

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА CLINICAL MEDICINE



УДК 576.08

DOI:10.18413/2313-8955-2018-4-4-0-7

И.И. Болотов

Влияние пептида KED на экспрессию коннексина и сиртуина при атеросклерозе и рестенозе у людей пожилого возраста

Автономная научная некоммерческая организация высшего образования научно-исследовательский центр «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», пр. Динамо, д. 23, г. Санкт-Петербург, 197110, Российская Федерация
Автор для переписки: И.И. Болотов (i.bolotov26@yandex.ru)

Информация для цитирования: Болотов И.И. Влияние пептида KED на экспрессию коннексина и сиртуина при атеросклерозе и рестенозе у людей пожилого возраста // Научные результаты биомедицинских исследований. 2018. Т. 4, N 4. С. 60-68. [Bolotov II. Effects of KED peptide on connexin and sirutin expression in atherosclerosis and restinosis in elderly people. Research Results in Biomedicine. 2018;4(4):60-68 (In Russian)]. DOI: 10.18413/2313-8955-2018-4-4-0-7

Аннотация

Актуальность: Несмотря на широкий спектр применения пептида KED, молекулярные механизмы все еще находятся в стадии изучения. **Цель исследования:** Изучить влияние пептида KED на экспрессию коннексина и сиртуина при атеросклерозе и рестенозе у людей пожилого возраста. **Материалы и методы:** Для исследования использовали культуры клеток полученные из аорты без признаков патологии, а также из аорты с признаками атеросклеротического поражения, аорты человека при рестенозе. Первичное выделение культуры проводили на чашках Петри (Sarstedt), с фибриногеновым покрытием (Gibco), далее, культивировали клетки во флаконах объемом 50 мл (Sarstedt 25 см²). Выращивание клеток проводили в культуральной среде во флаконе (5 мл) и в чашке Петри, диаметром 3,5 см (3 мл), а также в 1 мл на лунку 24-луночного планшета. В работе использовали стерильный раствор пептида KED в концентрации 100 мкг на 1 мл. Иммуноцитохимическое исследование проводили и использованием первичных моноклональных антител Connexin 37 (Dako, USA) и Sirtuin (Sirt) – 1 (Abcam, UK). Для оценки результатов иммуноцитохимического окрашивания использовали морфометрический метод – систему компьютерного анализа микроскопических изображений, включающую микроскоп Olympus BX40. **Результаты:** Экспрессия Connexin37 в культуре эндотелия, взятого у пациента пожилого возраста, при атеросклерозе была снижена в 3.6 раза, а при стенозе – в 6,2 раза по сравнению с нормой. Пептид KED способствовал повышению в 1,6 раза экспрессии Connexin 37 в культурах эндотелиоцитов, пораженных атеросклерозом и в 2,3 раза в культурах, пораженных рестенозом. Экспрессия Sirt1 в эндотелии при атеросклерозе и рестенозе была в 2 раза ниже по сравнению с нормой. Пептид KED способствовал повышению в 1,5 раза экспрессии Sirt1 в культурах эндотелиоцитов, пораженных атеросклерозом и рестенозом. **Заключение:** Высокие уровни Endothelin1 в плазме крови

наблюдаются при атеросклерозе, ишемии и гипертензии, следовательно, пептид KED, способствующий снижению синтеза этой молекулы, будет способствовать профилактике развития этой сердечнососудистой патологии.

Ключевые слова: пептид KED; пожилой возраст; экспрессия; коннексины; сиртуины

Ivan I. Bolotov

Effects of KED peptide on connexin and sirutin expression in atherosclerosis and restinosis in elderly people

St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology,
23 Dynamo Ave., St. Petersburg, 197110, Russia

Corresponding author: Ivan I. Bolotov (i.bolotov26@yandex.ru)

Abstract

Background: Despite the wide range of application of the KED peptide, the molecular mechanisms of its action are still not fully understood. **The aim of the study:** To study the effect of the KED peptide on the expression of connexin and sirtuin in atherosclerosis and restenosis in the elderly. **Materials and methods:** For the study, the cell cultures obtained from the aorta without pathological changes, human atherosclerotic aorta, and human aorta during restenosis were used. Primary culture was isolated on Petri dishes (Sarstedt) treated with a solution of fibrinogen (Gibco), the subsequent cultivation was carried out in vials with a surface of 50 ml (Sarstedt 25 cm²). Cells were grown in 5 ml of culture medium per bottle and 3 ml of culture medium per Petri dish with a diameter of 3.5 cm, in 1 ml per well of a 24-well plate. In this work, the KED peptide was used in the form of a sterile solution, packaged in ampoules in a concentration of 100 µg in 1 ml. For immunocytochemical studies, the following primary monoclonal antibodies Connexin 37 (Dako, USA) and Sirtuin (Sirt)-1 (Abcam, UK) were used. To evaluate the results of immunocytochemical staining, a morphometric study was performed using a computer microscopic image analysis system including the Olympus BX40 microscope. **Results:** The expression of Connexin37 in the culture of the endothelium obtained from an elderly patient with atherosclerosis decreased by 3.6 times, and with stenosis – by 6.2 times compared with the norm. The KED peptide contributed to a 1.6-fold increase in Connexin 37 expression in cultures of endotheliocytes affected by atherosclerosis and 2.3 times in cultures affected by restenosis. The expression of Sirt1 in the endothelium in atherosclerosis and restenosis was 2 times lower compared with the norm. The KED peptide contributed to a 1.5-fold increase in the expression of Sirt1 in cultures of endotheliocytes affected by atherosclerosis and restenosis. **Conclusion:** High levels of Endothelin1 in the blood plasma are observed in atherosclerosis, ischemia and hypertension, therefore, the KED peptide, contributing to a decrease in the synthesis of this molecule, will help prevent the development of this cardiovascular pathology.

Keywords: KED peptide; elderly age; expression; connexins; sirutins

Введение. Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) занимают в мире одну из лидирующих позиций в ряду болезней с большим риском летального исхода [1, 2]. В большинстве стран основной причиной смертности населения в пожилом и старческом возрасте является ишемическая бо-

лезнь сердца (ИБС) (38-42%). По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в 30 и более процентах случаев смерть людей старше 60 лет вызывает инфаркт миокарда, развившийся на почве выраженного атеросклероза аорты и коронарных артерий [3, 4].

Исследование механизмов, лежащих в основе старения эндотелиальных клеток сосудов, и изучение возможных методов регуляции этого процесса с использованием коротких вазопротекторных белковых молекул открывает перспективы для разработки вазо- и геропротекторных лекарственных средств, характеризующихся высоким уровнем эффективности и уменьшением побочных эффектов, предназначенных для терапии заболеваний сердечно-сосудистой системы организма [5, 6, 7].

Пептид KED обладает вазопротекторными свойствами, характеризуется широким спектром действия. Это соединение в комплексе со стандартными терапевтическими схемами с большой долей успеха используют при такой патологии, как атеросклероз. KED позволяет улучшить кровообращение в тканях мозга, нормализовать память, усилить интеллектуальные способности [8, 9]. При назначении пептида установлено повышение резистентности микрососудов кожного покрова у пациентов, имеющих в анамнезе гиповитаминоз [10, 11]. Дополнительно выявлен процесс нормализации циркуляции крови по капиллярам у крыс, болеющих пародонтитом, при введении пептида KED в виде инъекций [8]. Несмотря на широкий спектр применения пептида KED, молекулярные механизмы, лежащие в основе действия этого соединения, не изучены до конца на современном этапе.

Цель исследования – изучить влияние пептида KED на экспрессию коннексина и сиртуина при атеросклерозе и рестенозе у людей пожилого возраста.

Материалы и методы исследования. Для получения и создания культур клеток, используемых в исследовании, нормальные ткани аорты, в которых не были обнаружены патологические изменения, были изъяты из тела эмбриона человека на 21 неделе гестации в НИИ акушерства и гинекологии им Д.О. Отта (Санкт-Петербург). Материал аорты человека с признаками атеросклеротических изменений (4 фрагмента диаметром по 0,2 см) получили во время операции по аортокоронарному шунтированию от больного пожилого возраста (68 лет). Для исследования клеток аорты человека с при-

знаками рестеноза (4 фрагмента ткани диаметром по 0,2 см) материал получили в ходе операции аортокоронарного шунтирования на сердце пациента пожилого возраста (71 года), осуществляемой в отделении кардиохирургии 1-ой городской клинической больницы им. Е.Е. Волосевич.

К работе приступили спустя 4 часа после получения образцов, хранение осуществлялось в холодильнике при +6°C.

В стерильных условиях ламинарного шкафа образцы были извлечены из транспортировочной емкости и помещены в чашку Петри, имеющую диаметр 7 см. Далее образцы были трижды промыты сбалансированным солевым раствором Хенкса (HBSS), содержащим антибиотики (пенициллин, стрептомицин, в концентрации 5 мг/мл) для удаления следов крови и секрета.

Под лупой (x10) было проведено максимально возможное отделение слоя эндотелиальных клеток (в пределах tunica intima) из пограничной зоны атеросклеротического повреждения. Стерильными ножницами материал разрезали на небольшие кусочки (объемом 1-2 мм³). Полученные кусочки переместили в центрифужные пробирки объемом по 15 мл, добавили 10 мл HBSS с 0,2% раствором коллагеназы I (Gibco, активность 205 ед./мг). 30 секунд пробы откручивали на вотрексе. Затем ткани инкубировали в термостате при 37°C в течение 20 минут. Агрегаты клеток, полученные после инкубации, диспергировали путем пропускания их через пипетку (пипетировали). В течение 5 минут осаждали содержащий клетки супернатант в объеме 8 мл. Пробы центрифугировали в течение 5 мин при 400 g. Затем надосадочную жидкость удаляли, растворяли осадок в 2 мл среды M199, содержащей 10% эмбриональную бычью сыворотку и антибиотик. Выделение повторяли циклически, в течение 3 раз, растворенный осадок собирали в отдельную пробирку.

Жизнеспособность клеток оценивали с использованием трипанового синего. Краситель прибавляли к 2 мл аликвоты, отобранной из 6 мл накопленных клеток, в соотношении 1:1. Подсчитывали число живых клеток с помощью камеры Горяева.

Культуральная среда включала в себя 87,5% среды M199, 10% эмбриональной бычьей сыворотки (FBS), 1% PES, 1,5% NEPEs, L-глутамин. Первичную культуру выделяли в чашках Петри (Sarstedt), покрытых предварительно раствором фибриногена (Gibco). Дальнейшее культивирование осуществлялось в обработанных флаконах объемом 50 мл (Sarstedt, 25 см²). Затем выращивали клетки при добавлении по 5 мл культуральной среды на один флакон и 3 мл культуральной среды на 1 чашку Петри (диаметр 3,5 см). При использовании 24-луночного планшета добавляли по 1 мл среды в каждую лунку.

По прошествии 5-7 дней первичная культура достигала стадии монослоя, проводили ее пересевания. Еще через 3 дня, на 4-й осуществляли пассирование, в это время культура находилась в виде монослоя. При культивировании клеток проводили до 3 пассажей. Пептид KED добавляли к культуральной среде при каждом пересевании в концентрации 20 нг/мл.

В работе был использован пептид KED, представляющий собой стерильный раствор, помещенный в ампулы, концентрация соединения составила 100 мкг в 1 мл. Для введения в культуры клеток ампульный раствор разводили до концентрации 20 нг/мл для диссоциированного культивирования, т.к. ранее было показано, что данная концентрация является физиологической для организма и максимально эффективной.

Для проведения иммуноцитохимического исследования были применены первичные моноклональные антитела Connexin 37 (Dako, USA) и Sirtuin (Sirt) – 1 (Abcam, UK). Инкубация с первичными антителами проходила 60 мин. Со вторичными антителами, конъюгированными с флуорохромом Alexa Fluor 567 (1:1000, Abcam), пробы инкубировали в течение 30 минут при комнатной температуре, в темноте (красное свечение). В случае использования флуорохрома Alexa Fluor 488 (1:1000, Abcam) инкубацию клеток осуществляли в течение 30 минут при комнатной температуре, в темноте (зе-

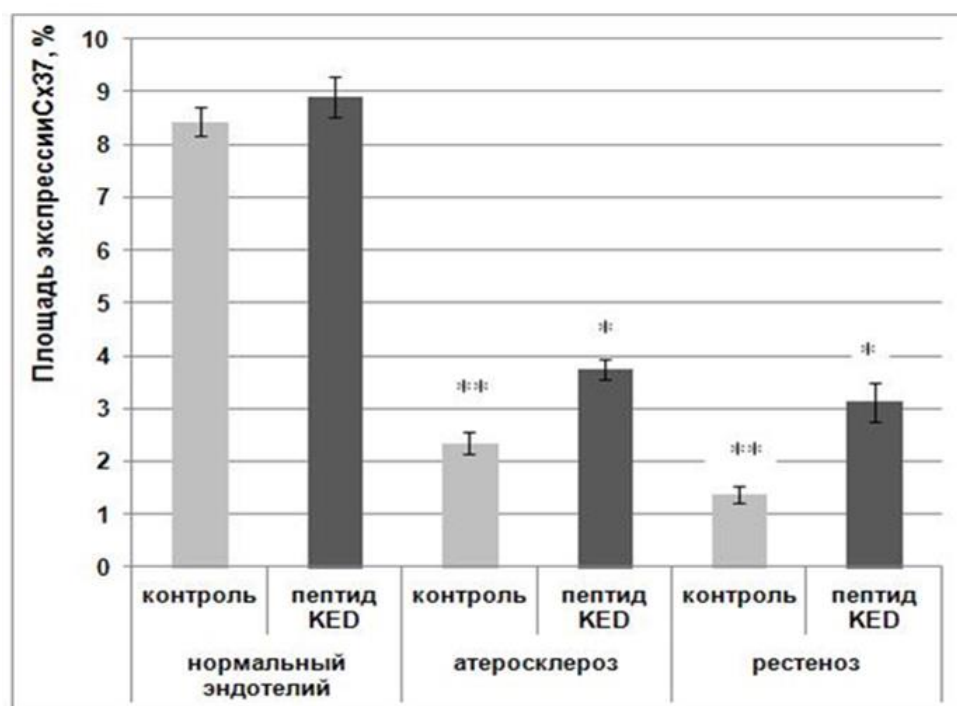
леное свечение). В конце готовые препараты помещали под покровные стекла в монтирующую среду Dako Fluorescent Mounting Medium (Dako, США).

Результаты иммуноцитохимического окрашивания оценивали с помощью морфометрического исследования. Компьютерный анализ микроскопических изображений осуществляли с применением системы, включающей в себя микроскоп Olympus BX40, цифровую камеру Olympus, персональный компьютер на основе Intel Pentium 5, программное обеспечение «Videotest Morphology 5.2». Из каждой пробы изучали по 5 полей зрения при увеличении x200.

Измеряли площадь экспрессии, как отношение площади, на которой находились иммунопозитивные клетки, к общей площади клеток в поле зрения. Данный показатель выражали в процентном отношении для маркеров с цитоплазматическим окрашиванием. Дополнительно рассчитывали отношение площади с иммунопозитивными ядрами к общей площади ядер в поле зрения для маркеров с ядерной экспрессией.

Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики. С помощью программы Statistica 11,0 рассчитывали среднее арифметическое, стандартное отклонение и доверительный интервал. Для определения вида распределения применяли критерий Шапиро-Уилка (Shapiro-Wilk's W-test), использовали множественное сравнение с помощью критерия Манна-Уитни. Критерий Стьюдента применяли в отношении групп с незначительным разбросом значений. Критический уровень достоверности нулевой гипотезы (об отсутствии различий) принимали равным 0,01.

Результаты и их обсуждение. В ходе эксперимента было установлено, что в культуре клеток, полученных из нормального эндотелия, экспрессия молекул Connexin 37 составила 8,4±0,3%. В пробах с добавлением пептида KED площадь экспрессии достоверно не отличалась от контроля, и составила 8,9±0,4% (рис. 1).



* - $p < 0,01$ по сравнению с соответствующим контролем;

** - $p < 0,01$ по сравнению с группой «контроль, нормальный эндотелий, без добавления пептида» (сравнение между группами проведено по критерию Стьюдента).

* - $p < 0.01$ compared with the corresponding control;

** - $p < 0.01$ compared with the “control, normal endothelium, without the addition of peptide” group (comparison between groups was carried out according to Student's criterion).

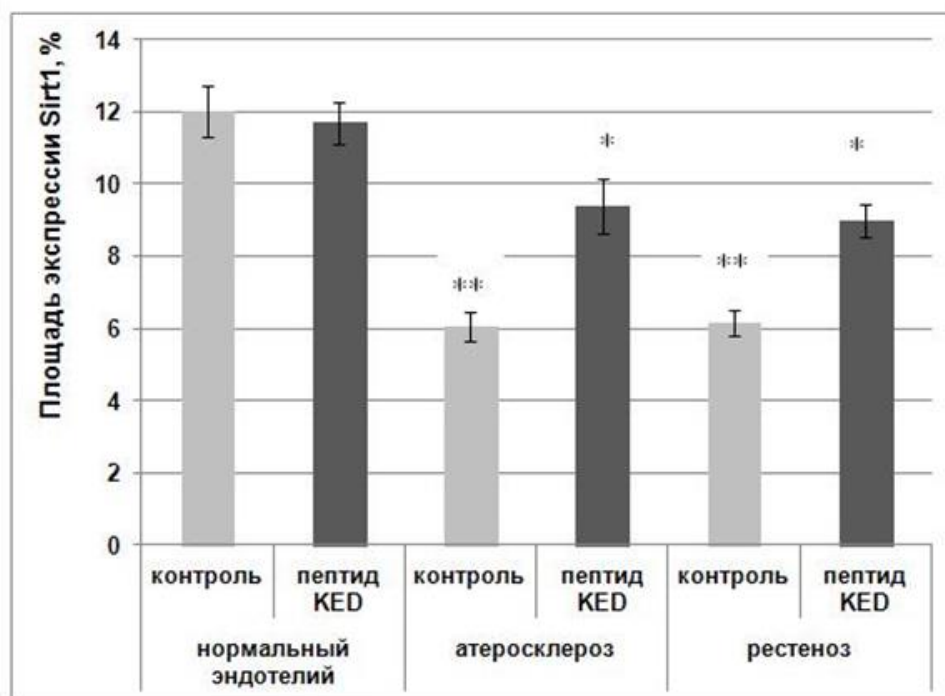
Рис. 1. Площадь экспрессии Connexin 37 в культуре эндотелия в норме, при атеросклерозе и рестенозе

Fig. 1. The area of expression of Connexin 37 in endothelial culture is normal, in atherosclerosis and restenosis

В контрольных пробах эндотелиальных клеток, собранных от пациента с признаками атеросклероза, установлено снижение площади экспрессии Connexin 37 в 3,6 раза по сравнению с нормальным эндотелием ($2,3 \pm 0,2\%$). При добавлении пептида KED к данным клеткам экспрессии Connexin 37 в культуре достоверно снижалась в 1,6 раза ($3,6 \pm 0,2\%$) относительно контроля. Площадь экспрессии Connexin 37 в культуре клеток эндотелия с признаками

рестеноза составила $1,4 \pm 0,2\%$, снизилась в 6,2 раза по сравнению с нормальными клетками. Добавление пептида KED способствовало повышению данного показателя в 2,3 раза до значения $3,1 \pm 0,4\%$.

В культуре нормальных эндотелиоцитов значение площади экспрессии фактора транскрипции Sirt1 в контроле составило $12,0 \pm 0,7\%$. Под действием пептида KED данное значение достоверно не изменялось и было равно $11,7 \pm 0,6\%$ (рис. 2).



* - $p < 0,01$ по сравнению с соответствующим контролем;
** - $p < 0,01$ по сравнению с группой «контроль, нормальный эндотелий, без добавления пептида» (сравнение между группами проведено по критерию Манна-Уитни).
* - $p < 0.01$ compared with the corresponding control;
** - $p < 0.01$ as compared with the “control, normal endothelium, without peptide addition” group (comparison between groups was carried out according to the Mann-Whitney test).

Рис. 2. Площадь экспрессии Sirt1 в культуре эндотелия в норме, при атеросклерозе и рестенозе
Fig. 2. The area of expression of Sirt1 in culture of the endothelium is normal, in atherosclerosis and restenosis

В контрольной культуре клеток с атеросклеротическими изменениями площадь экспрессии молекул Sirt1 снизилась в 2 раза по сравнению с нормальным эндотелием и составила $6,0 \pm 0,4\%$. Под влиянием KED экспрессии Sirt1 в культуре пораженной атеросклерозом клеток возрастала в 1,5 раза по сравнению с нормой ($9,4 \pm 0,8\%$) (рис. 2). В контрольной культуре эндотелия пациента с рестенозом площадь экспрессии Sirt1 составила $6,2 \pm 0,4\%$, в 2 раза ниже по отношению к нормальному эндотелию. Под влиянием пептида KED этот показатель возрастал в 1,5 раза относительно контроля и составил $9,0 \pm 0,5\%$.

Ранее было выдвинуто предположение, что возрастное снижение экспрессии сиртуинов Sirt1 и Sirt6 может служить маркером старения сердечно-сосудистой системы и предиктором развития атеросклероза

[5, 12, 13, 14, 15, 16]. Полученные данные подтверждают эту гипотезу, т.к. выявлено снижение экспрессии Sirt1 в эндотелии, пораженном атеросклерозом. Кроме того, ускоренное восстановление синтеза этого белка, принимающего участие в процессах репарации ДНК, вызываемое приемом пептида KED, доказывает предполагаемую ранее действенность его использования в группе пожилых пациентов с заболеваниями сердца и сосудов.

В другой работе было показано снижение синтеза коннексина Cx37 при поражении аорты человека атеросклеротического характера и нарушении межклеточных взаимодействий, что подтверждено в следующих работах [2, 17]. Полученные результаты полностью согласуются с этими данными и указывают на роль пептида KED

в восстановлении межклеточных контактов эндотелиоцитов.

Однако наибольший эффект пептид KED оказывал на экспрессию Endothelin1, снижая экспрессию этого белка до нормальных значений. Предполагается, что один из основных механизмов, лежащих в основе действия пептида KED, основан на регуляция экспрессии гена эндотелина-1. Запускаемый каскад реакций предотвращает развитие изменений, типичных для атеросклероза и рестеноза. Ранее показано, что низкие концентрации Endothelin-1 в норме обладают сосудорасширяющим эффектом, более высокие – активизируют рецепторы мембраны гладкомышечных клетках, вызывают вазоконстрикцию [6, 18, 19, 20].

Заключение. Один и тот же фактора участвует реализации двух противоположных сосудистых реакций, основанных на разных механизмах. Высокие уровни Endothelin1 в плазме крови наблюдаются при атеросклерозе, ишемии и гипертензии, следовательно, пептид KED, способствующий снижению синтеза этой молекулы, будет способствовать профилактике развития этой сердечно-сосудистой патологии.

Список литературы

1. Роль вазоактивного пептида в лечении хронической артериальной недостаточности нижних конечностей / К.В. Китачев [и др.] // Успехи геронтологии. 2013. Т. 26, № 2. С. 292-296.
2. Молекулярные аспекты старения сосудов *in vitro* / К.Л. Козлов [и др.] // Молекулярная медицина. 2015. № 3. С. 53-56.
3. Башкирева А.С., Артамонова В.Г. Пептидергическая коррекция невротических состояний у водителей грузового автотранспорта // Успехи геронтологии. 2012. Т. 25, № 4. С. 718-728.
4. Эффективность пептидного биорегулятора сосудов в комплексной терапии васкулогенной эректильной дисфункции у лиц старших возрастных групп / К.В. Китачев [и др.] // Успехи геронтологии. 2014. Т. 27, № 1. С. 156-159.
5. Экспрессия сигнальных молекул в эндотелии аорты при старении и атеросклерозе / М.А. Пальцев [и др.] // Молекулярная медицина. 2015. № 5. С. 12-15.
6. Солдатов В.М., Козлов К.Л., Линькова Н.С. Возрастные особенности экспрессии сиг-

нальных молекул в эндотелии сосудов человека и их роль в развитии сердечно-сосудистой патологии // Молекулярная медицина. 2015. № 6. С. 33-37.

7. Молекулярные аспекты антиатеросклеротического действия коротких пептидов / В.Х. Хавинсон [и др.] // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2014. № 3. С. 185-189.

8. Tripeptides restore the number of neuronal spines under conditions of *in vitro* modeled alzheimer's disease / N.A. Kraskovskaya [et al.] // Bull Exp Biol Med. 2017. Vol. 163(4). P. 550-553. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10517-017-3882-z>

9. van Grootel R.W., Strachinaru M., Menting M.E. In-depth echocardiographic analysis of left atrial function in healthy adults using speckle tracking echocardiography and volumetric analysis // Echocardiography. 2018. Vol. 10(1). P. 14-17. DOI: <https://doi.org/10.1111/echo.14174>

10. Laird D.W., Lampe P.D. Therapeutic strategies targeting connexins // Nat Rev Drug Discov. 2018. № 12. P. 10-20. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrd.2018.138>

11. Factors influencing the choice of treatment modality for individual patients with varicose veins / B. Campbell [et al.] // Ann R Coll. Surg. Engl. 2017. № 6. P. 1-7. DOI: <https://doi.org/10.1308/rcsann.2017.0122>

12. Modernized classification of cardiac antiarrhythmic drugs / M. Lei [et al.] // Circulation. 2018. Vol. 138(17). P. 1879-1896. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.035455>

13. McKenney J. R. Statins // Clinical lipidology: a companion to Braunwald's Heart Disease. 2015. № 1. P. 227-256. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-141605469-6.50026-3>

14. The role of endothelial dysfunction and inflammation in chronic venous disease / R. Castro-Ferreira [et al.] // Ann Vasc. Surg. 2018. № 46. P. 380-393. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.avsg.2017.06.131>

15. D'Onofrio N., Servillo L., Balestrieri M.L. SIRT1 and SIRT6 Signaling Pathways in Cardiovascular Disease Protection // Antioxid Redox Signal. 2018. Vol. 28(8). P. 711-732. DOI: <https://doi.org/10.1089/ars.2017.7178>

16. Endothelial SIRT1 prevents adverse arterial remodeling by facilitating HERC2-mediated degradation of acetylated LKB1 / B. Bai [et al.] // Oncotarget. 2016. № 7. P. 39065-39081. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.9687>

17. Defourny J., Thelen N., Thiry M. Cochlear connexin 30 homomeric and heteromeric channels exhibit distinct assembly mechanisms // Mech

Dev. 2018. N 5. P. 25-37. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.mod.2018.10.001>

18. Rader D.J. Human genetics of atherothrombotic disease and its risk factors // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2015. Vol. 35(4). P. 741-747. DOI:
<https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.115.305492>

19. Pitha J., Kralova L.I., Hubacek J.A. Smoking impairs and circulating stem cells favour the protective effect of the T allele of the connexin37 gene in ischemic heart disease // *Atherosclerosis*. 2016. N 244. P. 73-78. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2015.11.007>

20. Bindu S., Pillai V.B., Gupta M.P. Role of sirtuins in regulating pathophysiology of the heart // *Trends Endocrinol Metab.* 2016. N 27. P. 563-573. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.tem.2016.04.015>

References

1. Kitachev KV, Sazonov AB, Kozlov KL, et al. [The role of the vasoactive peptide in the treatment of chronic arterial insufficiency of the lower extremities]. *Successes of gerontology*. 2013;26(2):292-296. Russian.

2. Kozlov KL, Soldatov VM, Poliakova VO, et al. [Molecular aspects of vascular aging in vitro]. *Molecular medicine*. 2015;3:53-56. Russian.

3. Bashkireva AS, Artamonova VG. [Peptidergic correction of neurotic conditions in truck drivers]. *Successes of gerontology*. 2012;25(4):718-728.

4. Kitachev KV, Sazonov AB, Kozlov KL, et al. [Efficacy of a peptide bioregulator of blood vessels in the complex therapy of vasculogenic erectile dysfunction in older age groups]. *Successes of gerontology*. 2014;27(1):156-159.

5. Palzhev MA, Soldatov VM, Kozlov KL, et al. [Expression of signaling molecules in aortic endothelium during aging and atherosclerosis]. *Molecular medicine*. 2015;5:12-15.

6. Soldatov VM, Kozlov KL, Linkova NS. [Age-related features of the expression of signaling molecules in the human vascular endothelium and their role in the development of cardiovascular pathology]. *Molecular medicine*. 2015;6:33-37.

7. Havinson VH, Linkova NS, Elashkina EV, et al. [Molecular aspects of the anti-atherosclerotic action of short peptides]. *Cell technology in biology and medicine*. 2014;3:185-189.

8. Kraskovskaya NA, Kukanova EO, Linkova NS, et al. Tripeptides restore the number of neuronal spines under conditions of In vitro modeled alzheimer's disease. *Bull Exp Biol Med*.

2017;163(4):550-553.

DOI: <https://doi.org/10.1007/s10517-017-3882-z>

9. van Grootel RW, Strachinaru M, Menting ME. In-depth echocardiographic analysis of left atrial function in healthy adults using speckle tracking echocardiography and volumetric analysis. *Echocardiography*. 2018;10(1):14-17. DOI:
<https://doi.org/10.1111/echo.14174>

10. Laird DW, Lampe PD. Therapeutic strategies targeting connexins. *Nat Rev Drug Discov*. 2018;12:10-20. DOI:
<https://doi.org/10.1038/nrd.2018.138>

11. Campbell B, Chinai N, Hollering P, et al. Factors influencing the choice of treatment modality for individual patients with varicose veins. *Ann R Coll. Surg. Engl.* 2017;6:1-7. DOI:
<https://doi.org/10.1308/rcsann.2017.0122>

12. Lei M, Wu L, Terrar DA, et al. Modernized classification of cardiac antiarrhythmic drugs. *Circulation*. 2018;138(17):1879-1896. DOI:
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.035455>

13. McKenney JR. Statins. *Clinical lipidology: a companion to Braunwald's Heart Disease*. 2015;1:227-256. DOI:
<https://doi.org/10.1016/B978-141605469-6.50026-3>

14. Castro-Ferreira R, Cardoso R, Leite-Moreira A, et al. The role of endothelial dysfunction and inflammation in chronic venous disease. *Ann Vasc. Surg.* 2018;46:380-393. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.avsg.2017.06.131>

15. D'Onofrio N, Servillo L, Balestrieri ML. SIRT1 and SIRT6 Signaling Pathways in Cardiovascular Disease Protection. *Antioxid Redox Signal*. 2018;28(8):711-732. DOI:
<https://doi.org/10.1089/ars.2017.7178>

16. Bai B, Man AW, Yang K, et al. Endothelial SIRT1 prevents adverse arterial remodeling by facilitating HERC2-mediated degradation of acetylated LKB1. *Oncotarget*. 2016;7:39065-39081. DOI:
<https://doi.org/10.18632/oncotarget.9687>

17. Defourny J, Thelen N, Thiry M. Cochlear connexin 30 homomeric and heteromeric channels exhibit distinct assembly mechanisms. *Mech Dev*. 2018;5:25-37. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.mod.2018.10.001>

18. Rader DJ. Human genetics of atherothrombotic disease and its risk factors. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*; 2015;35(4):741-747. DOI:
<https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.115.305492>

19. Pitha J, Kralova LI, Hubacek JA. Smoking impairs and circulating stem cells favour the protective effect of the T allele of the connexin37 gene in ischemic heart disease. *Atherosclerosis*.

2016;244:73-78.

DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2015.11.007>

20. Bindu S, Pillai VB, Gupta MP. Role of sirtuins in regulating pathophysiology of the heart. Trends Endocrinol Metab. 2016;27:563-573. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tem.2016.04.015>

Информация об авторе

Иван Игоревич Болотов, научный сотрудник лаборатории возрастной патологии сердечно-сосудистой системы отдела клинической геронтологии и гериатрии, АННО ВО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», E-mail: i.bolotov26@yandex.ru.

Information about the author

Ivan I. Bolotov, Researcher of the Laboratory of Pathology of the Cardiovascular System of the Department of Clinic Gerontology, St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, E-mail: i.bolotov26@yandex.ru.

Статья поступила в редакцию 6 сентября 2018 г.
Receipt date 2018 September 6.

Статья принята к публикации 10 октября 2018 г.

Accepted for publication 2018 October 10.