© КОЛОВСКАЯ О. С., ЗАМАЙ С. С., ЗАМАЙ Т. Н.

УДК 543.4 + 543.5 + 543.9

DOI: 10.20333/2500136-2017-4-13-19

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИННОВАЦИОННЫХ МИКРОФЛЮИДНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ДИАГНОСТИКЕ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

О. С. Коловская^{1,2}, С. С. Замай¹, Т. Н. Замай²¹Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук,

Красноярск 660036, Российская Федерация

²Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого,

Красноярск 660022, Российская Федерация

Резюме. Сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной смертности среди населения. Для выбора индивидуального подхода к терапии и определения вероятности развития осложнений сердечно-сосудистой системы требуется ранняя диагностика острых состояний. Традиционные методы диагностики недостаточно чувствительны и не позволяют обнаружить начальные этапы заболевания. Цель обзора - представление перспектив использования инновационных микрофлюидных технологий для обнаружения низкокопийных белковых биомаркеров сердечно-сосудистых заболеваний, исследования механизмов развития патогенеза миокарда и сосудистой системы, разработки и определения кардиотоксичности новых лекарственных препаратов..

Ключевые слова: микрофлюидная система, сердечно-сосудистые заболевания, кардиология, аптамеры, электрохимический сенсор, диагностика.

Для цитирования: Коловская ОС, Замай СС, Замай ТН. Перспективы использования инновационных микрофлюидных технологий в диагностике сердечно-сосудистых заболеваний. Сибирское медицинское обозрение. 2017;(4): 13-19. DOI: 10.20333/2500136-2017-4-13-19

PROSPECTS OF INNOVATIVE MICROFLUID TECHNOLOGIES USING IN DIAGNOSIS OF CARDIOVASCULAR DISEASES

O. S. Kolovskaya^{1,2}, S.S. Zamay¹, T. N. Zamay²¹Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk 660036, Russian Federation²Professor V. F. Voino-Yasensky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk 660022, Russian Federation

Abstract. Cardiovascular diseases are the leading cause of death among the population. To select the individual approach to therapy and determine the probability of development the complications of the cardiovascular system it is required early diagnosis of acute situations. Traditional diagnostic methods are not sensitive enough to detect the initial stages of the disease. The purpose of the review - to introduce the prospects for the innovative microfluidic technology for the detection of low-copy protein biomarkers in cardiovascular disease, the study of mechanisms of myocardial and vascular system pathogenesis, design and definition the cardiac toxicity of new drugs.

Key words: microfluidic system, cardiovascular diseases, cardiology, aptamers, electrochemical sensor, diagnosis.

Citation: Kolovskaya OS, Zamay SS, Zamay TN. Prospects of innovative microfluid technologies using in diagnosis of cardiovascular diseases. Siberian Medical Review. 2017;(4): 13-19. DOI: 10.20333/2500136-2017-4-13-19

Введение

Сердечно-сосудистые заболевания занимают первое место среди всех причин смертности населения в России: на них приходится 56,7 % всех смертей. Ежегодно в России от сердечно-сосудистых заболеваний умирает более 1 млн. человек. Патогенетической основой развития этих заболеваний являются артериальная гипертензия [1], атеросклероз [2], тромбоз [3], поражение сосудистой системы [4], метаболические [5] и другие нарушения. Основные усилия науки в области кардиологии направлены на изучение механизмов развития сердечно-сосудистых заболеваний и создание новых методов диагностики и лечения на основе современных технологических решений. Для достижения этих целей в экспериментальных и клинических условиях проводятся геномные [6, 7], протеомные [8, 9] и метаболомные исследования [10, 11], широко внедряются методы высокопроизводительного секвенирования [12] и анализа активности генов [13, 14], биоинформатики [15], масс-спектропии [16, 17] и химической биологии [18].

Только ранняя диагностика острых состояний позволяет своевременно назначить лечение, а определение вероятности развития осложнений - обеспечить индивидуальный подход к терапии. Большую помощь в реализации такого подхода ока-

Рисунок 1. Наиболее изученные биомаркеры, включенные в диагностику сердечно-сосудистых заболеваний.

Рисунок 2. Микрофлюидная камера для концентрирования аналита с помощью диэлектрофореза со встроенной лизирующей камерой.

зывают биомаркеры, идентифицируемые зачастую с помощью протеомного анализа, уникальность которого заключается в том, что он предоставляет возможность выявить патологические процессы еще до появления клинических проявлений заболевания. Путем протеомных исследований выявлено 27 белков-маркеров, свидетельствующих о наличии патологического процесса в сердечно-сосудистой системе. Однако несмотря на очевидные преимущества, этот метод является очень сложным и дорогостоящим и не всегда доступным для диагностики.

В последнее время для диагностических целей в кардиологии стали применять микрофлюидные устройства [19, 20, 21, 22], обладающие рядом преимуществ по сравнению с традиционными аналитическими системами - малый расход реагентов и пробы, высокая чувствительность определения компонентов пробы, компактные размеры, низкое энергопотребление [23]. За рубежом такие аналитические системы на основе микрофлюидных устройств получили названия lab-on-a-chip (лаборатория на чипе) и micro Total Analysis Systems (микросистемы «полного» анализа) [24, 25]. Поскольку особенностью микрофлюидных систем являются малые количества исследуемых проб, а, следовательно, и информационные сигналы малой интенсивности, то разработчики микрофлюидных устройств используют такие методы детекции, которые обеспечивают низкий предел обнаружения, высокую селективность и чувствительность измерений, высокое быстродействие [26]. Наиболее распространенные методы детекции компонентов биологических проб в микрофлюидных чипах - лазер-индуцированная флуоресценция [27, 28], электрохимическое детектирование [29, 30], хемилюминесценция [31, 32, 33], масс-спектрометрия [34, 35, 36], рамановская спектроскопия [37, 38], интерферометрия [39] и рефрактометрия [40] и др.

Рисунок 3. Общая структурная схема макета микрофлюидного амперометрического биосенсорного устройства на основе аптамеров.

В настоящее время разработка микрофлюидных технологий в кардиологии происходит в нескольких направлениях:

- 1) определение биомаркеров сердечно-сосудистых заболеваний;
- 2) изучение механизмов патогенеза сосудистого русла в условиях сердечно-сосудистых патологий;
- 3) разработка лекарственных средств, изучение их эффективности и токсичности.

Тем не менее, следует отметить, что, несмотря на широкое распространение микрофлюидных систем в исследовательских и диагностических целях, их использование в кардиологии происходит крайне редко, поэтому цель представляемого здесь краткого обзора - инициировать разработку и внедрение этих простых в использовании микрофлюидных устройств для экспресс-диагностики сердечно-сосудистых заболеваний.

Определение биомаркеров

сердечно-сосудистых заболеваний

Одной из наиболее сложно преодолимых проблем современной диагностики сердечно-сосудистых заболеваний является необходимость определения малых концентраций секретируемых биомаркеров, поскольку для их идентификации требуются чувствительные и специфичные аналитические методы детекции. Наиболее изученные биомаркеры, используемые для диагностики сердечно-сосудистых заболеваний, представлены на рисунке 1 [41, 42, 43, 44, 45].

Золотым стандартом определения биомаркеров в настоящее время является метод иммуноферментного анализа с использованием моноклональных антител. Несмотря на достаточную чувствительность метода, он не лишен недостатков. К тому же этот метод отличается высокой стоимостью, что делает невозможным его применение при массовых скринингах населения для выявления ранних форм заболевания. Поэтому в настоящее время начинают разрабатываться электрохимические методы детекции. Для увеличения селективности и чувствительности используют узнающие молекулы - моноклональные антитела или аптамеры [46]. При создании селективного слоя аптамеры имеют некоторые преимущества по сравнению с антителами, в частности, аптамеры не агрегируют, могут быть легко химически модифицированы функциональными группами [47]. Кроме того, наряду с высокой чувствительностью и избирательностью, аптамеры относительно стабильны. Таким образом, для измерения низких уровней растворимых биомаркеров, аптамеры являются превосходными кандидатами для использования их в качестве узнающих молекул в микрофлюидных электрохимических системах [48, 49, 50].

Для исследовательских целей и диагностики в кардиологии могут быть пригодны микрофлюидные камеры с электрохими-

Рисунок 4. Пассивный проточный биочип для последовательной фиксации 3-х типов биомаркеров с помощью аптамеров.

Рисунок 5. Модели сосудов на основе микрофлюидных чипов: А - Микроканалы, покрытые молекулами клеточной адгезии/внеклеточных матричных субстратов; Б - Микроканалы, моделирующие поврежденные сосуды; В - Микроканалы, покрытые эндотелиальными клетками дикого типа; Г - Микроканалы, покрытые генномодифицированными эндотелиальными клетками (для детекции функциональных показателей клетки, например, для обнаружения активности каспазы 3); Д - Микроканалы для изучения транспорта лейкоцитов; Е - Эндотелиальные каналы в матрице коллагена типа I; Ж - Микроканалы для изучения паракринного взаимодействия; З - Микроканалы моделирующие движение артериальной и венозной крови; И - Моделирование геометрии сосуда.

ческим детектором, разработанные в Лаборатории биомолекулярных и медицинских технологий Красноярского государственного медицинского университета имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого (рис.2-4). Эти микрофлюидные камеры для ускорения процесса определения включают в себя начальные этапы пробоподготовки. Важным аспектом пробоподготовки образцов крови является процесс ее лизирования, позволяющий избавиться от эритроцитов и сконцентрировать анализируемые компоненты, что увеличивает эффективность детекции анализируемого компонента с помощью микрофлюидного устройства. Микрофлюидная система со встроенной лизирующей камерой, в которой используется лизирующий буфер, представлена на рисунке 2. Следует отметить, однако, что такой малый объем лизирующей камеры не вполне подходит для выявления низкокopiesных биомаркеров сердечно-сосудистых заболеваний, вследствие чего использование такого малого образца крови для лизиса может быть недостаточным для их выявления, что снижает эффективность диагностики. Следовательно, более правильным конструктивным решением может стать микрофлюидная камера с большим объемом. В лизирующую камеру такого объема можно вносить образец крови и лизирующий буфер и, кроме того, помещать уже готовый образец, прошедший предварительную пробоподготовку, заключающуюся в самой процедуре лизирования с последующим центрифугированием для удаления оставшихся форменных элементов крови (рис.3,4).

Наличие в микрофлюидной камере электрохимического сенсора позволяет обнаруживать белковые маркеры сердечно-сосудистых заболеваний, находящиеся в очень малых количествах.

Исследование механизмов патогенеза сердечно-сосудистой системы

Понимание молекулярных основ различных проявлений сердечно-сосудистых заболеваний требует проведения исследований на клеточном уровне. Однако современные технологии клеточных культур не в состоянии воссоздать естественную среду функционирования кардиомиоцитов и миоцитов гладкой мускулатуры, где клетки подвергаются давлению и растяжению вследствие обычной гемодинамической нагрузки. Мощным инструментом для имитации сердечно-сосудистой системы в последнее десятилетие стали микрофлюидные технологии (рис.5), геометрия которых для исследования биологических объектов определяются процедурами, которые планируется реализовать.

В самом простом варианте микрофлюидная система представляет собой конструкцию из двух герметично соединенных

пластин, на одной из которых формируется микроканал, реакторы, клапаны, электроды и другие функциональные элементы, другая пластина - защитная. Движением частиц и потоков в микрофлюидной системе можно управлять с помощью давления, гравитации, электроосмоса, электрофореза, диэлектрофореза, магнитофореза и др., что зависит от решаемых задач.

Для изучения поведения отдельных клеток и клеточных суспензий в динамических условиях создаются микроканалы с различной геометрией и поверхностью. При моделировании различных сосудистых реакций микроканалы обычно покрывают белками. Такую микрофлюидную камеру дополняют системой, состоящей из камеры и насоса, моделирующего изменение сопротивления и скорость движения жидкости в системе. Это позволяет точно воспроизводить механическую нагрузку среды. Изменяя скорость подачи потока, частоту закрытия клапана и сопротивление оттока, можно создавать различные условия для моделирования функционирования миокарда в норме и при патологии.

Пригодность микрофлюидных устройств для изучения сердечно-сосудистой системы заключается в их способности, с одной стороны, контролировать объемы и скорость потока, а, с другой, их анализировать. За последние несколько лет количество инновационных микрофлюидных конструкций для изучения сердечно-сосудистых патологий значительно возросло, и, в частности, появилась микрофлюидная система - «сердце-на-чипе» [51, 52]. Платформы, разработанные на сегодняшний день, включают в себя, помимо всего прочего, микрофлюидные системы, содержащие одноклеточные массивы для оценки кардиомиоцитов.

Разработка лекарственных средств, изучение их эффективности и токсичности

Методы разработки лекарственных средств, существующие в настоящее время, являются дорогостоящими и недостаточно эффективными. Среднее время для разработки и запуска нового препарата составляет 10-15 лет, а средняя стоимость разработки составляет около 5млрд.\$ [53]. При этом, доклинические и клинические исследования составляют 63 % и 32 % от этой стоимости. Существенным недостатком традиционного доклинического скрининга является то, что он проводится на животных моделях и клеточных линиях животных, несмотря на существующие межвидовые различия. Это в целом приводит к тому, что во многих случаях невозможно предсказать кардиотоксичность для человека разрабатываемых лекарственных препаратов. Именно поэтому примерно 20 % лекарств, разработанных в течение последних четырех десятилетий, в настоящее время запрещены. Решить основную проблему анализа лекарственных препаратов позволяет использование микрофлюидных технологий - lab-on-a-chip (лаборатория на чипе) и micro Total Analysis Systems (микросистемы «полного» анализа) [54, 55, 56].

Для проведения токсикологических исследований микрофлюидные системы объединяют, для имитации соединения двух или трех органов вместе для тестирования лекарственных препаратов. Примерами таких мульти-систем органов являются кишечник-печень, печень-кожа, печень-почки и др. Использование систем lab-on-a-chip существенно повышает эффективность исследования токсичности вновь создаваемых лекарственных средств [57, 58, 59, 60].

Перспективы использования микрофлюидных технологий в кардиологии

За последние 15 лет микрофлюидные технологии получили огромное развитие, что позволило организовать автоматически контролируемые потоки жидкости (биологический образец, необходимые растворы, добавка образца к регистрирующему устройству) и обусловило возникновение целой отрасли - производства «лабораторий на чипе» (lab-on-chip). С помощью

микрофлюидных технологий стало возможным проводить биохимические анализы на биологических чипах, используя микроскопическое количество реагирующих веществ, быстро и эффективно.

Благодарности

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, Правительства Красноярского края, Красноярского краевого фонда поддержки научной и научно-технической деятельности в рамках научного проекта № 16-42- 240662.

Литература

- Humbert M, Morrell NW, Archer SL, Stenmark KR, MacLean MR, Lang IM, Christman BW, Weir EK, Eickelberg O, Voelkel NF, Rabinovitch M. Cellular and molecular pathobiology of pulmonary arterial hypertension. *Journal of the American College of Cardiology*. 2004; 43 (12):15-23.
- Weidermann CJ, Kiechl S, Dunzendorfer S, Schratzberger P, Egger G, Oberhollenzer F, Willeit J. Association of endotoxemia with carotid atherosclerosis and cardiovascular disease: Prospective results from the bruneck study. *Journal of the American College of Cardiology*. 1999; 34(7):1975-81.
- Vandvik PO, Lincoff M, Gore JM, Guterman DD, Sonnenberg FA, Alonso-Coello P, Akl EA, Lansberg MG, Guyatt GH, Spencer FA. Primary and Secondary Prevention of Cardiovascular Disease Prevention of Cardiovascular Disease: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis. *Chest*. 2012; 141(2), 637-8.
- Bian K, Doursout MF, Murad F. Vascular System: Role of Nitric Oxide in Cardiovascular Diseases. *The journal of clinical hypertension*. 2008; 10(4): 304-10.
- Hadigan C, Meigs J, Corcoran C, Reitschel P, Piecuch S, Basgoz N, Davis B, Sax P, Stanley T, Wilson P, D'Agostino R, Grinspoon S. Metabolic Abnormalities and Cardiovascular Disease Risk Factors in Adults with Human Immunodeficiency Virus Infection and Lipodystrophy. *Clinical Infectious Diseases*. 2001; 32 (1): 130-9.
- Lifton RP, Gharavi AG, Geller DS. Molecular mechanisms of human hypertension. *Cell*. 2001; 104:545-556.
- Li N, Luo W, Juhong Z, Yang J, Wang H, Zhou L, Chang J. Associations between genetic variations in the *FURIN* gene and hypertension. *BMC Medical Genetics*. 2010; 11:124.
- Mayr M, Zhang J, Greene A, Guttermann D, Perloff J, Ping P. Proteomics -based development of biomarkers in cardiovascular disease mechanistic, clinical and therapeutic insights. Molecular and cellular proteomics. *Molecular and cellular proteomics*. 2006; 5: 1853-64.
- Zhang J, Baines CP, Zong C, Cardwell EM, Wang G, Vondriska TM, Ping P. Functional proteomic analysis of a three-tier PKC[epsilon]-Akt-eNOS signaling module in cardiac protection. *American Journal of Physiology*. 2005; 288: 954- 61.
- Lakka H-M, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen K, Kumpusalo E, Tuomilehto J, Salonen JT. The metabolic syndrome and total cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA*. 2002; 288(21):2709-16.
- Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsen B, Lahti K, Nissen M, Taskinen M-R, Groop L. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*. 2001; 24:683-89.
- Olson TM, Michels VV, Ballew JD, Reyna SP, Karst ML, Heron KJ, Rodeheffer RJ, Anderson JL. Sodium channel mutations and susceptibility to heart failure and atrial. *JAMA*. 2005; 293(4):447-54.
- Kluijtmans LA, Van den Heuvel LP, Boers GH, Frosst P, Stevens EM, Van Oost BA, Den Heijer, Trijbels F. J, Rozen R, Blom HJ. Molecular genetic analysis in mild hyperhomocysteinemia: a common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is a genetic risk factor for cardiovascular diseases. *American Journal of Human Genetics*. 1996; 58(1): 35-41.
- Blankenberg B, Rupprecht HJ, Bickel B, Torzewski M, Hafner G, Tiret L, Smieja M, Cambien F, Meyer J, Lackner K. Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *The New England Journal of Medicine*. 2003; 349:1605-13.
- Watson AD, Thematic review series: systems biology approaches to metabolic and cardiovascular disorders. lipidomics: a global approach to lipid analysis in biological systems. *The Journal of Lipid Research*. 2006; 47, 2101-11.
- Keshishian H, Addona T, Burgess M, Mani DR, Shi X, Kuhn E, Sabatine M, Gerszten RE, Carr SA. Quantification of cardiovascular biomarkers in patient plasma by targeted mass spectrometry and stable isotope dilution. *Molecular and Cellular Proteomics*. 2009; 8:2339-49.
- Schwedhelm E, Boger R. Application of gas chromatography-mass spectrometry for analysis of isoprostanes: their role in cardiovascular disease. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2003; 41(12): 1434-6621.
- Strategy for the development of medical science in the Russian Federation for the period up to 2025 [Internet]. Available from: <http://www.msmsu.ru/userdata/manual/doc/nauka/strategiya%20razvitiya%20med%20nauki.pdf>.
- Plouffe BD, Kniazeva T, Mayer JE, Murthy SK, Sales VL. Development of microfluidics as endothelial progenitor cell capture technology for cardiovascular tissue engineering and diagnostic medicine. *The FASEB Journal*. 2009; 23 (10): 3309-14.
- Chin CD, Linder V, Sia SK. Commercialization of microfluidic point-of-care diagnostic devices. *Lab On a Chip*. 2012; 12:2118-34.
- Gunther A, Yasotharan S, Vagaon A, Lochovsky C, Pinto S, Yang J, Lau C, Voigtlaender-Bolzce J, Bolzcf S-S, A microfluidic platform for probing small artery structure and function. *Lab On a Chip*. 2010; 10(18), 2341-49.
- Sam H, Disease proteomics. *Nature*. 2003 422 (6928): 226-32.
- Evstropov AA Microfluidic chips for biological and medical research. *Journal of the Russian Chemical Society*. DI. Mendeleviev University.
- Dittrich PS, Manz A. Lab-on-a-chip: microfluidics in drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2006, 5(3):210-18.
- Neyes D, Iossifidis D, Auroux P, Manz A. Micro total analysis systems. 1. Introduction, theory and technology. *Analytical Chemistry*. 2002; 74:2623-36.
- Lee HG, Kumar KS, Soh J-R, Cha Y-S, Kang SH. Ultra-fast simultaneous detection of obesity-related coenzymes in mice using microchip electrophoresis with a LIF detector. *Analytica Chimica Acta*. 2008; 619(1):94-100.
- Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *The New England Journal of Medicine*. 2000; 342(12): 836-43.
- Vazquez M, Frankenfeld C, Collro WKT, Carrilho EEA. Dual contactless conductivity and amperometric detection on hybrid PDMS/glass electrophoresis microchips. *Analyst*. 2010; 135(1):96-103.
- Yi C, Zhang Q, Li CW, Yang J, Zhao J, Yang M. Optical and electrochemical detection techniques for cell-based microfluidic systems. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 2006; 384(6): 1259-68.
- Nie Z, Nijhuis CA, Gong J, Chen X, Kumachev A, Martinez AW, Narovlyanskaya M, Whitesides GM. Electrochemical sensing in paper-based microfluidic devices. *Lab on a Chip*. 2010; 10 (4):477-83.
- Cheek BJ, Steel AB, Torres MP, Yu YY, Yang H. Chemiluminescence detection for hybridization assays on the flow-thru chip, a three-dimensional microchannel biochip. *Analytical Chemistry*. 2001; 73(24):5777-83.
- Delaney JL, Hogan CF, Tian J, Shen W. Electrogenerated chemiluminescence detection in paper-based microfluidic sensors. *Analytical chemistry*. 2011; 83(4): 1300-06.
- Bhattacharyya A, Klapperich CM. Design and testing of a disposable microfluidic chemiluminescent immunoassay for disease biomarkers in human serum samples. *Biomedical Microdevices*. 2007; 9(2): 245.

34. Figeys D, Gygi SP, McKinnon G, Aebersold R. An integrated microfluidics-tandem mass spectrometry system for automated protein analysis. *Analytical Chemistry*. 1998; 70(18): 3728-34.
35. Xie J, Miao Y, Shih J, Tai YC, Lee TD. Microfluidic platform for liquid chromatography-tandem mass spectrometry analyses of complex peptide mixtures. *Analytical Chemistry*. 2005; 77(21): 6947-53.
36. Lazar M, Grym J, Foret F. Microfabricated devices: A new sample introduction approach to mass. *Mass Spectrometry Review*. 2006; 25(4):573-94.
37. Strehle KR, Cialla D, Rosch P, Henkel T, Kohler M, Popp J. A reproducible surface-enhanced Raman spectroscopy approach. Online SERS measurements in a segmented microfluidic system. *Analytical Chemistry*. 2007; 79(4):1542-47.
38. Schiller LR, Johnson DA. Balancing drug risk and benefit: toward redefining the process of FDA decisions affecting patient care. *American Journal of Gastroenterology*. 2008; 103:815-19.
39. Markov DA, Dotson S, Wood S, Bornhop DJ. Noninvasive fluid flow measurements in microfluidic channels with backscatter interferometry. *Electrophoresis*. 2004; 25(21-22): 3805-09.
40. Swinnev K, Markov A, Bornhop DJ. Chip-scale universal detection based on backscatter interferometry. *Ibid*. 2000; 72(13):2690-95.
41. Vasan Biomarkers of cardiovascular disease. *Circulation*. 2006; 113(19): 2335-2362.
42. Sun RR, Lu L, Liu M, Cao Y, Li XC, Liu H, Zhang PY. (2014). Biomarkers and heart disease. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2014; 18(19): 2927-35.
43. Fung TT, Rimm E B, Spiegelman D, Rifai N, Tofler GH, Willett WC, Hu FB. Association between dietary patterns and plasma biomarkers of obesity and cardiovascular disease risk. *The American journal of clinical nutrition*. 2001; 73(1): 61-7.
44. Mayr M, Zhang J, Greene AS, Gutterman D, Perloff J, Ping P. Proteomics-based development of biomarkers in cardiovascular disease mechanistic, clinical, and therapeutic insights. *Molecular and Cellular Proteomics*. 2006; 5(10):1853-1864.
45. Hochholzer W, Morrow DA, Giugliano RP. Novel biomarkers in cardiovascular disease: update 2010. *American Heart Journal*. 2010; 160(4), 583-94.
46. Warsinke A. Nagel B. Towards separation-free electrochemical affinity sensors by using antibodies, aptamers, and molecularly imprinted polymers—a review. *Analytical letters*. 2006, 39(13): 2507-56.
47. Breaker RR. DNA aptamers and DNA enzymes. *Current opinion in chemical biology*. 1997; 1(1): 26-31.
48. Xu Y, Phillips JA, Yan J, Li Q, Fan Z H, Tan W. Aptamer-based microfluidic device for enrichment, sorting, and detection of multiple cancer cells. *Analytical chemistry*. 2009; 81(17): 7436-42.
49. Zuo P, Li X, Dominguez DC, Ye BC. (2013). A PDMS/paper/glass hybrid microfluidic biosensor integrated with aptamer-functionalized graphene oxide nano-biosensors for one-step multiplexed pathogen detection. *Lab on a Chip*. 2013 (19): 3921-28.
50. Xu Y, Yang X, Wang E. Review: Aptamers in microfluidic chips. *Analytica Chimica Acta*. 2010; 683(1): 12-20.
51. Wang G, McCain ML, Yang L, He A, Pasqualini FS, Agarwal A, Geva J. Modeling the mitochondrial cardiomyopathy of Barth syndrome with induced pluripotent stem cell and heart-on-chip technologies. *Nature medicine*. 2014; 20(6): 616-23.
52. Mellati A, Fan C-M, Tamayol A, Annabi N, Dai S, Bi J, Jin B, Xian C, Khademhosseini A, Zhang H. Microengineered 3D cell-laden thermoresponsive hydrogels for mimicking cell morphology and orientation in cartilage tissue engineering. *Biotechnology and Bioengineering*. 2017;114: 217-31.
53. Paul SM, Mytelka DS, Dunwiddie CT, Persinger CC, Munos BH, Lindborg SR, Schacht AL. How to improve R&D productivity: The pharmaceutical industry's grand challenge. *Reviews drug discovery*. 2010; 9:203-14.
54. Dittich PS, Tachikawa K, Manz A. Micro total analysis systems. Latest advancements and trends. *Analytical chemistry*. 2006; 78(12): 3887-3908.
55. Bhise NS, Ribas J, Manoharan V, Zhang YS, Polini A, Massa S, Dokmeci MR, Khademhosseini AJ. Organ-on-a-chip platforms for studying drug delivery systems. *Controlled Release*. 2014; 190:82-93.
56. Damilano A, Annabi N, Dokmeci MR, Takayama S, Khademhosseini AJ. Carbon-based nanomaterials for tissue engineering. *Lab on a Chip*. 2015; 15:3661-69.
57. Neuzi P, Giselbrecht S, Lange K, Huang TJ, Manz A. Revisiting lab-on-a-chip technology for drug discovery. *Nature reviews Drug discovery*. 2012; 11(8): 620-32.
58. Popovtzer R, Neufeld T, Popovtzer A, Rivkin I, Margalit R, Engel D, Shacham-Diamand Y. Electrochemical lab on a chip for high-throughput analysis of anticancer drugs efficiency. 2008, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 4(2): 121-6.
59. Daw R, Finkelstein J. Insight: *Lab on a chip*. *Nature*. 2006; 442(7101): 367-418.
60. Christodoulides N, Floriano PN, Miller CS, Ebersole JL, Mohanty S, Dharshan P, Langub MC. Lab-on a chip methods for point-of-care measurements of salivary biomarkers of periodontitis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2007; 1098(1): 411-28.

References

1. Humbert M, Morrell NW, Archer SL, Stenmark KR, MacLean MR, Lang IM, Christman BW, Weir EK, Eickelberg, O, Voelkel NF, Rabinovitch M Cellular and molecular pathobiology of pulmonary arterial hypertension. *Journal of the American College of Cardiology*. 2004; 43 (12):15-23.
2. Weidemann CJ, Kiechl S, Dunzendorfer S, Schratzberger P, Egger G, Oberhollenzer F, Willeit J. Association of endotoxemia with carotid atherosclerosis and cardiovascular disease: Prospective results from the bruneck study. *Journal of the American College of Cardiology*. 1999; 34(7):1975-81.
3. Vandvik PO, Lincoff M, Gore JM, Gutterman DD, Sonnenberg FA, Alonso-Coello P, Akl EA, Lansberg MG, Guyatt GH, Spencer FA. Primary and Secondary Prevention of Cardiovascular Disease Prevention of Cardiovascular Disease: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis. *Chest*. 2012; 141(2): 637-68.
4. Bian K, Doursout MF, Murad F. Vascular System: Role of Nitric Oxide in Cardiovascular Diseases. *The journal of clinical hypertension*. 2008; 10(4):304-10.
5. Hadigan C, Meigs J, Corcoran C, Reitschel P, Piecuch S, Basgoz N, Davis B, Sax P, Stanley T, Wilson P, D'Agostino R, Grinspoon S. Metabolic Abnormalities and Cardiovascular Disease Risk Factors in Adults with Human Immunodeficiency Virus Infection and Lipodystrophy. *Clinical Infectious Diseases*. 2001; 32 (1): 130-9.
6. Lifton RP, Gharavi AG, Geller DS. Molecular mechanisms of human hypertension. *Cell*. 2001, 104: 545-56.
7. Li N, Luo W, Juhong Z, Yang J, Wang H, Zhou L, Chang J. Associations between genetic variations in the *FURIN* gene and hypertension. *BMC Medical Genetics*. 2010; 11:124.
8. Mayr M, Zhang J, Greene A, Guttermann D, Perloff J, Ping P. Proteomics-based development of biomarkers in cardiovascular disease mechanistic, clinical and therapeutic insights. *Molecular and cellular proteomics*. 2006; 5: 1853-64.
9. Zhang J, Baines CP, Zong C, Cardwell EM, Wang G, Vondriska TM, Ping P. Functional proteomic analysis of a three-tier PKC[ϵ]-Akt-eNOS signaling module in cardiac protection. *American Journal of Physiology*. 2005; 288:954- 61.
10. Lakka H-M, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen K, Kumpusalo E, Tuomilehto J, Salonen JT. The metabolic syndrome and total cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA*. 2002; 288(21):2709-16.
11. Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsen B, Lahti K, Nissen M, Taskinen M-R, Groop L. Cardiovascular morbidity and mortality

associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*. 2001;24: 683-89.

12. Olson TM, Michels VV, Ballew JD, Reyna SP, Karst ML, Herron KJ, Rodeheffer RJ, Anderson JL. Sodium channel mutations and susceptibility to heart failure and atrial JAMA. 2005; 293(4):447-54.

13. Kluijtmans LA, Van den Heuvel LP, Boers GH, Frosst P, Stevens EM, Van Oost BA, Den Heijer, Trijbels FJ, Rozen R, Blom HJ. Molecular genetic analysis in mild hyperhomocysteinemia: a common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is a genetic risk factor for cardiovascular diseases. *American Journal of Human Genetics*. 1996; 58(1): 35-41.

14. Blankenberg B, Rupprecht HJ, Bickel B, Torzewski M, Hafner G, Tiret L, Smieja M, Cambien F, Meyer J, Lackner K. Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *The New England Journal of Medicine*. 2003; 349:1605-13.

15. Watson AD, Thematic review series: systems biology approaches to metabolic and cardiovascular disorders. lipidomics: a global approach to lipid analysis in biological systems. *The Journal of Lipid Research*, 2006, 47, 2101-11.

16. Keshishian H, Addona T, Burgess M, Mani DR, Shi X, Kuhn E, Sabatine M, Gerszten RE, Carr SA. Quantification of cardiovascular biomarkers in patient plasma by targeted mass spectrometry and stable isotope dilution. *Molecular and Cellular Proteomics*. 2009; 8:2339-2349.

17. Schwedhelm E, Boger R. Application of gas chromatography-mass spectrometry for analysis of isoprostanes: their role in cardiovascular disease. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2003; 41(12): 1434-6621.

18. Strategy for the development of medical science in the Russian Federation for the period up to 2025 [Internet]. Available from: <http://www.msmsu.ru/userdata/manual/doc/nauka/strategiya%20razvitiya%20med%20nauki.pdf>.

19. Plouffe BD, Kniazeva T, Mayer JE, Murthy SK, Sales VL. Development of microfluidics as endothelial progenitor cell capture technology for cardiovascular tissue engineering and diagnostic medicine. *The FASEB Journal*. 2009; 23 (10): 3309-14.

20. Chin CD, Linder V, Sia SK. Commercialization of microfluidic point-of-care diagnostic devices. *Lab On a Chip*, 2012,12:2118-2134.

21. Gunther A, Yasotharan S, Vagaon A, Lochovsky C, Pinto S, Yang J, Lau C, Voigtlaender-Bolzce J, Bolzcf S-S, A microfluidic platform for probing small artery structure and function. *Lab On a Chip*. 2010; 10(18): 2341-49.

22. Sam H. Disease proteomics. *Nature*. 2003; 422 (6928): 226-32.

23. Evstrapov AA Microfluidic chips for biological and medical research. *Journal of the Russian Chemical Society*. DI. Mendelev University.

24. Dittrich PS, Manz A. Lab-on-a-chip: microfluidics in drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2006, 5(3):210-18.

25. Reyes D, Iossifidis D, Auroux P, Manz A. Micro total analysis systems. 1. Introduction, theory and technology. *Analytical Chemistry*. 2002; 74:2623-36.

26. Lee HG, Kumar KS, Soh J-R, Cha Y-S, Kang SH. Ultra-fast simultaneous detection of obesity-related coenzymes in mice using microchip electrophoresis with a LIF detector. *Analytica Chimica Acta*. 2008; 619(1):94-100.

27. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *The New England Journal of Medicine*. 2000; 342(12): 836-43.

28. Vazquez M, Frankenfeld C, Collro WKT, Carrilho EEA. Dual contactless conductivity and amperometric detection on hybrid PDMS/glass electrophoresis microchips. *Analyst*. 2010; 135(1):96-103.

29. Yi C, Zhang Q, Li CW, Yang J, Zhao J, Yang M. Optical and electrochemical detection techniques for cell-based microfluidic systems. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 2006; 384(6): 1259-68.

30. Nie Z, Nijhuis CA, Gong J, Chen X, Kumachev A, Martinez AW, Narovlyanskya M, Whitesides GM. Electrochemical sensing in

paper-based microfluidic devices. *Lab on a Chip*. 2010; 10 (4):477-83.

31. Cheek BJ, Steel AB, Torres MP, Yu YY, Yang H. Chemiluminescence detection for hybridization assays on the flow-thru chip, a three-dimensional microchannel biochip. *Analytical Chemistry*. 2001; 73(24):5777-83.

32. Delaney JL, Hogan CF, Tian J, Shen W. Electrogenerated chemiluminescence detection in paper-based microfluidic sensors. *Analytical chemistry*. 2011; 83(4): 1300-06.

33. Bhattacharyya A, Klapperich CM. Design and testing of a disposable microfluidic chemiluminescent immunoassay for disease biomarkers in human serum samples. *Biomedical Microdevices*. 2007; 9(2): 245.

34. Figeys D, Gygi SP, McKinnon G, Aebersold R. An integrated microfluidics-tandem mass spectrometry system for automated protein analysis. *Analytical Chemistry*. 1998; 70(18): 3728-34.

35. Xie J, Miao Y, Shih J, Tai YC, Lee TD. Microfluidic platform for liquid chromatography-tandem mass spectrometry analyses of complex peptide mixtures. *Analytical Chemistry*. 2005; 77(21): 6947-53.

36. Lazar M, Grym J, Foret F. Microfabricated devices: A new sample introduction approach to mass. *Mass Spectrometry Review*. 2006; 25(4):573-94.

37. Strehle KR, Cialla D, Rosch P, Henkel T, Kohler M, Popp J. A reproducible surface-enhanced Raman spectroscopy approach. Online SERS measurements in a segmented microfluidic system. *Analytical Chemistry*. 2007; 79(4):1542-47.

38. Schiller LR, Johnson DA. Balancing drug risk and benefit: toward redefining the process of FDA decisions affecting patient care. *American Journal of Gastroenterology*. 2008; 103:815-19.

39. Markov DA, Dotson S, Wood S, Bornhop DJ. Noninvasive fluid flow measurements in microfluidic channels with backscatter interferometry. *Electrophoresis*. 2004; 25(21-22): 3805-09.

40. Swinnev K, Markov A, Bornhop DJ. Chip-scale universal detection based on backscatter interferometry. *Ibid*. 2000; 72(13):2690—2695.

41. Vasan Biomarkers of cardiovascular disease. *Circulation*. 2006; 113(19): 2335-62.

42. Sun RR, Lu L, Liu M, Cao Y, Li XC, Liu H, Zhang PY. (2014). Biomarkers and heart disease. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2014; 18(19): 2927-35.

43. Fung TT, Rimm E B, Spiegelman D, Rifai N, Tofler GH, Willett WC, Hu FB. Association between dietary patterns and plasma biomarkers of obesity and cardiovascular disease risk. *The American journal of clinical nutrition*. 2001; 73(1): 61-7.

44. Mayr M, Zhang J, Greene AS, Gutterman D, Perloff J, Ping P. Proteomics-based development of biomarkers in cardiovascular disease mechanistic, clinical, and therapeutic insights. *Molecular and Cellular Proteomics*. 2006; 5(10):1853-64.

45. Hochholzer W, Morrow DA, Giugliano RP. Novel biomarkers in cardiovascular disease: update 2010. *American Heart Journal*. 2010;160(4): 583-594.

46. Warsinke A, Nagel B. Towards separation-free electrochemical affinity sensors by using antibodies, aptamers, and molecularly imprinted polymers—a review. *Analytical letters*. 2006; 39(13): 2507-56.

47. Breaker RR. DNA aptamers and DNA enzymes. *Current opinion in chemical biology*. 1997; 1(1): 26-31.

48. Xu Y, Phillips JA, Yan J, Li Q, Fan Z H, Tan W. Aptamer-based microfluidic device for enrichment, sorting, and detection of multiple cancer cells. *Analytical chemistry*. 2009; 81(17): 7436-42.

49. Zuo P, Li X, Dominguez DC, Ye BC. (2013). A PDMS/paper/glass hybrid microfluidic biochip integrated with aptamer-functionalized graphene oxide nano-biosensors for one-step multiplexed pathogen detection. *Lab on a Chip*. 13(19): 3921-28.

50. Xu Y, Yang X, Wang E. Review: Aptamers in microfluidic chips. *Analytica Chimica Acta*. 2010; 683(1): 12-20.

51. Wang G, McCain ML, Yang L, He A, Pasqualini FS, Agarwal A, Geva J. Modeling the mitochondrial cardiomyopathy of Barth syndrome

with induced pluripotent stem cell and heart-on-chip technologies. *Nature medicine*. 2014; 20(6): 616-23.

52. Mellati A, Fan C-M, Tamayol A, Annabi N, Dai S, Bi J, Jin B, Xian C, Khademhosseini A, Zhang H. Microengineered 3D cell-laden thermoresponsive hydrogels for mimicking cell morphology and orientation in cartilage tissue engineering. *Biotechnology and Bioengineering*. 2017; 114: 217-31.

53. Paul SM, Mytelka DS, Dunwiddie CT, Persinger CC, Munos BH, Lindborg SR, Schacht AL. How to improve R&D productivity: The pharmaceutical industry's grand challenge. *Reviews drug discovery*. 2010; 9:203-14.

54. Dittich PS, Tachikawa K, Manz A. Micro total analysis systems. Latest advancements and trends. *Analytical chemistry*. 2006; 78(12): 3887-3908.

55. Bhise NS, Ribas J, Manoharan V, Zhang YS, Polini A, Massa S, Dokmeci MR, Khademhosseini AJ. Organ-on-a-chip platforms for studying drug delivery systems. *Controlled Release*. 2014; 190:82-93.

56. Damilano A, Annabi N, Dokmeci MR, Takayama S, Khademhosseini AJ. Carbon-based nanomaterials for tissue engineering. *Lab on a Chip*. 2015; 15:3661-69.

57. Neuzi P, Giselbrecht S, Lange K, Huang TJ, Manz A. Revisiting lab-on-a-chip technology for drug discovery. *Nature reviews Drug discovery*. 2012; 11(8): 620-32.

58. Popovtzer R, Neufeld T, Popovtzer A, Rivkin I, Margalit R, Engel D, Shacham-Diamand Y. Electrochemical lab on a chip for high-throughput analysis of anticancer drugs efficiency. 2008; *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 4(2): 121-126.

59. Daw R, Finkelstein J. Insight: Lab on a chip. *Nature*. 2006; 442(7101), 367-418.

60. Christodoulides N, Floriano PN, Miller CS, Ebersole JL, Mohanty S, Dharshan P, Langub MC. Lab-on-a-chip methods for point-of-care measurements of salivary biomarkers of periodontitis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2007; 1098(1); 411-28.

Сведения об авторах

Коловская Ольга Сергеевна, Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, г. 1; тел.: +7(391)2644788; e-mail: olga.kolovskaya@gmail.com

Замай Сергей Сергеевич, Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук; адрес: Российская Федерация 660036, г. Красноярск, Академгородок, стр.50; тел.: +7(391)2644788; e-mail: sergey-zamay@yandex.ru

Замай Татьяна Николаевна, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, г. 1; тел.: +7(391)2644788; e-mail: tzamay@yandex.ru

Information about the authors

Kolovskaya Olga Sergeevna, Professor V. F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone +7(391)2644788; e-mail: olga.kolovskaya@gmail.com

Zamay Sergey Sergeevich, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Akademgorodok, Krasnoyarsk, Russian Federation 660036; Phone +7(391)2644788; e-mail: sergey-zamay@yandex.ru

Zamay Tatiana Nikolaevna, Professor V. F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone +7(391)2644788; e-mail: tzamay@yandex.ru

Поступила 27.06.2017 г.

Принята к печати 11.08.2017 г.

Оригинальные исследования

© ПЛАХОТНИКОВ А. В., ЧИКУН В. И., ДУКОВ Д. В., ПЛАХОТНИКОВА А. М., ПОЛЕХОВ М. В.

УДК 340.6:614.86(571.51-21Красноярск)«2014/2015»

DOI: 10.20333/2500136-2017-4-19-23

АНАЛИЗ ДОРОЖНО-ТРАНСПОРТНЫХ ПРОИСШЕСТВИЙ СО СМЕРТЕЛЬНЫМ ИСХОДОМ В Г. КРАСНОЯРСКЕ И ЕГО ПРИГОРОДАХ ПО ДАННЫМ КРАСНОЯРСКОГО КРАЕВОГО БЮРО СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ ЗА 2014-2015 ГОДЫ

А. В. Плахотников^{1,2}, В. И. Чикун¹, Д. В. Дуков^{1,2}, А. М. Плахотникова¹, М. В. Полехов²

¹Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск 660022, Российская Федерация

²Красноярское краевое бюро судебно-медицинской экспертизы, Красноярск 660049, Российская Федерация

Цель исследования. Изучение структуры дорожно-транспортных происшествий со смертельным исходом в г. Красноярске и его пригородах за 2014-2015 гг. по результатам ретроспективного анализа актов медицинских исследований и заключений судебно-медицинских экспертиз КГБУЗ ККБСМЭ и районных судебно-медицинских отделений поселков Березовка и Емельяново за 2014-2015 гг. **Материал и методы.** Впервые получены данные о структуре погибших в ДТП за 2014-2015 гг. в данном административном центре субъекта РФ, проведен сравнительный анализ с данными, полученными в 2012-2013 гг.

Результаты. В г. Красноярске и его пригородах в 2014-2015 гг. по сравнению с 2012-2013 гг. постепенно снижается доля мужчин, погибших в ДТП, возросло число ДТП со смертельным исходом в дневное время суток, а случаи смертельной травмы по-прежнему преобладают среди трудоспособной части населения.

Заключение. В структуре погибших среди активных участников ДТП (пешеходов и водителей) преобладает число погибших пешеходов.

Ключевые слова: судебно-медицинская экспертиза, анализ смертности, автодорожная травма, дорожно-транспортное происшествие, смертельный исход.