

Таблица 4

Корреляционные связи ТИМП с маркерами кальцификации (коэффициент Спирмена)

Показатель	ТИМП-1	ТИМП-2	ТИМП-3	ТИМП-4
Остеокальцин		-0,296**	0,284*	0,377**
Остеонектин			0,872**	0,892**
Остеопонтин	0,552**	0,684**	0,529**	0,388**
Остеопротегерин	0,688**	0,715**	0,381**	0,223*

в коронарной артерии был связан с ММП-9, уровень которого был выше в кальцинированных бляшках. Также в этих бляшках был выше уровень ММП-1, хотя проведенный далее логистический регрессионный анализ не показал влияния ММП-1 на формирование кальцинированных очагов. Так как большинство кальцинированных бляшек в нашем исследовании было нестабильным, это свидетельствует о том, что возможно ММП-1 играет роль в дестабилизации атеросклеротической бляшки.

Выявлена статистически значимая связь остеопротегерина и остеопонтина со всеми изучаемыми ТИМП (табл. 4), наиболее выраженная с ТИМП-1 и ТИМП-2. Для остеокальцина также выявлена связь со всеми ТИМП, но

менее сильная. Выявлена связь уровня остео-нектина с ТИМП-3 ($r = 0,872$; $p = 0,0001$) и ТИМП-4 ($r = 0,892$; $p = 0,0001$).

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о влиянии изучаемых ТИМП и ММП на развитие атеросклероза и кальцификацию атеросклеротических бляшек в коронарных сосудах, особенно ТИМП-1, ТИМП-2; ММП-1 и ММП-9, и требуют дополнительных исследований.

Исследование проводилось в рамках бюджетной темы государственного задания АААААА-А17-117112850280-2, бюджетная поддержка коллекций биоресурсов в рамках Государственного задания 0324-2017-0048 и при финансовой поддержке гранта РФФИ 19-015-00055.

DOI 10.52727/2078-256X-2021-17-3-78-79

РОЛЬ ПОВРЕЖДЕНИЯ ДНК В ФОРМИРОВАНИИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ: ИССЛЕДОВАНИЕ *IN VITRO*

М.Ю. Синицкий, А.В. Цепочкина, А.Г. Кутихин, Д.К. Шишкова, А.В. Понасенко

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Россия

Введение. Атеросклероз — одно из наиболее распространенных заболеваний сердечно-сосудистой системы, начальным звеном патогенеза которой является формирование эндотелиальной дисфункции, ассоциированной с различными факторами риска, среди которых курение, диабет, гиперхолестеринемия, а также наследственная предрасположенность [1]. Существуют данные о том, что в основе эндотелиальной дисфункции помимо классических факторов риска также лежат генотоксический стресс и повреждение ДНК [2].

Понимание молекулярных механизмов формирования дисфункции эндотелиального моно-слоя в ответ на генотоксический стресс чрезвычайно важно, учитывая возрастающий уровень генотоксической нагрузки на человека, главным образом от антропогенных источников.

Цель исследования — оценка уровня экспрессии генов, задействованных в патогенезе

атеросклероза и являющихся маркерами эндотелиальной дисфункции, а именно генов адгезии лейкоцитов (VCAM1, ICAM1, SELE, SELP), эндотелиальной механотрансдукции (KLF4), эндотелиальной дифференцировки (PECAM1, CDH5, CD34, NOS3), эндотелиально-мезенхимального перехода (SNAI1, SNAI2, TWIST1, GATA4, ZEB1, CDH2), скавенджер-рецепторов (LOX1, SCARF1, CD36, LDLR, VLDLR), антиоксидантной защиты (PXDN, CAT, SOD1) и транскрипционного фактора HEY2 в культурах первичных эндотелиальных клеток коронарной (HCAEC) и внутренней грудной (HITAEC) артерий человека, экспонированных алкилирующим мутагеном митомицином С (MMC).

Материал и методы. Исследование выполнено на коммерческих культурах первичных эндотелиальных клеток коронарной (HCAEC) и внутренней грудной (HITAEC) артерий человека, в течение 6 часов экспонированных мутаге-

ном алкилирующего механизма действия ММС в концентрации 500 нг/мл. В качестве контроля использованы клетки НСАЕС и НТАЕС, культивируемые в отсутствие мутагенной нагрузки. Выбор данных клеточных линий был обусловлен их дифференциальной чувствительностью к развитию атеросклеротического поражения — так, коронарные артерии достаточно часто поражаются атеросклерозом, в то время как во внутренней грудной артерии данная патология отмечается крайне редко [3]. Уровень экспрессии генов интереса определялся в двух временных точках — через 6 часов культивирования клеток в присутствии ММС (точка 1) и через 6 часов экспозиции мутагеном с последующими 24 часами культивирования в чистой культуральной среде (точка 2) с помощью метода количественной ПЦР на амплификаторе ViiA7 (Applied Biosystems, США). Статистический анализ результатов выполнен в программе GraphPad Prism 8.

Результаты. Непосредственно после воздействия мутагена (точка 1) в экспонированных культурах НСАЕС и НТАЕС отмечено снижение экспрессии практически всех изученных генов, за исключением *SNAI2* (его экспрессия была повышена в 4 раза), по сравнению с неэкспонированным контролем. После элиминирования из культур ММС (точка 2), в обеих клеточных линиях отмечено увеличение экспрессии генов *VCAM1*, *ICAM1*, *SELE*, *SNAI2*, *KLF4* и снижение уровня мРНК генов *PECAM1*, *CDH5*, *CD34*, *ZEB1*, *CAT*, *PXDN*. Кроме того, клетки НТАЕС также характеризовались снижением экспрессии генов *SOD1*, *SCARF1*, *CD36* и повышением экспрессии генов *SNAI1* и *TWIST1*; в клетках НСАЕС было отмечено увеличение уровня мРНК генов *LDLR* и *VLDLR*. Полные результаты, показывающие кратности изменения экспрессии генов интереса в экспонированных ММС клеточных культурах по сравнению с неэкспонированным контролем после элиминирования мутагена из культуры, представлены в таблице.

Заключение. В результате проведения исследования было установлено, что генотоксический стресс в эндотелиальных клетках, вызванный мутагеном алкилирующего механизма действия, приводит к изменению профиля генной экспрессии эндотелиоцитов, свидетельствующему о развитии эндотелиальной дисфункции и формировании клетками проатеросклеротического

Кратность изменения дифференциально экспрессируемых генов в экспонированных митомицином С клетках по сравнению с контролем после элиминирования мутагена из культуры (точка 2)

Ген	НСАЕС	НТАЕС
<i>CAT</i>	0,6	0,5
<i>CD34</i>	0,2	0,2
<i>CD36</i>	0,9	0,6*
<i>CDH5</i>	0,5	0,6
<i>ICAM1</i>	2,2	2,0
<i>KLF4</i>	4,3	1,9*
<i>LDLR</i>	2,2	1,3*
<i>PECAM1</i>	0,4	0,5
<i>PXDN</i>	0,8	0,6
<i>SCARF1</i>	1,2	0,7
<i>SELE</i>	5,1	1,9*
<i>SNAI1</i>	0,8	1,5*
<i>SNAI2</i>	1,9	2,4
<i>SOD1</i>	0,8	0,5
<i>TWIST1</i>	1,1	3,0*
<i>VCAM1</i>	4,5	2,1*
<i>VLDLR</i>	2,4	0,8*
<i>ZEB1</i>	0,5	0,5

* Достоверные различия по сравнению с культурами НСАЕС (НСАЕС — эндотелиальные клетки коронарной артерии; НТАЕС — эндотелиальные клетки внутренней грудной артерии).

фенотипа. При этом клетки различных артерий характеризуются дифференциальной чувствительностью к действию ММС. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-7510052 «Молекулярные механизмы развития эндотелиальной дисфункции в ответ на генотоксический стресс», <https://rscf.ru/project/21-75-10052/>.

Литература

1. Libby P., Ridker P.M., Hansson G.K. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature*, 2011; 473 (7347): 317–325.
2. Кутихин А.Г., Сеницкий М.Ю., Понасенко А.В. Роль мутагенеза в развитии атеросклероза. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*, 2017; 6 (1): 92–101.
3. Sims F.H. A comparison of coronary and internal mammary arteries and implications of the results in the etiology of atherosclerosis. *Am. Heart J.*, 1983; 105 (1983): 560–566.