 2110-2111. doi: 10.1016/j.athoracsur.2004.05.088.

233. Koyama S., Ito K., Terao C., et al. Population-specific and trans-ancestry genome-wide analyses identify distinct and shared genetic risk loci for coronary artery disease // *Nature Genetics*. – 2020. – № 11 (52). – C. 1169–1177. doi: 10.1038/s41588-020-0705-3.
234. Kreibich E., Kleinendorst R., Barzaghi G., et al. Single-molecule footprinting identifies context-dependent regulation of enhancers by DNA methylation // *Molecular Cell*. – 2023. – 83(5). – 787-802. doi:10.1016/j.molcel.2023.01.017
235. Krishna S. M., Dear A. E., Norman P. E., et al. Genetic and epigenetic mechanisms and their possible role in abdominal aortic aneurysm // *Atherosclerosis*. – 2010. – № 1 (212). – C. 16–29. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2010.02.008.
236. Krolevets M., Cate V. T., Prochaska J. H., et al. DNA methylation and cardiovascular disease in humans: a systematic review and database of known CpG methylation sites // *Clinical Epigenetics*. – 2023. – № 1 (15). – C. 56. doi: 10.1186/s13148-023-01468-y.
237. Kuang S.-Q., Medina-Martinez O., Guo D., et al. FOXE3 mutations predispose to thoracic aortic aneurysms and dissections // *The Journal of Clinical Investigation*. – 2016. – № 3 (126). – C. 948–961. doi: 10.1172/JCI83778.
238. Kucher A. N., Nazarenko M. S., Markov A. V., et al. Variability of methylation profiles of CpG sites in microRNA genes in leukocytes and vascular tissues of patients with atherosclerosis // *Biochemistry (Moscow)*. – 2017. – № 6 (82). – C. 698–706. doi: 10.1134/S0006297917060062.
239. Kuhlencordt P. J., Gyurko R., Han F., et al. Accelerated atherosclerosis, aortic aneurysm formation, and ischemic heart disease in apolipoprotein E/endothelial nitric oxide synthase double-knockout mice // *Circulation*. – 2001. – № 4 (104). – C. 448–454. doi: 10.1161/hc2901.091399.
240. Kuzmik G. A., Sang A. X., Elefteriades J. A. Natural history of thoracic aortic aneurysms // *Journal of Vascular Surgery*. – 2012. – № 2 (56). – C. 565–571. doi: 10.1016/j.jvs.2012.04.053.
241. Kwartler C. S., Gong L., Chen J., et al. Variants of Unknown Significance in Genes Associated with Heritable Thoracic Aortic Disease Can Be Low Penetrant «Risk Variants» // *American Journal of Human Genetics*. – 2018. – № 1 (103). – C. 138–143. doi: 10.1016/j.ajhg.2018.05.012.
242. Laar I. M. B. H. van de, Oldenburg R. A., Pals G., et al. Mutations in SMAD3 cause a syndromic form of aortic aneurysms and dissections with early-onset osteoarthritis // *Nature Genetics*. – 2011. – № 2 (43). – C. 121–126. doi: 10.1038/ng.744.
243. Lacey M., Baribault C., Ehrlich K. C., et al. Atherosclerosis-associated differentially methylated regions can reflect the disease phenotype and are often at enhancers // *Atherosclerosis*. – 2019. – (280). – C. 183–191. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2018.11.031.

244. Landenhed M., Engström G., Gottsäter A., et al. Risk Profiles for Aortic Dissection and Ruptured or Surgically Treated Aneurysms: A Prospective Cohort Study // *Journal of the American Heart Association*. – 2015. – № 1 (4). – C. e001513. doi: 10.1161/JAHA.114.001513.
245. Lanzer P., Hannan F. M., Lanzer J. D., et al. Medial Arterial Calcification: JACC State-of-the-Art Review // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2021. – № 11 (78). – C. 1145–1165. doi: 10.1016/j.jacc.2021.06.049.
246. Larson E. W., Edwards W. D. Risk factors for aortic dissection: a necropsy study of 161 cases // *The American Journal of Cardiology*. – 1984. – № 6 (53). – C. 849–855. doi: 10.1016/0002-9149(84)90418-1.
247. Lee V. S., Halabi C. M., Hoffman E. P., et al. Loss of function mutation in LOX causes thoracic aortic aneurysm and dissection in humans // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2016. – № 31 (113). – C. 8759–8764. doi: 10.1073/pnas.1601442113.
248. LeMaire S. A., McDonald M.-L. N., Guo D.-C., et al. Genome-wide association study identifies a susceptibility locus for thoracic aortic aneurysms and aortic dissections spanning FBN1 at 15q21.1 // *Nature Genetics*. – 2011. – № 10 (43). – C. 996–1000. doi: 10.1038/ng.934.
249. Leone O., Corsini A., Pacini D., et al. The complex interplay among atherosclerosis, inflammation, and degeneration in ascending thoracic aortic aneurysms // *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. – 2020. – № 6 (160). – C. 1434-1443.e6. doi: 10.1016/j.jtcvs.2019.08.108.
250. Leroux-Berger M., Queguiner I., Maciel T. T., et al. Pathologic calcification of adult vascular smooth muscle cells differs on their crest or mesodermal embryonic origin // *Journal of Bone and Mineral Research: The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. – 2011. – № 7 (26). – C. 1543–1553. doi: 10.1002/jbmr.382.
251. Li J.-S., Li H.-Y., Wang L., et al. Comparison of β -aminopropionitrile-induced aortic dissection model in rats by different administration and dosage // *Vascular*. – 2013. – № 5 (21). – C. 287–292. doi: 10.1177/1708538113478741.
252. Li J., Yang L., Diao Y., et al. Genetic testing and clinical relevance of patients with thoracic aortic aneurysm and dissection in northwestern China // *Molecular genetics & genomic medicine*. – 2021. – 9(10). – e1800. doi: 10.1002/mgg3.1800
253. Li R.F., Wu T.Y., Mou Y.Z., et al. Nr2f1b control venous specification and angiogenic patterning during zebrafish vascular development // *Journal of Biomedical Science*. – 2015. – V. 22. – №104. <https://doi.org/10.1186/s12929-015-0209-0>
254. Li T., Jiang B., Li X., et al. Serum matrix metalloproteinase-9 is a valuable biomarker for identification of abdominal and thoracic aortic aneurysm: a case-control study // *BMC Cardiovascular Disorders*. – 2018. – (18). – C. 202. doi: 10.1186/s12872-018-0931-0.

255. Li Y., Wei X., Zhao Z., et al. Prevalence and Complications of Bicuspid Aortic Valve in Chinese According to Echocardiographic Database // *The American Journal of Cardiology*. – 2017. – № 2 (120). – C. 287–291. doi: 10.1016/j.amjcard.2017.04.025.
256. Li Y., Gao S., Han Y., et al. Variants of Focal Adhesion Scaffold Genes Cause Thoracic Aortic Aneurysm // *Circulation Research*. – 2021. – № 1 (128). – C. 8–23. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.120.317361.
257. Li Y., Kong Y., Duan W., et al. Evaluating the monogenic contribution and genotype-phenotype correlation in patients with isolated thoracic aortic aneurysm // *European journal of human genetics*. – 2021. – 29(7). – C.1129-1138. doi: 10.1038/s41431-021-00857-2.
258. Li Y., Ren P., Dawson A., et al. Single-Cell Transcriptome Analysis Reveals Dynamic Cell Populations and Differential Gene Expression Patterns in Control and Aneurysmal Human Aortic Tissue // *Circulation*. – 2020. – № 14 (142). – C. 1374–1388. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.046528.
259. Licholai S., Blaž M., Kapelak B., et al. Unbiased Profile of MicroRNA Expression in Ascending Aortic Aneurysm Tissue Appoints Molecular Pathways Contributing to the Pathology // *The Annals of Thoracic Surgery*. – 2016. – № 4 (102). – C. 1245–1252. doi: 10.1016/j.athoracsur.2016.03.061.
260. Lim Y.-H., Ryu J., Kook H., et al. Identification of Long Noncoding RNAs Involved in Differentiation and Survival of Vascular Smooth Muscle Cells // *Molecular Therapy. Nucleic Acids*. – 2020. – (22). – C. 209–221. doi: 10.1016/j.omtn.2020.08.032.
261. Lino Cardenas C. L., Kessinger C. W., Cheng Y., et al. An HDAC9-MALAT1-BRG1 complex mediates smooth muscle dysfunction in thoracic aortic aneurysm // *Nature Communications*. – 2018. – № 1 (9). – C. 1009. doi: 10.1038/s41467-018-03394-7.
262. Lino Cardenas C. L., Kessinger C. W., MacDonald C., et al. Inhibition of the methyltransferase EZH2 improves aortic performance in experimental thoracic aortic aneurysm // *JCI insight*. – 2018. – № 5 (3). – C. e97493, 97493. doi: 10.1172/jci.insight.97493.
263. Liu B., Pjanic M., Wang T., et al. Genetic Regulatory Mechanisms of Smooth Muscle Cells Map to Coronary Artery Disease Risk Loci // *American Journal of Human Genetics*. – 2018. – № 3 (103). – C. 377–388. doi: 10.1016/j.ajhg.2018.08.001.
264. Liu C., Zhang C., Jia L., et al. Interleukin-3 stimulates matrix metalloproteinase 12 production from macrophages promoting thoracic aortic aneurysm/dissection // *Clinical Science (London, England: 1979)*. – 2018. – № 6 (132). – C. 655–668. doi: 10.1042/CS20171529.
265. Liu P., Zhang J., Du D., et al. Altered DNA methylation pattern reveals epigenetic regulation of Hox genes in thoracic aortic dissection and serves as a biomarker in disease diagnosis // *Clinical Epigenetics*. – 2021. – № 1 (13). – C. 124. doi: 10.1186/s13148-021-01110-9.

266. Liu S., Li Y., Wei X., et al. Genetic analysis of DNA methylation in dyslipidemia: a case-control study // *PeerJ*. – 2022. – (10). – C. e14590. doi: 10.7717/peerj.14590.
267. Liu X., Chen W., Zhu G., et al. Single-cell RNA sequencing identifies an Il1rn+/Trem1+ macrophage subpopulation as a cellular target for mitigating the progression of thoracic aortic aneurysm and dissection // *Cell Discovery*. – 2022. – № 1 (8). – C. 11. doi: 10.1038/s41421-021-00362-2.
268. Loeys B. L., Dietz H. C. *Loeys-Dietz Syndrome*. Seattle (WA): University of Washington, Seattle, 1993.
269. Loeys B. L., Dietz H. C., Braverman A. C., et al. The revised Ghent nosology for the Marfan syndrome // *Journal of Medical Genetics*. – 2010. – № 7 (47). – C. 476–485. doi: 10.1136/jmg.2009.072785.
270. Loeys B. L., Schwarze U., Holm T., et al. Aneurysm syndromes caused by mutations in the TGF-beta receptor // *The New England Journal of Medicine*. – 2006. – № 8 (355). – C. 788–798. doi: 10.1056/NEJMoa055695.
271. Lorenz M. W., Markus H. S., Bots M. L., et al. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis // *Circulation*. – 2007. – № 4 (115). – C. 459–467. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.628875.
272. Lorenzini M., Guha N., Davison J. E., et al. Isolated aortic root dilation in homocystinuria // *Journal of Inherited Metabolic Disease*. – 2018. – № 1 (41). – C. 109–115. doi: 10.1007/s10545-017-0094-7.
273. Lu H., Du W., Ren L., et al. Vascular Smooth Muscle Cells in Aortic Aneurysm: From Genetics to Mechanisms // *Journal of the American Heart Association: Cardiovascular and Cerebrovascular Disease*. – 2021. – № 24 (10). – C. e023601. doi: 10.1161/JAHA.121.023601.
274. Lu H., Fagnant P. M., Bookwalter C. S., et al. Vascular disease-causing mutation R258C in ACTA2 disrupts actin dynamics and interaction with myosin // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2015. – № 31 (112). – C. E4168–E4177. doi: 10.1073/pnas.1507587112.
275. Lui M. M., Shadrina M., Gelb B. D., et al. Features of Vascular Ehlers-Danlos Syndrome Among Biobank Participants Harboring Predicted High-Risk COL3A1 Genotypes // *Circulation. Genomic and Precision Medicine*. – 2023. – № 2 (16). – C. e003864. doi: 10.1161/CIRCGEN.122.003864.
276. Luyckx I., MacCarrick G., Kempers M., et al. Confirmation of the role of pathogenic SMAD6 variants in bicuspid aortic valve-related aortopathy // *European journal of human genetics: EJHG*. – 2019. – № 7 (27). – C. 1044–1053. doi: 10.1038/s41431-019-0363-z.

277. Ma W. F., Hodonsky C. J., Turner A. W., et al. Enhanced single-cell RNA-seq workflow reveals coronary artery disease cellular cross-talk and candidate drug targets // *Atherosclerosis*. – 2022. – (340). – C. 12–22. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2021.11.025.
278. MacCarrick G., Black J. H., Bowdin S., et al. Loeys-Dietz syndrome: a primer for diagnosis and management // *Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics*. – 2014. – № 8 (16). – C. 576–587. doi: 10.1038/gim.2014.11.
279. MacFarlane E. G., Haupt J., Dietz H. C., et al. TGF- β Family Signaling in Connective Tissue and Skeletal Diseases // *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. – 2017. – № 11 (9). – C. a022269. doi: 10.1101/cshperspect.a022269.
280. Mahlmann A., Elzanaty N., Saleh M., et al. Prevalence of Genetic Variants and Deep Phenotyping in Patients with Thoracic Aortic Aneurysm and Dissection: A Cross-Sectional Single-Centre Cohort Study // *Journal of clinical medicine*. – 2024. – 13(2). – C.461. doi:10.3390/jcm13020461
281. Malashicheva A., Kostina A., Kostareva A., et al. Notch signaling in the pathogenesis of thoracic aortic aneurysms: A bridge between embryonic and adult states // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. – 2020. – № 3 (1866). – C. 165631. doi: 10.1016/j.bbadis.2019.165631.
282. Malashicheva A., Kostina D., Kostina A., et al. Phenotypic and Functional Changes of Endothelial and Smooth Muscle Cells in Thoracic Aortic Aneurysms // *International Journal of Vascular Medicine*. – 2016. – (2016). – C. 3107879. doi: 10.1155/2016/3107879.
283. Maleki S., Kjellqvist S., Paloschi V., et al. Mesenchymal state of intimal cells may explain higher propensity to ascending aortic aneurysm in bicuspid aortic valves // *Scientific Reports*. – 2016. – № 1 (6). – C. 35712. doi: 10.1038/srep35712.
284. Maleki S., Poujade F.-A., Bergman O., et al. Endothelial/Epithelial Mesenchymal Transition in Ascending Aortas of Patients With Bicuspid Aortic Valve // *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. – 2019. – (6). – C. 182. doi: 10.3389/fcvm.2019.00182.
285. Malloy L. E., Wen K.-K., Pierick A. R., et al. Thoracic Aortic Aneurysm (TAAD)-causing Mutation in Actin Affects Formin Regulation of Polymerization // *The Journal of Biological Chemistry*. – 2012. – № 34 (287). – C. 28398–28408. doi: 10.1074/jbc.M112.371914.
286. Mangum K. D., Farber M. A. Genetic and epigenetic regulation of abdominal aortic aneurysms // *Clinical Genetics*. – 2020. – № 6 (97). – C. 815–826. doi: 10.1111/cge.13705.
287. Mantella L., Singh K., Sandhu P., et al. LincRNA-P21 is regulated by cyclic mechanical stretch and upregulated in aortic aneurysms // *Canadian Journal of Cardiology*. – 2017. – № 10 (33). – C. S208. doi: 10.1016/j.cjca.2017.07.409.

288. Mao N., Gu T., Shi E., et al. Phenotypic switching of vascular smooth muscle cells in animal model of rat thoracic aortic aneurysm // *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery*. – 2015. – № 1 (21). – C. 62–70. doi: 10.1093/icvts/ivv074.
289. Maredia A., Guzzardi D., Aleinati M., et al. Aorta-specific DNA methylation patterns in cell-free DNA from patients with bicuspid aortic valve-associated aortopathy // *Clinical Epigenetics*. – 2021. – № 1 (13). – C. 147. doi: 10.1186/s13148-021-01137-y.
290. Mariscalco G., Debiec R., Elefteriades J. A., et al. Systematic Review of Studies That Have Evaluated Screening Tests in Relatives of Patients Affected by Nonsyndromic Thoracic Aortic Disease // *Journal of the American Heart Association*. – 2018. – № 15 (7). – C. e009302. doi: 10.1161/JAHA.118.009302.
291. Martín M., Pichel I. A., Flórez Muñoz J. P., et al. Low transcriptional activity haplotype of matrix metalloproteinase 1 is less frequent in bicuspid aortic valve patients // *Gene*. – 2013. – № 2 (524). – C. 304–308. doi: 10.1016/j.gene.2013.03.127.
292. Martín-Alonso M., García-Redondo A. B., Guo D., et al. Deficiency of MMP17/MT4-MMP proteolytic activity predisposes to aortic aneurysm in mice // *Circulation Research*. – 2015. – № 2 (117). – C. e13-26. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.305108.
293. Maslen C. L., Corson G. M., Maddox B. K., et al. Partial sequence of a candidate gene for the Marfan syndrome // *Nature*. – 1991. – № 6333 (352). – C. 334–337. doi: 10.1038/352334a0.
294. Massett M., Bywaters B., Gibbs H., et al. Loss of smooth muscle α -actin effects on mechanosensing and cell–matrix adhesions // *Experimental Biology and Medicine*. – 2020. – № 4 (245). – C. 374–384. doi: 10.1177/1535370220903012.
295. McClure R. S., Brogly S. B., Lajkosz K., et al. Epidemiology and management of thoracic aortic dissections and thoracic aortic aneurysms in Ontario, Canada: A population-based study // *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. – 2018. – № 6 (155). – C. 2254-2264.e4. doi: 10.1016/j.jtcvs.2017.11.105.
296. McPherson R., Tybjaerg-Hansen A. Genetics of Coronary Artery Disease // *Circulation Research*. – 2016. – № 4 (118). – C. 564–578. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306566.
297. Mecham R. P., Broekelmann T. J., Fliszar C. J., et al. Elastin Degradation by Matrix Metalloproteinases: CLEAVAGE SITE SPECIFICITY AND MECHANISMS OF ELASTOLYSIS * // *Journal of Biological Chemistry*. – 1997. – № 29 (272). – C. 18071–18076. doi: 10.1074/jbc.272.29.18071.
298. Meester J. A. N., Hebert A., Loeys B. L. Structural genomic variants in thoracic aortic disease // *Current Opinion in Cardiology*. – 2023. – № 3 (38). – C. 157–161. doi: 10.1097/HCO.0000000000001030.

299. Meester J. A. N., Verstraeten A., Schepers D., et al. Differences in manifestations of Marfan syndrome, Ehlers-Danlos syndrome, and Loeys-Dietz syndrome // *Annals of Cardiothoracic Surgery*. – 2017. – № 6 (6). – C. 582. doi: 10.21037/acs.2017.11.03.
300. Meester J. A. N., Verstraeten A., Alaerts M., et al. Overlapping but distinct roles for NOTCH receptors in human cardiovascular disease // *Clinical genetics*. – 2019. – 95(1). – 85-94. doi:10.1111/cge.13382
301. Meissner A., Mikkelsen T.S., Gu H., et al. Genome-scale DNA methylation maps of pluripotent and differentiated cells // *Nature*. – 2008. – 454. – 766–70. doi: 10.1038/nature07107.
302. Mennander A., Kholova I., Pelttari S., et al. Ascending aortic wall degeneration in patients with bicuspid versus tricuspid aortic valve // *Journal of Cardiothoracic Surgery*. – 2022. – № 1 (17). – C. 109. doi: 10.1186/s13019-022-01864-0.
303. Michel J.-B., Jondeau G., Milewicz D.M. From genetics to response to injury: vascular smooth muscle cells in aneurysms and dissections of the ascending aorta // *Cardiovascular Research*. – 2018. – Vol. 114, № 4. – C. 578–589. doi: 10.1093/cvr/cvy006
304. Michelena H. I., Khanna A. D., Mahoney D., et al. Incidence of aortic complications in patients with bicuspid aortic valves // *JAMA*. – 2011. – № 10 (306). – C. 1104–1112. doi: 10.1001/jama.2011.1286.
305. Michelena H. I., Prakash S. K., Della Corte A., et al. Bicuspid aortic valve: identifying knowledge gaps and rising to the challenge from the International Bicuspid Aortic Valve Consortium (BAVCon) // *Circulation*. – 2014. – № 25 (129). – C. 2691–2704. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.007851.
306. Michelena H. I., Vallabhajosyula S., Prakash S. K. Nosology Spectrum of the Bicuspid Aortic Valve Condition: Complex-Presentation Valvulo-Aortopathy // *Circulation*. – 2020. – № 3 (142). – C. 294–299. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.046892.
307. Milewicz D. M., Guo D., Hostetler E., et al. Update on the genetic risk for thoracic aortic aneurysms and acute aortic dissections: implications for clinical care // *The Journal of Cardiovascular Surgery*. – 2021. – № 3 (62). – C. 203–210. doi: 10.23736/S0021-9509.21.11816-6.
308. Milewicz D. M., Trybus K. M., Guo D., et al. Altered Smooth Muscle Cell Force Generation as a Driver of Thoracic Aortic Aneurysms and Dissections // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2017. – № 1 (37). – C. 26–34. doi: 10.1161/ATVBAHA.116.303229.
309. Mishra S., Raval M., Kachhawaha A. S., et al. Aging: Epigenetic modifications // *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. – 2023. – (197). – C. 171–209. doi: 10.1016/bs.pmbts.2023.02.002.

310. Mori M., Gan G., Deng Y., et al. Development and Validation of a Predictive Model to Identify Patients With an Ascending Thoracic Aortic Aneurysm // *Journal of the American Heart Association*. – 2021. – № 22 (10). – C. e022102. doi: 10.1161/JAHA.121.022102.
311. Morris S. A., Orbach D. B., Geva T., et al. Increased vertebral artery tortuosity index is associated with adverse outcomes in children and young adults with connective tissue disorders // *Circulation*. – 2011. – № 4 (124). – C. 388–396. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.990549.
312. Mussa F. F., Horton J. D., Moridzadeh R., et al. Acute Aortic Dissection and Intramural Hematoma: A Systematic Review // *JAMA*. – 2016. – № 7 (316). – C. 754–763. doi: 10.1001/jama.2016.10026.
313. Mustapha J. A., Diaz-Sandoval L. J., Saab F. Infrapopliteal calcification patterns in critical limb ischemia: diagnostic, pathologic and therapeutic implications in the search for the endovascular holy grail // *The Journal of Cardiovascular Surgery*. – 2017. – № 3 (58). – C. 383–401. doi: 10.23736/S0021-9509.17.09878-0.
314. Myocardial Infarction Genetics and CARDIoGRAM Exome Consortia Investigators, Stitzel N. O., Stirrups K. E., et al. Coding Variation in ANGPTL4, LPL, and SVEP1 and the Risk of Coronary Disease // *The New England Journal of Medicine*. – 2016. – № 12 (374). – C. 1134–1144. doi: 10.1056/NEJMoa1507652.
315. Nazarenko M. S., Markov A. V., Lebedev I. N., et al. A comparison of genome-wide DNA methylation patterns between different vascular tissues from patients with coronary heart disease // *PloS One*. – 2015. – № 4 (10). – C. e0122601. doi: 10.1371/journal.pone.0122601.
316. Negishi K., Aizawa K., Shindo T., et al. An Myh11 single lysine deletion causes aortic dissection by reducing aortic structural integrity and contractility // *Scientific Reports*. – 2022. – № 1 (12). – C. 8844. doi: 10.1038/s41598-022-12418-8.
317. Ngai D., Lino M., Rothenberg K. E., et al. DDR1 (Discoidin Domain Receptor-1)-RhoA (Ras Homolog Family Member A) Axis Senses Matrix Stiffness to Promote Vascular Calcification // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2020. – № 7 (40). – C. 1763–1776. doi: 10.1161/ATVBAHA.120.314697.
318. Nienaber C. A., Clough R. E. Management of acute aortic dissection // *Lancet (London, England)*. – 2015. – № 9970 (385). – C. 800–811. doi: 10.1016/S0140-6736(14)61005-9.
319. Niinimäki E., Pynnönen V., Kholova I., et al. Neovascularization with chronic inflammation characterizes ascending aortic dissection // *Anatolian journal of cardiology*. – 2018. – 20(5). – C. 289-295. doi:10.14744/AnatolJCardiol.2018.42223
320. Nurnberg S. T., Cheng K., Raiesdana A., et al. Coronary Artery Disease Associated Transcription Factor TCF21 Regulates Smooth Muscle Precursor Cells That Contribute to the Fibrous Cap // *PLoS Genetics*. – 2015. – № 5 (11). – C. e1005155. doi: 10.1371/journal.pgen.1005155.

321. Odofin X., Houbby N., Hagana A., et al. Thoracic aortic aneurysms in patients with heritable connective tissue disease // *Journal of Cardiac Surgery*. – 2021. – № 3 (36). – C. 1083–1090. doi: 10.1111/jocs.15340.
322. Okamoto R. J., Wagenseil J. E., DeLong W. R., et al. Mechanical properties of dilated human ascending aorta // *Annals of Biomedical Engineering*. – 2002. – № 5 (30). – C. 624–635. doi: 10.1114/1.1484220.
323. Oller J., Méndez-Barbero N., Ruiz E. J., et al. Nitric oxide mediates aortic disease in mice deficient in the metalloprotease Adamts1 and in a mouse model of Marfan syndrome // *Nature Medicine*. – 2017. – № 2 (23). – C. 200–212. doi: 10.1038/nm.4266.
324. Ostberg N. P., Zafar M. A., Ziganshin B. A., et al. The Genetics of Thoracic Aortic Aneurysms and Dissection: A Clinical Perspective // *Biomolecules*. – 2020. – № 2 (10). – C. 182. doi: 10.3390/biom10020182.
325. Pan S., Lai H., Shen Y., et al. DNA methylome analysis reveals distinct epigenetic patterns of ascending aortic dissection and bicuspid aortic valve // *Cardiovascular Research*. – 2017. – № 6 (113). – C. 692–704. doi: 10.1093/cvr/cvx050.
326. Pannu H., Tran-Fadulu V., Papke C. L., et al. MYH11 mutations result in a distinct vascular pathology driven by insulin-like growth factor 1 and angiotensin II // *Human Molecular Genetics*. – 2007. – № 20 (16). – C. 2453–2462. doi: 10.1093/hmg/ddm201.
327. Park G.-M., Yun S.-C., Cho Y.-R., et al. Prevalence of coronary atherosclerosis in an Asian population: findings from coronary computed tomographic angiography // *The International Journal of Cardiovascular Imaging*. – 2015. – № 3 (31). – C. 659–668. doi: 10.1007/s10554-015-0587-0.
328. Pape L. A., Tsai T. T., Isselbacher E. M., et al. Aortic diameter $\geq$ 5.5 cm is not a good predictor of type A aortic dissection: observations from the International Registry of Acute Aortic Dissection (IRAD) // *Circulation*. – 2007. – № 10 (116). – C. 1120–1127. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.702720.
329. Pape L. A., Awais M., Woznicki E. M., et al. Presentation, Diagnosis, and Outcomes of Acute Aortic Dissection: 17-Year Trends From the International Registry of Acute Aortic Dissection // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2015. – № 4 (66). – C. 350–358. doi: 10.1016/j.jacc.2015.05.029.
330. Papke C. L., Yamashiro Y., Yanagisawa H. MMP17/MT4-MMP and thoracic aortic aneurysms: OPNing new potential for effective treatment // *Circulation Research*. – 2015. – № 2 (117). – C. 109–112. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.306851.

331. Peczkowska M., Januszewicz A., Grzeszczak W., et al. The coexistence of acute aortic dissection with autosomal dominant polycystic kidney disease--description of two hypertensive patients // *Blood Pressure*. – 2004. – № 5 (13). – C. 283–286. doi: 10.1080/08037050410016492.
332. Peng X., Wang S., Chen H., et al. Role of the Notch1 signaling pathway in ischemic heart disease (Review) // *International journal of molecular medicine*. – 2023. – 51(3). – 27. doi:10.3892/ijmm.2023.5230
333. Perrotta I., Russo E., Camastra C., et al. New evidence for a critical role of elastin in calcification of native heart valves: immunohistochemical and ultrastructural study with literature review // *Histopathology*. – 2011. – № 3 (59). – C. 504–513. doi: 10.1111/j.1365-2559.2011.03977.x.
334. Petuchova A., Maknickas A. Computational analysis of aortic haemodynamics in the presence of ascending aortic aneurysm // *Technology and health care*. – 2022. – 30(1). – C. 187-200. doi:10.3233/THC-219002.
335. Piao C., Zhang W.-M., Deng J., et al. Activation of the alternative complement pathway modulates inflammation in thoracic aortic aneurysm/dissection // *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. – 2024. – № 2 (326). – C. C647–C658. doi: 10.1152/ajpcell.00210.2023.
336. Pinard A., Jones G. T., Milewicz D. M. Genetics of Thoracic and Abdominal Aortic Diseases // *Circulation Research*. – 2019. – № 4 (124). – C. 588–606. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.118.312436.
337. Pirruccello J. P., Chaffin M. D., Chou E. L., et al. Deep learning enables genetic analysis of the human thoracic aorta // *Nature Genetics*. – 2022. – № 1 (54). – C. 40–51. doi: 10.1038/s41588-021-00962-4.
338. Pluijm I. van der, Vliet N. van, Thusen J. H. von der, et al. Defective Connective Tissue Remodeling in Smad3 Mice Leads to Accelerated Aneurysmal Growth Through Disturbed Downstream TGF- β Signaling // *EBioMedicine*. – 2016. – (12). – C. 280–294. doi: 10.1016/j.ebiom.2016.09.006.
339. Pol V. van de, Kurakula K., DeRuiter M. C., et al. Thoracic Aortic Aneurysm Development in Patients with Bicuspid Aortic Valve: What Is the Role of Endothelial Cells? // *Frontiers in Physiology*. – 2017. – (8). – doi: 10.3389/fphys.2017.00938.
340. Portelli S. S., Robertson E. N., Malecki C., et al. Epigenetic influences on genetically triggered thoracic aortic aneurysm // *Biophysical Reviews*. – 2018. – № 5 (10). – C. 1241–1256. doi: 10.1007/s12551-018-0460-1.
341. Prakash S. K., LeMaire S. A., Guo D.-C., et al. Rare copy number variants disrupt genes regulating vascular smooth muscle cell adhesion and contractility in sporadic thoracic aortic aneurysms and dissections // *American Journal of Human Genetics*. – 2010. – № 6 (87). – C. 743–756. doi: 10.1016/j.ajhg.2010.09.015.

342. Prakash S., Kuang S.-Q., GenTAC Registry Investigators, et al. Recurrent Rare Genomic Copy Number Variants and Bicuspid Aortic Valve Are Enriched in Early Onset Thoracic Aortic Aneurysms and Dissections // *PloS One*. – 2016. – № 4 (11). – C. e0153543. doi: 10.1371/journal.pone.0153543.
343. Proudfoot D., Skepper J. N., Hegyi L., et al. Apoptosis regulates human vascular calcification in vitro: evidence for initiation of vascular calcification by apoptotic bodies // *Circulation Research*. – 2000. – № 11 (87). – C. 1055–1062. doi: 10.1161/01.res.87.11.1055.
344. Qiu H., Zhu Y., Sun Z., et al. Vascular Smooth Muscle Cell Stiffness as a Mechanism for Increased Aortic Stiffness with Aging // *Circulation research*. – 2010. – № 5 (107). – C. 615–619. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.110.221846.
345. Quintana R. A., Taylor W. R. Cellular Mechanisms of Aortic Aneurysm Formation // *Circulation research*. – 2019. – № 4 (124). – C. 607–618. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.118.313187.
346. Rabkin S. W. Differential expression of MMP-2, MMP-9 and TIMP proteins in thoracic aortic aneurysm – comparison with and without bicuspid aortic valve: a meta-analysis // *Vasa*. – 2014. – № 6 (43). – C. 433–442. doi: 10.1024/0301-1526/a000390.
347. Rabkin S. W. The Role Matrix Metalloproteinases in the Production of Aortic Aneurysm // *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. – 2017. – (147). – C. 239–265. doi: 10.1016/bs.pmbts.2017.02.002.
348. Rabkin S. W., Janusz M. T. Aortic wall stress in hypertension and ascending thoracic aortic aneurysms: implications for antihypertensive therapy // *High Blood Pressure & Cardiovascular Prevention: The Official Journal of the Italian Society of Hypertension*. – 2013. – № 4 (20). – C. 265–271. doi: 10.1007/s40292-013-0026-z.
349. Rajbanshi B.G., Charilaou P., Ziganshin B. A., et al. Management of Coronary Artery Disease in Patients With Descending Thoracic Aortic Aneurysms // *Journal of Cardiac Surgery*. – 2015. – № 9 (30). – C. 701–706. doi: 10.1111/jocs.12596.
350. Reddy P., Nair K. S., Kumar V., et al. Thoracic Aortic Aneurysmal Disease: Comprehensive Recommendations for the Primary Care Physician // *Mayo Clinic Proceedings*. – 2024. – № 1 (99). – C. 111–123. doi: 10.1016/j.mayocp.2023.07.004.
351. Rega S., Farina F., Bouhuis S., et al. Multi-omics in thoracic aortic aneurysm: the complex road to the simplification // *Cell & Bioscience*. – 2023. – № 1 (13). – C. 131. doi: 10.1186/s13578-023-01080-w.
352. Regalado E. S., Guo D.-C., Villamizar C., et al. Exome sequencing identifies SMAD3 mutations as a cause of familial thoracic aortic aneurysm and dissection with intracranial and other arterial aneurysms // *Circulation Research*. – 2011. – № 6 (109). – C. 680–686. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.111.248161.

353. Ren P., Hughes M., Krishnamoorthy S., et al. Critical Role of ADAMTS-4 in the Development of Sporadic Aortic Aneurysm and Dissection in Mice // *Scientific Reports*. – 2017. – № 1 (7). – C. 12351. doi: 10.1038/s41598-017-12248-z.
354. Ren P., Zhang L., Xu G., et al. ADAMTS-1 and ADAMTS-4 levels are elevated in thoracic aortic aneurysms and dissections // *The Annals of Thoracic Surgery*. – 2013. – № 2 (95). – C. 570–577. doi: 10.1016/j.athoracsur.2012.10.084.
355. Renard M., Callewaert B., Baetens M., et al. Novel MYH11 and ACTA2 mutations reveal a role for enhanced TGF β signaling in FTAAD // *International journal of cardiology*. – 2013. – № 2 (165). – C. 314–321. doi: 10.1016/j.ijcard.2011.08.079.
356. Renard M., Francis C., Ghosh R., et al. Clinical Validity of Genes for Heritable Thoracic Aortic Aneurysm and Dissection // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2018. – № 6 (72). – C. 605–615. doi: 10.1016/j.jacc.2018.04.089.
357. Renard M., Milewicz D. M., De Backer J. Reply: More Genes for Thoracic Aortic Aneurysms and Dissections // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2019. – № 4 (73). – C. 529–530. doi: 10.1016/j.jacc.2018.11.027.
358. Renaux A., Papadimitriou S., Versbraegen N., et al. ORVAL: a novel platform for the prediction and exploration of disease-causing oligogenic variant combinations // *Nucleic Acids Research*. – 2019. – № W1 (47). – C. W93–W98. doi: 10.1093/nar/gkz437.
359. Richards S., Aziz N., Bale S., et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology // *Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics*. – 2015. – № 5 (17). – C. 405–424. doi: 10.1038/gim.2015.30.
360. Robert L., Jacob M. P., Fülöp T. Elastin in blood vessels // *Ciba Foundation Symposium*. – 1995. – (192). – C. 286–299; discussion 299–303. doi: 10.1002/9780470514771.ch15.
361. Roberts C. S., Roberts W. C. Dissection of the aorta associated with congenital malformation of the aortic valve // *Journal of the American College of Cardiology*. – 1991. – № 3 (17). – C. 712–716. doi: 10.1016/s0735-1097(10)80188-3.
362. Roberts W. C., Barbin C. M., Weissenborn M. R., et al. Syphilis as a Cause of Thoracic Aortic Aneurysm // *The American Journal of Cardiology*. – 2015. – № 8 (116). – C. 1298–1303. doi: 10.1016/j.amjcard.2015.07.030.
363. Robertson E. N., Linde D. van der, Sherrah A. G., et al. Familial non-syndromal thoracic aortic aneurysms and dissections - Incidence and family screening outcomes // *International Journal of Cardiology*. – 2016. – (220). – C. 43–51. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.06.086.

364. Robertson I. B., Horiguchi M., Zilberberg L., et al. Latent TGF- β -binding proteins // *Matrix biology : journal of the International Society for Matrix Biology*. – 2015. – (47). – C. 44–53. doi: 10.1016/j.matbio.2015.05.005.
365. Rodrigues Bento J., Meester J., Luyckx I., et al. The Genetics and Typical Traits of Thoracic Aortic Aneurysm and Dissection // *Annual Review of Genomics and Human Genetics*. – 2022. – (23). – C. 223–253. doi: 10.1146/annurev-genom-111521-104455.
366. Roman M. J., Devereux R. B., Kramer-Fox R., et al. Comparison of cardiovascular and skeletal features of primary mitral valve prolapse and Marfan syndrome // *The American Journal of Cardiology*. – 1989. – № 5 (63). – C. 317–321. doi: 10.1016/0002-9149(89)90338-x.
367. Rombouts K. B., Merrienboer T. A. R. van, Ket J. C. F., et al. The role of vascular smooth muscle cells in the development of aortic aneurysms and dissections // *European Journal of Clinical Investigation*. – 2021. – C. e13697. doi: 10.1111/eci.13697.
368. Roychowdhury T., Lu H., Hornsby W. E., et al. Regulatory variants in TCF7L2 are associated with thoracic aortic aneurysm // *The American Journal of Human Genetics*. – 2021. – № 9 (108). – C. 1578–1589. doi: 10.1016/j.ajhg.2021.06.016.
369. Ruiz-Ortega M., Rodríguez-Vita J., Sanchez-Lopez E., et al. TGF-beta signaling in vascular fibrosis // *Cardiovascular Research*. – 2007. – № 2 (74). – C. 196–206. doi: 10.1016/j.cardiores.2007.02.008.
370. Sachdeva J., Mahajan A., Cheng J., et al. Smooth muscle cell-specific Notch1 haploinsufficiency restricts the progression of abdominal aortic aneurysm by modulating CTGF expression // *PloS One*. – 2017. – № 5 (12). – C. e0178538. doi: 10.1371/journal.pone.0178538.
371. Sakai L. Y., Keene D. R., Renard M., et al. FBN1: The disease-causing gene for Marfan syndrome and other genetic disorders // *Gene*. – 2016. – № 1 (591). – C. 279–291. doi: 10.1016/j.gene.2016.07.033.
372. Salameh M.J., Black J. H., Ratchford E. V. Thoracic aortic aneurysm // *Vascular Medicine (London, England)*. – 2018. – № 6 (23). – C. 573–578. doi: 10.1177/1358863X18807760.
373. Salmasi M. Y., Alwis S., Cyclewala S., et al. The genetic basis of thoracic aortic disease: The future of aneurysm classification? // *Hellenic journal of cardiology: HJC = Hellenike kardiologike epitheorese*. – 2023. – (69). – C. 41–50. doi: 10.1016/j.hjc.2022.09.009.
374. Salo A. M., Cox H., Farndon P., et al. A connective tissue disorder caused by mutations of the lysyl hydroxylase 3 gene // *American Journal of Human Genetics*. – 2008. – № 4 (83). – C. 495–503. doi: 10.1016/j.ajhg.2008.09.004.
375. Samaha H., Chalhoub N., Tabet M., et al. Calcification of the ascending aorta, left heart valves and coronaries: associated diseases and a new classification // *Future Cardiology*. – 2022. – № 9 (18). – C. 687–695. doi: 10.2217/fca-2022-0016.

376. Sawada H., Rateri D. L., Moorleggen J. J., et al. Smooth Muscle Cells Derived From Second Heart Field and Cardiac Neural Crest Reside in Spatially Distinct Domains in the Media of the Ascending Aorta-Brief Report // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2017. – № 9 (37). – C. 1722–1726. doi: 10.1161/ATVBAHA.117.309599.
377. Sazonova S. I., Saushkin V. V., Panfilov D. S., et al. Insights into ascending aortic aneurysm: Interactions between biomechanical properties of the aortic wall and tissue biomarkers // *Heliyon*. – 2024. – № 1 (10). – C. e23538. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e23538.
378. Schillinger M., Domanovits H., Ignatescu M., et al. Lipoprotein (a) in patients with aortic aneurysmal disease // *Journal of Vascular Surgery*. – 2002. – № 1 (36). – C. 25–30. doi: 10.1067/mva.2002.124371.
379. Schindelin J., Arganda-Carreras I., Frise E., et al. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis // *Nature Methods*. – 2012. – № 7 (9). – C. 676–682. doi: 10.1038/nmeth.2019.
380. Schubert J. A., Landis B. J., Shikany A. R., et al. Clinically relevant variants identified in thoracic aortic aneurysm patients by research exome sequencing // *American Journal of Medical Genetics. Part A*. – 2016. – № 5 (170A). – C. 1288–1294. doi: 10.1002/ajmg.a.37568.
381. Scietti L., Chiapparino A., De Giorgi F., et al. Molecular architecture of the multifunctional collagen lysyl hydroxylase and glycosyltransferase LH3 // *Nature Communications*. – 2018. – № 1 (9). – C. 3163. doi: 10.1038/s41467-018-05631-5.
382. Sellers S. L., Milad N., Chan R., et al. Inhibition of Marfan Syndrome Aortic Root Dilation by Losartan: Role of Angiotensin II Receptor Type 1-Independent Activation of Endothelial Function // *The American Journal of Pathology*. – 2018. – № 3 (188). – C. 574–585. doi: 10.1016/j.ajpath.2017.11.006.
383. Senser E. M., Misra S., Henkin S. Thoracic Aortic Aneurysm: A Clinical Review // *Cardiology Clinics*. – 2021. – № 4 (39). – C. 505–515. doi: 10.1016/j.ccl.2021.06.003.
384. Shah A. A., Gregory S. G., Krupp D., et al. Epigenetic profiling identifies novel genes for ascending aortic aneurysm formation with bicuspid aortic valves // *The Heart Surgery Forum*. – 2015. – № 4 (18). – C. E134-139. doi: 10.1532/hsf.1247.
385. Sheen V. L., Jansen A., Chen M. H., et al. Filamin A mutations cause periventricular heterotopia with Ehlers-Danlos syndrome // *Neurology*. – 2005. – № 2 (64). – C. 254–262. doi: 10.1212/01.WNL.0000149512.79621.DF.
386. Shen M., Tastet L., Capoulade R., et al. Effect of bicuspid aortic valve phenotype on progression of aortic stenosis // *European Heart Journal. Cardiovascular Imaging*. – 2020. – № 7 (21). – C. 727–734. doi: 10.1093/ehjci/jeaa068.

387. Shumakov D. V., Zybin D. I., Dontsov V. V. Surgical treatment of ascending aortic aneurysm in twenty-two years after previous aortic valve replacement // *Kardiologiya i serdechno-sosudistaya khirurgiya*. – 2020. – № 1 (13). – С. 76. doi: 10.17116/kardio20201301176.
388. Sigala F., Papalambros E., Kotsinas A., et al. Relationship between iNOS expression and aortic cell proliferation and apoptosis in an elastase-induced model of aorta aneurysm and the effect of 1400 W administration // *Surgery*. – 2005. – № 4 (137). – С. 447–456. doi: 10.1016/j.surg.2004.12.003.
389. Silberbach M., Roos-Hesselink J. W., Andersen N. H., et al. Cardiovascular Health in Turner Syndrome: A Scientific Statement From the American Heart Association // *Circulation. Genomic and Precision Medicine*. – 2018. – № 10 (11). – С. e000048. doi: 10.1161/HCG.0000000000000048.
390. Silva Rodrigues G. da, Noronha N. Y., Almeida M. L., et al. Exercise training modifies the whole blood DNA methylation profile in middle-aged and older women // *Journal of Applied Physiology* (Bethesda, Md.: 1985). – 2023. – № 3 (134). – С. 610–621. doi: 10.1152/jappphysiol.00237.2022.
391. Simionescu A., Simionescu D. T., Vyavahare N. R. Osteogenic Responses in Fibroblasts Activated by Elastin Degradation Products and Transforming Growth Factor- β 1 // *The American Journal of Pathology*. – 2007. – № 1 (171). – С. 116–123. doi: 10.2353/ajpath.2007.060930.
392. Simpson C. F., Kling J. M., Palmer R. F. The use of propranolol for the protection of turkeys from the development of beta-aminopropionitrile-induced aortic ruptures // *Angiology*. – 1968. – № 7 (19). – С. 414–418. doi: 10.1177/000331976801900705.
393. Singh K., Bønaa K. H., Jacobsen B. K., et al. Prevalence of and risk factors for abdominal aortic aneurysms in a population-based study: The Tromsø Study // *American Journal of Epidemiology*. – 2001. – № 3 (154). – С. 236–244. doi: 10.1093/aje/154.3.236.
394. Singh K. K., Rommel K., Mishra A., et al. TGFBR1 and TGFBR2 mutations in patients with features of Marfan syndrome and Loeys-Dietz syndrome // *Human Mutation*. – 2006. – № 8 (27). – С. 770–777. doi: 10.1002/humu.20354.
395. Smolarek I., Wyszko E., Barciszewska A. M., et al. Global DNA methylation changes in blood of patients with essential hypertension // *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*. – 2010. – № 3 (16). – С. CR149-155.
396. Sokolis D. P., Iliopoulos D. C. Impaired mechanics and matrix metalloproteinases/inhibitors expression in female ascending thoracic aortic aneurysms // *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. – 2014. – (34). – С. 154–164. doi: 10.1016/j.jmbbm.2014.02.015.

397. Sollis E., Mosaku A., Abid A., et al. The NHGRI-EBI GWAS Catalog: knowledgebase and deposition resource // *Nucleic Acids Research*. – 2022. – № D1 (51). – C. D977–D985. doi: 10.1093/nar/gkac1010.
398. Song Y., Lee J.-K., Lee J.-O., et al. Whole Exome Sequencing in Patients with Phenotypically Associated Familial Intracranial Aneurysm // *Korean Journal of Radiology*. – 2022. – № 1 (23). – C. 101–111. doi: 10.3348/kjr.2021.0467.
399. Song Z. P., Yan B. Potential roles of GATA binding protein 5 in cardiovascular diseases // *Reviews in cardiovascular medicine*. – 2020. – 21 (2). – C. 253-261. doi:10.31083/j.rcm.2020.02.5104.
400. Stejskal V., Karalko M., Smolak P., et al. Medial degeneration and atherosclerosis show discrete variance around the circumference of ascending aorta aneurysms // *Virchows Archiv: an international journal of pathology*. – 2022. – №481 (5). – C.731-738. doi: 10.1007/s00428-022-03397-2.
401. Stejskal V., Karalko M., Krbal L. Histopathological findings of diseased ascending aortae with clinicopathological correlation - A single-centre study of 160 cases // *Pathology, research and practice*. – 2023. – №246. – C.154526. doi:10.1016/j.prp.2023.154526
402. Stone J. R., Bruneval P., Angelini A., et al. Consensus statement on surgical pathology of the aorta from the Society for Cardiovascular Pathology and the Association for European Cardiovascular Pathology: I. Inflammatory diseases // *Cardiovascular Pathology: The Official Journal of the Society for Cardiovascular Pathology*. – 2015. – № 5 (24). – C. 267–278. doi: 10.1016/j.carpath.2015.05.001.
403. Sun J., Chen G., Jing Y., et al. LncRNA Expression Profile of Human Thoracic Aortic Dissection by High-Throughput Sequencing // *Cellular Physiology and Biochemistry: International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry, and Pharmacology*. – 2018. – № 3 (46). – C. 1027–1041. doi: 10.1159/000488834.
404. Surman T. L., Abrahams J. M., Manavis J., et al. Histological regional analysis of the aortic root and thoracic ascending aorta: a complete analysis of aneurysms from root to arch // *Journal of Cardiothoracic Surgery*. – 2021. – № 1 (16). – C. 255. doi: 10.1186/s13019-021-01641-5.
405. Szabo Z., Crepeau M. W., Mitchell A. L., et al. Aortic aneurysmal disease and cutis laxa caused by defects in the elastin gene // *Journal of Medical Genetics*. – 2006. – № 3 (43). – C. 255–258. doi: 10.1136/jmg.2005.034157.
406. Takeda N., Komuro I. Genetic basis of hereditary thoracic aortic aneurysms and dissections // *Journal of Cardiology*. – 2019. – № 2 (74). – C. 136–143. doi: 10.1016/j.jjcc.2019.03.014.

407. Takeda N., Yagi H., Hara H., et al. Pathophysiology and Management of Cardiovascular Manifestations in Marfan and Loeys-Dietz Syndromes // *International Heart Journal*. – 2016. – № 3 (57). – C. 271–277. doi: 10.1536/ihj.16-094.
408. Tan K. L., Haelterman N. A., Kwartler C. S., et al. Ari-1 Regulates Myonuclear Organization Together with Parkin and Is Associated with Aortic Aneurysms // *Developmental Cell*. – 2018. – № 2 (45). – C. 226-244.e8. doi: 10.1016/j.devcel.2018.03.020.
409. Tasopoulou K.-M., Argiriou C., Tsaroucha A. K., et al. Circulating miRNAs as Biomarkers for Diagnosis, Surveillance, and Postoperative Follow-Up of Abdominal Aortic Aneurysms // *Annals of Vascular Surgery*. – 2023. – (93). – C. 387–404. doi: 10.1016/j.avsg.2023.02.029.
410. Tcheandjieu C., Xiao K., Tejeda H., et al. High heritability of ascending aortic diameter and trans-ancestry prediction of thoracic aortic disease // *Nature Genetics*. – 2022. – № 6 (54). – C. 772–782. doi: 10.1038/s41588-022-01070-7.
411. Terragni J., Zhang G., Sun Z., et al. Notch signaling genes: myogenic DNA hypomethylation and 5-hydroxymethylcytosine // *Epigenetics*. – 2014. – 9(6). – 842-850. doi:10.4161/epi.28597
412. TG and HDL Working Group of the Exome Sequencing Project, National Heart, Lung, and Blood Institute, Crosby J., Peloso G. M., et al. Loss-of-function mutations in APOC3, triglycerides, and coronary disease // *The New England Journal of Medicine*. – 2014. – № 1 (371). – C. 22–31. doi: 10.1056/NEJMoa1307095.
413. Theodoris C. V., Li M., White M. P., et al. Human Disease Modeling Reveals Integrated Transcriptional and Epigenetic Mechanisms of NOTCH1 Haploinsufficiency // *Cell*. – 2015. – № 6 (160). – C. 1072–1086. doi: 10.1016/j.cell.2015.02.035.
414. Theruvath T. P., Jones J. A., Ikonomidis J. S. Matrix metalloproteinases and descending aortic aneurysms: parity, disparity, and switch // *Journal of Cardiac Surgery*. – 2012. – № 1 (27). – C. 81–90. doi: 10.1111/j.1540-8191.2011.01315.x.
415. Timmerman L. A., Grego-Bessa J., Raya A., et al. Notch promotes epithelial-mesenchymal transition during cardiac development and oncogenic transformation // *Genes & Development*. – 2004. – № 1 (18). – C. 99–115. doi: 10.1101/gad.276304.
416. Toghiani B. J., Saratzis A., Bown M. J. Abdominal aortic aneurysm-an independent disease to atherosclerosis? // *Cardiovascular Pathology: The Official Journal of the Society for Cardiovascular Pathology*. – 2017. – (27). – C. 71–75. doi: 10.1016/j.carpath.2017.01.008.
417. Toghiani B. J., Saratzis A., Freeman P. J., et al. SMYD2 promoter DNA methylation is associated with abdominal aortic aneurysm (AAA) and SMYD2 expression in vascular smooth muscle cells // *Clinical Epigenetics*. – 2018. – (10). – C. 29. doi: 10.1186/s13148-018-0460-9.

418. Tordai H., Torres O., Csepi M., et al. Lightway access to AlphaMissense data that demonstrates a balanced performance of this missense mutation predictor // 2023.- . C. 2023.10.30.564807.doi: 10.1101/2023.10.30.564807.
419. Torres-Juan L., Rico Y., Fortuny E., et al. *NOTCH1* Gene as a Novel Cause of Thoracic Aortic Aneurysm in Patients with Tricuspid Aortic Valve: Two Cases Reported // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – 24(10). – 8644. doi:10.3390/ijms24108644
420. Tsai M.-C., Chen L., Zhou J., et al. Shear stress induces synthetic-to-contractile phenotypic modulation in smooth muscle cells via peroxisome proliferator-activated receptor alpha/delta activations by prostacyclin released by sheared endothelial cells // Circulation Research. – 2009. – № 5 (105). – C. 471–480. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.109.193656.
421. Tscheuschler A., Meffert P., Beyersdorf F., et al. MMP-2 Isoforms in Aortic Tissue and Serum of Patients with Ascending Aortic Aneurysms and Aortic Root Aneurysms // PLOS ONE. – 2016. – № 11 (11). – C. e0164308. doi: 10.1371/journal.pone.0164308.
422. Tung W. S., Lee J. K., Thompson R. W. Simultaneous analysis of 1176 gene products in normal human aorta and abdominal aortic aneurysms using a membrane-based complementary DNA expression array // Journal of Vascular Surgery. – 2001. – № 1 (34). – C. 143–150. doi: 10.1067/mva.2001.113310.
423. Turner A. W., Wong D., Dreisbach C. N., et al. GWAS Reveal Targets in Vessel Wall Pathways to Treat Coronary Artery Disease // Frontiers in Cardiovascular Medicine. – 2018. – (5). – C. 72. doi: 10.3389/fcvm.2018.00072.
424. Tušek-Bunc K., Petek D. Comorbidities and characteristics of coronary heart disease patients: their impact on health-related quality of life // Health and Quality of Life Outcomes. – 2016. – № 1 (14). – C. 159. doi: 10.1186/s12955-016-0560-1.
425. Van Laer L., Dietz H., Loeys B. Loeys-Dietz syndrome // Advances in Experimental Medicine and Biology. – 2014. – (802). – C. 95–105. doi: 10.1007/978-94-007-7893-1_7.
426. Vander Linden K., Vanderveken E., Van Hoof L., et al. Stiffness matters: Improved failure risk assessment of ascending thoracic aortic aneurysms // JTCVS open. – 2023. – (16). – C. 66–83. doi: 10.1016/j.xjon.2023.09.008.
427. Vapnik J. S., Kim J. B., Isselbacher E. M., et al. Characteristics and Outcomes of Ascending Versus Descending Thoracic Aortic Aneurysms // The American Journal of Cardiology. – 2016. – № 10 (117). – C. 1683–1690. doi: 10.1016/j.amjcard.2016.02.048.
428. Verhagen J. M. A., Kempers M., Cozijnsen L., et al. Expert consensus recommendations on the cardiogenetic care for patients with thoracic aortic disease and their first-degree relatives // International Journal of Cardiology. – 2018. – (258). – C. 243–248. doi: 10.1016/j.ijcard.2018.01.145.

429. Verma R., Cohen G., Colbert J., et al. Bicuspid aortic valve associated aortopathy: 2022 guideline update // *Current Opinion in Cardiology*. – 2023. – № 2 (38). – C. 61–67. doi: 10.1097/HCO.0000000000001020.
430. Versbraegen N., Gravel B., Nachtegaal C., et al. Faster and more accurate pathogenic combination predictions with VarCoPP2.0 // *BMC Bioinformatics*. – 2023. – № 1 (24). – C. 179. doi: 10.1186/s12859-023-05291-3.
431. Verstraeten A., Alaerts M., Van Laer L., et al. Marfan Syndrome and Related Disorders: 25 Years of Gene Discovery // *Human Mutation*. – 2016. – № 6 (37). – C. 524–531. doi: 10.1002/humu.22977.
432. Verstraeten A., Fedoryshchenko I., Loeys B. The emerging role of endothelial cells in the pathogenesis of thoracic aortic aneurysm and dissection // *European Heart Journal*. – 2023. – № 14 (44). – C. 1262–1264. doi: 10.1093/eurheartj/ehac771.
433. Verstraeten A., Luyckx I., Loeys B. Aetiology and management of hereditary aortopathy // *Nature Reviews. Cardiology*. – 2017. – № 4 (14). – C. 197–208. doi: 10.1038/nrcardio.2016.211.
434. Villamizar C., Regalado E. S., Fadulu V. T., et al. Paucity of skeletal manifestations in Hispanic families with FBN1 mutations // *European Journal of Medical Genetics*. – 2010. – № 2 (53). – C. 80–84. doi: 10.1016/j.ejmg.2009.11.001.
435. Virmani R., Kolodgie F. D., Burke A. P., et al. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2000. – № 5 (20). – C. 1262–1275. doi: 10.1161/01.atv.20.5.1262.
436. Vrublevsky A. V., Saushkin V. V. Role of Imaging Modalities in the Quantitative Assessment of Atherosclerotic Plaques in the Thoracic Aorta // *Kardiologiya*. – 2024. – № 3 (64). – C. 40–45. doi: 10.18087/cardio.2024.3.n2457.
437. Waldron C., Zafar M. A., Ziganshin B. A., et al. Evidence Accumulates: Patients with Ascending Aneurysms Are Strongly Protected from Atherosclerotic Disease // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – № 21 (24). – C. 15640. doi: 10.3390/ijms242115640.
438. Waldron C., Zafar M. A., Ma D., et al. Somatic Variants Acquired Later in Life Associated with Thoracic Aortic Aneurysms: JAK2 V617F // *Genes*. – 2024. – № 7 (15). – C. 883. doi: 10.3390/genes15070883.
439. Wang L., Guo D., Cao J., et al. Mutations in Myosin Light Chain Kinase Cause Familial Aortic Dissections // *American Journal of Human Genetics*. – 2010. – № 5 (87). – C. 701. doi: 10.1016/j.ajhg.2010.10.006.

440. Wang X., Falkner B., Zhu H., et al. A genome-wide methylation study on essential hypertension in young African American males // *PloS One*. – 2013. – № 1 (8). – C. e53938. doi: 10.1371/journal.pone.0053938.
441. Wang X., LeMaire S. A., Chen L., et al. Increased collagen deposition and elevated expression of connective tissue growth factor in human thoracic aortic dissection // *Circulation*. – 2006. – № 1 Suppl (114). – C. I200-205. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.000240.
442. Wang Y., Dong C.-Q., Peng G.-Y., et al. MicroRNA-134-5p Regulates Media Degeneration through Inhibiting VSMC Phenotypic Switch and Migration in Thoracic Aortic Dissection // *Molecular Therapy. Nucleic Acids*. – 2019. – (16). – C. 284–294. doi: 10.1016/j.omtn.2019.02.021.
443. Wang Y., Huang H.-Y., Bian G.-L., et al. A Functional Variant of SMAD4 Enhances Thoracic Aortic Aneurysm and Dissection Risk through Promoting Smooth Muscle Cell Apoptosis and Proteoglycan Degradation // *EBioMedicine*. – 2017. – (21). – C. 197–205. doi: 10.1016/j.ebiom.2017.06.022.
444. Wang Z., Zhao J., Sun J., et al. Sex-dichotomous effects of NOS1AP promoter DNA methylation on intracranial aneurysm and brain arteriovenous malformation // *Neuroscience Letters*. – 2016. – (621). – C. 47–53. doi: 10.1016/j.neulet.2016.04.016.
445. Wang Z., Zhuang X., Chen B., et al. 99-Case Study of Sporadic Aortic Dissection by Whole Exome Sequencing Indicated Novel Disease-Associated Genes and Variants in Chinese Population // *BioMed Research International*. – 2020. – (2020). – C. 7857043. doi: 10.1155/2020/7857043.
446. Wang S., Hibender S., Ridwan Y., et al. Aortic microcalcification is associated with elastin fragmentation in Marfan syndrome // *The Journal of Pathology*. – 2017. – № 3 (243). – C. 294–306. doi: 10.1002/path.4949.
447. Wasteson P., Johansson B. R., Jukkola T., et al. Developmental origin of smooth muscle cells in the descending aorta in mice // *Development (Cambridge, England)*. – 2008. – № 10 (135). – C. 1823–1832. doi: 10.1242/dev.020958.
448. Waters K.M., Rooper L.M., Guajardo A., et al. Histopathologic differences partially distinguish syndromic aortic diseases // *Cardiovascular pathology*. – 2017. – 30. – 6-11. doi:10.1016/j.carpath.2017.05.008.
449. Webb T.R., Erdmann J., Stirrups K.E., et al. Systematic Evaluation of Pleiotropy Identifies 6 Further Loci Associated With Coronary Artery Disease // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2017. – 69(7). – 823-836. doi:10.1016/j.jacc.2016.11.056.
450. Weerakkody R., Ross D., Parry D. A., et al. Targeted genetic analysis in a large cohort of familial and sporadic cases of aneurysm or dissection of the thoracic aorta // *Genetics in Medicine*:

Official Journal of the American College of Medical Genetics. – 2018. – № 11 (20). – C. 1414–1422. doi: 10.1038/gim.2018.27.

451. Weininger G., Ostberg N., Shang M., et al. Lipid profiles help to explain protection from systemic atherosclerosis in patients with ascending aortic aneurysm // *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. – 2022. – № 2 (163). – C. e129–e132. doi: 10.1016/j.jtcvs.2021.09.031.

452. Welén Schef K., Tornvall P., Alfredsson J., et al. Prevalence of angina pectoris and association with coronary atherosclerosis in a general population // *Heart (British Cardiac Society)*. – 2023. – № 19 (109). – C. 1450–1459. doi: 10.1136/heartjnl-2023-322345.

453. Wenstrup R. J., Murad S., Pinnell S. R. Ehlers-Danlos syndrome type VI: Clinical manifestations of collagen lysyl hydroxylase deficiency // *The Journal of Pediatrics*. – 1989. – № 3 (115). – C. 405–409. doi: 10.1016/S0022-3476(89)80839-X.

454. Wight T. N. A role for proteoglycans in vascular disease // *Matrix Biology: Journal of the International Society for Matrix Biology*. – 2018. – (71–72). – C. 396–420. doi: 10.1016/j.matbio.2018.02.019.

455. Wilson D. G., Bellamy M. F., Ramsey M. W., et al. Endothelial function in Marfan syndrome: selective impairment of flow-mediated vasodilation // *Circulation*. – 1999. – № 7 (99). – C. 909–915. doi: 10.1161/01.cir.99.7.909.

456. Wise I. A., Charchar F. J. Epigenetic Modifications in Essential Hypertension // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2016. – № 4 (17). – C. 451. doi: 10.3390/ijms17040451.

457. Wong D., Turner A. W., Miller C. L. Genetic Insights Into Smooth Muscle Cell Contributions to Coronary Artery Disease // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2019. – № 6 (39). – C. 1006–1017. doi: 10.1161/ATVBAHA.119.312141.

458. Wu G., Cai J., Han Y., et al. LincRNA-p21 regulates neointima formation, vascular smooth muscle cell proliferation, apoptosis, and atherosclerosis by enhancing p53 activity // *Circulation*. – 2014. – № 17 (130). – C. 1452–1465. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.011675.

459. Wu L. The pathogenesis of thoracic aortic aneurysm from hereditary perspective // *Gene*. – 2018. – (677). – C. 77–82. doi: 10.1016/j.gene.2018.07.047.

460. Xiong Y., Huang H., Chen F., et al. CircDLGAP4 induces autophagy and improves endothelial cell dysfunction in atherosclerosis by targeting PTPN4 with miR-134-5p // *Environmental Toxicology*. – 2023. – № 12 (38). – C. 2952–2966. doi: 10.1002/tox.23930.

461. Yang H., Shen H., Zhu G., et al. Molecular characterization and clinical investigation of patients with heritable thoracic aortic aneurysm and dissection // *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. – 2023. – 166(6). – C. 1594–1603. doi: 10.1016/j.jtcvs.2022.11.004.

462. Yang P., Schmit B. M., Fu C., et al. Smooth muscle cell-specific Tgfb β 1 deficiency promotes aortic aneurysm formation by stimulating multiple signaling events // *Scientific Reports*. – 2016. – (6). – C. 35444. doi: 10.1038/srep35444.
463. Yang X., Kong Q., Li Z., et al. Association between the promoter methylation of the TBX20 gene and tetralogy of Fallot // *Scandinavian cardiovascular journal: SCJ*. – 2018. – № 5 (52). – C. 287–291. doi: 10.1080/14017431.2018.1499955.
464. Yang L.-T., Tribouilloy C., Masri A., et al. Clinical presentation and outcomes of adults with bicuspid aortic valves: 2020 update // *Progress in Cardiovascular Diseases*. – 2020. – № 4 (63). – C. 434–441. doi: 10.1016/j.pcad.2020.05.010.
465. Yang X., Xu C., Yao F., et al. Targeting endothelial tight junctions to predict and protect thoracic aortic aneurysm and dissection // *European Heart Journal*. – 2023. – № 14 (44). – C. 1248–1261. doi: 10.1093/eurheartj/ehac823.
466. Ye S., Wang C., Xu Z., et al. Impaired Human Cardiac Cell Development due to NOTCH1 Deficiency // *Circulation Research*. – 2023. – № 2 (132). – C. 187–204. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.122.321398.
467. Yeung K. K., Bogunovic N., Keekstra N., et al. Transdifferentiation of Human Dermal Fibroblasts to Smooth Muscle-Like Cells to Study the Effect of MYH11 and ACTA2 Mutations in Aortic Aneurysms // *Human Mutation*. – 2017. – № 4 (38). – C. 439–450. doi: 10.1002/humu.23174.
468. Yuan S.-M., Jing H. The bicuspid aortic valve and related disorders // *Sao Paulo Medical Journal = Revista Paulista De Medicina*. – 2010. – № 5 (128). – C. 296–301. doi: 10.1590/s1516-31802010000500010.
469. Zaina S., Heyn H., Carmona F.J., et al. DNA Methylation Map of Human Atherosclerosis // *Circulation: Cardiovascular Genetics*. – 2014. – № 5 (7). – C. 692–700. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.113.000441.
470. Zaina S., Gonçalves I., Carmona F.J., et al. DNA methylation dynamics in human carotid plaques after cerebrovascular events // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. – 2015. – №35(8). – C.1835-1842. doi:10.1161/ATVBAHA.115.305630
471. Zarins C. K., Xu C., Glagov S. Atherosclerotic enlargement of the human abdominal aorta // *Atherosclerosis*. – 2001. – № 1 (155). – C. 157–164. doi: 10.1016/s0021-9150(00)00527-x.
472. Zhang H., Liu B., Shi X., et al. Long noncoding RNAs: Potential therapeutic targets in cardiocerebrovascular diseases // *Pharmacology & Therapeutics*. – 2021. – (221). – C. 107744. doi: 10.1016/j.pharmthera.2020.107744.
473. Zhang J., Wang L., Fu W., et al. Smooth muscle cell phenotypic diversity between dissected and unaffected thoracic aortic media // *The Journal of Cardiovascular Surgery*. – 2013. – № 4 (54). – C. 511–521.

474. Zhang J., Zhao X., Vatner D. E., et al. Extracellular Matrix Disarray as a Mechanism for Greater Abdominal Versus Thoracic Aortic Stiffness With Aging in Primates // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2016. – № 4 (36). – C. 700–706. doi: 10.1161/ATVBAHA.115.306563.
475. Zhang X., Thatcher S. E., Rateri D. L., et al. Transient exposure of neonatal female mice to testosterone abrogates the sexual dimorphism of abdominal aortic aneurysms // *Circulation Research*. – 2012. – № 11 (110). – C. e73-85. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.111.253880.
476. Zhang L., Li Z., Li S., et al. Systematic review of endovascular repair of ascending aortic dissection // *Catheterization and Cardiovascular Interventions: Official Journal of the Society for Cardiac Angiography & Interventions*. – 2019. – № 7 (94). – C. 1018–1025. doi: 10.1002/ccd.28511.
477. Zhao L.-Y., Song J., Liu Y., et al. Mapping the epigenetic modifications of DNA and RNA // *Protein & Cell*. – 2020. – № 11 (11). – C. 792–808. doi: 10.1007/s13238-020-00733-7.
478. Zhao T. Y., Johnson E. M. I., Elisha G., et al. Blood-wall fluttering instability as a physiomarker of the progression of thoracic aortic aneurysms // *Nature Biomedical Engineering*. – 2023. – № 12 (7). – C. 1614–1626. doi: 10.1038/s41551-023-01130-1.
479. Zheng S.C., Webster A.P., Dong D., et al. A novel cell-type deconvolution algorithm reveals substantial contamination by immune cells in saliva, buccal and cervix // *Epigenomics*. – 2018. – 10(7). – C. 925-940. doi:10.2217/epi-2018-0037
480. Zheng S.C., Breeze C.E., Beck S., et al. EpiDISH web server: Epigenetic Dissection of Intra-Sample-Heterogeneity with online GUI // *Bioinformatics*. – 2019. – V.36. – №6. – C. 1950–1951. doi:10.1093/bioinformatics/btz833
481. Zhou Z., Cecchi A. C., Prakash S. K., et al. Risk Factors for Thoracic Aortic Dissection // *Genes*. – 2022. – № 10 (13). – C. 1814. doi: 10.3390/genes13101814.
482. Zhou Z., Hughes K., Saif N., et al. MYH11 rare variant augments aortic growth and induces cardiac hypertrophy and heart failure with pressure overload // *bioRxiv: The Preprint Server for Biology*. – 2024. – C. 2024.08.15.608063. doi: 10.1101/2024.08.15.608063.
483. Zhu L., Vranckx R., Khau Van Kien P., et al. Mutations in myosin heavy chain 11 cause a syndrome associating thoracic aortic aneurysm/aortic dissection and patent ductus arteriosus // *Nature Genetics*. – 2006. – № 3 (38). – C. 343–349. doi: 10.1038/ng1721.
484. Zhu L., Zhang N., Yan R., et al. Hyperhomocysteinemia induces vascular calcification by activating the transcription factor RUNX2 via Krüppel-like factor 4 up-regulation in mice // *Journal of Biological Chemistry*. – 2019. – № 51 (294). – C. 19465–19474. doi: 10.1074/jbc.RA119.009758.

Интернет-ресурсы

1. VarSome The Human Genomics Community: <https://varsome.com/>
2. AlphaMissense: <https://alphamissense.hegelab.org/>
3. NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>
4. RUSeq: <http://ruseq.ru/>
5. gnomAD: <https://gnomad.broadinstitute.org/>
6. ФМБА России: <https://gdbpop.nir.cspfmmba.ru/>
7. GWAS Catalog: <https://www.ebi.ac.uk/gwas/>
8. ClinGen: <https://clinicalgenome.org/>
9. PrimerQuest: <https://eu.idtdna.com/pages>
10. Primer Design and Search Tool: <http://bisearch.enzim.hu/>
11. CADD: <https://cadd.gs.washington.edu/snv>
12. UniProt: <https://www.uniprot.org/>
13. Metascape: <https://metascape.org/gp>
14. WEB-based GENE SeT AnaLysis Toolkit: <https://www.webgestalt.org/>
15. Геномный браузер University of California Santa Cruz: <https://genome.ucsc.edu/>
16. Haploreg: <https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

№ рисунка	Название рисунка	№ страницы
1	Молекулярные пути и сигнальные молекулы, вовлеченные в патогенез аневризмы восходящей аорты	23
2	Гены, ассоциированные с развитием аневризмы восходящей аорты	35
3	Дизайн исследования	50
4	Зоны аорты, из которых взят материал для гистологического исследования	53
5	Число сопутствующих заболеваний в разных возрастных группах больных с аневризмой восходящей аорты	63
6	Частоты встречаемости артериальной гипертензии у больных с АВА СФО, других группах с АВА, больных с ИБС и популяционных выборках	64
7	Частоты встречаемости атеросклероза восходящей аорты (А), коронарных (Б) и сонных артерий (В) у больных с АВА СФО, других группах с АВА и популяционных выборках	65
8	Частоты встречаемости инфаркта миокарда у больных с АВА СФО, других группах с АВА и популяционных выборках	67
9	Частоты встречаемости инсульта у больных с АВА СФО, других группах с АВА, больных с ИБС и популяционных выборках	68
10	Частоты встречаемости сахарного диабета 2 типа у больных с АВА СФО, других группах с АВА и популяционных выборках	68
11	Частоты встречаемости двустворчатого аортального клапана у больных с АВА СФО, других группах с АВА и популяционных выборках	74
12	Сравнение диаметров восходящей аорты в различных местах взятия биопсии при АВА	76
13	Основные гистологические «субстраты» аневризмы восходящей аорты по Leone O. et al. (2020)	77
14	Стенка восходящей аорты у пациентов с АВА	78
15	Частота встречаемости атеросклероза, воспаления и дегенеративных изменений в образцах аневризмы восходящей аорты по результатам гистологического исследования	85

16	Соли кальция в <i>tunica media</i> аорты у пациентов с АВА	88
17	Сравнение процента кальцификации в разных зонах взятия биоптатов аорты	88
18	Сравнение процента кальцификации восходящей аорты в зависимости от различных клинико-морфологических параметров пациентов с АВА	90
19	Различия в возрасте пациентов с максимальной кальцификацией в различных участках восходящей аорты	91
20	Связь процента кальцификации аорты с возрастом (А) и скоростью клубочковой фильтрации (Б)	92
21	Идентификация варианта с.7841C>T (p.Ala2614Val) в гене <i>FBNI</i> , варианта с.2498A>T (p.Lys833Ile) в гене <i>COL3A1</i> и варианта с.833G>A (p.Gly278Asp) в гене <i>PLOD3</i> у пациента №54	97
22	Идентификация варианта с.4993C>T (p.Arg1665Cys) в гене <i>MYH11</i>	100
23	Идентификация варианта с.953C>G (p.Pro318Arg) в гене <i>COL4A5</i>	101
24	Идентификация варианта с.964G>A (p.Val322Met) в гене <i>NOTCH1</i>	102
25	Распределение образцов восходящей аорты, кожи и цельной крови пациентов с АВА в зависимости от уровня метилирования ДНК в пространстве главных компонент	107
26	Локализация и эпигенетический контекст в области генов <i>NR2F1/NR2F1-AS1</i>	109
27	Дифференциально метилированные гены между аневризмой, атеросклеротической бляшкой аорты (АА/АБ), кровью (АА/КВ) и кожей (АА/КЖ; А) и атеросклеротической бляшкой аорты, нерасширенной аортой (АБ/НА), кровью (АБ/КВ) и кожей (АБ/КЖ; Б) пациентов с АВА	117
28	«Общие» гены при сравнении спектра ДМГ, полученного в настоящем исследовании, с группами генов, показавших ассоциации GWAS с атеросклерозом и его клиническими проявлениями и с аневризмой/расслоением и диаметром восходящей аорты, а также с генами наследственных аневризм восходящей аорты	120
29	Локализация и эпигенетический контекст исследуемой 5'-области гена <i>TBX20</i>	123

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Таблица А1 – Гены, связанные с развитием аневризм восходящей аорты (АВА)

Ген, ассоциированный с АВА	Функция продукта гена	Заболевание (#OMIM)	Ссылка
Синдромальные АВА			
<i>FBN1</i>	Структурный компонент внеклеточного матрикса, участвует в формировании эластических фибрилл	Синдром Марфана (#154700)	[Loeys B. et al., 2010; Renard M. et al., 2018]
<i>TGFBR1, TGFBR2, SMAD3, TGFB2, TGFB3</i>	Участвуют в реализации сигнального каскада TGFβ	Синдром Лойса-Дитца (TGF-β васкулопатии) (#615582, #613795, #614816, #609192, #610168)	[Loeys B. et al., 2006; Boileau C. et al., 2012; Van Laer L. et al., 2014; Renard M. et al., 2018]
<i>COL3A1</i>	Структурный компонент внеклеточного матрикса	Синдром Элерса-Данло (сосудистый тип) (#130050)	[Renard M. et al., 2018]
<i>COL1A1, COL1A2, COL5A1, COL5A2</i>	Структурный компонент внеклеточного матрикса	Синдром Элерса-Данло (классический тип) (#225320, #130000)	[Verhagen J.M.A. et al., 2018; Renard M. et al., 2018]
<i>PLOD1</i>	Лизил-гидроксилаза	Синдром Элерса-Данло (кифосколиотический тип) (#225400)	[Wenstrup R.J. et al., 1989]
-	-	Синдром Тёрнера (частичная или полная утрата X хромосомы) (#300082)	[Silberbach M. et al., 2018]
<i>SLC2A10</i>	Транспортер глюкозы GLUT10	Синдром артериальной извилистости (#208050)	[Renard M. et al., 2018; Pinard A. et al., 2019]
<i>SKI</i>	Регулирует SMAD-зависимый TGFβ-сигналлинг	Синдром Шпрингцзена—Голдберга (#182212)	[Renard M. et al., 2018; Pinard A. et al., 2019]
<i>BGN</i>	Сборка коллагеновых фибрилл	Синдром Мейстера-Лойса (#300989)	[Meester J.A.N. et al., 2017, 2021; Renard M. et al., 2018]

Продолжение Таблицы А1

<i>COL1A1</i>	Структурный компонент внеклеточного матрикса	Несовершенный остеогенез (#166200)	[Salmasi M.Y. et al., 2023]
<i>PTPN11</i>	Тирозинфосфатаза	Синдром Нунан (#163950)	[Salmasi M.Y. et al., 2023]
<i>COL4A5</i>	Структурный компонент внеклеточного матрикса	Х-сцепленный синдром Альпорта (#301050)	[Kashtan C.E. et al., 2010]
<i>ELN</i>	Структурный компонент внеклеточного матрикса, участвует в организации эластических фибрилл	Синдром атрофии кожи (#123700)	[Szabo Z. et al., 2006; Pinard A. et al., 2019]
<i>EFEMP2 (FBLN4)</i>	Участвует в формировании эластических фибрилл	Синдром атрофии кожи (#614437)	[De Carlo R. et al., 2022]
Семейные АВА			
<i>ACTA2</i>	Сокращение гладких миоцитов	Семейная аневризма грудной аорты (#611788)	[Guo D. et al., 2007; Renard M. et al., 2013; Lu H. et al., 2015; Cheng J. et al., 2018; Rombouts K.B. et al., 2021]
<i>ARH1</i>	Часть белкового комплекса LINC (линкер нуклео- и цитоскелета)	-	[Pinard A. et al., 2019; Boerio M.L. et al., 2022]
<i>EFEMP2 (FBLN4)</i>	Участвует в формировании эластических фибрилл	-	[Al-Hassnan Z.N. et al., 2012; Hibino M. et al., 2018; Pinard A. et al., 2019]
<i>ELN</i>	Структурный компонент внеклеточного матрикса, участвует в организации эластических фибрилл	-	[Szabo Z. et al., 2006; Pinard A. et al., 2019]
<i>EMILIN1</i>	Взаимодействует с эластином	-	[Capuano A. et al., 2016]
<i>FBN1</i>	Структурный компонент внеклеточного матрикса, участвует в организации эластических фибрилл	-	[Villamizar C. et al., 2010]
<i>FBN2</i>	Структурный компонент внеклеточного матрикса, участвует в организации эластических фибрилл	Врожденная арахнодактилия (#121050)	[Takeda N. et al., 2015; Pinard A. et al., 2019; De Carlo R. et al., 2022]

Продолжение Таблицы А1

<i>FLNA</i>	Связывание интегринов с актиновыми филаментами в ГМК	Перивентрикулярная нодулярная гетеротопия (#300049)	[Sheen V.L. et al., 2005; Chen M.H. et al., 2018; Pinard A. et al., 2019]
<i>FOXE3</i>	Транскрипционный фактор	Семейная аневризма грудной аорты (#617349)	[Kuang S.-Q. et al., 2016]
<i>HCN4</i>	Калиевый канал	-	[Pinard A. et al., 2019]
<i>LOX</i>	Образование перекрестных сшивок между молекулами коллагена и эластина	Семейная аневризма грудной аорты (#617168)	[Guo D. et al., 2016; Lee V.S. et al., 2016; Renard M. et al., 2018; Pinard A. et al., 2019; Salmasi M.Y. et al., 2023]
<i>LTBP1</i>	Регулирует активность TGFβ	-	[De Cario R. et al., 2022]
<i>LTBP3</i>	Регулирует активность TGFβ	-	[Guo D. et al., 2018; Pinard A. et al., 2019; De Cario R. et al., 2022]
<i>MAT2A</i>	Метионин-аденозилтрансфераза IIα	-	[Guo D. et al., 2015; Pinard A. et al., 2019]
<i>MFAP5</i>	Взаимодействует с эластином	Семейная аневризма грудной аорты (#616166)	[Barbier M. et al., 2014; Pinard A. et al., 2019]
<i>MYH11</i>	Сокращение гладких миоцитов	Семейная аневризма грудной аорты (#132900)	[Pannu H. et al., 2007; Guo D. et al., 2007; Renard M. et al., 2013]
<i>MYLK</i>	Фосфорилирование легких цепей миозина	Семейная аневризма грудной аорты (#613780)	[Salmasi M.Y. et al., 2023]
<i>NOTCH1</i>	Компонент сигнального пути Notch	Семейная аневризма грудной аорты (#109730)	[Pinard A. et al., 2019; De Cario R. et al., 2022]
<i>PRKG1</i>	Фосфорилирование легких цепей миозина	Семейная аневризма грудной аорты (#615436)	[Guo D. et al., 2013; Gago-Díaz M. et al., 2016]

Продолжение Таблицы А1

<i>SMAD2</i>		Внутриклеточный эффектор пути TGFβ	-	[MacCarrick G. et al., 2014; Pinard A. et al., 2019; De Cario R. et al., 2022]
<i>SMAD3</i>		Внутриклеточный эффектор пути TGFβ	-	[van de Laar I. et al., 2011; Regalado E. et al., 2011]
<i>SMAD4</i>		Внутриклеточный эффектор пути TGFβ	Наследственная геморрагическая телеангиэктазия (#17505)	[Duan X.-Y. et al., 2019]
<i>TGFB2</i>		Участвуют в реализации сигнального каскада TGFβ	-	[Boileau C. et al., 2012]
<i>TGFBR1</i>		Рецептор к TGFβ 1 типа	-	[Tran-FaduLu H. et al., 2009]
<i>TGFBR2</i>		Рецептор к TGFβ 2 типа	-	[Tran-FaduLu H. et al., 2009]
<i>THSD4</i>		Связывается с фибриллином-1	-	[Elbitar S. et al., 2021]
Спорадические АВА				
Ассоциированные с ДАК	<i>GATA5</i>	Транскрипционный фактор	-	[Verhagen J.M.A. et al., 2018]
	<i>KCNJ2</i>	Калиевый канал	-	[Salmasi M.Y. et al., 2023]
	<i>LOX</i>	Образование перекрестных сшивок между молекулами коллагена и эластина	-	[Isselbacher E.M. et al., 2022]
	<i>MAT2A</i>	Метионин-аденозилтрансфераза Iia	-	[Verhagen J.M.A. et al., 2018; Isselbacher E.M. et al., 2022]
	<i>NOTCH1</i>	Компонент сигнального пути Notch	-	[Verhagen J.M.A. et al., 2018; Иртюга О.Б. и др., 2018; Isselbacher E.M. et al., 2022]
	<i>ROBO4</i>	Трансмембранный рецептор	-	[Gould R.A. et al., 2019]

Продолжение Таблицы А1

	<i>SMAD6</i>	Внутриклеточный эффектор пути TGFβ	-	[De Cario R. et al., 2022; Isselbacher E.M. et al., 2022]
	<i>TBX20</i>	Транскрипционный фактор	-	[Luyckx I. et al., 2019; Isselbacher E.M. et al., 2022]
	<i>TGFBR2</i>	Рецептор к TGFβ 2 типа	-	[Isselbacher E.M. et al., 2022]
Другие	<i>ACTA2</i>	Сокращение гладких миоцитов	-	[Рудой А.С., 2015]
	<i>COL5A2</i>	Структурный компонент внеклеточного матрикса	-	[Рудой А.С. et al., 2021]
	<i>MMP1</i>	Деградация внеклеточного матрикса	-	[Kato K. et al., 2012; Martín M. et al., 2013]
	<i>MMP2</i>	Деградация внеклеточного матрикса	-	[Martín M. et al., 2013]
	<i>MMP9</i>	Деградация внеклеточного матрикса	-	[Chen L. et al., 2006]
	<i>MMP17</i>	Деградация внеклеточного матрикса	-	[Martín-Alonso M. et al., 2015]
	<i>MYH11</i>	Сокращение гладких миоцитов	-	[Kuang S.-Q. et al., 2012; Рудой А.С., 2015]
	<i>MYLK</i>	Фосфорилирование легких цепей миозина	-	[Рудой А.С., 2015]
	<i>SMAD3</i>	Внутриклеточный эффектор пути TGFβ	-	[Рудой А.С., 2015]
	<i>SMAD4</i>	Внутриклеточный эффектор пути TGFβ	-	[Wang Y. et al., 2017; Duan X.-Y. et al., 2019]
	<i>SVIL</i>	Обеспечивает связь между цитоскелетом и мембраной в ГМК	-	[Pirrucello J.P. et al., 2022]
	<i>TGFBR1</i>	Рецептор к TGFβ 1 типа	-	[Рудой А.С., 2015]
	<i>CBS</i>	Катализирует превращение гомоцистеина в цистатионин	Гомоцистинурия (#236200)	[Lorenzini M. et al., 2018]
	<i>PKD1, PKD2</i>	Регулятор клеточного метаболизма кальция	Синдром поликистозных почек	[Peczkowska M. et al., 2004]

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Таблица Б1 – Метилирование ДНК при аневризме восходящей аорты

Образец	Контроль	Ткань / клетки	Метод	Результат	Ссылка
Пациенты с ДАК-НР (ДА<40 мм) (n=7; 60 лет; 4 муж., 3 жен.)	Пациенты с ТАК-НР (ДА<40 мм) (n=10; 72 года, 6 муж.; 4 жен.)	Образцы интима-медиа восходящей аорты	Illumina 450K	Между ДАК-НР и ТАК-НР не выявлено отдельных ДМ CpG-сайтов, но зарегистрирован 681 геномный кластер ДМ CpG-сайтов (ДМР), относящихся к 894 генам. Для 540 ДМГ различия метилирования наблюдались в пределах $\pm 10\%$, из них в ДАК-НР 154 генов были гипер-М, а 398 гипо-М.	[Björck H.M. et al., 2018]
Пациенты с ДАК-Р (ДА>45 мм) (n=14; 61 год; 11 муж., 3 жен.).	Пациенты с ТАК-Р (ДА>45 мм) (n=13; 63 года; 7 муж., 6 жен.)	Образцы интима-медиа восходящей аорты		Степень гипо-М выше в аорте ДАК-Р, чем в аорте ТАК-Р (в т.ч. и для транскрипционно-значимых CpG-сайтов внутри CpG-островков в пределах первых экзонов). Всего между ДАК-Р и ТАК-Р зарегистрировано 3170 ДМР, содержащих 12 234 CpG-сайта и охватывающих 2638 генов. В ДАК-Р метилирование 8355 (68%) CpG-сайтов снижено.	
		Образцы интимы-медиа восходящей аорты и правой внутренней грудной артерии		Между ДАК-Р и ТАК-Р метилирование различалось по 39 984 CpG-сайтам; при ТАК-Р чаще регистрировали гипер-М CpG; в аорте ДАК-Р средний уровень метилирования ниже, гипо-М ДМР в ДАК-Р связаны с 3052 генами).	

Продолжение Таблицы Б1

Образец	Контроль	Ткань / клетки	Метод	Результат	Ссылка
Пациенты с ДАК-Р	Пациенты с ТАК-Р	Ткани аневризмы восходящей аорты	Illumina 450K	ДМ установлено для 27 зондов в 9 генах; Наиболее существенные различия в уровне метилирования выявлены для гена <i>PTPN22</i> (гипер-М), белковый продукт которого вовлечен в сигнальный путь рецептора Т-клеток. Среди дифференциально метилированных генов был <i>ACTA2</i> .	[Shah A.A. et al., 2015]
Пациенты с РГА (тип А), без семейной отягощенности (n=6; 45,3 лет; 5 муж., 1 жен.)	Здоровые индивиды (К., n=6; 42,8 лет; 6 муж.)	Образцы интима-медиа восходящей аорты	Полногеномное бисульфитное секвенирование (WGBS)	Нет глобального сдвига метилирования, но выявлен ряд ДМР. Между РГА и К. идентифицировано 51 468 ДМР (22 318 гипер-М и 29 150 гипо-М в РГА, из них 3314 (6.44%) расположены в промоторных областях (от 1 до 2500 п.н. выше сайта начала транскрипции). Лучшие 300 ДМР (включали 14 365 CpG со средней длиной 1648 п.н.; большинство расположены в межгенных областях, медиана расстояния до ближайшего гена - 58 305 п.н.) дифференцируют группу РГА от К.	[Liu P. et al., 2021]
Пациенты с РГА (тип А), без семейной отягощенности (n=6; 41,8 лет; 5 муж., 1 жен.)	Здоровые индивиды (К., n=4; 36,5 лет; 3 муж., 1 жен.)			15 из 200 наиболее ДМР локализованы в кластерах Нох-генов, включая кластер <i>HOXA</i> (на хромосоме 7), кластер <i>HOXB</i> (на хромосоме 17), кластер <i>HOXC</i> (на хромосоме 12) и кластер <i>HOXD</i> .	

Продолжение Таблицы Б1

Образец	Контроль	Ткань / клетки	Метод	Результат	Ссылка
Пациенты с РГА (тип А) без семейной отягощенности (n=7; 51 год; 6 муж., 1 жен.)	Здоровые индивиды (К., n=4; 49,3 лет; 3 муж., 1 жен.)	Образцы интима-медиа восходящей аорты	Полногеномное бисульфитное секвенирование (WGBS)	3982 ДМР вкДНК (8.8%) перекрываются с ДМР, идентифицированными в ткани аорты (tДМР); 2326 ДМР вкДНК (12 856 ДМ сайтов) имели тот же паттерн метилирования, что и tДМР; из них 34 ДМР общие с 300 лучшими ДМР в tДМР.	[Liu P. et al., 2021]
Пациенты с ДАК, связанным с аневризматической дилатацией (ДА>45 мм), (n= 5 муж.; 53,8 лет)	Здоровые доноры органов (К., n=6 муж., 36,7 лет)	Ткани восходящей аорты	Illumina 450K	При остром разрыве аорты изменяется метилирование ДНК в сайтах, отличных от CpG: выявлено 706 ДМ цитозинов (ДМЦ) между РГА и К. (396 или 56% гипер-М при РГА), 3775 между ДАК и К (1979 или 52%) гипер-М при ДАК); всего 12 817 ДМЦ между ДАК и РГА (75% гипер-М при ДАК).	[Pan S. et al., 2017]
Пациенты с острым РГА, (n=10 муж., 52,4 лет)	Здоровые доноры органов (К., n=6 муж., 36,7 лет) AoSMC (ENCODE)	AoSMC (ENCODE)		Профили метилирования ДНК РГА больше отклоняются от профилей метилирования AoSMC (ENCODE), чем профили метилирования К. Профили метилирования ДНК ДАК не отличаются значимо от метилирования ДНК AoSMC.	
Пациенты с ДАК и расширенной (ДА>45 мм) аортой (ДАК-Р; n=14; 61 год; 11 муж., 3 жен.)	Пациенты с ТАК и расширенной (ДА>45 мм) аортой (ТАК-Р; n=13; 63 года; 7 муж., 6 жен.)	Первичные эндотелиальные клетки аорты (ЭКА) из большой кривизны аневризмы грудной аорты	Illumina 450K	При воздействии колебательного потока изменялось метилирование 4707 генов в ЭКА ДАК-Р и 5999 генов в ЭКА ТАК-Р.	[Björck H.M. et al., 2018]

Продолжение Таблицы Б1

Образец	Ткань / клетки	Метод	Результат	Ссылка
Воздействие колебательного (двунаправленного, ± 12 дин/см ²) или ламинарного (12 дин/см ²) потоков на эндотелиальные клетки EA.hy926 (n=9)	Эндотелиальные клетки человека EA.hy926	Illumina 450K	Ламинарный и колебательный потоки по-разному влияли на метилирование ДНК в клетках EA.hy926: при колебательном потоке зарегистрировано 1644 гипер-М и 169 гипо-М региона. Дифференциальный профиль метилирования в аорте ДАК-НР в большей степени схож с профилем метилирования колебательного (207 или 23% общих ДМГ), чем ламинарного (163 или 18% общих ДМГ) потока.	[Björck H.M. et al., 2018]

Примечание: ДАК – двустворчатый аортальный клапан; ТАК – трехстворчатый аортальный клапан; ТАК-НР и ДАК-НР – нерасширенная аорта при трехстворчатом и двустворчатом аортальном клапане, соответственно; ТАК-Р и ДАК-Р – расширенная аорта при трехстворчатом и двустворчатом аортальном клапане, соответственно; РГА -расслоение грудной аорты; К. – контроль; ДМ, ДМГ, ДМР, ДМЦ - дифференциально метилированные/гены/регионы/цитозины, соответственно; ДЭ – дифференциальная экспрессия, ДЭГ – дифференциально экспрессирующиеся гены; гипо-М – гипометилированные; гипер-М – гиперметилированные; вкДНК - внеклеточная ДНК; ЭКА - эндотелиальные клетки аорты; AoSMC (aortic smooth muscle cell) гладкомышечные клетки аорты; ДА – диаметр аорты.

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Таблица В1 – Регистрационная карта пациента с аневризмой восходящей аорты

Регистрационная карта пациента №			
История болезни №		Врач:	Дата:
ФИО:			
Пол:	Дата рождения:	Рост:	Вес:
Контактные данные:			
Клинический диагноз:			
Сопутствующие заболевания:			
	Национальность	Место рождения	
Пациент			
Мать			
Бабушка			
Дедушка			
Отец			
Бабушка			
Дедушка			
Состояние:		Наличие у пациента, родственников; возраст диагноза	
Аневризмы:			
Расслоение аорты (тип А, Б)			
Операции на аорте (локализация)			
Аномалии клапанов			
ИБС			
Атеросклероз			
Инфаркт			
Инсульт			
Сердечная недостаточность			
Нарушения ритма			
Курение			
Артериальная гипертензия			
Сахарный диабет (тип)			
Гиперхолестеринемия			
Эктопия хрусталика			
Миопия			
Мышцы (гипотония/гипотрофия)			
Грыжи, пролапсы органов			
Стрии			
Аномальные рубцы			
Частые гематомы			
Тонкая, растяжимая кожа			
Шкала Бейтона			
Шкала Марфана			
Медикаментозное лечение			

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

Таблица Г1 – Морфологические признаки дегенерации меди в различных зонах восходящей аорты у пациентов с аневризмой восходящей аорты

Признак	СТС (n=66)	Туб. часть (n=63)	Прокс. часть дуги (n=62)	p
ДЕГЕНЕРАЦИЯ МЕДИИ	59 (89,4)	60 (95,2)	57 (91,9)	0,466
Интраламеллярное мукоидное набухание, n (%)	54 (81,8)	50 (79,4)	49 (79)	0,916
Степень	27 (40,9)	27 (42,9)	29 (46,8)	0,794
Легкая				
Умеренная	20 (30,3)	19 (30,6)	16 (25,8)	0,819
Тяжелая	7 (10,6)	4 (6,3)	4 (6,5)	0,590
Объем	18 (27,3)	20 (31,7)	21 (33,9)	0,710
Очаговое				
Мультифокальное	26 (39,4)	25 (39,7)	25 (40,3)	0,994
Диффузное	10 (15,2)	5 (7,9)	3 (4,8)	0,121
Трансламеллярное мукоидное набухание, n (%)	28 (42,4)	21 (33,3)	20 (32,2)	0,358
Степень	14 (21,2)	9 (14,3)	12 (19,4)	0,577
Легкая				
Умеренная	6 (9,1)	10 (15,9)	3 (4,8)	0,115
Тяжелая	8	2 (3,2)	5 (8,1)	0,168
Объем	13	9 (14,3)	10 (16,1)	0,704
Очаговое				
Мультифокальное	7	10 (15,9)	7 (11,3)	0,622
Диффузное	8	2 (3,2)	3 (4,8)	0,099
Коллапс эластических мембран, n (%)	5 (7,6)	6 (9,5)	1 (1,6)	0,104
Морфология	3 (4,5)	4 (6,3)	1 (1,6)	0,644
Разреженно				
Плотно	2 (3,0)	2 (3,2)	0 (0)	-
Объем	3 (4,5)	6 (9,5)	1 (1,6)	0,133
Очаговый				
Мультифокальный	1 (1,5)	0 (0)	0 (0)	-
Диффузный	1 (1,5)	0 (0)	0 (0)	-

Продолжение Таблицы Г1

Истончение эластических мембран, п (%)	16 (24,2)	21 (33,3)	23 (37,1)	0,308
Степень				
Легкая	13 (19,7)	13 (20,6)	10 (16,1)	0,794
Умеренная	1 (1,5)	5 (7,9)	8 (12,9)	0,046*
Тяжелая	2 (3,0)	3 (4,8)	5 (8,1)	0,433
Объем				
Очаговое	8 (12,1)	5 (7,9)	7 (11,3)	0,716
Мультифокальное	6 (9,1)	9 (14,3)	9 (14,5)	0,574
Диффузное	2 (3,0)	7 (11,1)	7 (11,3)	0,153
Фрагментация и частичная утрата эластических мембран, п (%)	57 (86,4)	57 (90,5)	51 (82,3)	0,847
Степень				
Легкая	25 (37,9)	30 (47,6)	27 (43,5)	0,532
Умеренная	19 (28,8)	24 (38,1)	16 (25,8)	0,298
Тяжелая	13 (19,7)	3 (4,8)	8 (12,9)	0,038*
Объем				
Очаговая	12 (18,2)	13 (20,6)	11 (17,7)	0,905
Мультифокальная	31 (47,0)	40 (63,5)	30 (48,4)	0,118
Диффузная	14 (21,2)	4 (6,3)	10 (16,1)	0,054
Дезорганизация эластических Ч, п (%)	24 (36,4)	18 (28,6)	18 (29)	0,460
Объем				
Очаговая	11 (16,7)	5 (7,9)	12 (19,4)	0,167
Мультифокальная	8 (12,1)	12 (19,0)	3 (4,8)	0,051
Обширная	5 (7,6)	1 (1,6)	3 (4,8)	0,276
Утрата ядер гладкомышечных клеток, п (%)	21 (31,8)	25 (39,7)	20 (32,3)	0,621
Встречаемость				
Редко	11 (16,7)	13 (20,6)	15 (24,2)	0,572
Часто	10 (15,2)	12 (19,0)	5 (8,1)	0,203
Тип				
Очаговый	10 (15,2)	19 (30,2)	14 (22,6)	0,125
Обширный	11 (16,7)	6 (9,5)	6 (9,7)	0,361

Примечание: СТС – синотубулярное соединение (область корня), Туб. – тубулярный, Прокс. – проксимальный, * - различия статистически значимы при уровне значимости 0,05.

ПРИЛОЖЕНИЕ Д

Таблица Д1 – Редкие генетические варианты, выявленные в генах наследственных аневризм восходящей аорты в настоящем исследовании

Геномные координаты (GRCh38)	Ref	Alt	Ген	Предикция степени патогенности замены	rs ID	MAF (GnomA D)	ID образца	Пол	Возраст	Диаметр ВА (мм по МСКТ)		
										СТС	Туб. часть	Прокс. часть дуги
chr2:189003007	A	T	<i>COL3A1</i>	VUS	-	-	54	муж	48	45	50	35
chr15:48415746	G	A	<i>FBN1</i>	VUS	-	-						
chr7:101212888	C	T	<i>PLOD3</i>	VUS	rs1041461490	1,3E-05						
chr5:128527886	G	A	<i>FBN2</i>	Доброкачественная	rs147157552	0,0012	27	муж	74	44	52	44
chr9:136523963	C	T	<i>NOTCH1</i>	Доброкачественная	rs757497167	3,97E-05						
chr9:134700009	G	T	<i>COL5A1</i>	Доброкачественная	rs145178917	0,0037						
chr16:15717308	G	A	<i>MYH11</i>	Доброкачественная	rs201960644	0,0006	55	жен	74	37	52	35
chr7:74063312	G	A	<i>ELN</i>	Доброкачественная	rs150404125	0,0011						
chr16:15719674	G	A	<i>MYH11</i>	VUS	rs768569707	5,17E-05	43	муж	72	41	69	48
chr14:75971659	A	C	<i>TGFB3</i>	Доброкачественная	rs201453600	0,0001						
chr3:123700244	A	G	<i>MYLK</i>	Доброкачественная	-	-	23	муж	50	46	50	36
chr3:123700257	C	T	<i>MYLK</i>	Доброкачественная	rs752986671	1,99E-05						
chr3:123739976	C	A	<i>MYLK</i>	Доброкачественная	rs140148380	0,0018	40	муж	59	40	49	41
chr5:83539770	T	C	<i>VCAN</i>	Доброкачественная	rs146630369	0,0007						
chr21:45476433	C	T	<i>COL18A1</i>	Вероятно доброкачественная	-	-	7	жен	77	40,4	52,6	45
chr3:30623222	G	A	<i>TGFBR2</i>	Доброкачественная	rs61732532	0,0014						

Продолжение Таблицы Д1

Геномные координаты (GRCh38)	Ref	Alt	Ген	Предикция степени патогенности замены	rs ID	MAF (GnomA D)	ID образца	Пол	Возраст	Диаметр ВА (мм по МСКТ)		
										СТС	Туб. часть	Прокс. часть дуги
chr5:122077510	G	T	LOX	Доброкачественная	rs41407546	0,0057	48	муж	52	35	47	36
chr21:45456740	G	A	COL18A1	Доброкачественная	rs141363853	0,0036						
chr11:65871991	G	A	EFEMP2	Доброкачественная	rs144320036	0,001	14	жен	51	44,6	52,7	36
chr15:73322516	C	G	HCN4	Доброкачественная	rs200507617	0,0007						
chrX:108582900	C	G	COL4A5	VUS	-	5,46E-06	13	муж	58	70	45	45
chr1:11944569	C	T	PLOD1	Доброкачественная	rs75220940	0,0047						
chr9:136518726	C	T	NOTCH1	VUS	-	-	36	жен	67	36	62	45
chr19:8601022	C	T	ADAMTS10	Доброкачественная	rs144166844	0,0006	36	жен	67	36	62	45
chr1:102962756	G	T	COL11A1	Вероятно доброкачественная	rs78046647	0,0017	37	муж	29	44,9	53	34,3
chr20:62475514	T	C	GATA5	Доброкачественная	rs113068438	0,0058						
chr21:45456333	T	C	COL18A1	Вероятно доброкачественная	-	-	53	жен	38	37	49	43
chr20:10641566	C	T	JAG1	Доброкачественная	rs145895196	0,0019						
chr4:88067937	A	C	PKD2	Доброкачественная	rs2234917	0,0049	49	муж	61	42	55	35
chr4:88008136	G	A	PKD2	Доброкачественная	rs886059697	0,0001	42	муж	51	59,3	44,8	36,6
chr1:218346973	G	A	TGFB2	Доброкачественная	rs10482721	0,004	29	муж	67	43	51	36
chr11:65871247	C	T	EFEMP2	Доброкачественная	rs2234462	0,0032	32	жен	54	51	61	38

Продолжение Таблицы Д1

Геномные координаты (GRCh38)	Ref	Alt	Ген	Предикция степени патогенности замены	rs ID	MAF (GnomAD)	ID образца	Пол	Возраст	Диаметр ВА (мм по МСКТ)		
										СТС	Туб. часть	Прокс. часть дуги
chr1:102888579	G	C	COL11A1	Доброкачественная	rs139064549	0,0086	39	жен	48	40	53	39,5
chrX:154359007	T	C	FLNA	Доброкачественная	rs200130356	0,001	30	муж	49	54,5	51,9	38,1
chr21:45456848	G	A	COL18A1	Доброкачественная	rs545040488	0,0026	26	муж	37	50	54,8	40
chr21:45456302	C	T	COL18A1	Вероятно доброкачественная	rs561076797	3,24E-05	44	муж	60	38,2	53	41
chr9:134817038	C	T	COL5A1	Доброкачественная	rs61739195	0,0075	38	жен	44	39	52	41
chr9:134809214	G	A	COL5A1	Вероятно доброкачественная	rs759580799	5,94E-05	9	муж	48	58,5	79	34,4
chr9:134750815	C	T	COL5A1	Доброкачественная	rs369000939	3,6E-05	50	жен	74	38	51	39
chr1:40315652	C	T	COL9A2	Доброкачественная	rs193238892	0,0001	22	муж	48	39,8	51,2	26,2
chr20:10640917	C	T	JAG1	Доброкачественная	rs376089631	2,39E-05	20	муж	62	35	47	36
chr15:66703431	C	G	SMAD6	Доброкачественная	rs756752655	0,0004	23, 30	См. выше	См. выше	См. выше	См. выше	См. выше
chr17:50188134	C	T	COL1A1	Доброкачественная	rs1800215	-	37, 39	См. выше	См. выше	См. выше	См. выше	См. выше
chr21:45509458	G	A	COL18A1	Доброкачественная	rs113268527	0,0066	9, 32, 44	См. выше	См. выше	См. выше	См. выше	См. выше

Продолжение Таблицы Д1

Геномные координаты (GRCh38)	Ref	Alt	Ген	Предикция степени патогенности замены	rs ID	MAF (GnomAD)	ID образца	Пол	Возраст	Диаметр ВА (мм по МСКТ)		
										СТС	Туб. часть	Прокс. часть дуги
chr19:8605046	C	G	ADAMTS10	Доброкачественная	rs7255721	-	4	муж	46	39,6	52	40,4
							8	муж	32	31	45	46
							17	муж	68	40	42	44
							21	муж	64	65,4	43,4	41,1
							28	муж	58	47,8	70,7	41,1
							41	жен	52	41	45	34
							14, 20, 23, 26, 29, 32, 35, 37, 42, 48, 49, 53	См. выше	См. выше	См. выше	См. выше	См. выше

Примечание: Alt – альтернативный аллель, GnomAD – база данных генетических вариантов (<https://gnomad.broadinstitute.org/>), MAF – частота минорного аллеля (для европеоидных популяций), Ref – референсный аллель, VUS – вариант неопределенного клинического значения, ВА – восходящая аорта, жен – женщина, МСКТ – мультиспиральная компьютерная томография, муж – мужчина, СТС – синотубулярное соединение (область корня), Туб. – тубулярный, Прокс. – проксимальный.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю, доктору медицинских наук, руководителю лаборатории популяционной генетики НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ Марии Сергеевне Назаренко за неоценимую поддержку и веру, всестороннее руководство, проявленное терпение и понимание на протяжении всей работы над диссертацией.

Благодарю своего научного куратора – научного сотрудника лаборатории популяционной генетики НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, кандидата биологических наук, Гончарову Ирину Александровну за возможность реализации диссертационного исследования, идеи, ценные советы и поддержку.

Автор благодарит научный коллектив лаборатории популяционной генетики за помощь в освоении методик, проведении экспериментов, интерпретации полученных результатов, а также обмен идеями и конструктивную критику. Автор выражает признательность научным сотрудникам НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ за внимание, оказанное данной научной работе, в том числе за участие в обсуждении диссертационной работы на заседаниях ученого совета.

Автор благодарит сотрудников отделения сердечно-сосудистой хирургии НИИ кардиологии Томского за помощь в обследовании пациентов и сборе биологического материала для выполнения данного исследования. За помощь в проведении гистологического исследования, а также обучение основным гистологическим навыкам и рецензию работы автор выражает благодарность коллективу кафедры морфологии и общей патологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России.

Автор сердечно благодарит свою семью за их мудрые советы, заботу, терпение и безграничную поддержку.