

## КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

©Коллектив авторов

### ЭКСПРЕССИЯ ОСТЕОПРОТЕГЕРИНА И РАСТВОРИМОГО ЛИГАНДА РЕЦЕПТОРА АКТИВАТОРА ФАКТОРА ТРАНСКРИПЦИИ КАППА-В ПРИ КАЛЬЦИФИКАЦИИ АОРТАЛЬНОГО КЛАПАНА

**И.В. Воронкина<sup>1\*</sup>, О.Б. Иртюга<sup>2</sup>, Л.В. Смагина<sup>1</sup>, П.Е. Адамова<sup>3</sup>, Е.В. Жидулева<sup>2</sup>,  
А.Б. Малашичева<sup>2</sup>, Ю.С. Сибгатуллина<sup>2</sup>, Л.П. Круз<sup>4</sup>, М.Л. Гордеев<sup>2</sup>, О.М. Мусеева<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Институт цитологии РАН,

194064, Санкт-Петербург, Тихорецкий проспект, 4; \*эл. почта: voron@incras.ru

<sup>2</sup>Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова (НМИЦ),  
197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2

<sup>3</sup>Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет),  
190013, Санкт-Петербург, Московский пр., 26

<sup>4</sup>Медицинский факультет СПбГУ, 199106, Санкт-Петербург, 22-я линия В. О., д. 7

Механизм кальцификации клапана, являющийся основной причиной формирования и последующего прогрессирования аортального стеноза (АС), пока не ясен. В последние годы одним из возможных вариантов патогенеза кальцификации аортального клапана рассматривают роль системы ОПГ/RANKL/RANK. В представленной работе проведено изучение различий в уровнях ОПГ и sRANKL, участвующих в процессах кальцификации в тканях пациентов с тяжёлым АС. Данное исследование проведено как у пациентов с АС, так и у пациентов с дилатацией аорты и сочетанием этих двух заболеваний. Повышенная экспрессия RANKL была выявлена у пациентов с АС; при этом она была выше в клапане, чем в ткани аорты. У пациентов с дилатацией аорты была выявлена отрицательная корреляционная связь между дилатацией аорты и RANKL. Результаты настоящего исследования подтверждают значение системы ОПГ/RANKL/RANK в кальцификации у пациентов с АС. Однако на фоне сопоставимых значений ОПГ в сравниваемых подгруппах, в том числе у пациентов с дилатацией аорты, повышение RANKL отмечалось только у пациентов с АС, что указывает на существование дополнительных механизмов, влияющих на увеличение экспрессии RANKL.

**Ключевые слова:** аортальный стеноз; кальцификация аортального клапана; система ОПГ/RANKL/RANK

**DOI:** 10.18097/PBMC20196501057

## ВВЕДЕНИЕ

Аортальный стеноз (АС) – одна из ключевых проблем современной кардиологии. Однако, до сих пор основным методом диагностики, способным выявлять АС, а также способным оценивать динамику течения заболевания, является эхокардиографическое исследование. Несмотря на многочисленные проводимые исследования по патогенезу АС, до сих пор остается много вопросов об истинном механизме кальцификации клапана, являющейся основной причиной формирования и последующего прогрессирования АС. Одним из возможных механизмов в последние годы всё чаще обсуждается роль системы ОПГ/RANKL/RANK. ОПГ (остеопротегерин) является гликопротеином и относится к семейству рецепторов фактора некроза опухоли альфа (TNF- $\alpha$ ) [1, 2]. По данным литературы, роль ОПГ состоит в регулировании резорбции кости остеокластами, которая реализуется после связывания молекулы ОПГ со специфическим мембранным рецептором, необходимым для последующей активации RANKL (receptor for receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B-ligand – рецепторный лиганд ядерного фактора транскрипции каппа В) и TRAIL (tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing

ligand – TNG- $\alpha$ -зависимый лиганд, индуцирующий апоптоз) [1]. RANKL экспрессируется *in vivo* на поверхности клеточных мембран остеобластов, стромальных клеток, Т-лимфоцитов; он необходим для активации RANK (receptor for receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B) [3]. Результатом взаимодействия RANKL с RANK является активация внутриклеточного ядерного фактора транскрипции  $\kappa$ B с помощью деградации I $\kappa$ B-протеина специфической I $\kappa$ B-киназой. Этот процесс приводит в конечном итоге к дифференциации остеокластов [4]. ОПГ выступает в качестве субстрата для RANKL, конкурируя с RANK, и таким образом ингибирует их взаимодействие [5]. Кроме того установлено, что ОПГ/RANKL/RANK принимают активное участие в регулировании ангиогенеза и неоваскуляризации [6]. Установлено, что ОПГ является одним из важнейших регуляторов депонирования кальция в стенке сосудов, опосредуя повышение их жёсткости и ригидности [5]. Ранее на изменениях концентрации ОПГ и sRANKL в сыворотке крови у пациентов с аортальным стенозом различной степени тяжести нами уже было продемонстрировано, что система ОПГ/RANKL/RANK является важной для развития патологии сосудов, в частности, при развитии аортального стеноза [7].

*Принятые сокращения:* АГ – артериальная гипертензия, АО – аневризма аорты, АС – аортальный стеноз, ИБС – ишемическая болезнь сердца, ОПГ – остеопротегерин, RANKL – лиганд рецептора активатора фактора транскрипции каппа-В.

\* - адресат для переписки

Представленная работа посвящена выявлению различий в экспрессии ОПГ и sRANKL, участвующих в процессах кальцификации в тканях пациентов с тяжелым аортальным стенозом.

## МЕТОДИКА

Отбор и включение пациентов в исследование, забор биоматериала проводили на базе НМИЦ имени В.А. Алмазова. Анализ биоматериала проводили на базе Института цитологии РАН.

Пациенты с инфекционным эндокардитом, ревматической болезнью сердца в исследование не включались. Этиология поражения аорты и аортального клапана была верифицирована в процессе интраоперационного гистологического исследования. Основную группу составили пациенты с тяжёлым АС, группой сравнения служили пациенты с аневризмой аорты. Таким образом, все пациенты были разделены на 3 группы: первую группу составили пациенты с АС, вторую группу (группу сравнения) – пациенты с аневризмой аорты (АО) и третью группу – пациенты с АС и дилатацией аорты. Тяжесть АС и диаметр аорты оценивали в предоперационном периоде по стандартному протоколу трансторакального эхокардиографического исследования на аппарате Vivid 7 (“GE”, США) согласно Европейским/Американским рекомендациям по эхокардиографии [8, 9].

Клинико-демографическая характеристика групп приведена в таблице.

### Отбор проб тканей клапана, аорты и хранение

Объектом исследования у пациентов были образцы створки клапана и у части из них образцы аневризматически расширенной восходящей аорты. Образцы ткани были взяты у 62 пациентов, в том числе 33 пациентов с тяжёлым АС (группа 1), 11 пациентов с аневризмой аорты (группа 2) и у 18 пациентов с аортальным стенозом и дилатацией

аорты (группа 3). Биопсийный материал у пациентов забирали интраоперационно и помещали в жидкий азот до проведения исследования.

### Подготовка проб

Перед исследованием фрагменты аорты и створок клапана размером 0,5×0,5 см размораживали, промывали в ледяном TBS (трис-буфер: 0,15 M NaCl, 0,05 M трис-HCl, pH 7,4, с добавлением 0,01% азид натрия), гомогенизировали в 250 мкл этого же буфера и центрифугировали 15 мин при 10000 g. Супернатант немедленно использовали для анализа. Содержание белка в супернатанте для стандартизации проб определяли методом Bradford [10].

### Электрофорез и иммуноблоттинг

Содержание ОПГ, RANKL в гомогенатах ткани аортального клапана и аорты определяли способом иммуноблоттинга. Подготовку проб проводили по способу Laemmli [11]. Электрофорез проводили на 10% ПААГ, пробы наносили в количестве, соответствующем 20 мкг белка на дорожку. После проведения электрофореза белки переносили на нитроцеллюлозную мембрану, промывали раствором TBS, и блокировали неспецифическое связывание 5% раствором обезжиренного молока. Затем мембрану инкубировали в течение ночи с первыми антителами (разведение согласно рекомендациям производителей) при 4°C. Далее мембрану промывали TBS, инкубировали с соответствующими вторыми антителами, конъюгированными со щелочной фосфатазой, в течение 45 мин при комнатной температуре, после чего окрашенные полосы выявляли с помощью субстрата BCIP/NBT (5-бromo-4-хлоро-3-индолфосфатаза/нитросиний тетразолий (БХИФ/НСТ)) (“Sigma”, Германия). После проявления мембрану промывали и сканировали для дальнейшей обработки изображения. В качестве первых антител использовали моноклональные антитела к остеопрогерину

Таблица. Клиническая характеристика пациентов

Показатель	АО (2 группа)	АС (1 группа)	АО+АС (3 группа)	p	Значимые различия
Возраст, лет	59 (50; 60)	59 (53; 64)	59,5 (50,5; 64)	0,43	
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	27,1 (23,1; 30,8)	29,8 (26,0; 35,1)	27,7 (24,1; 31,4)	0,15	
Пол (муж.), n(%)	9 (82)	15(46)	14 (78)	0,02	
Курение, n(%)	4 (36)	12(38)	5(28)	0,78	
АГ, n(%)	10 (91)	30 (91)	13(72)	0,16	
ИБС, n(%)	2 (18)	31(97)	7(39)	<0,0001	1 vs 2; 1 vs 3; 2 vs 3
Диаметр восходящего отдела аорты, мм	50 (49; 56)	37 (34; 42)	50,5 (46; 54)	<0,0001	1 vs 2; 1 vs 3
Максимальный градиент на АК, мм.рт.ст	15,9 (15,0; 18,0)	80,0 (69,6; 101)	76,5 (61,0; 90,0)	<0,0001	1 vs 2; 2 vs 3

Примечание: ИМТ – индекс массы тела, АГ – артериальная гипертензия, ИБС – ишемическая болезнь сердца.

(98A1071, “Thermo Fisher Scientific”, США) и моноклональные антитела к RANKL (sc-377079, “Santa Cruz Biotechnology”, США).

#### Статистическая обработка

Для проведения количественного анализа гели и мембраны сканировали, полученные изображения обрабатывали с помощью программы QuantiScan, вер. 3.1. Результаты денситометрии представляли в виде гистограмм. Содержание ОПГ и RANKL выражали в условных единицах, принятых в программе QuantiScan (произведение количества окрашенных пикселей на интенсивность окраски пикселей). Статистическая обработка данных проведена с использованием статистического пакета STATISTICA 10 (“StatSoft Inc.”, США). Поскольку распределение практически всех количественных показателей оказалось далёким от нормального, характеристики подгрупп представлены в виде медианы Me и квартилей (25 и 75 процентиля). Учитывая принцип Бонферрони, при наличии множества сравнений различия считали статистически значимыми при  $p \leq 0,01$ . Для выявления различий между подгруппами по количественным показателям использовали непараметрические критерии Манна-Уитни и Крускала-Уоллеса. Для качественных показателей использовался метод хи-квадрат и точный критерий Фишера. Для оценки корреляций между количественными показателями использовался коэффициент корреляции Спирмена.

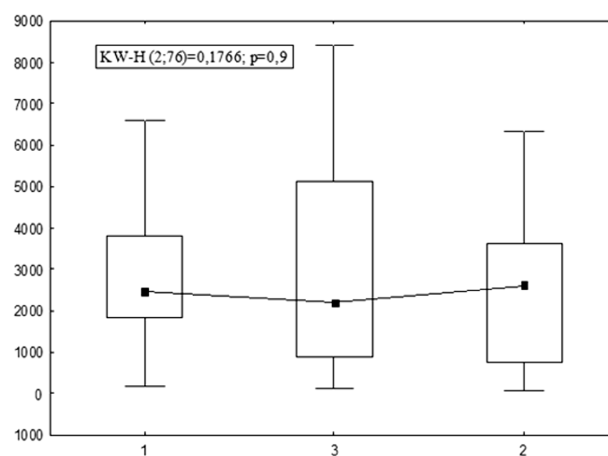
#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Пациенты в анализируемых группах были сопоставимы по полу, возрасту (таблица). Медиана возраста в группах составила 59 лет, что соответствует общемировым данным времени оперативного лечения пациентов как с аортальным стенозом, так и с дилатацией аорты [12, 13]. В анамнезе у подавляющего числа пациентов во всех группах присутствовала артериальная гипертензия (АГ), в 91% случаев у пациентов с АС (1 группа) и АО (2 группа) и в 72% случаях у пациентов группы 3. Каждый третий пациент во всех группах курил. Среди пациентов процент с ожирением был достаточно значимым; у 40% пациентов ИМТ был выше 30 кг/м<sup>2</sup>, но по ИМТ пациенты в группах значимо не отличались. АГ, курение и ожирение являются известными факторами риска АС и АО [14, 15].

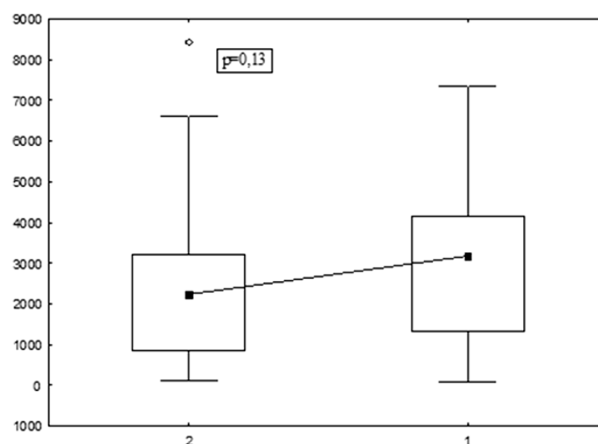
Обращало на себя внимание превалирование ишемической болезни сердца (ИБС), которая регистрировалась у 97% пациентов с АС и в меньшей степени – у пациентов с дилатацией аорты; лишь у 18% была подтверждена ИБС перед оперативным лечением. Более частая регистрация ИБС у пациентов с АС свидетельствует об общности не только факторов риска, но и патогенеза данных заболеваний, а именно первой стадии воспаления, что ранее было продемонстрировано многочисленными исследованиями [16-18]. Кроме того, пациенты значимо отличались по диаметру аорты в восходящем отделе и по максимальному градиенту на АК,

так как именно эти показатели являлись определяющими для разделения по группам.

Результаты многочисленных исследований сосудистой кальцификации противоречивы, до сих пор нет единого мнения о роли ОПГ: препятствует он или запускает механизм кальцификации или обладает двойным действием [19-22]. Ранее было продемонстрировано, что ОПГ может играть моделирующую роль в воспалении, атеросклерозе, кальцинозе [23]. На животных моделях было показано, что ОПГ является важным ингибитором остеокластогенеза и кальцификации артерий [24, 25]. Предполагают, что ОПГ опосредованно через RANKL-зависимую активацию экспрессии морфогенетического белка кости приводит к формированию специфического остеогенного фенотипа, оказывающего пролиферативный эффект в отношении гладкомышечных клеток сосудистой стенки [26, 27]. По результатам настоящего исследования уровень ОПГ был сопоставим как в тканях, так и в клапане во всех анализируемых группах (рис. 1, 2). Возможно, одной из причин



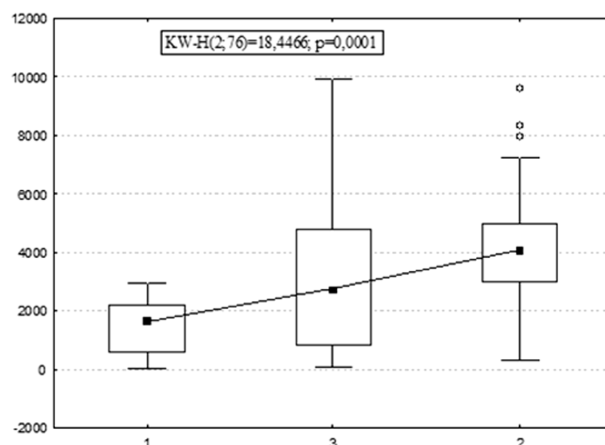
**Рисунок 1.** Уровень ОПГ в анализируемых группах пациентов. Ось ординат – уровень ОПГ, условные единицы; ось абсцисс – группы пациентов, 1 – пациенты с аневризмой аорты, 2 – пациенты с аортальным стенозом, 3 – пациенты с дилатацией аорты и аортальным стенозом.



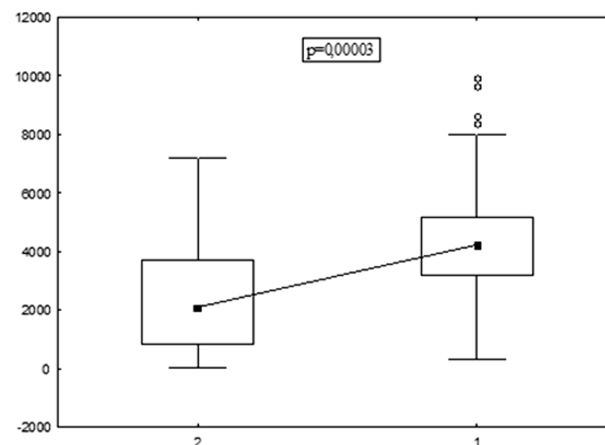
**Рисунок 2.** Уровень ОПГ в аортальном клапане и аорте. Ось ординат – уровень ОПГ, условные единицы; 1 – аортальный клапан, 2 – аорта.

является сопоставимость по полу в настоящем исследовании, во всех группах преобладали мужчины (таблица). Некоторые исследователи выявили более высокий уровень ОПГ у женщин [23]. Кроме того, считают, что ОПГ экспрессируется в стенке артерий и в физиологических условиях, тогда как RANKL, RANK и остеокласты обнаруживают исключительно при кальцификации меди [5]. Однако в настоящем исследовании мы обнаружили RANKL во всех исследуемых группах, в том числе и у пациентов с изолированной аневризмой аорты, без АС. По результатам анализа гистологического материала у этих пациентов был отмечен либо начальный кальциноз, либо атеросклероз. У пациентов с аортальным стенозом уровень RANKL был ожидаемо значимо выше (рис. 3). Кроме того, уровень RANKL был выше в клапане, чем в ткани (рис. 4). Отрицательная корреляционная связь между дилатацией аорты и RANKL является дополнительным подтверждением отсутствия влияния RANKL на патогенез дилатации аорты (рис. 5). Учитывая одинаковую концентрацию ОПГ, который является ингибитором RANKL, полученные данные подтверждают повышенную экспрессию RANKL у пациентов с кальцинозом АК. В остеоцитах повышенная экспрессия RANKL лимфоцитами и макрофагами стимулируется различными цитокинами, гормонами, такими как паратиреоидный гормон, эстрогены и 1,25-дигидроксивитамин D [23]. Какие механизмы участвуют в повышении экспрессии RANKL у пациентов с АС, к настоящему времени неизвестно.

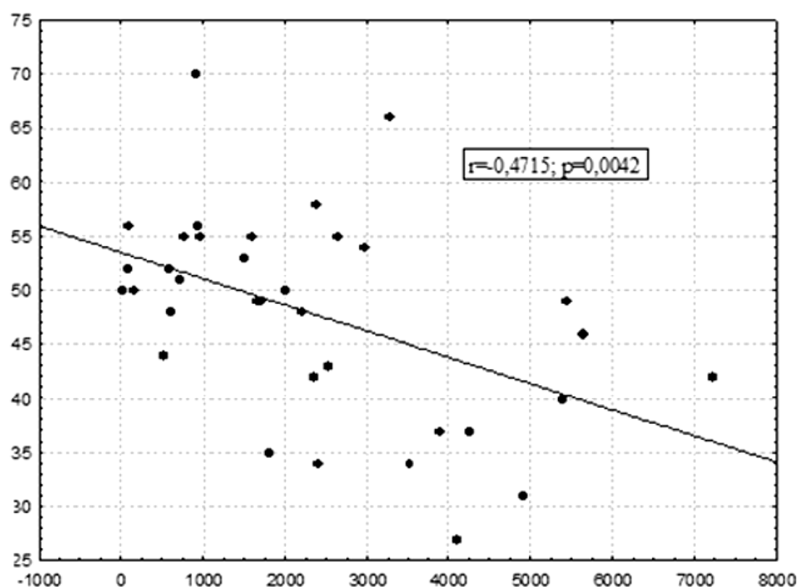
Точный характер связи между костным метаболизмом, сосудистой кальцификацией и сердечно-сосудистыми заболеваниями в значительной степени неизвестен, но накапливающиеся данные свидетельствуют о том, что триада ОПГ/RANKL/RANK может иметь важное значение для начала различных заболеваний.



**Рисунок 3.** Уровень RANKL в анализируемых группах пациентов. Ось ординат – уровень RANKL, условные единицы; ось абсцисс – группы пациентов, 1 – пациенты с аневризмой аорты, 2 – пациенты с аортальным стенозом, 3 – пациенты с дилатацией аорты и аортальным стенозом.



**Рисунок 4.** Уровень RANKL в аортальном клапане и аорте. Ось ординат – уровень RANKL, условные единицы; 1 – аортальный клапан, 2 – аорта.



**Рисунок 5.** Взаимосвязь концентрации RANKL и диаметра восходящего отдела аорты. Ось абсцисс – уровень RANKL, условные единицы; ось ординат – диаметр восходящего отдела аорты, мм.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Результаты настоящего исследования подтверждают значение системы ОПГ/RANKL/RANK в кальцификации у пациентов с АС. Однако на фоне сопоставимых значений ОПГ в сравниваемых подгруппах повышение RANKL отмечалось только у пациентов с АС, что говорит о дополнительных механизмах, влияющих на увеличение экспрессии RANKL. Следует отметить, что у настоящего исследования существует два значительных ограничения: во-первых, небольшое количество пациентов в группах, что требует дальнейшего подтверждения полученных результатов на большей группе пациентов и, во-вторых – отсутствие группы сравнения аортальных клапанов без кальциноза.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 18-015-00016).

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Протокол исследования был одобрен Этическим комитетом НМИЦ им. В.А. Алмазова. До включения в исследование у всех участников было получено письменное информированное согласие.

## ЛИТЕРАТУРА

- Hofbauer L.C., Schoppert M. (2004) *Jama*, **292**(4), 490-495. DOI:10.1001/jama.292.4.49.
- Kiechl S., Schett G., Wenning G., Redlic K., Oberhollenzer M., Mayr A., Santer P., Smolen J., Poewe W., Willeit J. (2004) *Circulation*, **109**(18), 2175-2180.
- Kong Y.Y., Yoshida H., Sarosi I., Tan H.L., Timm E., Capparelli C., Moron S., Oliveira-dos-Santos A.J., Van G., Itie A., Khoo W., Wakeman A., Dunstan C.R., Lacey D.L., Mak T.W., Boyle W.J., Penninger J.M. (1999) *Nature*, **397**(6717), 315-323. DOI: 10.1038/16852.
- Gilmore T.D. (2006) *Oncogene*, **25**(51), 6680-6684. DOI: 10.1038/sj.onc.1209954
- Collin-Osdoby P. (2004) *Circulation Res.*, **95**(11), 1046-1057.
- Montecucco F., Steffens S., Mach F. (2007) *Clin. Develop. Immunol.*, **2007**, 75805. DOI: 10.1155/2007/75805.
- Иртюга О.Б., Жидулева Е.В., Муртазалиева П.М., Сибгатуллина Ю.С., Крук Л.П., Солнцев В.Н., Шишкова А.А., Малашичева А.Б., Мусеева О.М. (2018) *Российский кардиологический журнал*, **2**, 39-43. DOI: 10.15829/1560-4071-2018-2-39-43.
- Baumgartner H., Hung J., Bermejo J., Chambers J.B., Evangelista A., Griffin B.P., Jung B., Otto C.M., Pellikka P.A., Quiñones M. (2009) *J. Am. Soc. Echocardiogr.*, **22**(1), 1-23. DOI: 10.1016/j.echo.2008.11.029.
- Hiratzka L.F., Bakris G.L., Beckman J.A., Bersin R.M., Carr V.F., Casey D.E., Eagle K.A., Hermann L.K., Isselbacher E.M., Kazerooni E.A., Kouchoukos N.T., Lytle B.W., Milewicz D.M., Reich D.L., Sen S., Shinn J.A., Svensson L.G., Williams D.M. (2010) *J. Am. Coll. Cardiol.*, **55**(14), e27-e129. DOI: 10.1016/j.jacc.2010.02.0151.
- Bradford M.M. (1976) *Anal. Biochem.*, **72**, 248-254.
- Laemmli U.K. (1970) *Nature*, **227**(5259), 680-685.
- Fritze O., Romero B., Schleicher M., Jacob M.P., Oh D.Y., Starcher B., Schenke-Layland K., Bujan J., Stock U.A. (2012) *J. Vasc. Res.*, **49**(1), 77-86. DOI: 10.1159/000331278.
- Thaden J.J., Nkomo V.T., Enriquez-Sarano M. (2014) *Prog. Cardiovasc. Dis.*, **56**(6), 565-571. DOI: 10.1016/j.pcad.2014.02.006.
- Stewart B.F., Siscovick D., Lind B.K., Gardin J.M., Gottdiener J.S., Smith V.E., Kitzman D.W., Otto C.M. (1997) *J. Am. Coll. Cardiol.*, **29**(3), 630-634.
- Ljungberg J., Johansson B., Engström K.G., Albertsson E., Holmer P., Norberg M., Bergdahl I.A., Söderberg S. (2017) *J. Am. Heart. Assoc.*, **6**(5), pii: e005133. DOI: 10.1161/JAHA.116.005133.
- Peter M., Hoffmann A., Parker C., Luscher T., Burckhardt D. (1993) *Chest*, **103**(6), 1715-1719.
- Boudoulas K.D., Wolfe B., Ravi Y., Lilly S., Nagaraja H.N., Sai-Sudhakar C.B. (2015) *J. Cardiol.*, **65**(5), 377-382. DOI: 10.1016/j.jcc.2014.12.021.
- Parisi V., Leosco D., Ferro G., Bevilacqua A., Pagano G., de Lucia C., Perrone Filardi P., Caruso A., Rengo G., Ferrara N. (2015) *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, **25**(6), 519-525. DOI: 10.1016/j.numecd.2015.02.001.
- Jono S., Ikari Y., Shioi A., Mori K., Miki T., Hara K., Nishizawa Y. (2002) *Circulation*, **106**(10), 1192-1194.
- Van Campenhout A., Golledge J. (2009) *Atherosclerosis*, **204**(2), 321-329. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2008.09.033.
- Danielsen R., Sigvaldason H., Thorgeirsson G., Sigfusson N. (1996) *J. Clin. Epidemiol.*, **49**(3), 383-387.
- McIntyre C.W., Taal M.W. (2004) *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, **13**(6), 637-640.
- Rochette L., Meloux A., Rigal E., Zeller M., Cottin Y., Vergely C. (2018) *Pharmacol. Ther.*, **182**, 115-132. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2017.08.015.
- Bucay N., Sarosi I., Dunstan C.R., Morony S., Tarpley J., Capparelli C., Scully S., Ta H.L., Lacey D.L., Boyle W.L., Simonet W.S. (1998) *Genes Dev.*, **12**(9), 1260-1268.
- Oh K.W., Yun E.J., Rhee E.J., Lee W.Y., Baek K.H., Yoon K.H., Kang M.I., Oh E.S. et al (2006) *Korean J. Med.*, **70**(1), 41-52.
- Dhore C.R., Cleutjens J., Lutgens E., Cleutjens K., Geusens P., Kitslaar J., Tordoir J., Spronk H., Vermeer C., Daemen M. (2001) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **21**(2), 1998-2003.
- Panizo S., Cardus A., Encinas M., Parisi E., Valcheva P., Lopez-Ongil S., Fernandez E., Valdivielaso J. (2009) *Circ. Res.*, **104**(9), 1041-1048. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.108.189001.

Поступила в редакцию: 14. 08. 2018.  
После доработки: 05. 12. 2018.  
Принята к печати: 07. 12. 2018.

EXPRESSION OF OSTEOPROTEGERIN AND SOLUBLE LIGAND OF RECEPTOR  
OF KAPPA-B TRANSCRIPTION FACTOR ACTIVATOR IN THE CALCIFICATION OF AORTIC VALVE

*I.V. Voronkina<sup>1\*</sup>, O.B. Irtiyuga<sup>2</sup>, L.V. Smagina<sup>1</sup>, P.E. Adamova<sup>3</sup>, E.V. Zhiduleva<sup>2</sup>,  
A.B. Malashicheva<sup>2</sup>, Y.S. Sibagatullina<sup>2</sup>, L.P. Kruk<sup>4</sup>, M.L. Gordeev<sup>2</sup>, O.M. Moiseeva<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Institute of Cytology RAS, 4 Tikhoretskiy ave, St. Petersburg, 194064 Russia; \*e-mail: voron@incras.ru

<sup>2</sup>Almazov National Medical Research Centre, 2 Akkuratova str., St. Petersburg, 197341 Russia

<sup>3</sup>St-Petersburg State Institute of Technology, 26 Moscow ave., St. Petersburg, 190013 Russia

<sup>4</sup>Faculty of Medicine, St. Petersburg State University, 7, 22th line V.O., St. Petersburg, 199106

The mechanism of valve calcification that is the main cause of aortic stenosis formation and progression is not yet clear. In recent years, the role of the OPG/RANKL/RANK system is considered as one of possible variants of pathogenesis of valve calcification. In presented work the differences in OPG and sRANKL levels involved in the calcification processes in tissues of patients with severe aortic stenosis have been examined. The study was performed using three groups of patients: group 1 – patients with aortic stenosis, group 2 – patients with aortic aneurysm, and group 3 – patients with aortic stenosis and aortic dilatation. In patients with aortic stenosis, the level of RANKL was significantly higher, and the level of RANKL was higher in valve than in tissue. The negative correlation between aortic dilatation and RANKL level indicated the lack of RANKL influence on pathogenesis of aortic dilatation. The obtained data confirm the increased expression of RANKL in patients with aortic valve calcification. The results of this study confirm importance of the OPG/RANKL/RANK system in calcification in patients with aortic stenosis. Although patients of all groups had comparable values of OPG (including patients with aortic dilatation), the RANKL level increased only in patients with aortic stenosis. This suggest involvement of some additional mechanisms influencing the increase of RANKL expression.

**Key words:** aortic stenosis; aortic valve calcification; OPG/RANKL/RANK system