

УДК 577

DOI 10.17802/2306-1278-2024-13-4S-73-87

## ХАРАКТЕРИСТИКА ИНТЕРАКТОМА АРТЕРИО-АРТЕРИАЛЬНОГО КОНТИНУУМА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ «КОНДУИТ – АРТЕРИЯ» В ХОДЕ МОДЕЛИРОВАНИЯ *IN SILICO*

А.В. Фролов

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», бульвар им. академика Л.С. Барбараша, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

### Основные положения

- Морфофункциональная система «конduit – артерия», как хирургическое соединение между шунтом и коронарной артерией, существует в двух вариантах: артерио-артериальном и венозно-артериальном континууме.
- Наиболее эффективные результаты демонстрирует аутоартериальное коронарное шунтирование, в основе которого лежит использование в качестве шунтов собственных артерий человека.
- Исследуемый интерактом эндотелия двух соединяемых сосудов в артерио-артериальном континууме позволяет фундаментально обосновывать высокую эффективность такого вида шунтирования.

<b>Актуальность</b>	Изменения в шунте и коронарной артерии (КА) морфофункциональной системы «конduit – артерия», приводящие к неудовлетворительным клиническим результатам коронарного шунтирования в отдаленном периоде, зачастую определяются дисфункцией эндотелия. Данный патологический процесс может быть менее выражен при использовании аутоартериальных кондуитов, поскольку соединение одной артерии с другой связано с большим количеством схожих категорий протеома и транскриптома эндотелиальных клеток (ЭК) этих сосудов. Вместе с тем остается неясным, что представляет собой интерактом данного соединения, в основе которого лежит взаимодействие дифференциально экспрессируемых генов и белков, отражающих структурно-функциональную гетерогенность различных ЭК и способных влиять на биологическую конгруэнтность артерио-артериального континуума.
<b>Цель</b>	Охарактеризовать интерактом ЭК КА и внутренней грудной артерии (ВГА) для оценки биологической конгруэнтности артерио-артериального континуума.
<b>Материалы и методы</b>	В исследовании использованы коммерческие культуры первичных ЭК КА и ВГА человека. Оценка физиологической экспрессии проведена посредством транскриптомного и протеомного профилирования при помощи полнотранскриптомного секвенирования и жидкостной хромато-масс-спектрометрии соответственно. Массивы транскриптомных и протеомных данных исследованы путем биоинформатического анализа с использованием баз данных Gene Ontology, Reactome, UniProtKB и KEGG. Для оценки интерактома выполнено компьютерное моделирование <i>in silico</i> и дана его характеристика.
<b>Результаты</b>	Большинство категорий взаимодействия по типу «белок-белок» и «ген-ген» в ЭК КА и ВГА оказались ответственны за структурное и функциональное поддержание эндотелиального монослоя и базальной мембраны. Это выразилось в таких категориях, как межклеточные соединения (плотные, якорные, фокальные, щелевидные контакты, сборка клеточных контактов, соединение клетки и субстрата), адгезия клеток (клеточная адгезия, межклеточная адгезия и ее регуляция) и матрикса (соединение клетки и матрикса, контакт клетки с матриксом). Кроме этого, такие взаимодействия были связаны с образованием сосудов (морфогенез и развитие сосудов, ангиогенез, регуляция ангиогенеза, прорастающий ангиогенез, сигнальный путь VEGF, регуляция продукции VEGF, транскрипция и трансляция пре-NOTCH, передача сигналов NOTCH), пролиферацией ЭК (развитие, дифференциация и миграция ЭК), образованием эластических волокон (молекулы, ассоциированные

**Для корреспонденции:** Алексей Витальевич Фролов, [kjerne@yandex.ru](mailto:kjerne@yandex.ru); адрес: бульвар им. академика Л.С. Барбараша, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

**Corresponding author:** Alexey V. Frolov, [kjerne@yandex.ru](mailto:kjerne@yandex.ru); address: 6, academician Barbarash blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

с эластическими волокнами, формирование эластических волокон, сборка эластических волокон), биосинтезом NO и его регуляцией (стимулирование NO-гуанилатциклазы, передача сигнала, опосредованная NO, регуляция процесса биосинтеза NOS, регуляция активности NOS).

#### Заключение

Набор данных о взаимодействии дифференциально экспрессируемых белков и генов ЭК КА и ЭК ВГА характеризуется значительным обогащением путей артериального гомеостаза за счет когерентного структурно-функционального эффекта контактирующих гетерогенных клеток и синергичным влиянием на эндотелиальный фенотип, что, вероятно, поддерживает биологическую конгруэнтность артерио-артериального континуума морфофункциональной системы «конduit – артерия» длительное время, определяя высокую эффективность аутоартериального коронарного шунтирования.

#### Ключевые слова

Артериальные эндотелиальные клетки • Интерактом • Морфофункциональная система «конduit – артерия» • Коронарное шунтирование

Поступила в редакцию: 05.07.2024; поступила после доработки: 23.08.2024; принята к печати: 16.09.2024

## INTERACTOME CHARACTERISTICS OF MORPHOFUNCTIONAL SYSTEM CONDUIT-ARTERY ARTERIO-ARTERIAL CONTINUUM DURING IN MODELING *IN SILICO*

A.V. Frolov

*Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, 6, academician Barbarash blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002*

#### Highlights

- The morphofunctional conduit-artery system as a surgical connection between the bypass graft and the coronary artery exists in two forms – arterio-arterial and venous-arterial continuum.
- Coronary artery bypass grafting with autogenous arterial grafts shows the most effective results, this technique relies on the use of patient’s arteries as bypass grafts.
- The studied interactome of the endothelium of two connected vessels in the arterio-arterial continuum provides a fundamental justification of the high efficiency of this type of bypass.

#### Background

Alterations in conduits and coronary arteries, which lead to the unacceptable frequency of major adverse cardiovascular events after coronary artery bypass graft surgery, are often determined by endothelial dysfunction. This pathological process may be less pronounced when using autogenous arterial grafts, since the connection of one artery to another is associated with a large number of similar categories of proteome and transcriptome of endothelial cells (EC) of these vessels. At the same time, it remains unclear what constitutes the interactome of this compound, which is based on the interaction of differentially expressed genes and proteins that reflect the structural and functional heterogeneity of various ECs and can influence the biological congruence of the arterio-arterial continuum.

#### Aim

To characterize an interactome of human coronary artery ECs (HCAEC) and human internal thoracic artery ECs (HITAEC) for biological congruence of arterio-arterial continuum assessment.

#### Methods

The study involved commercial culture of human primary HCAEC and HITAEC. Physiological expression was evaluated by transcriptomic and proteomic profiling using RNA sequencing and ultra-high performance liquid chromatography-mass spectrometry, respectively. Bioinformatics analysis of transcriptomic and proteomic data was conducted using the Gene Ontology, Reactome, UniProtKB, and KEGG databases. Interactome was analyzed and characterized during modeling *in silico*.

#### Results

Most of the protein-protein and gene-gene interaction categories in HCAEC and HITAEC were responsible for the structural and functional maintenance of the endothelial monolayer and basement membrane. This was expressed in such categories as intercellular junctions (tight, anchor, focal, gap junctions, cell junction

assembly, cell-substrate junction), cell adhesion (cell and intercellular adhesion and its regulation) and matrix (cell-matrix junction, cell-matrix contact). Moreover, such interactions have been associated with vascular formation (vascular morphogenesis and development, angiogenesis, regulation of angiogenesis, sprouting angiogenesis, VEGF signaling pathway, regulation of VEGF production, transcription and translation of pre-NOTCH, NOTCH signaling), EC proliferation (development, differentiation and migration of EC), formation of elastic fibers (molecules associated with elastic fibers, formation of elastic fibers, assembly of elastic fibers), NO biosynthesis and its regulation (stimulation of NO guanylate cyclase, NO-mediated signal transduction, regulation of the NOS biosynthesis process, regulation of NOS activity).

### Conclusion

Datasets associated with interactions between differentially expressed proteins and genes of HCAEC and HITAEC are characterized by significant enrichment of arterial homeostasis pathways due to heterogenic cells' coherent structural and functional effects upon contact and synergetic impact on endothelial phenotype, which could possibly be keeping the biological congruence of arterio-arterial continuum in the morphofunctional conduit-artery system for a long time period and thus determine high effectiveness of coronary artery bypass grafting with autogenous arterial grafts.

### Keywords

Arterial endothelial cells • Interactome • Morphofunctional conduit-artery system • Coronary artery bypass grafting

*Received: 05.07.2024; received in revised form: 23.08.2024; accepted: 16.09.2024*

### Список сокращений

ВГА – внутренняя грудная артерия	КШ – коронарное шунтирование
ДЭГ – дифференциально экспрессированные гены	МФС – морфофункциональная система
КА – коронарная артерия	ЭК – эндотелиальные клетки

### Введение

Известно, что основным ангиокриным слоем сосудистой стенки является ее внутренняя выстилка, которая представлена монослоем эндотелиальных клеток (ЭК). Их структура и функция характеризуются общими закономерностями для любого типа сосудов: от мелких (артериол, венул и капилляров) до крупных (вен и артерий). Вместе с тем в силу различной функции данных сосудов физиологический профиль их ЭК, включающий совокупность экспрессируемых в них генов и белков, существенно различается между артериальным и венозным руслом [1, 2]. Это имеет не только фундаментальное значение, но и позволяет объяснять различия в клинических проявлениях после различных видов коронарного шунтирования (КШ). В частности, структурно-функциональные особенности используемых в КШ кондуитов напрямую определяют длительность их функционирования, а значит, и эффективность самой операции как в краткосрочном, так и в отдаленном периодах наблюдения [3, 4].

Любой коронарный анастомоз с точки зрения анатомии может быть условно представлен в виде двух вариантов морфофункциональной системы (МФС) «конduit – артерия», которая подразумевает соединение выбранного кондуита и коронарной артерии (КА) и их тесное взаимное влияние друг на друга, а именно венозно-артериальным и артери-

о-артериальным континуумами, при этом считается, что последний более эффективен и имеет большую функциональную устойчивость [5]. Преимуществами аутоартериальных кондуитов для КШ по сравнению с аутовенозными являются более высокая продукция артериальными ЭК таких вазодилататоров, как монооксид азота (NO) и простаглицлин, а также гистологическая близость к шунтируемой КА, которая выражается наличием внутренней и внешней эластических мембран, более выраженного гладкомышечного слоя и сходного диаметра сосудов [6, 7]. Так, в одном из морфометрических исследований было доказано, что внутренняя грудная артерия (ВГА) имеет переходный тип строения, то есть проксимальная ее часть может быть ближе к эластическому типу, а более дистальная – к мышечному [8]. В этой связи важно отметить, что КА, которая и анастомозирует с мышечным сегментом ВГА, также относится к мышечному типу артерий. Другие аутоартериальные кондуиты, активно применяемые в ходе КШ (например, лучевая артерия и наружная надчревная артерии), также относятся к мышечным [9]. В настоящее время до конца неясно, что кроме гистологической схожести делает артерии разных сосудистых бассейнов в коронарном артерио-артериальном континууме биологически конгруэнтными, то есть способными максимально соответствовать друг другу, реализуясь в едином искусственно созданном неоартериальном русле.

Предполагается, что такая схожесть основана на близости структуры и функции ЭК, однако до сих пор нет понимания того, что представляет собой интерактом такого континуума и какой вклад он может вносить в артериальную конгруэнтность [10]. В представленном исследовании мы сравнили протеомные и транскриптомные профили ЭК ВГА и ЭК КА, на основе которых был оценен и охарактеризован интерактом, то есть набор взаимодействий этих ЭК методом компьютерного моделирования *in silico* [11, 12]. Полученные данные существенно дополнили понимание вопроса биологической конгруэнтности в МФС «кондуит – артерия».

## Материалы и методы

**Клеточные культуры.** Для эксперимента использованы коммерческие культуры первичных ЭК КА человека (HSAEC, 300K-05a, Cell Applications, США) и первичных ЭК ВГА человека (HITAEC, 308K-05a, Cell Applications, США), которые культивировали строго параллельно для обеспечения воспроизводимости и достоверности полученных результатов. Согласно информации поставщика, ЭК КА и ЭК ВГА были получены из здоровых артерий доноров с криоконсервацией на втором пассаже (500 000 клеток в базальной среде MesoEndo Cell Basal Medium (212K-500, Cell Applications), содержащей 10% фетальной телячьей сыворотки и 10% диметилсульфоксида). Для проведения экспериментов ЭК КА и ЭК ВГА размораживали и культивировали во флаконах T-75 (90076, Techno Plastic Products, Швейцария) согласно рекомендациям производителя в среде для роста клеток Human MesoEndo Growth Medium (212-500, Cell Applications, США). Пересев производили по достижении 80–90% конfluence. После 2–3 пассажей ЭК КА и ЭК ВГА рассеивали в проточные культуральные камеры (80126, Ibidi, Германия) или культуральные флаконы T-75 (90076, Techno Plastic Products, Швейцария) в зависимости от эксперимента в соответствии с инструкциями производителя. Для моделирования воздействия пульсирующего потока ЭК КА и ЭК ВГА, предварительно рассеянные в проточные камеры до 90% конfluence (80126, Ibidi, Германия;  $\approx$  350 000 клеток на проточную камеру) культивировали в течение ночи и прекондиционировали ламинарным потоком (15 дин/см<sup>2</sup>) при помощи соответствующего набора коннекторов для перфузии (Perfusion Set Yellow/Green, 10964, Ibidi, Германия) в системе пульсирующего потока Ibidi Pump System Quad (Ibidi, Германия) в течение 48 ч. Инкубацию ЭК КА и ЭК ВГА в статических условиях также проводили в течение 48 ч после формирования монослоя. Все эксперименты с ЭК КА и ЭК ВГА проводили в стерильных условиях при 37 °С, поддержании атмосферы 95% воздуха: 5% CO<sub>2</sub> и высокой влажности (MCO-18AIC, Sanyo, Япония).

**Транскриптомный анализ.** Для полнотранскриптомного секвенирования (RNA-seq) использовали ЭК КА и ЭК ВГА в количестве приблизительно 10 млн клеток для каждой культуры, выращенные в условиях потока либо в статических условиях. Каждая группа состояла из трех биологических повторностей. После окончания инкубации и отмывки в ледяном фосфатно-солевом буфере (pH 7,4, 10010023, Thermo Fisher Scientific, США) клетки лизировали в тризоле (15596018, Thermo Fisher Scientific, США) с последующим выделением тотальной РНК при помощи набора Purelink RNA Micro Scale Kit (12183016, Invitrogen, США) с сопутствующей обработкой ДНКазой (DNASE70, Sigma-Aldrich, США) в соответствии с инструкциями производителей. Качество РНК контролировалось с помощью набора RNA 6000 Pico Kit (5067-1513, Agilent, США) на приборе Bioanalyzer 2100 (Agilent, США) по индексу целостности РНК (RNA integrity number, RIN). Оценка количества выделенной РНК проводилась на спектрофотометре NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, США) и флюорометре Qubit 4 (Invitrogen, США). Для 1 мкг выделенной РНК проводилась деплеция рРНК посредством набора RiboCop rRNA Depletion Kit V1.2 (037.96, Lexogen, Австрия) с дальнейшим конструированием ДНК-библиотек при помощи набора MGIEasy RNA Directional Library Prep Set (MGI Tech, Китай). Качество полученных ДНК-библиотек анализировалось с помощью набора High Sensitivity DNA Kit (5067-4626, Agilent, США) на приборе Bioanalyzer 2100 (Agilent, США). Секвенирование библиотек проводилось на платформе MGISEQ-2000 с использованием набора 2x100 PE (FCL PE100) в ЦКП «Геномика» (ИХБФМ СО РАН, Россия).

Полученные прочтения картировались на геном человека (hg38) с использованием программы STAR v2.7.6a [10.1093/bioinformatics/bts635]. Анализ покрытия экзонов генов осуществлялся с помощью HTSeq-count v0.12.4 [13] с аннотацией Ensembl (v.38.93). Для оценки дифференциальной экспрессии генов (ДЭГ) использовался пакет deseq2 [https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8]. При анализе различий между клеточными культурами ЭК КА и ЭК ВГА в расчет брались ДЭГ, для которых уровень экспрессии менялся более чем в два раза, с уровнем значимости скорректированного значения FDR (false discovery rate)  $p < 0,05$ . Для ДЭГ проводился анализ обогащения генов онтологий (GO) с использованием баз данных Gene Ontology (категории cellular component, molecular function и biological process) [14, 15], Reactome (категория Reactome pathways) [16, 17], UniProtKB (категории cellular component, molecular function и biological process) [18] и Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG, категория KEGG pathways) [19, 20]. Данные RNA-seq были депонированы на электронный ресурс Sequence Read Archive с идентификатором массива данных PRJNA891895.

**Протеомный анализ.** Для выделения общего белка (3 проточных камеры на группу для экспериментов в условиях потока; 3 культуральных флакона Т-75 для экспериментов в статических условиях) ЭК КА и ЭК ВГА отмывали в ледяном фосфатно-солевом буфере (рН 7,4, 10010023, Thermo Fisher Scientific, США) и лизировали RIPA-буфером (89901, Thermo Fisher Scientific, США) с коктейлем ингибиторов протеаз и фосфатаз (78444, Thermo Fisher Scientific, США) в соответствии с инструкциями производителя. Количественный анализ общего белка проводили с использованием набора BCA Protein Assay Kit (23227, Thermo Fisher Scientific, США) и микропланшетного спектрофотометра Multiskan Sky (Thermo Fisher Scientific, США) в соответствии с протоколами производителя. Протеомное профилирование ЭК КА и ЭК ВГА осуществляли посредством жидкостной хроматографии, совмещенной с тандемной масс-спектрометрией с ионной подвижностью (timsTOF Pro) на базе ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет».

Для очистки от компонентов лизирующего буфера проводили осаждение белка. Пробы инкубировали в течение часа при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  в 4 объемах ледяного высокочистого ацетона (650501, Sigma-Aldrich, США), после чего центрифугировали при  $13\ 000 \times g$  в течение 15 мин при  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Microfuge 20R, Beckman Coulter, США). Осадок ресуспендировали в 250 мкл ледяного ацетона и инкубировали в течение 15 мин при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Далее проводили повторное центрифугирование ( $13\ 000 \times g$  в течение 15 мин при  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) с последующим удалением надосадка. Для полного удаления ацетона пробирки сушили на воздухе в течение 5–10 мин. Осажденный белок растворяли в ресуспендирующем растворе (8М мочевины, U5128, Sigma-Aldrich / 0,05М аммоний-бикарбонатный буфер, 09830, Sigma-Aldrich, США) и инкубировали в течение 20 мин на льду, после чего образцы подвергали ультразвуковой обработке в ледяной ванне в течение 15 мин и инкубировали еще 10 мин на льду при периодическом перемешивании.

Для исследований образцы выравнивали по общему количеству белка. Измерение концентрации белка проводили набором QuDye Protein Quantification Kit (25102, Lumiprobe, США) на флуориметре Qubit 4 (Thermo Fisher Scientific, США) согласно протоколу производителя. Далее к аликвоте каждого образца, содержащей 15 мкг белка, добавляли 1/10 объема десятикратного раствора для восстановления (0,05М дитиотреитол (D0632, Sigma-Aldrich, США), 8М мочевины / 0,05М аммоний-бикарбонатный буфер) и инкубировали в течение часа при температуре  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Затем к пробам

добавляли 1/10 объема раствора 0,15М йодацетамида (I6125, Sigma-Aldrich, США) и инкубировали в течение 30 мин в темноте при комнатной температуре. После этого добавляли 7 объемов 0,05М аммоний-бикарбонатного буфера и трипсин (300 нг трипсина на 15 мкг белка, соотношение 1 к 50; V5280, Promega, США) с последующей инкубацией при  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение ночи (16 ч).

По завершении трипсинолиза образцы инкубировали в течение 40 мин при  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  и обессоливали с использованием колонок Pierce C18 Spin Tips (84850, Thermo Fisher Scientific, США) в соответствии с инструкциями производителя. Надосадок с триптическими пептидами переносили в новые пробирки и высушивали в вакуумном концентраторе при температуре  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  (CentriVap, Labconco, США) в течение ночи. Высушенные пептиды далее растворяли в воде для хроматографии (1153334000, Sigma-Aldrich) с 0,1% муравьиной кислотой (33015, Sigma-Aldrich, США). Растворенные пептиды анализировали при помощи безметочного (label-free) протеомного профилирования, выполняемого посредством жидкостной хроматографии, совмещенной с тандемной масс-спектрометрией с ионной подвижностью (timsTOF Pro, Bruker, Германия).

Ввод образца проводили из расчета 500 нг триптических пептидов на один анализ. Хроматографическое разделение проводили на нанопоточном хроматографе nanoElute (Bruker, Германия) с трэп-колоной Trap Cartridge 5 мм (Thermo Fisher Scientific, США) и хроматографической колонкой Bruker Fifteen (C18 ReproSil AQ,  $150 \times 0,75$  мм, 1,9 мкм, 120А; Bruker, Германия) в градиенте вода/ацетонитрил в присутствии 0,1% муравьиной кислоты при температуре  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$  со скоростью потока 500 нл/мин (фаза А – вода с 0,1% муравьиной кислотой, фаза В – ацетонитрил с 0,1% муравьиной кислотой). В качестве хроматографического детектора использовали электроспрейный квадруполь-времяпролетный масс-спектрометр сверхвысокого разрешения с ячейкой измерения ионной подвижности timsTOF Pro (Bruker, Германия). Масс-спектрометр использовали в PASEF-режиме (parallel accumulation serial fragmentation) положительной полярности (parallel accumulation serial fragmentation) дата-зависимой тандемной масс-спектрометрии (data-dependent acquisition) с временем PASEF-цикла 0,5 сек. Молекулы с ионной подвижностью от 0,85 до 1,30 1/К0 аккумулировали в ячейке измерения ионной подвижности (trapped ion mobility spectrometry, tims), после чего поочередно передавали в квадруполь-времяпролетный масс-спектрометр, где проходила фрагментация наиболее обильных ионов в режиме автоматической тандемной масс-спектрометрии (MS/MS). Для фрагментации использовали ионы не менее чем с двумя зарядами в диапазоне  $m/z$  от 100 до 1 700.

Масс-спектрометрические данные обрабатывали с использованием программного обеспечения PEAKS Studio Xpro (Bioinformatics Solutions, Канада). Идентификацию и количественный анализ белков проводили по базе данных SwissProt (Uniprot), отфильтрованной по белкам человека. Для идентификации использовали спектры с качеством сборки *de novo* (*de novo score*) не менее 50%. Достоверными считали идентификации белков и пептидов с FDR < 1%, расчет FDR проводили при помощи поиска по обратной базе данных (decoy). Затем из анализа были исключены белки, имеющие менее двух уникальных пептидов. После получения информации о площади пиков (area under the curve), обнаруженных в разных образцах белков, проводили анализ полученных данных.

Для анализа функционального обогащения сетей взаимодействий «белок-белок» и «ген-ген», то есть исследования интерактома ЭК в виде компьютерного моделирования *in silico*, использовались база данных STRING и программное обеспечение Cytoscape версии 3.10.1 (Cytoscape Consortium, США) с плагином stringApp [21]. Конвейер биоинформационного анализа включал: 1) отбор дифференциально экспрессированных белков и генов, имеющих  $\geq 1$  взаимодействие; 2) цветовое отображение для различения взаимодействующих дифференциально экспрессированных белков и генов между ЭК КА и ЭК ВГА; 3) анализ обогащения путей с использованием категорий баз данных GO, Reactome, UniProtKB и KEGG; 4) выбор молекулярных категорий, важных для артериального гомеостаза.

Статистический анализ и визуализацию масс-спектрометрических данных проводили в программной среде R. Многомерный анализ данных для выявления различий между образцами выполняли с использованием неметрического многомерного шкалирования с использованием пакета Vegan, а также посредством дискриминантного анализа методом частных наименьших квадратов с использованием пакета MixOmics. Визуализацию проводили при помощи пакета ggplot2. Для выявления дифференциально экспрессируемых белков использовали модерированный t-тест при помощи пакета limma. Белки считали дифференциально экспрессируемыми при логарифмической кратности изменения  $\geq 1$  и значения  $P$  с FDR-поправкой

на множественные сравнения < 0,05. Для дифференциально экспрессированных белков проводили анализ обогащения сигнальных путей с использованием баз данных Gene Ontology (категории cellular component, molecular function и biological process), Reactome (категория Reactome pathways), UniProtKB Keywords (категории cellular component, molecular function и biological process) и KEGG (категория KEGG pathways). Масс-спектрометрические данные протеомного анализа были депонированы на электронный ресурс ProteomeXchange Consortium через репозиторий PRIDE с идентификатором массива данных PXD037861. Исходный код для анализа данных доступен по ссылке: [https://github.com/ArseniyLobov/Comparison\\_of\\_HCA\\_and\\_HIT\\_proteomics\\_profiles](https://github.com/ArseniyLobov/Comparison_of_HCA_and_HIT_proteomics_profiles).

## Результаты

В ходе протеомного профилирования ЭК КА и ЭК ВГА показано, что 2 794 белка не имели дифференциальной экспрессии между двумя клеточными линиями, в то время как 244 белка оказались гиперэкспрессированы в ЭК КА, 287 белков – в ЭК ВГА (табл. 1).

Суммарно ЭК КА и ЭК ВГА демонстрировали различия в 16% (531 белок) основных составляющих физиологии эндотелия. При этом в экспрессионном профиле ЭК КА были более выражены белки, ответственные за организацию самой базальной мембраны, синтез коллагена, метаболизм липидов и жирных кислот, органических кислот, витаминов и углеводов, белки-транспортёры комплекса Гольджи, а также лизо- и пероксисомальные белки, ЭК ВГА – белки, ответственные за синтез митохондриальных рибосом, митохондриальную транскрипцию и трансляцию, общую рибосомальную активность, биосинтез и метаболизм соединений азота, регуляцию мРНК и синтеза макромолекул, а также формирование эластических волокон.

Дальнейший биоинформатический анализ и моделирование *in silico* интерактома ЭК КА и ЭК ВГА, то есть вероятных физических контактов и взаимодействий между молекулами, обладающих высокой специфичностью, показал, что в ходе отбора дифференциально экспрессированных белков, которые были гиперэкспрессированы в двух типах клеток и имели  $\geq 1$  взаимодействие, после

**Таблица 1.** Количество различно экспрессированных белков в протеоме ЭК КА и ЭК ВГА человека

**Table 1.** The number of differentially expressed proteins in the proteome of human coronary artery endothelial cells (HCAEC) and human internal thoracic artery endothelial cells (HITAEC)

Тип клеток / Cell type	Гиперэкспрессия белков / Protein hyperexpression	Дифференциальная экспрессия белков отсутствует / No differential protein expression	Общее количество белков / Total proteins
ЭК КА / HCAEC	244	2 794	3 325
ЭК ВГА / HITAEC	287		

**Примечание:** ЭК ВГА – эндотелиальные клетки внутренней грудной артерии; ЭК КА – эндотелиальные клетки коронарной артерии.

**Note:** HCAEC – human coronary artery endothelial cells; HITAEC – human internal thoracic artery endothelial cells.

изучения протеомного профиля их оказалось 254 (48%) (табл. 2).

Изучение транскриптома в условиях пульсирующего потока показало, что 19 228 генов не имели

дифференциальной экспрессии между двумя клеточными линиями, в то время как 1 014 генов оказались гиперэкспрессированы в ЭК КА, 849 генов – в ЭК ВГА (табл. 3).

**Таблица 2.** Молекулярные категории, обогащенные взаимодействующими белками, которые по-разному экспрессируются в ЭК КА и ЭК ВГА человека, в соответствии с базами данных GO, UniProtKB, Reactome и KEGG

**Table 2.** Molecular categories enriched by interacting proteins which are differentially expressed in human coronary artery endothelial cells (HCAEC) and human internal thoracic artery endothelial cells (HITAEC), according to the Gene Ontology, UniProtKB, Reactome, and KEGG databases

Категория / Category	Общее количество белков / Total proteins	Процент от дифференциально экспрессированных белков / Percentage of differentially expressed proteins	Фоновые белки / Background proteins	Значение p после FDR-коррекции / P-value after FDR correction
Якорные контакты / Anchor contacts	44	17,32	1 325	5,86*10 <sup>-7</sup>
Соединение клетки с субстратом / Cell-substrate junction	30	11,81	426	2,20*10 <sup>-11</sup>
Позитивная регуляция клеточной адгезии / Positive regulation of cell adhesion	21	8,27	485	4,80*10 <sup>-4</sup>
Межклеточные соединения / Intercellular junctions	17	6,69	499	6,70*10 <sup>-3</sup>
Морфогенез кровеносных сосудов / Blood vessel morphogenesis	16	6,30	419	1,82*10 <sup>-2</sup>
Ангиогенез / Angiogenesis	15	5,91	325	5,10*10 <sup>-3</sup>
Взаимодействие клеточной поверхности с сосудистой стенкой / Cell surface interaction with the vascular wall	13	5,12	139	8,03*10 <sup>-6</sup>
Позитивная регуляция миграции ЭК / Positive regulation of EC migration	9	3,54	107	3,00*10 <sup>-3</sup>
Плотные контакты / Tight junctions	9	3,54	157	3,20*10 <sup>-3</sup>
Контакт клетки с матриксом / Cell-matrix contacts	9	3,54	136	1,28*10 <sup>-2</sup>
Передача сигналов NOTCH / NOTCH signaling	9	3,54	204	2,39*10 <sup>-2</sup>
Развитие эндотелия / Endothelial development	8	3,15	98	8,50*10 <sup>-3</sup>
Адгезивные контакты / Adhesive junctions	8	3,15	177	3,38*10 <sup>-2</sup>
Базальная мембрана / Basement membrane	7	2,76	98	7,40*10 <sup>-3</sup>
Формирование эластических волокон / Formation of elastic fibers	6	2,36	44	1,20*10 <sup>-3</sup>
Путь VEGF-A-VEGFR-2 / VEGF-A-VEGFR-2 pathway	6	2,36	96	2,70*10 <sup>-2</sup>
Транскрипция и трансляция пре-NOTCH / Pre-NOTCH transcription and translation	5	1,97	62	2,36*10 <sup>-2</sup>
Клеточная адгезия, опосредованная интегрином / Integrin-mediated cell adhesion	5	1,97	42	3,08*10 <sup>-2</sup>
Позитивная регуляция процесса биосинтеза NOS / Positive regulation of the NOS biosynthesis process	4	1,57	18	1,83*10 <sup>-2</sup>

**Примечание:** ЭК – эндотелиальные клетки.  
**Note:** EC – endothelial cells.

**Таблица 3.** Количество различно экспрессированных генов в транскриптоме ЭК КА и ЭК ВГА человека в условиях потока  
**Table 3.** The number of differentially expressed genes in the transcriptome of human coronary artery endothelial cells (HCAEC) and human internal thoracic artery endothelial cells (HITAEC) under flow

Тип клеток / Cell type	Гиперэкспрессия белков / Protein hyperexpression	Дифференциальная экспрессия белков отсутствует / No differential protein expression	Общее количество белков / Total proteins
ЭК КА / HCAEC	1 014	19 228	21 091
ЭК ВГА / HITAEC	849		

**Примечание:** ЭК ВГА – эндотелиальные клетки внутренней грудной артерии; ЭК КА – эндотелиальные клетки коронарной артерии.  
**Note:** HCAEC – human coronary artery endothelial cells; HITAEC – human internal thoracic artery endothelial cells.

**Таблица 4.** Молекулярные категории, обогащенные взаимодействующими белками, которые по-разному экспрессируются в ЭК КА и ЭК ВГА человека, в соответствии с базами данных GO, UniProtKB, Reactome и KEGG**Table 4.** Molecular categories enriched by interacting proteins which are differentially expressed in human coronary artery endothelial cells (HCAEC) and human internal thoracic artery endothelial cells (HITAEC), according to the Gene Ontology, UniProtKB, Reactome, and KEGG databases

Категория / Category	Общее количество белков / Total proteins	Процент от дифференциально экспрессированных белков / Percentage of differentially expressed proteins	Фоновые белки / Background proteins	Значение p после FDR-коррекции / P-value after FDR correction
Клеточные контакты / Cellular contacts	153	7,23	2 115	3,52*10 <sup>-28</sup>
Якорные контакты / Anchor contacts	97	7,32	1 325	4,75*10 <sup>-17</sup>
Клеточная адгезия / Cellular adhesion	91	9,43	965	1,35*10 <sup>-22</sup>
Развитие сосудов / Vascular development	61	11,57	527	1,73*10 <sup>-18</sup>
Межклеточные соединения / Intercellular junctions	57	10,52	542	1,47*10 <sup>-15</sup>
Позитивная регуляция клеточной адгезии / Positive regulation of cell adhesion	47	9,69	485	1,33*10 <sup>-11</sup>
Ангиогенез / Angiogenesis	43	13,23	325	1,15*10 <sup>-14</sup>
Межклеточные контакты / Intercellular contacts	34	6,81	499	2,94*10 <sup>-5</sup>
Фокальные контакты / Focal contacts	32	16,41	195	3,24*10 <sup>-13</sup>
Позитивная регуляция межклеточной адгезии / Positive regulation of intercellular adhesion	30	9,32	322	4,95*10 <sup>-7</sup>
Соединение клетки с субстратом / Cell-substrate junction	25	12,82	195	3,21*10 <sup>-08</sup>
Сборка клеточных соединений / Assembly of cell junctions	24	8,79	273	2,80*10 <sup>-5</sup>
Позитивная регуляция ангиогенеза / Positive regulation of angiogenesis	21	12,65	166	7,48*10 <sup>-7</sup>
Контакт клетки с матриксом / Cell-matrix contacts	20	14,71	136	1,89*10 <sup>-7</sup>
Взаимодействие клеточной поверхности с сосудистой стенкой / Interaction of the cell surface with the vascular wall	14	10,07	139	1,60*10 <sup>-3</sup>
Щелевидные контакты / Gap junctions	13	14,94	87	1,36*10 <sup>-5</sup>
Позитивная регуляция пролиферации ЭК / Positive regulation of EC proliferation	13	13,54	96	1,30*10 <sup>-4</sup>
Позитивная регуляция миграции ЭК / Positive regulation of EC migration	13	12,15	107	3,40*10 <sup>-4</sup>
Базальная мембрана / Basement membrane	11	11,22	98	1,90*10 <sup>-3</sup>
Позитивная регуляция сборки клеточных соединений / Positive regulation of cellular junction assembly	11	10,58	104	3,50*10 <sup>-3</sup>
Формирование эластических волокон / Formation of elastic fibers	10	22,73	44	6,70*10 <sup>-5</sup>
Развитие эндотелия / Endothelial development	10	10,20	98	7,70*10 <sup>-3</sup>
Плотные контакты / Tight junctions	10	6,37	157	2,77*10 <sup>-2</sup>
Молекулы, ассоциированные с эластическими волокнами / Molecules associated with elastic fibers	9	24,32	37	1,30*10 <sup>-4</sup>
Прорастающий ангиогенез / Sprouting angiogenesis	9	15,52	58	1,20*10 <sup>-3</sup>
Дифференциация ЭК / EC differentiation	8	9,76	82	2,71*10 <sup>-2</sup>
Позитивная регуляция продукции VEGF / Positive regulation of production VEGF	7	24,14	29	7,40*10 <sup>-4</sup>
Регуляция активности NOS / Regulation of NOS activity	7	17,50	40	3,50*10 <sup>-3</sup>
Стимулирование NO-гуанилатциклазы / Stimulation of NO guanylate cyclase	6	27,27	22	2,30*10 <sup>-3</sup>
Позитивная регуляция биосинтеза NO / Positive regulation of NO biosynthesis	6	13,95	43	2,07*10 <sup>-2</sup>
Адгезивные контакты / Adhesive junctions	6	8,70	69	3,03*10 <sup>-2</sup>
Сборка эластических волокон / Assembly of elastic fibers	5	41,67	12	1,20*10 <sup>-3</sup>
Сигнальный путь VEGF / VEGF signaling pathway	5	23,81	21	7,80*10 <sup>-3</sup>
Эндотелиальный барьер / Endothelial barrier	5	15,15	33	3,22*10 <sup>-2</sup>
Передача сигнала, опосредованная NO / NO-mediated signaling	4	19,05	21	3,99*10 <sup>-2</sup>

**Примечание:** ЭК – эндотелиальные клетки.**Note:** EC – endothelial cell.

В целом ЭК КА и ЭК ВГА демонстрировали различия в 9% (1 863 гена) транскриптома эндотелия. В экспрессионном профиле ЭК КА было больше транскриптов, ответственных за формирование и биосинтез коллагена, внеклеточную организацию коллагенового матрикса и базальной мембраны, организацию межклеточных соединений, присоединение интегринов к коллагену и протеогликанам, а также сборку эластических волокон, в то время как в ЭК ВГА – за организацию цитоскелета, синтез гликозаминогликанов, выделение внеклеточных везикул, а также провоспалительный сигналинг.

Моделирование *in silico* интерактома ЭК КА и ЭК ВГА показало, что в ходе отбора дифференциально экспрессированных генов, которые были гиперэкспрессированы в двух типах клеток и имели  $\geq 1$  взаимодействие, после изучения транскриптомного профиля в условиях потока оказалось 516 (28%) (табл. 4).

В статических условиях 17 789 генов не имели дифференциальной экспрессии между двумя клеточными линиями, при этом 729 генов оказались гиперэкспрессированы в ЭК КА, 926 генов – в ЭК ВГА (табл. 5).

Количество различающихся генов в ЭК КА и ЭК ВГА в статических условиях составило 9% (1 655 генов). В экспрессионном профиле ЭК КА была выше доля транскриптов, ассоциированных с развитием сосудов в целом и артерий, синтезом соединений азота и протеолизом, а в ЭК ВГА – с эндосомально-лизосомальным компартментом, провоспалительным ответом, синтезом макромолекул, репарацией ДНК, процессингом и сплайсингом РНК, биогенезом рибосом и трансляцией.

При моделировании *in silico* интерактома ЭК КА и ЭК ВГА получено, что отобранные ДЭГ, которые были гиперэкспрессированы в двух типах клеток и имели  $\geq 1$  взаимодействие, после изучения транскриптомного профиля в статических условиях составили 466 (28%) (табл. 6).

Таким образом, в ходе моделирования интерактома *in silico* обнаружено, что большинство категорий белок-белковых и ген-генных взаимодействий в ЭК КА и ВГА человека было ответственно за структурное и функциональное поддержание эндотелиального монослоя и базальной мембраны,

что выражалось в таких категориях, как межклеточные соединения (плотные, якорные, фокальные, щелевидные контакты), адгезия клеток и матрикса, а также ангиогенез и морфогенез сосудов, пролиферация ЭК, формирование эластических волокон, биосинтез NO и его регуляция.

## Обсуждение

В настоящее время считается доказанным, что ЭК сосудов человека различаются не только в зависимости от артериальной, венозной или лимфатической принадлежности, но и с учетом того, в сосудистом русле какого органа они находятся [22]. Тем не менее степень гетерогенности ЭК вызывает вопросы; в частности, она не столь большая, чтобы являться препятствием для моделирования взаимодействий топически различных артериальных и венозных ЭК путем их непосредственного контакта или перекрестной инкубации с кондиционированной средой [23, 24]. В представленной работе проведен биоинформатический анализ протеомных и транскриптомных данных ЭК, относящихся к разным анатомическим областям, однако начинающих паракринно воздействовать друг на друга при формировании искусственного артерио-артериального континуума, который образуется путем наложения анастомоза между кондуитом-донором (ВГА) и артерией-реципиентом (КА) в виде МФС «кондуит – артерия» в процессе выполнения КШ. Оценка физиологической экспрессии белков и генов ЭК проведена посредством полнотранскриптомного секвенирования РНК и жидкостной хромато-масс-спектрометрии, а полученные данные исследованы путем биоинформатического анализа на основе баз данных Gene Ontology, Reactome, UniProtKB и KEGG с последующим компьютерным моделированием интерактома *in silico*. В ходе проведения исследования дифференциально экспрессируемые белки составили 254, в то время как ДЭГ в условиях потока и в статических условиях – 516 и 466 соответственно.

Анализ обогащения категорий GO (Gene Ontology, Reactome, UniProtKB и KEGG) неизбежно касался как структуры эндотелия (например, компоненты прикрепления и адгезии ЭК к внеклеточному матриксу, базальной мембране, а также ор-

**Таблица 5.** Количество различно экспрессированных генов в транскриптоме ЭК КА и ЭК ВГА человека в статических условиях

**Table 5.** The number of differentially expressed genes in the transcriptome of human coronary artery endothelial cells (HCAEC) and human internal thoracic artery endothelial cells (HITAEC) at static conditions

Тип клеток / Cell type	Гиперэкспрессия генов / Gene hyperexpression	Дифференциальная экспрессия генов отсутствует / No differential gene expression	Общее количество генов / Total genes
ЭК КА/ HCAEC	729	17 789	19 444
ЭК ВГА / HITAEC	926		

**Примечание:** ЭК ВГА – эндотелиальные клетки внутренней грудной артерии; ЭК КА – эндотелиальные клетки коронарной артерии.

**Note:** HCAEC – human coronary artery endothelial cells; HITAEC – human internal thoracic artery endothelial cells.

ганизация внеклеточного матрикса, межклеточных соединений и цитоскелета), так и функциональных особенностей ЭК (процессы аутофагии, убиквитинирования, внутриклеточного транспорта и внеклеточной секреции, регуляция NO, морфогенез сосудов, биоэнергетические процессы, а также репарация ДНК, транскрипция и трансляция). Значительное число сходно экспрессированных в ЭК КА и ЭК ВГА физиологических категорий демонстрировало их структурную и функциональную конгру-

энтность и подтверждало высокую соотносимость эндотелия артерий разных анатомических областей, что было подробно показано нами ранее [10].

Полученный небольшой процент различий между двумя линиями ЭК (9–16%) показал, что, несмотря на разницу в их физиологии, взаимодействие белков и генов в виде их интерактома происходит достаточно активно и часто однонаправленно или когерентно и указывает на поддержание структурно-функционального сосудистого гомеостаза,

**Таблица 6.** Молекулярные категории, обогащенные взаимодействующими белками, которые по-разному экспрессируются в ЭК КА человека (HCAEC) и ЭК ВГА человека (HITAEC), в соответствии с базами данных GO, UniProtKB, Reactome и KEGG  
**Table 6.** Molecular categories enriched by interacting proteins which are differentially expressed in human coronary artery endothelial cells (HCAEC) and human internal thoracic artery endothelial cells (HITAEC), according to the Gene Ontology, UniProtKB, Reactome, and KEGG databases

Категория / Category	Общее количество белков / Total proteins	Процент от дифференциально экспрессированных белков / Percentage of differentially expressed proteins	Фоновые белки / Background proteins	Значение p после FDR-коррекции / P-value after FDR correction
Клеточные контакты / Cellular contacts	109	5,15	2 115	$2,80 \cdot 10^{-12}$
Якорные контакты / Anchor contacts	63	4,75	1 325	$1,72 \cdot 10^{-5}$
Клеточная адгезия / Cellular adhesion	58	6,01	965	$2,39 \cdot 10^{-8}$
Позитивная регуляция клеточной адгезии / Positive regulation of cell adhesion	51	10,52	485	$2,18 \cdot 10^{-15}$
Позитивная регуляция межклеточной адгезии / Positive regulation of intercellular adhesion	36	11,18	322	$2,16 \cdot 10^{-11}$
Фокальные контакты / Focal contacts	29	14,87	195	$6,45 \cdot 10^{-12}$
Ангиогенез / Angiogenesis	24	7,38	325	$9,83 \cdot 10^{-5}$
Соединение клетки с субстратом / Cell-substrate junction	24	5,63	426	$4,40 \cdot 10^{-3}$
Межклеточные контакты / Cell-cell contacts	24	4,81	499	$2,59 \cdot 10^{-2}$
Сборка клеточных контактов / Assembly of cell contacts	20	7,33	273	$6,10 \cdot 10^{-4}$
Соединение клетки с матриксом / Cell-matrix junction	14	10,29	136	$3,90 \cdot 10^{-4}$
Позитивная регуляция ангиогенеза / Positive regulation of angiogenesis	14	8,43	166	$2,20 \cdot 10^{-3}$
Передача сигналов NOTCH / NOTCH signaling	13	6,37	204	$2,70 \cdot 10^{-2}$
Щелевидные контакты / Gap junctions	11	12,64	87	$1,80 \cdot 10^{-4}$
Базальная мембрана / Basement membrane	11	11,22	98	$1,90 \cdot 10^{-3}$
Развитие эндотелия / Endothelial development	10	10,20	98	$4,90 \cdot 10^{-3}$
Стимулирование NO-гуанилатциклазы / NO stimulation of guanylate cyclase	8	36,36	22	$2,42 \cdot 10^{-5}$
Дифференцировка ЭК / EC differentiation	8	9,76	82	$2,02 \cdot 10^{-2}$
Формирование эластических волокон / Formation of elastic fibers	7	15,91	44	$6,10 \cdot 10^{-3}$
Молекулы, ассоциированные с эластическими волокнами / Elastic fiber-associated molecules	6	16,22	37	$1,20 \cdot 10^{-2}$
Прорастающий ангиогенез / Sprouting angiogenesis	6	10,34	58	$4,80 \cdot 10^{-2}$
Регуляция сигналинга NO / Regulation of NO signaling	4	40,00	10	$5,50 \cdot 10^{-3}$
Передача сигнала, опосредованная NO / NO-mediated signaling	4	19,05	21	$3,60 \cdot 10^{-2}$

**Примечание:** ЭК – эндотелиальные клетки.  
**Note:** EC – endothelial cell.

а также синергичное влияние на весь эндотелий артерио-артериального континуума, когда клетки одной артерии способны взаимно и благоприятно контактировать с клетками другой. В целом нужно отметить, что интерактом схематично представляет собой молекулярную сеть, компоненты которой, являющиеся белками, генами, нуклеиновыми кислотами, липидами или углеводами, в зависимости от исследования, условно называются узлами (nodes) и имеют между собой физические взаимодействия в виде ребер (edges), объединяемых в хабы (hubs). На сегодняшний день взаимному влиянию интерактома и фенотипа друг на друга, в том числе в контексте различных заболеваний, отводится такая же важная роль, как и связи между фенотипом и генотипом определенных клеток [21, 25].

В настоящем исследовании одними из важнейших физиологических категорий, демонстрирующих конгруэнтность ЭК на уровне интерактома, оказались категории межклеточных соединений (плотные, якорные, щелевидные, фокальные контакты), адгезии клеток и матрикса, поддерживающие единство эндотелиального монослоя и базальной мембраны. Различные белки и гены, определяющие указанные категории, могли выступать в роли регуляторов стабильности эндотелия на всем протяжении хирургически созданного сосудистого континуума, сохраняя его непрерывность, а значит, и его эффективность в предотвращении дисфункции МФС «конduit – артерия», особенно в отдаленные сроки. Последняя может начинаться именно с нарушения единства эндотелиального слоя и всей интимы, что выражается в утрате нормально функционирующих межклеточных контактов и способствует повышению проницаемости за счет образования больших промежутков между ЭК, которая в дальнейшем ведет к движению жидкости в интерстиций в виде отека ткани, накоплению различных веществ в субэндотелиальном пространстве, а также последующему воспалительному каскаду. Подобный же сценарий лежит в основе такой патологии, как синдром капиллярной утечки, анафилаксия, острый респираторный дистресс-синдром, возрастные и диабет-ассоциированные сосудистые заболевания, а также некоторые заболевания нервной системы и атеросклероз [26, 27].

В целом за интегративность и целостность эндотелиального сосудистого слоя отвечают различные межклеточные контакты или соединения, позволяющие удерживать ЭК друг возле друга, взаимодействовать между собой и выполнять многочисленные функции, включая барьерную и транспортную. Так, плотные контакты состоят из специальных белков типа клаудинов, окклюдинов и JAMs-молекул, находятся ближе к апикальной клеточной части и ассоциированы со стороны цитоплазмы с актиновыми филаментами и ZO-белками. Якорные (адге-

зивные) контакты несколько слабее предыдущих по степени связывания клеток между собой и включают VE-кадгерины, нектин, молекулы клеточной адгезии PECAM-1, которые внутриклеточно также связаны с актиновыми филаментами, виментином, катенинами и филаментами типа септин. Кроме этого, выделяют щелевидные контакты, образованные из двух полуканалов (коннексонов), в составе которых входят белки коннексины, а также фокальные контакты в виде скопления интегриновых рецепторов на клеточной мембране, обеспечивающих связь клетки с внеклеточным матриксом [28, 29]. Исследования межэндотелиальных контактов многочисленны – примером одного из них, посвященного поддержанию эндотелия, может быть работа J. Kim и соавт., в которой было убедительно показано, что белки септин и актин, входящие в состав якорных контактов, способствуют эндотелиальной целостности, поддерживая устойчивость всего клеточного монослоя, делая его стабильным на всем протяжении [30].

Важным с позиции интегративности и целостности внутренней сосудистой выстилки является базальная мембрана, на которой лежит сам эндотелий. Как известно, она представляет собой внеклеточную структуру, в состав которой входят волокна ламинина и коллагена IV типа, связанные между собой различными белками в виде гликопротеина нидогена, протеогликанов перлекана и агрина. Ранее показано, что ламинин играет роль особой платформы, на которой выстилаются ЭК, в то время как коллаген – это сеть, придающая каркасность всей структуре, формирующая ее скаффолд, при этом при атеросклеротическом повреждении сосудов, артериальной гипертензии или сахарном диабете компоненты базальной мембраны подвержены физико-химическому изменению, которое выражается в виде ее утолщения [31]. Указанные данные согласуются с результатами настоящего исследования, что свидетельствует о важности нормально функционирующей базальной мембраны, которая служит основой для морфофункционального единства двух соединяемых между собой артерий, поддерживающих взаимовыгодный контакт.

Кроме этого известно, что образование сосудов регулируется многими сигнальными путями, одним из которых является VEGF-путь, контролирующий пролиферацию ЭК. NOTCH-путь также контролирует этот процесс, управляя уже дифференцировкой ЭК на артериальные и венозные за счет соответствующей экспрессии генов. Несмотря на то что до сих пор механизм созревания тех или иных ЭК остается до конца неясным, очевидно, что единство определенного типа клеток тесно связано с морфогенезом сосудов различного типа, что было продемонстрировано в настоящем исследовании в виде интерактома артерио-артериального континуума,

включающего такие белки и гены, которые отвечают за ангиогенез. Ранее M. Thompson и коллеги показали, что непрерывность эндотелиального слоя в процессе развития артерий может определяться белком, содержащим положительный регуляторный домен 16 (PRDM-16), при подавлении которого возникают эктопическая экспрессия венозных факторов в артериальных ЭК, а также уменьшение активности гладкомышечных клеток, следовательно, нарушается интегративность монослоя [32]. Z. Luo и соавт. указали на важность изучения белков митохондрий ЭК, которые взаимодействуют между собой, а также влияют на коммуникацию типа «клетка – клетка» во взаимосвязи с ангиогенезом в ответ на воздействия внешних стимулов в ходе экспериментов *in vivo* [33].

В настоящем исследовании также продемонстрировано, что схожесть эндотелия двух артериальных линий в виде взаимодействия дифференциально экспрессируемых белков и генов выразилась в формировании эластических волокон. Данный факт мог ассоциироваться с очень важной особенностью двух соединяемых артерий, а именно их одновременной биомеханической способностью к растяжению и сопротивлению кровотоку в условиях высокого давления, которая закладывается еще в эмбриогенезе в ходе сосудистой спецификации и отличает в целом артериальное русло от венозного [34]. Сам эластин, или эластические волокна, представляет собой соединение белка эластина с гликопротеидными микрофибриллами и играет большую роль в физиологии сосудистой стенки [35]. Так, в настоящее время доказано, что в ходе обструктивной коронарной болезни сердца с целью компенсации ишемии миокарда возникает процесс коллатерализации, инициируемый в том числе эндотелием, который заключается в формировании новых артериальных сосудов при участии множества веществ, включая симультанное действие эластогенных и эластолитических факторов, создающих баланс в синтезе этих волокон [36]. Таким образом, обмен эластина связан с морфогенезом, а поэтому представляется важным компонентом, отражающим конгруэнтность двух сосудов артерио-артериального континуума.

Наконец, для интерактома эндотелия артериальных сосудов была характерна регуляция метаболизма NO, что представляется вполне объяснимым, потому как именно это вещество обладает широким спектром биологических свойств, поддерживающих сосудистый гомеостаз, включая модуляцию сосудистого тонуса, ингибирование лейкоцитарно-эндотелиальной адгезии, миграции и пролиферации гладкомышечных клеток, а также агрегации тромбоцитов. В сохранении монослоя эндотелия своей интегративности регуляция NO играет ключевую роль, которая контролируется синтазами, груп-

пой ферментов, включающих такие изоформы, как NOS-1 (nNOS), NOS-2 (iNOS) и наиболее значимую NOS-3 (eNOS) [37]. Ранее в экспериментальных исследованиях *in vitro* показано, что дефицит синтазы NO ускоряет образование атеросклеротического поражения сосудистой стенки у мышей с нокаутом генов этого фермента и, напротив, сверхэкспрессия синтазы NO при гиперхолестеринемии может способствовать атерогенезу за счет увеличения образования супероксида [38, 39]. Указанные факты демонстрировали фундаментальную основу единства между контактирующими ЭК разных артериальных сосудов и подтверждали их когерентную, то есть однонаправленную регуляцию, позволяющую максимально сохранять единство интимального слоя и ассоциированную с конгруэнтностью артерио-артериального континуума.

### Заключение

Биоинформатический анализ и последующее компьютерное моделирование *in silico* взаимодействий между дифференциально экспрессируемыми белками и генами ЭК КА и ЭК ВГА позволили установить, что интерактом артерио-артериального континуума характеризуется значительным обогащением путей артериального гомеостаза за счет когерентного структурно-функционального эффекта контактирующих гетерогенных клеток и синергичным влиянием на эндотелиальный фенотип в целом, что, вероятно, поддерживает биологическую конгруэнтность такой МФС «конduit – артерия» длительное время, определяя высокую эффективность аутоартериального КШ. Несмотря на полученные результаты, требуется проведение дальнейших исследований, в которых сравнивали бы интерактомы не только между ЭК КА и ВГА, но КА и лучевой артерии, КА и большой подкожной вены, ВГА и большой подкожной вены в качестве других, наиболее частых патофизиологических сценариев, лежащих в основе КШ.

### Конфликт интересов

А.В. Фролов заявляет об отсутствии конфликта интересов.

### Финансирование

Исследование представляет собой часть диссертационной работы и выполнено в рамках фундаментальной научной темы № 0419-2022-0002 «Разработка инновационных моделей управления риском развития болезней системы кровообращения с учетом коморбидности на основе изучения фундаментальных, клинических, эпидемиологических механизмов и организационных технологий медицинской помощи в условиях промышленного региона Сибири».

## Информация об авторах

Фролов Алексей Витальевич, доктор медицинских наук врач – сердечно-сосудистый хирург, старший научный сотрудник лаборатории рентгенэндоваскулярной и реконструктивной хирургии сердца и сосудов отдела хирургии сердца и сосудов федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; ORCID 0000-0002-1746-8895

## Author Information Form

Frolov Alexey V., PhD, Cardiovascular Surgeon, Senior Researcher at the Laboratory of Endovascular and Reconstructive Surgery of the Heart and Blood Vessels, Department of Heart and Vascular Surgery, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; ORCID 0000-0002-1746-8895

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. dela Paz N.G., D'Amore P.A. Arterial versus venous endothelial cells. *Cell Tissue Res.* 2009;335(1):5-16. doi: 10.1007/s00441-008-0706-5.
2. Rafii S., Butler J.M., Ding B.S. Angiocrine functions of organ-specific endothelial cells. *Nature.* 2016;529(7586):316-25. doi: 10.1038/nature17040.
3. haribeh L., Ferrari G., Ouimet M., Grau J.B. Conduits' Biology Regulates the Outcomes of Coronary Artery Bypass Grafting. *JACC Basic Transl Sci.* 2021 Apr 27;6(4):388-396. doi: 10.1016/j.jacbts.2020.11.015.
4. Gaudino M., Di Franco A., Bhatt D.L., Alexander J.H., Abbate A., Azzalini L., Sandner S., Sharma G., Rao S.V., Crea F., Fremes S.E., Bangalore S. The association between coronary graft patency and clinical status in patients with coronary artery disease. *Eur Heart J.* 2021;42(14):1433-1441. doi: 10.1093/eurheartj/ehab096.
5. Фролов А.В. Морфофункциональная система «конduit-артерия». Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2019;8:112-122. doi: 10.17802/2306-1278-2019-8-1-112-122.
6. Borović M.M., Lalić I.M., Borović S.D., Zaletel I.V., Mutavdzin S.S., Bajčetić M.I., Kostić J.V., Trifunović Z.Z. Structural features of arterial grafts important for surgical myocardial revascularization: Part I--Histology of the internal thoracic artery. *Vojnosanit Pregl.* 2015;72(10):914-21. doi: 10.2298/VSP140515079L.
7. Kraler S., Libby P., Evans P.C., Akhmedov A., Schmiady M.O., Reinehr M., Camici G.G., Lüscher T.F. Resilience of the Internal Mammary Artery to Atherogenesis: Shifting From Risk to Resistance to Address Unmet Needs. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2021;41(8):2237-2251. doi: 10.1161/ATVBAHA.121.316256.
8. Borović M.L., Borović S., Perić M., Vuković P., Marinković J., Todorović V., Radak D., Lacković V. The internal thoracic artery as a transitional type of artery: a morphological and morphometric study. *Histol Histopathol.* 2010;25(5):561-76. doi: 10.14670/HH-25.561.
9. Barry M., Touati G., Chardon K., Laude M., Libert J.P., Sevestre H. Histologic study of coronary, radial, ulnar, epigastric and internal thoracic arteries: application to coronary artery bypass grafts. *Surg Radiol Anat.* 2007;29(4):297-302. doi: 10.1007/s00276-007-0214-4.
10. Frolov A., Lobov A., Kabilov M., Zainullina B., Tupikin A., Shishkova D., Markova V., Sinitskaya A., Grigoriev E., Markova Y., Kutikhin A. Multi-Omics Profiling of Human Endothelial Cells from the Coronary Artery and Internal Thoracic Artery Reveals Molecular but Not Functional Heterogeneity. *Int J Mol Sci.* 2023;24(19):15032. doi: 10.3390/ijms241915032.
11. Shannon P., Markiel A., Ozier O., Baliga N.S., Wang J.T., Ramage D., Amin N., Schwikowski B., Ideker T. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Res.* 2003;13(11):2498-504. doi: 10.1101/gr.1239303.
12. Фролов А.В. Морфофункциональная система conduit-артерия: клинико-патофизиологическая концепция как основа эффективности аутоартериального коронарного шунтирования: дисс. ... док. мед. наук. Кемерово, 2023. 388 с.
13. Anders S., Pyl P.T., Huber W. HTSeq--a Python framework to work with high-throughput sequencing data. *Bioinformatics.* 2015;31(2):166-9. doi: 10.1093/bioinformatics/btu638.
14. Ashburner M., Ball C.A., Blake J.A., Botstein D., Butler H., Cherry J.M., Davis A.P., Dolinski K., Dwight S.S., Eppig J.T., Harris M.A., Hill D.P., Issel-Tarver L., Kasarskis A., Lewis S., Matese J.C., Richardson J.E., Ringwald M., Rubin G.M., Sherlock G. Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium. *Nat Genet.* 2000;25(1):25-9. doi: 10.1038/75556.
15. Gene Ontology Consortium. The Gene Ontology resource: enriching a GOLD mine. *Nucleic Acids Res.* 2021;49(D1):D325-D334. doi: 10.1093/nar/gkaa1113.
16. Gillespie M., Jassal B., Stephan R., Milacic M., Rothfels K., Senf-Ribeiro A., Griss J., Sevilla C., Matthews L., Gong C. et al. The reactome pathway knowledgebase 2022. *Nucleic Acids Res.* 2022;50(D1):D687-D692. doi: 10.1093/nar/gkab1028.
17. Griss J., Viteri G., Sidiropoulos K., Nguyen V., Fabregat A., Hermjakob H. ReactomeGSA - Efficient Multi-Omics Comparative Pathway Analysis. *Mol Cell Proteomics.* 2020;19(12):2115-2125. doi: 10.1074/mcp.TIR120.002155.
18. UniProt Consortium. UniProt: the universal protein knowledgebase in 2021. *Nucleic Acids Res.* 2021;49(D1):D480-D489. doi: 10.1093/nar/gkaa1100.
19. Kanehisa M., Goto S. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Res.* 2000;28(1):27-30. doi: 10.1093/nar/28.1.27.
20. Kanehisa M., Furumichi M., Sato Y., Ishiguro-Watanabe M., Tanabe M. KEGG: integrating viruses and cellular organisms. *Nucleic Acids Res.* 2021;49(D1):D545-D551. doi: 10.1093/nar/gkaa970.
21. Глухов А.И., Хучуа З.А., Грызунова Г.К., Астахов Д.В., Данилевский М.И. Интерактомика в трансляционной медицине. *Сеченовский вестник.* 2018; 31(1): 4-15.
22. Becker L.M., Chen S.H., Rodor J., de Rooij L.P.M.H., Baker A.H., Carmeliet P. Deciphering endothelial heterogeneity in health and disease at single-cell resolution: progress and perspectives. *Cardiovasc Res.* 2023;119(1):6-27. doi: 10.1093/cvr/cvac018.
23. Shishkova D., Markova V., Sinitsky M., Tsepokina A., Frolov A., Zagorodnikov N., Bogdanov L., Kutikhin A. Co-Culture of Primary Human Coronary Artery and Internal Thoracic Artery Endothelial Cells Results in Mutually Beneficial Paracrine Interactions. *Int J Mol Sci.* 2020;21(21):8032. doi: 10.3390/ijms21218032.
24. Lee M.D., Buckley C., Zhang X., Louhivuori L., Uhlén P., Wilson C., McCarron J.G. Small-world connectivity dictates collective endothelial cell signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2022;119(18):e2118927119. doi: 10.1073/pnas.2118927119.
25. Richards A.L., Eckhardt M., Krogan N.J. Mass spectrometry-based protein-protein interaction networks for the study of human diseases. *Mol Syst Biol.* 2021;17(1):e8792. doi: 10.1525/msb.20188792 792.
26. Claesson-Welsh L., Dejana E., McDonald D.M. Permeability of the Endothelial Barrier: Identifying and

Reconciling Controversies. *Trends Mol Med.* 2021;27(4):314-331. doi: 10.1016/j.molmed.2020.11.006.

27. Mussbacher M., Schossleitner K., Kral-Pointner J.B., Salzmann M., Schrammel A., Schmid J.A. More than Just a Monolayer: the Multifaceted Role of Endothelial Cells in the Pathophysiology of Atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep.* 2022;24(6):483-492. doi: 10.1007/s11883-022-01023-9.

28. Komarova Y.A., Kruse K., Mehta D., Malik A.B. Protein Interactions at Endothelial Junctions and Signaling Mechanisms Regulating Endothelial Permeability. *Circ Res.* 2017;120(1):179-206. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.306534.

29. Legerstee K., Houtsmuller A.B. A Layered View on Focal Adhesions. *Biology (Basel).* 2021;10(11):1189. doi: 10.3390/biology10111189.

30. Kim J., Mooren O.L., Onken M.D., Cooper J.A. Septin and actin contributions to endothelial cell-cell junctions and monolayer integrity. *Cytoskeleton (Hoboken).* 2023;80(7-8):228-241. doi: 10.1002/cm.21732.

31. Leclech C., Natale C.F., Barakat A.I. The basement membrane as a structured surface - role in vascular health and disease. *J Cell Sci.* 2020;133(18):jcs.239889. doi: 10.1242/jcs.239889.

32. hompson M., Sakabe M., Verba M., Hao J., Meadows S.M., Lu Q.R., Xin M. PRDM16 regulates arterial development and vascular integrity. *Front Physiol.* 2023;14:1165379. doi: 10.3389/fphys.2023.1165379.

33. Luo Z., Yao J., Wang Z., Xu J. Mitochondria in endothelial cells angiogenesis and function: current understanding and future perspectives. *J Transl Med.* 2023;21(1):441. doi: 10.1186/s12967-023-04286-1.

34. Hou S., Li Z., Dong J., Gao Y., Chang Z., Ding X., Li S., Li Y., Zeng Y., Xin Q., Wang B., Ni Y., Ning X., Hu Y., Fan X., Hou Y., Li X., Wen L., Zhou B., Liu B., Tang F., Lan Y. Heterogeneity in endothelial cells and widespread venous arterIALIZATION during early vascular development in mammals. *Cell Res.* 2022;32(4):333-348. doi: 10.1038/s41422-022-00615-z.

35. Schmelzer C.E.H., Duca L. Elastic fibers: formation, function, and fate during aging and disease. *FEBS J.* 2022;289(13):3704-3730. doi: 10.1111/febs.15899.

36. Andraska E., Skirtich N., McCreary D., Kulkarni R., Tzeng E., McEnaney R. Simultaneous Upregulation of Elastolytic and Elastogenic Factors Are Necessary for Regulated Collateral Diameter Expansion. *Front Cardiovasc Med.* 2022;8:762094. doi: 10.3389/fcvm.2021.762094.

37. Tejero J., Shiva S., Gladwin M.T. Sources of Vascular Nitric Oxide and Reactive Oxygen Species and Their Regulation. *Physiol Rev.* 2019;99(1):311-379. doi: 10.1152/physrev.00036.2017.

38. Kawashima S., Yokoyama M. Dysfunction of endothelial nitric oxide synthase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24(6):998-1005. doi: 10.1161/01.ATV.0000125114.88079.96.

39. Ozaki M., Kawashima S., Yamashita T., Hirase T., Namiki M., Inoue N., Hirata K., Yasui H., Sakurai H., Yoshida Y., Masada M., Yokoyama M. Overexpression of endothelial nitric oxide synthase accelerates atherosclerotic lesion formation in apoE-deficient mice. *J Clin Invest.* 2002;110(3):331-40. doi: 10.1172/JCI15215.

## REFERENCES

1. dela Paz N.G., D'Amore P.A. Arterial versus venous endothelial cells. *Cell Tissue Res.* 2009;335(1):5-16. doi: 10.1007/s00441-008-0706-5.

2. Rafii S., Butler J.M., Ding B.S. Angiocrine functions of organ-specific endothelial cells. *Nature.* 2016;529(7586):316-25. doi: 10.1038/nature17040.

3. haribeh L., Ferrari G., Ouimet M., Grau J.B. Conduits' Biology Regulates the Outcomes of Coronary Artery Bypass Grafting. *JACC Basic Transl Sci.* 2021 Apr 27;6(4):388-396. doi: 10.1016/j.jacbs.2020.11.015.

4. Gaudino M., Di Franco A., Bhatt D.L., Alexander J.H., Abbate A., Azzalini L., Sandner S., Sharma G., Rao S.V., Crea F., Fremes S.E., Bangalore S. The association between coronary graft patency and clinical status in patients with coronary artery disease. *Eur Heart J.* 2021;42(14):1433-1441. doi: 10.1093/eurheartj/ehab096.

5. Frolov A.V. Morphological and functional system of graft-artery junctions. *Complex Issues of Cardiovascular Disease.* 2019;8:112-122. doi: 10.17802/2306-1278-2019-8-1-112-122. (In Russian)

6. Borović M.M., Lalić I.M., Borović S.D., Zaletel I.V., Mutavdzin S.S., Bajčetić M.I., Kostić J.V., Trifunović Z.Z. Structural features of arterial grafts important for surgical myocardial revascularization: Part I--Histology of the internal thoracic artery. *Vojnosanit Pregl.* 2015;72(10):914-21. doi: 10.2298/VSP140515079L.

7. Kraler S., Libby P., Evans P.C., Akhmedov A., Schmiady M.O., Reinehr M., Camici G.G., Lüscher T.F. Resilience of the Internal Mammary Artery to Atherogenesis: Shifting From Risk to Resistance to Address Unmet Needs. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2021;41(8):2237-2251. doi: 10.1161/ATVBAHA.121.316256.

8. Borović M.L., Borović S., Perić M., Vuković P., Marinković J., Todorović V., Radak D., Lacković V. The internal thoracic artery as a transitional type of artery: a morphological and morphometric study. *Histol Histopathol.* 2010;25(5):561-76. doi: 10.14670/HH-25.561.

9. Barry M., Touati G., Chardon K., Laude M., Libert

J.P., Sevestre H. Histologic study of coronary, radial, ulnar, epigastric and internal thoracic arteries: application to coronary artery bypass grafts. *Surg Radiol Anat.* 2007;29(4):297-302. doi: 10.1007/s00276-007-0214-4.

10. Frolov A., Lobov A., Kabilov M., Zainullina B., Tupikin A., Shishkova D., Markova V., Sinitkaya A., Grigoriev E., Markova Y., Kutikhin A. Multi-Omics Profiling of Human Endothelial Cells from the Coronary Artery and Internal Thoracic Artery Reveals Molecular but Not Functional Heterogeneity. *Int J Mol Sci.* 2023;24(19):15032. doi: 10.3390/ijms241915032.

11. Shannon P., Markiel A., Ozier O., Baliga N.S., Wang J.T., Ramage D., Amin N., Schwikowski B., Ideker T. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Res.* 2003;13(11):2498-504. doi: 10.1101/gr.1239303.

12. Frolov A.V. Morfofunkcional'naja sistema kondukt-arterija: kliniko-patofiziologičeskaja koncepcija kak osnova jeffektivnosti autoarterial'nogo koronar'nogo shuntirovanija. [dissertation] Kemerovo, 2023. (In Russian)

13. Anders S., Pyl P.T., Huber W. HTSeq--a Python framework to work with high-throughput sequencing data. *Bioinformatics.* 2015;31(2):166-9. doi: 10.1093/bioinformatics/btu638.

14. Ashburner M., Ball C.A., Blake J.A., Botstein D., Butler H., Cherry J.M., Davis A.P., Dolinski K., Dwight S.S., Eppig J.T., Harris M.A., Hill D.P., Issel-Tarver L., Kasarskis A., Lewis S., Matese J.C., Richardson J.E., Ringwald M., Rubin G.M., Sherlock G. Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium. *Nat Genet.* 2000;25(1):25-9. doi: 10.1038/75556.

15. Gene Ontology Consortium. The Gene Ontology resource: enriching a GOLD mine. *Nucleic Acids Res.* 2021;49(D1):D325-D334. doi: 10.1093/nar/gkaa1113.

16. Gillespie M., Jassal B., Stephan R., Milacic M., Rothfels K., Senff-Ribeiro A., Griss J., Sevilla C., Matthews L., Gong C. et al. The reactome pathway knowledgebase 2022. *Nucleic Acids Res.* 2022;50(D1):D687-D692. doi: 10.1093/nar/gkab1028.

17. Griss J., Viteri G., Sidiropoulos K., Nguyen V., Fabregat A., Hermjakob H. ReactomeGSA - Efficient Multi-Omics Comparative Pathway Analysis. *Mol Cell Proteomics*. 2020;19(12):2115-2125. doi: 10.1074/mcp.TIR120.002155.
18. UniProt Consortium. UniProt: the universal protein knowledgebase in 2021. *Nucleic Acids Res*. 2021;49(D1):D480-D489. doi: 10.1093/nar/gkaa1100.
19. Kanehisa M., Goto S. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Res*. 2000;28(1):27-30. doi: 10.1093/nar/28.1.27.
20. Kanehisa M., Furumichi M., Sato Y., Ishiguro-Watanabe M., Tanabe M. KEGG: integrating viruses and cellular organisms. *Nucleic Acids Res*. 2021;49(D1):D545-D551. doi: 10.1093/nar/gkaa970.
21. Glukhov A.I., Khuchua Z.A., Grizunova G.K., Astakhov D.V., Danilevskiy M.I. Interactomics in translational medicine. *Sechenov Medical Journal*. 2018; 31(1): 4-15. 9In Russian)
22. Becker L.M., Chen S.H., Rodor J., de Rooij L.P.M.H., Baker A.H., Carmeliet P. Deciphering endothelial heterogeneity in health and disease at single-cell resolution: progress and perspectives. *Cardiovasc Res*. 2023;119(1):6-27. doi: 10.1093/cvr/cvac018.
23. Shishkova D., Markova V., Sinitzky M., Tsepokina A., Frolov A., Zagorodnikov N., Bogdanov L., Kutikhin A. Co-Culture of Primary Human Coronary Artery and Internal Thoracic Artery Endothelial Cells Results in Mutually Beneficial Paracrine Interactions. *Int J Mol Sci*. 2020;21(21):8032. doi: 10.3390/ijms21218032.
24. Lee M.D., Buckley C., Zhang X., Louhivuori L., Uhlén P., Wilson C., McCarron J.G. Small-world connectivity dictates collective endothelial cell signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2022;119(18):e2118927119. doi: 10.1073/pnas.2118927119.
25. Richards A.L., Eckhardt M., Krogan N.J. Mass spectrometry-based protein-protein interaction networks for the study of human diseases. *Mol Syst Biol*. 2021;17(1):e8792. doi: 10.15252/msb.20188792 792.
26. Claesson-Welsh L., Dejana E., McDonald D.M. Permeability of the Endothelial Barrier: Identifying and Reconciling Controversies. *Trends Mol Med*. 2021;27(4):314-331. doi: 10.1016/j.molmed.2020.11.006.
27. Mussbacher M., Schossleitner K., Kral-Pointner J.B., Salzmann M., Schrammel A., Schmid J.A. More than Just a Monolayer: the Multifaceted Role of Endothelial Cells in the Pathophysiology of Atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep*. 2022;24(6):483-492. doi: 10.1007/s11883-022-01023-9.
28. Komarova Y.A., Kruse K., Mehta D., Malik A.B. Protein Interactions at Endothelial Junctions and Signaling Mechanisms Regulating Endothelial Permeability. *Circ Res*. 2017;120(1):179-206. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.306534.
29. Legerstee K., Houtsmuller A.B. A Layered View on Focal Adhesions. *Biology (Basel)*. 2021;10(11):1189. doi: 10.3390/biology10111189.
30. Kim J., Mooren O.L., Onken M.D., Cooper J.A. Septin and actin contributions to endothelial cell-cell junctions and monolayer integrity. *Cytoskeleton (Hoboken)*. 2023;80(7-8):228-241. doi: 10.1002/cm.21732.
31. Leclech C., Natale C.F., Barakat A.I. The basement membrane as a structured surface - role in vascular health and disease. *J Cell Sci*. 2020;133(18):jcs239889. doi: 10.1242/jcs.239889.
32. hompson M., Sakabe M., Verba M., Hao J., Meadows S.M., Lu Q.R., Xin M. PRDM16 regulates arterial development and vascular integrity. *Front Physiol*. 2023;14:1165379. doi: 10.3389/fphys.2023.1165379.
33. Luo Z., Yao J., Wang Z., Xu J. Mitochondria in endothelial cells angiogenesis and function: current understanding and future perspectives. *J Transl Med*. 2023;21(1):441. doi: 10.1186/s12967-023-04286-1.
34. Hou S., Li Z., Dong J., Gao Y., Chang Z., Ding X., Li S., Li Y., Zeng Y., Xin Q., Wang B., Ni Y., Ning X., Hu Y., Fan X., Hou Y., Li X., Wen L., Zhou B., Liu B., Tang F., Lan Y. Heterogeneity in endothelial cells and widespread venous arterialization during early vascular development in mammals. *Cell Res*. 2022;32(4):333-348. doi: 10.1038/s41422-022-00615-z.
35. Schmelzer C.E.H., Duca L. Elastic fibers: formation, function, and fate during aging and disease. *FEBS J*. 2022;289(13):3704-3730. doi: 10.1111/febs.15899.
36. Andraska E., Skirtich N., McCreary D., Kulkarni R., Tzeng E., McEnaney R. Simultaneous Upregulation of Elastolytic and Elastogenic Factors Are Necessary for Regulated Collateral Diameter Expansion. *Front Cardiovasc Med*. 2022;8:762094. doi: 10.3389/fcvm.2021.762094.
37. Tejero J., Shiva S., Gladwin M.T. Sources of Vascular Nitric Oxide and Reactive Oxygen Species and Their Regulation. *Physiol Rev*. 2019;99(1):311-379. doi: 10.1152/physrev.00036.2017.
38. Kawashima S., Yokoyama M. Dysfunction of endothelial nitric oxide synthase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24(6):998-1005. doi: 10.1161/01.ATV.0000125114.88079.96.
39. Ozaki M., Kawashima S., Yamashita T., Hirase T., Namiki M., Inoue N., Hirata K., Yasui H., Sakurai H., Yoshida Y., Masada M., Yokoyama M. Overexpression of endothelial nitric oxide synthase accelerates atherosclerotic lesion formation in apoE-deficient mice. *J Clin Invest*. 2002;110(3):331-40. doi: 10.1172/JCI15215.

**Для цитирования:** Фролов А.В. Характеристика интерактома артерио-артериального континуума морфофункциональной системы «конduit – артерия» в ходе моделирования *in silico*. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2024;13(4S): 6-12. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-4S-73-87

**To cite:** Frolov A.V. Interactome characteristics of morphofunctional system conduit-artery arterio-arterial continuum during *in silico* modeling. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2024;13(4S): 6-12. DOI: 10.17802/2306-1278-2024-13-4S-73-87