

УДК 616-092.6

DOI 10.17802/2306-1278-2025-14-6-80-104

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ ДИСФУНКЦИИ ПЕРВИЧНЫХ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК КОРОНАРНОЙ И ВНУТРЕННЕЙ ГРУДНОЙ АРТЕРИИ ЧЕЛОВЕКА

В.Е. Маркова<sup>1</sup>, Д.К. Шишкова<sup>1</sup>, А.Д. Степанов<sup>1</sup>, А.В. Фролов<sup>1</sup>, Ю.О. Юрьева<sup>1</sup>,  
А.И. Лазебная<sup>1</sup>, Е.А. Репкин<sup>2</sup>, М.Р. Кабилов<sup>3</sup>, А.Е. Тупикин<sup>3</sup>, А.Г. Кутихин<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», бульвар им. академика Л.С. Барбараша, стр. 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002; <sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Университетская набережная, 7-9, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 199034; <sup>3</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, пр-т академика Лаврентьева, 8, Новосибирск, Российская Федерация, 630090

### Основные положения

- Дисфункциональные эндотелиальные клетки характеризуются сниженной экспрессией генов маркеров эндотелиального фенотипа, компонентов эндотелиальной базальной мембраны и субэндотелиального внеклеточного матрикса.
- Эндотелиальные клетки коронарной и внутренней грудной артерии характеризуются различным профилем экспрессии маркеров эндотелиального фенотипа, компонентов базальной мембраны и белков сигнальных путей ангиогенеза.
- Молекулярный профиль эндотелиальных клеток внутренней грудной артерии более схож с таковым у интактных эндотелиальных клеток по качественному и количественному составу компонентов базальной мембраны и субэндотелиального внеклеточного матрикса.

### Цель

Провести сравнительный анализ профиля геной и белковой экспрессии в первичных эндотелиальных клетках атерочувствительной коронарной артерии (ЭК-КА) и атерорезистентной внутренней грудной артерии (ЭК-ВГА), в том числе при их дисфункции.

### Материалы и методы

В работе были применены полнотранскриптомное секвенирование и ультра-высокоэффективная жидкостная хроматография с тандемной масс-спектрометрией. При биоинформатическом анализе данных полнотранскриптомного секвенирования оценивали кратность изменения экспрессии и количество транскриптов генов интереса на миллион прочтений. Анализ данных хромато-масс-спектрометрического анализа проводили при помощи ранжирования 2 986 детектированных молекул по уровню их экспрессии (определяемой по площадям хроматографических пиков) относительно друг друга.

### Результаты

Дисфункциональные ЭК отличались выраженным снижением экспрессии ряда генов маркеров эндотелиального фенотипа, компонентов базальной мембраны и субэндотелиального внеклеточного матрикса, а также преимущественным снижением экспрессии генов сигнальных путей ангиогенеза. Дисфункция ЭК также приводила к повышению экспрессии генов сигнальных путей окислительного и эндоплазматического стресса. В сравнении с ЭК-ВГА ЭК-КА характеризовались повышенной экспрессией белков сигнальных путей ангиогенеза, в том числе эфриновых рецепторов (EPHB2 и EPHB4), а также обеих субъединиц эндотелиального интегрина  $\alpha v \beta 3$  (ITGAV и ITGB3). ЭК-ВГА отличались повышенной экспрессией транскрипционных факторов эндотелиальной дифференцировки (ERG и FLI1), ангиопоэтинов (ANGPT2 и ANGPTL2), их рецепторов (PTPRB и TEK) и ко-рецепторов к VEGF (NRP1 и NRP2), а также более высокой экспрессией компонентов базальной мембраны и внеклеточного матрикса, гиперэкспрессированных в интактных ЭК (ламелина, коллагена IV типа, фактора фон Виллебранда, ангиопоэтиноподобного белка, бигликана, мультимерина-1 и катепсина С).

**Для корреспонденции:** Виктория Евгеньевна Маркова, [marvika97@gmail.com](mailto:marvika97@gmail.com); адрес: бульвар им. академика Л.С. Барбараша, стр. 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

**Corresponding author:** Victoria E. Markova, [marvika97@gmail.com](mailto:marvika97@gmail.com); address: 6, Academician Barbarash blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

<b>Заключение</b>	Дисфункциональные ЭК характеризуются сниженной активностью синтеза компонентов базальной мембраны и внеклеточного матрикса. ЭК-КА и ЭК-ВГА имеют выраженные различия в экспрессии маркеров эндотелиального фенотипа, белков базальной мембраны, внеклеточного матрикса и сигнальных путей ангиогенеза.
<b>Ключевые слова</b>	Эндотелиальные клетки • Коронарная артерия • Внутренняя грудная артерия • Дисфункция эндотелия • Маркеры эндотелиального фенотипа • Базальная мембрана • Внеклеточный матрикс

Поступила в редакцию: 12.09.2025; поступила после доработки: 22.09.2025; принята к печати: 14.10.2025

## MOLECULAR MARKERS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN PRIMARY HUMAN CORONARY ARTERY AND INTERNAL THORACIC ARTERY ENDOTHELIAL CELLS

V.E. Markova<sup>1</sup>, D.K. Shishkova<sup>1</sup>, A.D. Stepanov<sup>1</sup>, A.V. Frolov<sup>1</sup>, Yu.O. Yurieva<sup>1</sup>,  
A.I. Lazebnaya<sup>1</sup>, E.A. Repkin<sup>2</sup>, M.R. Kabilov<sup>3</sup>, A.E. Tupikin<sup>3</sup>, A.G. Kutikhin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, 6, blvd. named after academician L.S. Barbarash, Kemerovo, Russian Federation, 650002; <sup>2</sup> Saint Petersburg State University, 7-9, Universitetskaya Embankment, Saint Petersburg, Russian Federation, 199034; <sup>3</sup> Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 8, Akademika Lavrentieva Avenue, Novosibirsk, Russian Federation, 630090

### Highlights

- Endothelial cell dysfunction is accompanied by reduced expression of genes encoding endothelial phenotype markers, basement membrane proteins, and extracellular matrix components.
- Primary human coronary artery and internal thoracic artery endothelial cells have distinct molecular profile of endothelial phenotype markers, basement membrane components, and angiogenic proteins.
- In comparison with primary human coronary artery endothelial cells, profile of basement membrane and extracellular matrix components of human internal thoracic artery endothelial cells is more similar to intact endothelial cells.

**Aim** To compare the gene and protein expression profile in primary human coronary artery endothelial cells (HCAEC) and human internal thoracic artery endothelial cells (HITAEC) in physiological and dysfunctional states.

**Methods** To perform an unbiased and high-throughput analysis, we applied RNA sequencing and ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Fold change and transcripts per million were used as metrics to evaluate RNA sequencing results. Mass spectrometry data were assessed by ranking the expression of 2,986 detected molecules after measuring areas of respective chromatographic peaks.

**Results** Dysfunctional ECs showed decreased expression of the genes encoding endothelial phenotype markers, basement membrane components, extracellular matrix proteins, and angiogenic molecules, concurrently having higher expression of the genes encoding oxidative and endoplasmic reticulum stress proteins. In comparison to HITAEC, HCAEC had higher expression of angiogenic proteins (including B-type ephrin receptors EPHB2 and EPHB4) and both subunits of endothelial integrin  $\alpha\beta 3$  (ITGAV and ITGB3). In turn, HITAEC had higher expression of endothelial transcription factors ERG and FLI1, angiopoietins (ANGPT2 and ANGPTL2) and their receptors (PTPRB and TEK), VEGF co-receptors (NRP1 и NRP2), and also higher expression of basement membrane and extracellular matrix components which have been overexpressed in the intact ECs (such as laminin, type IV collagen, von Willebrand factor, angiopoietin-related protein 2, biglycan, nultimerin 1, cathepsin C, and ADAMTS4).

**Conclusion**

Dysfunctional ECs have lower expression of basement membrane and extracellular matrix components. HCAEC and HITAEC have significant differences in the molecular profile of endothelial phenotype markers, basement membrane proteins, extracellular matrix components, and angiogenic proteins.

**Keywords**

Endothelial cells • Coronary artery • Internal thoracic artery • Endothelial dysfunction • Endothelial phenotype markers • Basement membrane • Extracellular matrix

*Received: 12.09.2025; received in revised form: 22.09.2025; accepted: 14.10.2025*

**Список сокращений**

ВГА – внутренняя грудная артерия   ЭК – эндотелиальные клетки  
КА – коронарная артерия

**Введение**

Поддержание структурной целостности эндотелиального монослоя и гомеостаза эндотелиальных клеток (ЭК) является одним из обязательных условий для поддержания гомеостаза системы кровообращения [1]. Патологическое повышение эндотелиальной проницаемости, обусловленное нарушением формирования межклеточных контактов, истончением и разрывами базальной мембраны, способствует отложению положительно заряженных атерогенных липопротеинов в интима артерий вследствие отрицательного заряда протеогликанов субэндотелиального внеклеточного матрикса [2]. Провоспалительная активация эндотелия, вызываемая системными метаболическими нарушениями и наблюдаемая у мультиморбидных пациентов, сопровождается повышением выделения провоспалительных хемокинов и увеличением экспрессии индуцибельных рецепторов клеточной адгезии, что способствует направленной трансэндотелиальной миграции лейкоцитов в сосудистую стенку [3]. Помимо провоспалительных эффектов, связывание коронавируса SARS-CoV-2 с эндотелиальным рецептором ACE2 также индуцирует выделение нерасщепленных высокомолекулярных мультимеров фактора фон Виллебранда [4], провоцирующих развитие тромбоза сосудов микроциркуляторного [5–7], венозного [8, 9] и артериального [10] русла. Дисфункция эндотелия, как правило, сопровождается нарушениями эндотелий-зависимой вазодилатации вследствие снижения выделения вазодилататоров (в частности, монооксида азота) и повышения синтеза вазоконстрикторов (к примеру, эндотелина-1) [11]. В зависимости от пускового фактора и коморбидного фона развитие дисфункции эндотелия может характеризоваться различной выраженностью провоспалительных, протромботических или вазоспастических/вазодилатационных нарушений с преобладанием того или иного патогенетического звена [12].

Молекулярные особенности поддержания эндотелиального гомеостаза и развития дисфункции эндотелия в артериях, артериолах, венах, венулах и капиллярах существенно варьируют [13–15], что

может иметь патофизиологическое и клиническое значение. Примером значимости гетерогенности ЭК в кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии является распространенность атеросклероза коронарных артерий (КА), являющегося причиной ишемической болезни сердца, и устойчивость к атеросклерозу внутренних грудных артерий (ВГА), применяемых в качестве кондуитов для коронарного шунтирования с целью хирургического лечения вышеуказанной патологии [16]. Считается, что атерорезистентность ВГА обусловлена комплексом факторов, включающих ламинарное течение кровотока, повышенный синтез монооксида азота ЭК-ВГА, устойчивость сосудистых гладкомышечных клеток к провоспалительной активации, относительно низкое исходное содержание коллагена в сосудистой стенке и низкую активность коллагеногеназа [17]. Идентичность молярной концентрации атерогенных липопротеинов в циркулирующей в артериях крови в сочетании с атерочувствительностью КА и атерорезистентностью ВГА позволяет предположить, что именно низкая проницаемость эндотелиального монослоя может играть центральную роль в объяснении феномена устойчивости ВГА к атерогенезу. Кроме того, определенную роль в этом может играть качественный и количественный состав внеклеточного матрикса и субэндотелиального внеклеточного матрикса, поскольку различные его компоненты имеют различную способность к связыванию атерогенных липопротеинов (в том числе за счет различного содержания отрицательно заряженных аминокислот). Учитывая этиологическую значимость патологического повышения проницаемости эндотелия для развития атеросклероза, представляется важным дальнейшее изучение молекулярного профиля ЭК-КА и ЭК-ВГА в норме и при патологии.

Клиническое применение знаний об этиологии и патогенезе дисфункции эндотелия подразумевает расшифровку биохимических изменений молекулярного профиля ЭК с последующей идентификацией чувствительных и специфичных маркеров внутри отдельных классов молекул. Для достиже-

ния данной цели необходимо использовать высокопроизводительные методы исследования, к которым в том числе относятся полнотранскриптомное секвенирование и ультравысокоэффективная жидкостная хроматография с tandemной масс-спектрометрией, позволяющие независимо анализировать качественный и количественный состав транскриптов и белков соответственно. С целью выявления изменений экспрессии патофизиологически важных для дисфункции эндотелия молекул (маркеров эндотелиального фенотипа, компонентов эндотелиальной базальной мембраны и субэндотелиального внеклеточного матрикса, ангиогенных молекул, белков сигнальных путей активации и агрегации тромбоцитов и свертывания крови, белков окислительного и эндоплазматического стресса) и сравнительного анализа их экспрессии в ЭК-КА и ЭК-ВГА в данной работе было проведено транскриптомное и протеомное профилирование после *in vitro* моделирования дисфункции эндотелия и лизиса указанных клеточных культур.

### Материалы и методы

#### Культивирование ЭК-КА и ЭК-ВГА

Первичные культуры ЭК-КА (300К-05а, Cell Applications) и ЭК-ВГА (308К-05а, Cell Applications) культивировались во флаконах T-75 (708003, Wuxi NEST Biotechnology Co., Ltd.) в соответствии с инструкциями производителя в среде EndoBoost (EB1, AppScience Products) до достижения конfluence. После этого ЭК-КА и ЭК-ВГА были рассеяны в 6-луночные планшеты (703001, Wuxi NEST Biotechnology Co., Ltd.) с использованием 0,25% раствора трипсина-ЭДТА (П043п, ПанЭко) и 10% фетальной бычьей сыворотки (1.1.6.1, Биолот) для ингибирования трипсина. Культивирование ЭК-КА и ЭК-ВГА в 6-луночных планшетах также осуществлялось в среде EndoBoost (EB1, AppScience Products) до достижения конfluence ( $\approx 0,5 \times 10^6$  клеток на лунку). Непосредственно перед проведением экспериментов ЭК дважды промывали теплым ( $\approx 37$  °C) раствором фосфатно-солевого буфера по Дульбекко без кальция и магния с pH = 7,4 (ФСБД, 1.2.4.7, Биолот) среду EndoBoost заменяли на бессывороточную среду EndoLife (EL1, AppScience Products). Культивирование ЭК-КА и ЭК-ВГА осуществляли в параллели.

#### Моделирование дисфункции эндотелия

Для моделирования дисфункции эндотелия с целью последующего анализа геной или белковой экспрессии конfluence (около  $0,5 \times 10^6$  клеток на лунку 6-луночного планшета) культуры ЭК-КА и ЭК-ВГА в бессывороточной питательной среде EndoLife (EL1, AppScience Products) инкубировали со 100 мкл первичных или вторичных кальципротеиновых частиц в дозе  $0,6 \times 10^5$  частиц на 1 мл (25 мкг

кальция на 1 мл) либо контрольного фосфатно-солевого буфера по Дульбекко в течение 24 часов ( $n = 4$  лунки на экспериментальную группу,  $n = 12$  для ЭК-КА и для ЭК-ВГА, всего  $n = 24$ ). Синтез кальципротеиновых частиц осуществляли в соответствии с ранее опубликованным протоколом [18, 23].

#### Полнотранскриптомное секвенирование (RNA-seq)

После инкубации с кальципротеиновыми частицами ЭК-КА лизировали тризолом (15596018, Invitrogen, Thermo Fisher Scientific) с последующим выделением РНК при помощи набора Purelink RNA Micro Scale Kit (12183016, Invitrogen) с сопутствующей обработкой ДНКазой (DNASE70, Sigma-Aldrich). Контроль качества РНК осуществляли с помощью набора RNA 6000 Pico Kit (5067-1513, Agilent) на приборе Bioanalyzer 2100 (Agilent) по индексу целостности РНК (RNA integrity number, RIN). Оценку количества выделенной РНК проводили на спектрофотометре NanoDrop 2000 (Thermo Scientific) и флуориметре Qubit 4 (Invitrogen). Для 1 мкг выделенной РНК проводили деплецию рРНК посредством набора RiboCop rRNA Depletion Kit V1.2 (037.96, Lexogen) с дальнейшим конструированием ДНК-библиотек при помощи набора SENSE Total RNA-Seq Library Prep Kit (042.96, Lexogen). Для каждого образца РНК использовали определенный баркод. Качество полученных ДНК-библиотек анализировали с помощью набора High Sensitivity DNA Kit (5067-4626, Agilent) на приборе Bioanalyzer 2100 (Agilent). Концентрацию ДНК-библиотек определяли с помощью количественной полимеразной цепной реакции с детекцией результата в реальном времени на амплификаторе CFX96 Touch (Bio-Rad). Далее ДНК-библиотеки смешивали эквимолярно и секвенировались на платформе HiSeq 2000 (Illumina) с длиной парно-концевых прочтений  $2 \times 125$  нуклеотидов. Полученные прочтения фильтровали по качеству ( $QV > 20$ ), длине ( $> 20$ ) и удаляли адаптерную последовательность с помощью программы TrimGalore v.0.4.4 (Babraham Bioinformatics). После фильтрации среднее количество прочтений превышало 10 млн. Картирование прочтений на геном человека (hg38) с аннотацией Ensembl (v.38.93) проводилось с использованием программы CLC GW 11.0 (Qiagen) со следующими параметрами: Similarity fraction = 0,8, Length fraction = 0,8, Mismatch cost = 2, Insertion cost = 3, Deletion cost = 3.

Статистический анализ и визуализацию транскриптомных данных проводили в программной среде R (версия 4.3.2). Логарифмирование по основанию 2 и анализ дифференциальной экспрессии генов выполняли при помощи пакета "limma" (версия 3.60.6). Биоинформатический анализ проводили с использованием кратности изменения экспрессии (fold change) и количества транскриптов

генов интереса на миллион прочтений (transcripts per million, TPM). Общее количество идентифицированных генов составило 18310. Анализ биоинформатических категорий был проведен с использованием баз данных Gene Ontology и Reactome, а также поискового инструмента DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/tools.jsp>).

*Ультравысокоэффективная жидкостная хроматография, совмещенная с тандемной масс-спектрометрией (УФЭЖХ-МС/МС)*

После 24-часовой инкубации с кальципротейновыми частицами ЭК-КА и ЭК-ВГА лизировали RIPA-буфером (89901, Thermo Fisher Scientific) с коктейлем ингибиторов протеаз и фосфатаз (78444, Thermo Fisher Scientific) в соответствии с протоколом производителя. Для очистки от компонентов RIPA-буфера проводили осаждение белка. Пробы инкубировали в течение часа при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  в 4 объёмах ацетона (650501, Sigma-Aldrich), после чего центрифугировали при  $13\ 000 \times g$  в течение 15 минут при  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Microfuge 20R, Beckman Coulter). Осадок ресуспендировали в 250 мкл ледяного ацетона и инкубировали в течение 15 минут при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Далее проводили повторное центрифугирование ( $13\ 000 \times g$  в течение 15 минут при  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) с последующим удалением надосадка. Для полного удаления ацетона пробирки сушили на воздухе в течение 5–10 минут. Осажденный белок ресуспендировали в мочеvine (8 моль/л, U5128, Sigma-Aldrich), разведенной в бикарбонате аммония (50 ммоль/л, 09830, Sigma-Aldrich), и инкубировали в течение 20 минут на льду, после чего образцы подвергали ультразвуковой обработке в ледяной ванне в течение 15 минут и инкубировали еще 10 минут на льду при периодическом перемешивании.

Для исследований образцы выравнивали по общему количеству белка. Измерение концентрации белка проводили набором QuDye Protein Quantification Kit (25102, Lumiprobe) на флуориметре Qubit 4 (Thermo Fisher Scientific) согласно протоколу производителя. Образцы белка (15 мкг) инкубировали с дитиотреитолом (5 ммоль/л, D0632, Sigma-Aldrich) в течение 1 часа при  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  с последующей инкубацией в 2-йодацетамиде (15 ммоль/л) в течение 30 минут при комнатной температуре без доступа света (I1149, Sigma-Aldrich). Далее образцы разводили в 7 объемах бикарбоната аммония (50 ммоль/л), добавляли 300 нг трипсина (соотношение трипсина к белку 1:50, VA9000, Promega) и инкубировали в течение 16 часов при  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Затем пептиды замораживали при  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  на 1 час и обессоливали при помощи хроматографических наконечников (Tips-RPS-M.T2.200.96, Affinisep) в соответствии с инструкцией производителя, используя метанол (1880092500, Sigma-Aldrich), ацетонитрил (1000291000, Sigma-Aldrich)

и муравьиную кислоту в концентрации 0,1% (33015, Sigma-Aldrich). Обессоленные пептиды высушивали при помощи вакуумного центрифужного концентратора (HyperVAC-LITE, Gyrozen Co., Ltd.) в течение 3 часов и растворяли в 20 мкл муравьиной кислоты в концентрации 0,1% (1000291000, Sigma-Aldrich) для последующего протеомного анализа. Растворенные пептиды далее анализировали при помощи безметочного (label-free) протеомного профилирования, выполняемого посредством ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии, совмещенной с тандемной масс-спектрометрией с ионной подвижностью ( $\approx 500$  нг пептидов на каждый образец).

Хроматографическое разделение проводили на нанопоточном хроматографе nanoElute (Bruker) с трэп-колоной Trap Cartridge 5 мм (Thermo Fisher Scientific) и хроматографической колонкой Bruker Fifteen (C18 ReproSil AQ,  $150 \times 0,75$  мм, 1,9 мкм, 120A; Bruker) 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 орбитрап-времяпролетный масс-спектрометр высокого разрешения с ячейкой измерения ионной подвижности timsTOF Pro (Bruker Daltonics). Масс-спектрометр использовали в PASEF-режиме положительной полярности (parallel accumulation serial fragmentation) дата-зависимой тандемной масс-спектрометрии (data-dependent acquisition) со временем PASEF-цикла 0,5 секунды. Молекулы с ионной подвижностью от 0,85 до 1,30 1/K0 аккумулировали в ячейке измерения ионной подвижности (trapped ion mobility spectrometry, tims), после чего поочередно передавали в квадруполь-времяпролетный масс-спектрометр, синхронизированный с ячейкой измерения ионной подвижности, 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). 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%, расчёт FDR проводили при помощи поиска по обратной базе данных (decoy). Затем из анализа были исключены белки, имеющие менее 2 уникальных пептидов. После получения информации о ко-

личестве спектров, по которым была осуществлена идентификация обнаруженных белков в разных образцах (spectral count), проводили анализ полученных данных. Статистический анализ и визуализацию масс-спектрометрических данных проводили в программной среде R. В качестве метрики для анализа содержания белков в R была использована площадь хроматографических пиков, по которым была осуществлена идентификация обнаруженных белков в различных образцах. Для обеспечения надлежащего качества данных были использованы исключительно белки, определенные не менее чем в 70% образцов. Отсутствующие данные (missing data) заполняли с использованием метода k-ближайших соседей при помощи пакета “impute” (версия 1.78.0). После анализа совокупности белковых молекул, представленных в лизате контрольных и дисфункциональных ЭК, а также в лизате ЭК-КА и ЭК-ВГА, для анализа было выбрано 2 986 белков, экспрессированных не менее чем в 90% образцов. Анализ биоинформатических категорий был проведен с использованием баз данных Gene Ontology и Reactome, а также поискового инструмента DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/tools.jsp>).

## Результаты

Для определения характерного для провоспалительной активации эндотелия молекулярного профиля в контрольных и дисфункциональных ЭК в первую очередь была установлена метрика уровня экспрессии при полнотранскриптомном секвенировании – среднее значение количества транскриптов на миллион прочтений в контрольной группе (transcripts per million, TPM), а также порог условной значимости изменений генной экспрессии (в  $\geq 1,5$  раза, то есть с кратностью изменения экспрессии  $\geq 1,5$  или  $\leq 0,67$ ). В первую очередь нами был проведен анализ экспрессии генов 45 описанных в литературе маркеров эндотелиального фенотипа. Все классические маркеры эндотелиального фенотипа (*VWF*, *PECAM1*, *CDH5*, *MCAM*, *ENG*) обладали высоким уровнем экспрессии ( $TPM_{Ctrl} > 1\ 000$ ); более того, почти все гены маркеров эндотелиального фенотипа имели достаточно высокий уровень экспрессии ( $TPM_{Ctrl} > 100$ ), за исключением нескольких (*EPHB2*, *ITGA3*, *TEK*, *ITGA2*, *ITGB5*, *NRP2*, *ANGPTL2*, *F11R*, *ANGPT2*, табл. 1). Примечательно, что высокий уровень экспрессии ( $TPM_{Ctrl} > 150$ ) имели даже транскрипционные факторы эндотелиальной дифференцировки (*ERG* и *FLII*, табл. 1). Контрольные ЭК характеризовались высокой ( $TPM_{Ctrl} \geq 1000$ ) экспрессией генов *VWF* (кодирующего фактор фон Виллебранда), *PECAM1* (кодирующего CD31), *ITGA5* (кодирующего альфа-субъединицу 5 интегринов), *CDH5* (кодирующего VE-кадгерин), *MCAM* (кодирующего CD146) и *ENG* (кодирующего эндоглин, CD105).

**Таблица 1.** Ранжирование экспрессии генов маркеров эндотелиального фенотипа (отражаемой средним значением количества транскриптов на миллион прочтений) в контрольных и дисфункциональных ЭК относительно друг друга при анализе данных полнотранскриптомного секвенирования

**Table 1.** Expression of the genes encoding the endothelial phenotype markers (measured as mean transcripts per million at RNA sequencing) in control and dysfunctional ECs. Transcripts per million ranking

Ген / Gene	Среднее значение количества транскриптов на миллион прочтений в контрольной группе / Mean TPM in the intact ECs	Ген / Gene	Среднее значение количества транскриптов на миллион прочтений в группе дисфункции эндотелия / Mean TPM in dysfunctional ECs
<i>VWF</i>	3 825,92	<i>PECAM1</i>	1 643,26
<i>PECAM1</i>	2 621,60	<i>VWF</i>	1 516,57
<i>ITGA5</i>	2 089,70	<i>MCAM</i>	1 401,50
<i>CDH5</i>	1 912,78	<i>CAVIN1</i>	1 156,86
<i>MCAM</i>	1 407,90	<i>CDH5</i>	1 137,63
<i>ENG</i>	1 258,98	<i>ESM1</i>	935,31
<i>CAVIN1</i>	874,44	<i>ITGA5</i>	645,41
<i>ICAM2</i>	763,28	<i>ECE1</i>	623,34
<i>PROCR</i>	577,98	<i>ITGB1</i>	500,75
<i>ECE1</i>	547,47	<i>KDR</i>	482,19
<i>CAVIN2</i>	540,88	<i>PODXL</i>	477,31
<i>CAVIN3</i>	524,32	<i>EDF1</i>	470,91
<i>ESM1</i>	495,80	<i>GJA1</i>	416,43
<i>BSG</i>	494,82	<i>CLEC14A</i>	400,85
<i>ESAM</i>	494,05	<i>ITGAV</i>	344,05
<i>TIE1</i>	475,24	<i>BSG</i>	328,62
<i>PODXL</i>	431,59	<i>ICAM2</i>	327,15
<i>KDR</i>	405,26	<i>TIE1</i>	319,75
<i>CLEC14A</i>	397,60	<i>ENG</i>	314,89
<i>ITGB1</i>	299,02	<i>ICAM1</i>	294,84
<i>GJA1</i>	267,57	<i>PROCR</i>	285,68
<i>BMX</i>	225,34	<i>CAVIN2</i>	248,47
<i>ERG</i>	212,18	<i>ESAM</i>	243,70
<i>EDF1</i>	185,37	<i>CLDN5</i>	190,01
<i>FLII</i>	149,74	<i>BMX</i>	188,05
<i>EPHB4</i>	148,12	<i>F11R</i>	179,62
<i>ITGAV</i>	147,16	<i>ITGA2</i>	144,85
<i>ICAM1</i>	136,15	<i>ERG</i>	127,26
<i>STAB1</i>	135,63	<i>CAVIN3</i>	121,96
<i>CLDN5</i>	132,32	<i>STAB1</i>	109,56
<i>ITGB3</i>	123,39	<i>EPHB4</i>	90,51
<i>NOTCH1</i>	123,08	<i>PTPRB</i>	87,51
<i>NOS3</i>	114,90	<i>TEK</i>	86,09
<i>TJP1</i>	112,28	<i>ANGPT2</i>	79,66
<i>PTPRB</i>	111,96	<i>NRP1</i>	76,92
<i>NRP1</i>	108,38	<i>TJP1</i>	75,98
<i>ANGPT2</i>	97,83	<i>ITGB3</i>	72,18
<i>F11R</i>	91,23	<i>FLII</i>	65,37
<i>ANGPTL2</i>	77,85	<i>ITGA3</i>	65,35
<i>NRP2</i>	75,24	<i>ITGB5</i>	65,23
<i>ITGB5</i>	74,12	<i>NOTCH1</i>	47,19
<i>ITGA2</i>	68,36	<i>NRP2</i>	46,89
<i>TEK</i>	61,99	<i>ANGPTL2</i>	36,74
<i>ITGA3</i>	60,56	<i>NOS3</i>	28,62
<i>EPHB2</i>	57,85	<i>EPHB2</i>	17,47

**Примечание:** Здесь и далее в табл. 2, 3, 5, 6, 8, 9, 11, 12, 14, 16, 17, 18: ЭК – эндотелиальные клетки.

**Note:** Here and further in the table. 2, 3, 5, 6, 8, 9, 11, 12, 14, 16, 17, 18: ECs – endothelial cells.

В дисфункциональных ЭК аналогичные значения экспрессии наблюдались в генах *PECAM1*, *VWF*, *MCAM*, *CAVIN1* (кодирующего белок кавеол кавин-1) и *CDH5* (табл. 1). Таким образом, провоспалительная активация эндотелия сопровождалась изменением экспрессии маркеров эндотелиального фенотипа друг относительно друга, при этом особенно сильно снижались значения экспрессии генов, кодирующих белки межклеточных контактов – *ITGA5* и *CDH5* (табл. 1).

Расчет кратности изменения экспрессии при сравнительном анализе экспрессии генов маркеров эндотелиального фенотипа показал более чем 2-кратное повышение экспрессии 8 из 45 генов, включая ген *EDF1* (кодирующего одноименный эндотелий-специфичный коактиватор транскрипции), *ITGAV* (кодирующего альфа-субъединицу V интегринов), *ICAM1* (кодирующего одноименный рецептор ЭК для лейкоцитов), *ITGA2* (кодирующего альфа-субъединицу 2 интегринов) и более чем 1,5-кратное повышение экспрессии генов *F11R* (кодирующего одноименный белок плотных межклеточных контактов), *ESM1* (кодирующего секретируемый протеогликан эндокан), *ITGB1* (кодирующего бета-субъединицу 1 интегринов) и *GJAI* (кодирующего одноименный белок щелевых межклеточных контактов) в дисфункциональных ЭК в сравнении с контрольными (табл. 2). Однако экспрессия генов большинства (21 из 45) маркеров эндотелиального фенотипа снижалась (для генов *CAVIN3*, *NOS3*, *ENG*, *EPHB2*, *ITGA5*, *NOTCH1*, *VWF*, *ICAM2*, *FLII*, *CAVIN2*, *ANGPTL2*, *ESAM*, *PROCR* – в 2 раза, для генов *ITGB3*, *CDH5*, *ERG*, *EPHB4*, *NRP2*, *PECAM1*, *BSG* и *TIE1* – в 1,5 раза). Большинство из данных генов кодировали либо про-ангиогенные факторы (*ANGPTL2*) или их рецепторы (*EPHB2*, *EPHB4*, *NRP2*, *NRP1*, *TIE1*), либо молекулы клеточной адгезии (*ICAM2*, *ESAM*, *PECAM1*) или белки межклеточных контактов (*ITGA5*, *ITGB3*, *CDH5*), либо транскрипционные факторы (*FLII*, *ERG*, табл. 2). Таким образом, провоспалительная активация эндотелия сопровождалась нарушениями классических функций эндотелия – ангиогенной (способностью формировать новые кровеносные сосуды) и барьерной (способности формировать полупроницаемый барьер за счет плотных, адгезивных и щелевых контактов). Из иных характерных для дисфункциональных ЭК изменений следует отметить снижение экспрессии гена *NOS3*, кодирующего эндотелиальную синтазу монооксида азота (NO) (табл. 2).

Далее был проведен анализ экспрессии иных генов семейств, к которым относились маркеры эндотелиального фенотипа (интегринов, клаудинов, молекул семейств JAM и ZO, кадгеринов, коннексинов, эфринов и их рецепторов, рецепторов семейства Notch, ангиопоэтинов и ангиопоэтин-подобных белков). В значительной степени это были

**Таблица 2.** Ранжирование генов маркеров эндотелиального фенотипа по кратности изменения их экспрессии (отражаемой средним значением количества транскриптов на миллион прочтений) в дисфункциональных ЭК в сравнении с контрольными ЭК при анализе данных полнотранскриптомного секвенирования

**Table 2.** Expression of the genes encoding the endothelial phenotype markers (measured as mean transcripts per million at RNA sequencing) in control and dysfunctional ECs. Fold change ranking

Ген / Gene	Среднее значение количества транскриптов на миллион прочтений в контрольной группе / Mean TPM in the intact ECs	Среднее значение количества транскриптов на миллион прочтений в группе дисфункции эндотелия / Mean TPM in dysfunctional ECs	Кратность изменения экспрессии / Fold change
<i>EDF1</i>	185,37	470,91	2,54
<i>ITGAV</i>	147,16	344,05	2,34
<i>ICAM1</i>	136,15	294,84	2,17
<i>ITGA2</i>	68,36	144,85	2,12
<i>F11R</i>	91,23	179,62	1,97
<i>ESM1</i>	495,80	935,31	1,89
<i>ITGB1</i>	299,02	500,75	1,67
<i>GJAI</i>	267,57	416,43	1,56
<i>CLDN5</i>	132,32	190,01	1,44
<i>TEK</i>	61,99	86,09	1,39
<i>CAVIN1</i>	874,44	1 156,86	1,32
<i>KDR</i>	405,26	482,19	1,19
<i>ECE1</i>	547,47	623,34	1,14
<i>PODXL</i>	431,59	477,31	1,11
<i>ITGA3</i>	60,56	65,35	1,08
<i>CLEC14A</i>	397,60	400,85	1,01
<i>MCAM</i>	1 407,90	1 401,50	1,00
<i>ITGB5</i>	74,12	65,23	0,88
<i>BMX</i>	225,34	188,05	0,83
<i>ANGPT2</i>	97,83	79,66	0,81
<i>STAB1</i>	135,63	109,56	0,81
<i>PTPRB</i>	111,96	87,51	0,78
<i>NRP1</i>	108,38	76,92	0,71
<i>TJP1</i>	112,28	75,98	0,68
<i>TIE1</i>	475,24	319,75	0,67
<i>BSG</i>	494,82	328,62	0,66
<i>PECAM1</i>	2 621,60	1 643,26	0,63
<i>NRP2</i>	75,24	46,89	0,62
<i>EPHB4</i>	148,12	90,51	0,61
<i>ERG</i>	212,18	127,26	0,60
<i>CDH5</i>	1 912,78	1 137,63	0,59
<i>ITGB3</i>	123,39	72,18	0,58
<i>PROCR</i>	577,98	285,68	0,49
<i>ESAM</i>	494,05	243,70	0,49
<i>ANGPTL2</i>	77,85	36,74	0,47
<i>CAVIN2</i>	540,88	248,47	0,46
<i>FLII</i>	149,74	65,37	0,44
<i>ICAM2</i>	763,28	327,15	0,43
<i>VWF</i>	3 825,92	1 516,57	0,40
<i>NOTCH1</i>	123,08	47,19	0,38
<i>ITGA5</i>	2 089,70	645,41	0,31
<i>EPHB2</i>	57,85	17,47	0,30
<i>ENG</i>	1 258,98	314,89	0,25
<i>NOS3</i>	114,90	28,62	0,25
<i>CAVIN3</i>	524,32	121,96	0,23

белки межклеточных контактов и контактов ЭК с эндотелиальной базальной мембраной (интегрины) и субэндотелиальным внеклеточным матриксом (белки плотных контактов окклюдин, клаудины и молекулы семейств JAM и ZO, белки адгезивных контактов кадгерина) и белков щелевых контактов (коннексины), а также белки ангиогенных молекул (эфрины и их рецепторы, рецепторы семейства Notch, ангиопоэтины, ангиопоэтин-подобные белки). Наибольшую кратность изменения экспрессии в дисфункциональных ЭК в сравнении с контрольными имели гены *CLDN23* (23,42), *ITGA9* (19,10) и *EFNA2* (9,71), однако в большей степени это было связано с чрезвычайно низкими значениями их базальной экспрессии ( $TPM_{Ctrl} < 0,1$ , табл. 3). Примечательно, что гиперэкспрессией (кратностью изменения экспрессии  $\geq 1,50$ ) в дисфункциональных ЭК характеризовались исключительно гены, кодирующие субъединицы интегринов (белков контактов клеток с матриксом – *ITGA9*, *ITGB8*, *ITGAE*, *ITGA6*, *ITGAX*, *ITGA4*), белки плотных контактов (*CLDN23*, *CLDN1*, *CLDN7*, *CLDN12*) и эфрины (*EFNA2*, *EFNB1*), в то время гипоекспрессия (кратностью изменения экспрессии  $\leq 0,67$ ) в дисфункциональных ЭК наблюдалась в отношении широкого спектра генов, включая гены окклюдина, кадгеринов, коннексинов, молекул семейства NOTCH, эфринов и их рецепторов (*CDH2*, *EFNA5*, *EFNA4*, *EPHA2*, *CLDN15*, *EFNA1*, *EFNA3*, *CDH24*, *NOTCH3*, *GJA4*, *OCLN*, *ITGA11*, *CDH4*, *ANGPTL4*, *EPHB1*, *CLDN11*, *GJA5*, табл. 3).

При синхронизации данных полнотранскриптомного секвенирования и хромато-масс-спектрометрического анализа было определено 2 986 молекул, определяемых в 90% (21/24) исследованных образцов. Поскольку основными сигнальными молекулами являются белки, для увеличения патофизиологической релевантности исследования (а также для сопоставимости результатов, полученных указанными высокопроизводительными методами) в дальнейший биоинформатический анализ был включен именно данный перечень молекул. После определения молекулярных изменений эндотелиального фенотипа, характерного для дисфункциональных ЭК, был проведен анализ разности рангов экспрессии различных белков между ЭК-КА и ЭК-ВГА. Подобный вид анализа позволяет устранить проблему несоответствия абсолютных значений площади хроматографических пиков при различных масс-спектрометрических запусках, используя тот же принцип, что и критерии непараметрической статистики: наиболее экспрессируемому белку присваивается наивысший ранг (1), а наименее экспрессируемому – наименьший (последний в списке определенных молекул, в данном случае 2 986 – по числу молекул, определенных во всех исследованных образцах). Используя

**Таблица 3.** Ранжирование белков, родственных эндотелиальным маркерам (с  $TPM > 1$ ), по кратности изменения их экспрессии (отражаемой средним значением количества транскриптов на миллион прочтений) в дисфункциональных ЭК в сравнении с контрольными ЭК при анализе данных полнотранскриптомного секвенирования

Ген / Gene	Среднее значение количества транскриптов на миллион прочтений в контрольной группе / Mean TPM in the intact ECs	Среднее значение количества транскриптов на миллион прочтений в группе дисфункции эндотелия / Mean TPM in dysfunctional ECs	Кратность изменения экспрессии / Fold change
<i>CLDN23</i>	0,07	1,64	23,42
<i>ITGA9</i>	0,08	1,50	19,10
<i>EFNA2</i>	0,17	1,68	9,71
<i>CLDN1</i>	3,30	9,36	2,84
<i>ITGB8</i>	1,20	2,93	2,44
<i>ITGAE</i>	2,79	5,73	2,06
<i>EFNB1</i>	108,65	194,71	1,79
<i>CLDN7</i>	6,11	10,37	1,70
<i>ITGA6</i>	194,45	316,11	1,63
<i>ITGAX</i>	1,09	1,74	1,59
<i>CLDN12</i>	3,73	5,82	1,56
<i>ITGA4</i>	1,02	1,55	1,52
<i>ITGB4</i>	4,48	6,64	1,48
<i>EFNB3</i>	5,21	7,58	1,46
<i>CDH11</i>	15,40	20,72	1,35
<i>JAM3</i>	91,37	122,87	1,34
<i>ITGA10</i>	64,51	84,85	1,32
<i>GJC1</i>	5,46	6,94	1,27
<i>CLDN14</i>	3,89	4,85	1,24
<i>CAVIN4</i>	1,68	1,94	1,15
<i>CDH13</i>	57,46	49,73	0,87
<i>NOTCH4</i>	103,00	86,42	0,84
<i>EPHA4</i>	19,19	15,72	0,82
<i>TJP2</i>	83,78	64,75	0,77
<i>ITGA1</i>	1,78	1,28	0,72
<i>EFNB2</i>	135,01	95,95	0,71
<i>NOTCH2</i>	21,45	14,54	0,68
<i>CDH2</i>	58,65	37,68	0,64
<i>EFNA5</i>	11,93	7,64	0,64
<i>EFNA4</i>	52,28	32,08	0,61
<i>EPHA2</i>	352,80	198,73	0,56
<i>CLDN15</i>	11,98	5,65	0,47
<i>EFNA1</i>	275,97	128,69	0,47
<i>EFNA3</i>	6,99	3,21	0,46
<i>CDH24</i>	28,05	12,81	0,46
<i>NOTCH3</i>	2,20	0,73	0,33
<i>GJA4</i>	209,33	69,59	0,33
<i>OCLN</i>	4,54	1,34	0,29
<i>ITGA11</i>	2,58	0,50	0,19
<i>CDH4</i>	8,98	1,41	0,16
<i>ANGPTL4</i>	226,67	23,66	0,10
<i>EPHB1</i>	16,08	1,24	0,08
<i>CLDN11</i>	55,86	4,05	0,07
<i>GJA5</i>	541,39	31,57	0,06

данную метрику (разность рангов экспрессии между ЭК-КА и ЭК-ВГА), было выявлено, что в ЭК-ВГА более экспрессированы транскрипционные факторы эндотелиального фенотипа (FLI1, ERG), а также ангиопоэтины (ANGPT2, ANGPTL2), их рецепторы (PTPRB и TEK/TIE2) и рецепторы к VEGF (NRP1 и NRP2, табл. 4). В то же время ЭК-КА имели повышенную экспрессию другого ангиогенного звена (эфриновых рецепторов EPHB2 и EPHB4), обеих субъединиц эндотелиального интегрина  $\alpha\beta3$  (ITGB3 и ITGAV), а также эндотелиальной NO-синтазы (NOS3, табл. 4). Следует отметить, что в ЭК-ВГА был гиперэкспрессирован ряд тех же маркеров эндотелиального фенотипа, что и в контрольных ЭК (FLI1, ERG, ANGPTL2, NRP1, NRP2, PROCR, VWF, CAVIN2, табл. 3, табл. 4). Аналогичное наблюдение было справедливо и для ЭК-КА (NOTCH1, TIE1, BSG, ESAM, ITGB3, EPHB2, EPHB4, NOS3, CAVIN3, табл. 3, табл. 4).

Далее в дисфункциональных и контрольных ЭК была проанализирована экспрессия генов компонентов эндотелиальной базальной мембраны, являющейся субстратом для прикрепления ЭК в кровеносных сосудах. По аналогии с генами маркеров эндотелиального фенотипа, почти все гены компонентов эндотелиальной базальной мембраны характеризовались достаточно высокой базальной экспрессией ( $TPM_{Ctrl} > 100$ ), за исключением генов *NID2*, *AGRN*, *TGFBI*, *LAMA5*, *COL6A1*, *DST* и *DLG1*. Наибольшей экспрессией и в контрольных, и в дисфункциональных ЭК обладали гены, кодирующие фибронектин (*FNI*), остеоонектин (*SPARC*) и перлекан (*HSPG2*), однако в контрольных ЭК экспрессия генов *FNI* и *SPARC* была значительно выше экспрессии гена *HSPG2*, в то время как в дисфункциональных ЭК экспрессия всех трех данных генов была почти равной (табл. 5). Это позволило предположить изменение соотношения компонентов эндотелиальной базальной мембраны при провоспалительной активации эндотелия.

Последующий анализ выявил снижение кратности изменения экспрессии  $\geq 1,50$  для целого ряда генов компонентов эндотелиальной базальной мембраны (*NID1*, *DAG1*, *LOXL2*, *TGFBI*, *COL4A2*, *MMRN2*, *LAMB2*) в дисфункциональных ЭК, в то время как аналогичное по уровню повышение экспрессии было зафиксировано исключительно для гена агрина (*AGRN*, табл. 6). При этом нидоген (кодируемый геном *NID1*), перлекан (кодируемый геном *HSPG2*), коллаген IV типа (одна из основных субъединиц которого кодируется геном *COL4A2*) и ламинины (одна из субъединиц которого кодируется геном *LAMB2*) относятся к основным компонентам эндотелиальной базальной мембраны.

Отличительной особенностью ЭК-ВГА была повышенная экспрессия субъединиц ламинина (*LAMA4*, *LAMB2*, *LAMC1*), субъединицы коллаген-

**Таблица 4.** Ранжирование маркеров эндотелиального фенотипа по разности рангов их экспрессии между ЭК-КА и ЭК-ВГА при анализе данных высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией. Более высокий ранг отражает более высокую экспрессию. Отрицательная разность рангов экспрессии отражает повышенную экспрессию белка в ЭК-КА, положительная – в ЭК-ВГА

**Table 4.** Expression of endothelial phenotype markers in primary HCAEC and primary HITAEC. Ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Higher rank indicates higher expression. Negative and positive values indicate an increased expression in HCAEC and HITAEC, respectively

Белок / Protein	Средний ранг среди белков в протеоме ЭК-КА / Average rank in HCAEC	Средний ранг среди белков в протеоме ЭК-ВГА / Average rank in HITAEC	Разность рангов экспрессии между ЭК-КА и ЭК-ВГА / Expression rank difference between HCAEC and HITAEC
ITGB3	425	1 474	-1 049
EPHB2	1 832	2 528	-696
PODXL	646	1 097	-451
NOS3	2 027	2 401	-373
NOTCH1	2 307	2 634	-328
ECE1	444	749	-305
ITGAV	307	594	-287
CAVIN3	537	808	-271
EPHB4	1 606	1 823	-216
TIE1	2 195	2 401	-206
BSG	525	730	-205
ESAM	1 134	1 268	-135
KDR	1 822	1 897	-75
ITGA3	496	559	-64
ICAM2	333	375	-43
CLEC14A	1 747	1 772	-26
MCAM	180	185	-5
ITGB1	248	251	-3
PECAM1	162	164	-2
CAVIN1	74	52	21
CDH5	284	246	38
EDF1	1 445	1 400	45
ITGA5	305	246	60
ENG	393	314	79
BMX	1 280	1 191	89
TJP1	1 513	1 424	90
ITGA2	781	661	120
PROCR	522	385	138
F11R	844	705	139
NRP1	1 382	1 233	149
FLI1	2 856	2 688	168
ESM1	2 869	2 692	176
CAVIN2	339	135	204
VWF	439	234	205
TEK	2 442	2 217	225
ICAM1	1 152	920	232
CLDN5	2 189	1919	270
GJA1	1 176	901	275
ERG	1 485	1 182	303
ITGB5	2 534	2 012	522
NRP2	2 257	1 580	677
ANGPTL2	2 976	2 254	722
STAB1	1 958	1 214	744
ANGPT2	2 896	2 143	753
PTPRB	2 023	1 198	825

**Примечание:** Здесь и далее в табл. 7, 10, 13, 15: ЭК-ВГА – эндотелиальные клетки коронарной артерии; ЭК-КА – эндотелиальные клетки внутренней грудной артерии.

**Note:** Here and further in Tables 7, 10, 13, 15: HCAEC – human coronary artery endothelial cells; HITAEC – human internal thoracic artery endothelial cells.

на IV типа (COL4A2) и агрина (AGRN), в то время как ЭК-КА экспрессировали существенно больше фибронектина (FN1), нидогена-1 (NID1) и гомолога лизилоксидазы (LOXL2, табл. 7). При этом профиль белков, гиперэкспрессированных в ЭК-ВГА, частично пересекался с профилем белков, гиперэкспрессированных в контрольных ЭК (табл. 6, табл. 7). К таким белкам относились одна из упомянутых субъединиц ламинина (LAMB2), субъединица коллагена IV типа (COL4A2) и мультимерин-2 (табл. 6, табл. 7).

Наибольшей базальной экспрессией (TPM<sub>Ctrl</sub> > 1 000) из прочих генов субэндотелиального внеклеточного матрикса в контрольных ЭК обладали гены *SERPINE1* (кодирующий ингибитор активатора плазминогена), *THBS1* (кодирующий тромбоспондин), *EFEMP1* (кодирующий EGF-содержащий фибулиноподобный белок внеклеточного матрикса), *LGALS1* (кодирующий галектин-1), *VWF* (кодирующий фактор фон Виллебранда), *IGFBP7*

(кодирующий один из белков, связывающихся с инсулиноподобным фактором роста), *CALR* (кодирующий плейотропный белок кальретикулин), *PSAP* (кодирующий участвующий в расщеплении липидов белок просапозин), *SI00A6* (кодирующий кальций-связывающий белок кальциклин), *BGN* (кодирующий бигликан) и *TGM2* (кодирующий трансглутаминазу 2). Профиль экспрессии прочих генов субэндотелиального внеклеточного матрикса в дисфункциональных ЭК отличался высокой относительной экспрессией гена *SI00A6*, а также низкой относительной экспрессией гена *EFEMP1* и гена *BGN* (кодирующего бигликан, табл. 8).

По аналогии с генами эндотелиальной базальной мембраны в дисфункциональных ЭК наблюдалось скорее снижение (31 ген с кратностью изменения  $\leq 0,67$ , из них 23 гена с кратностью изменения экспрессии  $\leq 0,50$ ), чем повышение (15 генов с кратностью изменения  $\geq 1,50$ , из них 3 гена с кратностью изменения  $\geq 2,00$ ) экспрессии прочих генов субэн-

**Таблица 5.** Ранжирование экспрессии генов компонентов эндотелиальной базальной мембраны (отражаемой средним значением количества транскриптов на миллион прочтений) в контрольных и дисфункциональных ЭК относительно друг друга при анализе данных полнотранскриптового секвенирования

**Table 5.** Expression of the genes encoding the endothelial basement membrane components (measured as mean transcripts per million at RNA sequencing) in control and dysfunctional ECs. Transcripts per million ranking

Ген / Gene	Среднее значение количества транскриптов на миллион прочтений в контрольной группе / Mean TPM in the intact ECs	Ген / Gene	Среднее значение количества транскриптов на миллион прочтений в группе дисфункции эндотелия / Mean TPM in dysfunctional ECs
<i>FN1</i>	5 013,95	<i>SPARC</i>	1 291,26
<i>SPARC</i>	4 883,13	<i>HSPG2</i>	1 269,24
<i>HSPG2</i>	1 748,95	<i>FN1</i>	1 258,94
<i>COL4A1</i>	715,46	<i>COL4A1</i>	648,81
<i>COL4A2</i>	688,10	<i>ANXA2</i>	607,24
<i>ANXA2</i>	651,32	<i>PXDN</i>	513,75
<i>LOXL2</i>	639,50	<i>LAMC1</i>	442,74
<i>NID1</i>	483,41	<i>LAMA4</i>	368,98
<i>PXDN</i>	444,38	<i>COL4A2</i>	348,76
<i>LAMC1</i>	436,95	<i>COL18A1</i>	279,45
<i>LAMA4</i>	332,88	<i>LOXL2</i>	249,02
<i>MMRN2</i>	319,16	<i>LAMB1</i>	247,17
<i>LAMB2</i>	289,59	<i>CD151</i>	228,35
<i>COL18A1</i>	277,26	<i>MMRN2</i>	173,41
<i>CD151</i>	257,49	<i>LAMB2</i>	160,96
<i>LAMB1</i>	222,56	<i>NID1</i>	154,63
<i>DAG1</i>	128,15	<i>NID2</i>	120,51
<i>COL5A1</i>	108,96	<i>AGRN</i>	119,86
<i>NID2</i>	74,45	<i>COL5A1</i>	111,72
<i>AGRN</i>	49,23	<i>DAG1</i>	41,74
<i>TGFBI</i>	38,85	<i>DST</i>	29,67
<i>LAMA5</i>	32,24	<i>COL6A1</i>	28,64
<i>COL6A1</i>	27,48	<i>LAMA5</i>	26,07
<i>DST</i>	20,00	<i>TGFBI</i>	19,14
<i>DLG1</i>	10,84	<i>DLG1</i>	14,98

**Таблица 6.** Ранжирование генов компонентов эндотелиальной базальной мембраны по кратности изменения их экспрессии (отражаемой средним значением количества транскриптов на миллион прочтений) в дисфункциональных ЭК в сравнении с контрольными ЭК при анализе данных полнотранскриптового секвенирования

**Table 6.** Expression of the genes encoding the endothelial basement membrane components (measured as mean transcripts per million at RNA sequencing) in control and dysfunctional ECs. Fold change ranking

Ген / Gene	Среднее значение количества транскриптов на миллион прочтений в контрольной группе / Mean TPM in the intact ECs	Среднее значение количества транскриптов на миллион прочтений в группе дисфункции эндотелия / Mean TPM in dysfunctional ECs	Кратность изменения экспрессии / Fold change
<i>AGRN</i>	49,23	119,86	2,43
<i>NID2</i>	74,45	120,51	1,62
<i>DST</i>	20,00	29,67	1,48
<i>DLG1</i>	10,84	14,98	1,38
<i>PXDN</i>	444,38	513,75	1,16
<i>LAMB1</i>	222,56	247,17	1,11
<i>LAMA4</i>	332,88	368,98	1,11
<i>COL6A1</i>	27,48	28,64	1,04
<i>COL5A1</i>	108,96	111,72	1,03
<i>LAMC1</i>	436,95	442,74	1,01
<i>COL18A1</i>	277,26	279,45	1,01
<i>ANXA2</i>	651,32	607,24	0,93
<i>COL4A1</i>	715,46	648,81	0,91
<i>CD151</i>	257,49	228,35	0,89
<i>LAMA5</i>	32,24	26,07	0,81
<i>HSPG2</i>	1 748,95	1 269,24	0,73
<i>LAMB2</i>	289,59	160,96	0,56
<i>MMRN2</i>	319,16	173,41	0,54
<i>COL4A2</i>	688,10	348,76	0,51
<i>TGFBI</i>	38,85	19,14	0,49
<i>LOXL2</i>	639,50	249,02	0,39
<i>DAG1</i>	128,15	41,74	0,33
<i>NID1</i>	483,41	154,63	0,32

**Таблица 7.** Ранжирование компонентов эндотелиальной базальной мембраны по разности рангов их экспрессии между ЭК-КА и ЭК-ВГА при анализе данных высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией. Более высокий ранг отражает более высокую экспрессию. Отрицательная разность рангов экспрессии отражает повышенную экспрессию белка в ЭК-КА, положительная – в ЭК-ВГА

**Table 7.** Expression of endothelial basement membrane components in primary HCAEC and primary HITAEC. Ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Higher rank indicates higher expression. Negative and positive values indicate an increased expression in HCAEC and HITAEC, respectively

Белок / Protein	Средний ранг среди белков в протеоме ЭК-КА / Average rank in HCAEC	Средний ранг среди белков в протеоме ЭК-ВГА / Average rank in HITAEC	Разность рангов экспрессии между ЭК-КА и ЭК-ВГА / Expression rank difference between HCAEC and HITAEC
COL5A1	1 685	2 378	-693
FN1	410	814	-405
TGFBI	2 368	2 746	-377
NID1	1 310	1 637	-328
LOXL2	2 160	2 436	-277
DST	856	1 120	-264
LAMA5	2 591	2 765	-174
CD151	1 522	1 664	-142
SPARC	505	572	-67
DLG1	2 801	2 864	-64
HSPG2	435	475	-41
ANXA2	5	5	-1
DAG1	1 897	1 897	1
COL6A1	2 720	2 662	58
LAMB1	970	889	81
COL4A1	1 365	1 284	81
COL4A2	1 381	1 225	156
COL18A1	1 250	1 063	187
MMRN2	1 202	970	232
PXDN	1 236	991	245
LAMA4	1 579	1 168	411
AGRN	2 770	2 300	470
LAMB2	1 416	865	551
LAMC1	1 170	540	631

**Таблица 8.** Ранжирование экспрессии генов прочих компонентов субэндотелиального внеклеточного матрикса (отражаемой средним значением количества транскриптов на миллион прочтений) в контрольных и дисфункциональных ЭК относительно друг друга при анализе данных полнотранскриптомного секвенирования

**Table 8.** Expression of the genes encoding the subendothelial extracellular matrix components (measured as mean transcripts per million at RNA sequencing) in control and dysfunctional ECs. Transcripts per million ranking

Ген / Gene	Среднее значение количества транскриптов на миллион прочтений в контрольной группе / Mean TPM in the intact ECs	Ген / Gene	Среднее значение количества транскриптов на миллион прочтений в группе дисфункции эндотелия / Mean TPM in dysfunctional ECs
SERPINE1	27 530,03	SERPINE1	10 393,65
THBS1	6 146,34	LGALS1	3 117,14
EFEMP1	5 306,86	SI00A6	3 116,83
LGALS1	4 045,59	THBS1	2 862,75
VWF	3 825,92	PSAP	1 520,08

IGFBP7	2 536,69	VWF	1 516,57
CALR	1 967,45	CALR	1 417,68
PSAP	1 863,40	IGFBP7	1 052,57
SI00A6	1 702,76	SI00A10	1 006,78
BGN	1 654,80	EFEMP1	961,81
TGM2	1 452,67	ESM1	935,31
MMP2	827,57	ANXA5	591,80
CLU	738,12	MMP2	586,12
SRPX	686,46	CTSB	516,22
SI00A10	597,36	HSP90AA1	497,49
MMRN1	594,30	SRPX	451,31
CTSB	590,54	GDF15	412,39
PKM	571,96	CLEC14A	400,85
SPOCK1	570,55	PDGFB	359,44
PLOD1	502,09	LTBP2	343,17
ESM1	495,80	MMRN1	328,41
SERPINH1	436,52	HDGF	304,29
PDGFB	413,62	ICAM1	294,84
LTBP2	411,12	PKM	294,59
CLEC14A	397,60	ANXA1	271,11
GDF15	378,29	SPOCK1	265,15
ANXA5	363,69	TGM2	264,31
HDGF	315,39	PLOD1	259,83
HSP90B1	294,98	HSP90B1	237,47
CTSD	291,14	TIMP2	214,80
TINAGLI	286,58	LOX	196,83
HSP90AA1	264,05	BGN	188,73
HTRA1	244,46	ANXA6	165,19
SRPX2	240,13	HTRA1	163,67
TIMP2	215,84	TGFBI	147,15
LOX	190,90	SERPINH1	138,84
PLOD3	181,41	PLOD2	128,87
MGP	177,05	COL5A2	118,34
CSTB	173,23	CTSD	111,13
ANXA1	161,29	ANXA7	107,25
COL8A1	149,09	CSTB	103,19
P3H1	143,86	POSTN	103,05
ANXA6	137,75	TINAGLI	101,82
ICAM1	136,15	COL8A1	100,80
A2M	125,97	LMAN1	91,40
NOTCH1	123,08	SRPX2	89,97
CTSZ	108,09	CLU	85,88
ANXA11	101,87	ANGPT2	79,66
SERPINB9	98,59	HNRNPM	76,83
ANGPT2	97,83	TGFBI11	70,73
TGFBI11	93,92	MGP	64,67
TGFBI	91,48	PLOD3	61,94
ANXA7	90,72	LGALS3	58,90
COL5A2	88,70	P3H1	58,80
ANGPTL2	77,85	SERPINB9	50,01
PLOD2	68,00	CDH13	49,73
CDH13	57,46	NOTCH1	47,19
LMAN1	54,95	CTSZ	43,70
POSTN	53,75	SERPINB1	41,67
HNRNPM	40,46	ANXA11	41,58
LGALS3	39,62	CTSL	37,33
SERPINB8	28,56	ANGPTL2	36,74
CRELD1	27,92	ANXA4	36,02
CTSL	24,83	A2M	31,80
CTSC	24,42	SERPINB8	31,79
ADAMTS4	22,91	PLSCR1	26,55
PLSCR1	19,71	ADAMTS4	12,18
SERPINB1	19,59	CTSC	9,35
ANXA4	14,02	CRELD1	6,48

дотелиального внеклеточного матрикса (табл. 9). Среди генов с повышенной экспрессией в дисфункциональных ЭК выделялись ген *POSTN* (кодирующий белок периостин, являющийся лигандом для эндотелиального интегрин  $\alpha v/\beta 3$ ) и те, что кодируют кальций-связывающие белки (*ANXA1*, *ANXA4*, *ANXA5*, *S100A6*, *S100A10*), среди генов со сниженной экспрессией — *BGN* (кодирующий гликозаминогликан бигликан), *CLU* (кодирующий внеклеточный молекулярный шаперон кластерин), *EFEMP1* и гены различных протеаз (*ADAMTS4*, *CTSZ*, *CTSC*, *CTSD*), а также их ингибиторов (*CSTB*, *SERPINB9*, *SERPINE1*, *SERPINH1*, табл. 9). Интересно, что повышение экспрессии гена *POSTN* в дисфункциональных ЭК (табл. 9) сочеталось с повышением экспрессии гена *ITGAV* и со снижением экспрессии гена *ITGB3* (табл. 2).

При сравнении ЭК-КА и ЭК-ВГА было выявлено, что ЭК-КА характеризовались повышенной экспрессией белка периостина (*POSTN*), ген которого был гиперэкспрессирован в дисфункциональных ЭК, в то время как большая часть гиперэкспрессированных в ЭК-ВГА белков (кластерин, бигликан, ангиопоэтиноподобный белок *ANGPTL2*, протромботические белки мультимерин-1 и фактор фон Виллебранда, матриксный Gla-белок, протеазы катепсин С и *ADAMTS4*) была гиперэкспрессирована в контрольных ЭК (табл. 9, табл. 10). Аналогичное утверждение было частично справедливо и для ЭК-КА, в которых (как и в контрольных ЭК) были гиперэкспрессированы белки *COL8A1*, *HTRA1*, *IGFBP7*, *NOTCH1*, *CRELD1*, *TGFB111*, *TINAGL1* и *SEPX* (табл. 9, табл. 10). В то же время важность большинства этих белков (за исклю-

**Таблица 9.** Ранжирование генов прочих компонентов субэндотелиального внеклеточного матрикса по кратности изменения их экспрессии (отражаемой средним значением количества транскриптов на миллион прочтений) в дисфункциональных ЭК в сравнении с контрольными ЭК при анализе данных полнотранскриптомного секвенирования

**Table 9.** Expression of the genes encoding the subendothelial extracellular matrix components (measured as mean transcripts per million at RNA sequencing) in control and dysfunctional ECs. Fold change ranking

Ген / Gene	Среднее значение количества транскриптов на миллион прочтений в контрольной группе / Mean TPM in the intact ECs	Среднее значение количества транскриптов на миллион прочтений в группе дисфункции эндотелия / Mean TPM in dysfunctional ECs	Кратность изменения экспрессии / Fold change
<i>ANXA4</i>	14,02	36,02	2,57
<i>ICAM1</i>	136,15	294,84	2,17
<i>SERPINB1</i>	19,59	41,67	2,13
<i>POSTN</i>	53,75	103,05	1,92
<i>HNRNPM</i>	40,46	76,83	1,90
<i>PLOD2</i>	68,00	128,87	1,90
<i>ESM1</i>	495,80	935,31	1,89
<i>HSP90AA1</i>	264,05	497,49	1,88
<i>S100A6</i>	1 702,76	3 116,83	1,83
<i>S100A10</i>	597,36	1 006,78	1,69
<i>ANXA1</i>	161,29	271,11	1,68
<i>LMAN1</i>	54,95	91,40	1,66
<i>ANXA5</i>	363,69	591,80	1,63
<i>TGFB1</i>	91,48	147,15	1,61
<i>CTSL</i>	24,83	37,33	1,50
<i>LGALS3</i>	39,62	58,90	1,49
<i>PLSCR1</i>	19,71	26,55	1,35
<i>COL5A2</i>	88,70	118,34	1,33
<i>ANXA6</i>	137,75	165,19	1,20
<i>ANXA7</i>	90,72	107,25	1,18
<i>SERPINB8</i>	28,56	31,79	1,11
<i>GDF15</i>	378,29	412,39	1,09
<i>LOX</i>	190,90	196,83	1,03
<i>CLEC14A</i>	397,60	400,85	1,01
<i>TIMP2</i>	215,84	214,80	1,00
<i>HDGF</i>	315,39	304,29	0,96
<i>CTSB</i>	590,54	516,22	0,87
<i>PDGFB</i>	413,62	359,44	0,87
<i>CDH13</i>	57,46	49,73	0,87
<i>LTBP2</i>	411,12	343,17	0,83
<i>PSAP</i>	1 863,40	1 520,08	0,82
<i>ANGPT2</i>	97,83	79,66	0,81
<i>HSP90B1</i>	294,98	237,47	0,81
<i>LGALS1</i>	4 045,59	3 117,14	0,77
<i>TGFB111</i>	93,92	70,73	0,75
<i>CALR</i>	1 967,45	1 417,68	0,72
<i>MMP2</i>	827,57	586,12	0,71
<i>COL8A1</i>	149,09	100,80	0,68
<i>HTRA1</i>	244,46	163,67	0,67
<i>SRPX</i>	686,46	451,31	0,66
<i>CSTB</i>	173,23	103,19	0,60
<i>MMRN1</i>	594,30	328,41	0,55
<i>ADAMTS4</i>	22,91	12,18	0,53
<i>PLOD1</i>	502,09	259,83	0,52
<i>PKM</i>	571,96	294,59	0,52
<i>SERPINB9</i>	98,59	50,01	0,51
<i>ANGPTL2</i>	77,85	36,74	0,47
<i>THBS1</i>	6 146,34	2 862,75	0,47
<i>SPOCK1</i>	570,55	265,15	0,46
<i>IGFBP7</i>	2 536,69	1 052,57	0,41
<i>P3H1</i>	143,86	58,80	0,41
<i>ANXA11</i>	101,87	41,58	0,41
<i>CTSZ</i>	108,09	43,70	0,40
<i>VWF</i>	3 825,92	1 516,57	0,40
<i>NOTCH1</i>	123,08	47,19	0,38
<i>CTSC</i>	24,42	9,35	0,38
<i>CTSD</i>	291,14	111,13	0,38
<i>SERPINE1</i>	27 530,03	10 393,65	0,38
<i>SRPX2</i>	240,13	89,97	0,37
<i>MGP</i>	177,05	64,67	0,37
<i>TINAGL1</i>	286,58	101,82	0,36
<i>PLOD3</i>	181,41	61,94	0,34
<i>SERPINH1</i>	436,52	138,84	0,32
<i>A2M</i>	125,97	31,80	0,25
<i>CRELD1</i>	27,92	6,48	0,23
<i>TGM2</i>	1 452,67	264,31	0,18
<i>EFEMP1</i>	5 306,86	961,81	0,18
<i>CLU</i>	738,12	85,88	0,12
<i>BGN</i>	1 654,80	188,73	0,11

чением NOTCH1) для физиологии эндотелия была несколько ниже, чем у вышеупомянутых молекул, гиперэкспрессированных в ЭК-ВГА.

Учитывая снижение экспрессии гена *NOS3* в контрольных ЭК и повышение их экспрессии в ЭК-КА, далее был выполнен расширенный анализ генов сигнального пути метаболизма монооксида азота (NO). Тем не менее, существенного снижения экспрессии других генов данного сигнального пути обнаружено не было; напротив, для генов *NMT2*, *LYPLA1*, *HSP90AA1*, *WASL* и *CAVI* было выявлено повышение кратности изменения экспрессии  $\geq 1,50$  (табл. 11).

Поскольку одной из основных функций ЭК является формирование новых кровеносных сосудов из уже имеющихся (ангиогенез), далее был прове-

ден анализ дифференциальной экспрессии генов сигнальных путей данного процесса в контрольных и дисфункциональных ЭК. По аналогии с экспрессией генов субэндотелиального внеклеточного матрикса, в дисфункциональных ЭК наблюдалось преобладание гипоекспрессии ангиогенных генов (27 генов с кратностью изменения экспрессии  $\leq 0,67$ , из них 13 генов с кратностью изменения экспрессии  $\leq 0,50$ ) над гиперэкспрессией (16 генов с кратностью изменения экспрессии  $\geq 1,50$ , из них 4 гена с кратностью изменения экспрессии  $\geq 2,00$ , табл. 12). Следует отметить, что сам по себе профиль генов, кодирующих ангиогенные молекулы, значительно пересекался с профилем генов компонентов эндотелиальной базальной мембраны и субэндотелиального внеклеточного матрикса.

**Таблица 10.** Ранжирование прочих компонентов субэндотелиального внеклеточного матрикса по разности рангов их экспрессии между ЭК-КА и ЭК-ВГА при анализе данных высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией. Более высокий ранг отражает более высокую экспрессию. Отрицательная разность рангов экспрессии отражает повышенную экспрессию белка в ЭК-КА, положительная – в ЭК-ВГА

**Table 10.** Expression of subendothelial extracellular matrix components in primary HCAEC and primary HITAEC. Ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Higher rank indicates higher expression. Negative and positive values indicate an increased expression in HCAEC and HITAEC, respectively

Белок / Protein	Средний ранг среди белков в протеоме ЭК-КА / Average rank in HCAEC	Средний ранг среди белков в протеоме ЭК-ВГА / Average rank in HITAEC	Разность рангов экспрессии между ЭК-КА и ЭК-ВГА / Expression rank difference between HCAEC and HITAEC				
POSTN	903	2 305	-1 402	SRPX2	2 915	2 922	-8
COL8A1	1 203	2 150	-947	PKM	37	40	-3
MMP2	1 890	2 766	-876	CALR	63	65	-3
COL5A2	2 030	2 819	-790	ANXA5	37	39	-2
HTRA1	889	1 501	-611	S100A10	48	49	-1
IGFBP7	809	1 381	-572	LGALS1	6	5	1
SPOCK1	2 066	2 588	-521	SERPINB8	1 902	1 898	3
LOX	2 430	2 805	-375	ANXA1	38	33	5
NOTCH1	2 307	2 634	-328	HSP90B1	68	62	6
CRELD1	2 370	2 698	-328	TGM2	86	76	10
TGFB1I1	579	903	-324	SERPINE1	252	218	34
LTBP2	674	996	-323	CTSB	147	111	36
TINAGL1	2 078	2 368	-291	LGALS3	563	505	58
SRPX	1 822	2 108	-285	PLOD1	831	771	60
CTSL	1 347	1 575	-228	ANXA7	832	742	90
TGFB1	2 665	2 802	-137	SERPINB9	559	460	99
ANXA6	257	388	-132	CSTB	948	829	119
P3H1	944	1 057	-113	HDGF	753	629	124
PSAP	235	342	-107	TIMP2	2 125	1 994	131
PLOD2	139	225	-86	A2M	2 189	2 025	164
ANXA11	578	664	-86	ESM1	2 869	2 692	176
LMAN1	937	996	-58	VWF	439	234	205
CTSD	251	308	-57	ANXA4	836	617	220
GDF15	661	713	-52	ADAMTS4	2 175	1 954	221
THBS1	188	225	-38	ICAM1	1 152	920	232
SERPINH1	97	133	-35	PLSCR1	2 821	2 576	245
HNRNPM	140	169	-29	SERPINB1	704	371	333
EFEMP1	1 040	1 068	-28	BGN	2 333	1 937	396
CLEC14A	1 747	1 772	-26	PLOD3	1 621	1 112	509
CTSZ	995	1 017	-23	CTSC	1 714	1 202	512
HSP90AA1	78	92	-14	PDGFB	2 542	2 018	524
S100A6	96	107	-11	CDH13	1 561	941	620
				MGP	2 509	1 883	626
				MMRN1	1 021	390	631
				ANGPTL2	2 976	2 254	722
				ANGPT2	2 896	2 143	753
				CLU	2 025	1 087	938

**Таблица 11.** Ранжирование генов сигнального пути метаболизма монооксида азота (NO) по кратности изменения их экспрессии (отражаемой средним значением количества транскриптов на миллион прочтений) в дисфункциональных ЭК в сравнении с контрольными ЭК при анализе данных полнотранскриптомного секвенирования

**Table 11.** Expression of the genes encoding the nitric oxide metabolism proteins (measured as mean transcripts per million at RNA sequencing) in control and dysfunctional ECs. Fold change ranking

Ген / Gene	Среднее значение количества транскриптов на миллион прочтений в контрольной группе / Mean TPM in the intact ECs	Среднее значение количества транскриптов на миллион прочтений в группе дисфункции эндотелия / Mean TPM in dysfunctional ECs	Кратность изменения экспрессии / Fold change
<i>NMT2</i>	19,60	40,29	2,06
<i>LYPLA1</i>	47,48	94,15	1,98
<i>HSP90AA1</i>	264,05	497,49	1,88
<i>WASL</i>	18,19	34,00	1,87
<i>CAV1</i>	845,47	1 368,38	1,62
<i>CALM1</i>	280,61	375,79	1,34
<i>CYB5B</i>	22,96	28,36	1,23
<i>AKT1</i>	50,13	51,45	1,03
<i>NOSIP</i>	34,51	25,31	0,73
<i>DDAH1</i>	119,05	82,02	0,69
<i>SPR</i>	74,55	49,25	0,66
<i>DNM2</i>	45,78	27,57	0,60
<i>NMT1</i>	78,42	43,72	0,56
<i>NOS3</i>	114,90	28,62	0,25

**Таблица 12.** Ранжирование генов сигнальных путей ангиогенеза по кратности изменения их экспрессии (отражаемой средним значением количества транскриптов на миллион прочтений) в дисфункциональных ЭК в сравнении с контрольными ЭК при анализе данных полнотранскриптомного секвенирования

**Table 12.** Expression of the genes encoding the angiogenic proteins (measured as mean transcripts per million at RNA sequencing) in control and dysfunctional ECs. Fold change ranking

Ген / Gene	Среднее значение количества транскриптов на миллион прочтений в контрольной группе / Mean TPM in the intact ECs	Среднее значение количества транскриптов на миллион прочтений в группе дисфункции эндотелия / Mean TPM in dysfunctional ECs	Кратность изменения экспрессии / Fold change
<i>ITGAV</i>	147,16	344,05	2,34
<i>VPS4B</i>	24,94	55,38	2,22
<i>HTATIP2</i>	28,62	63,04	2,20
<i>NAA15</i>	9,99	20,49	2,05
<i>MYDGF</i>	87,84	174,11	1,98
<i>PDCD10</i>	21,92	41,51	1,89
<i>ESM1</i>	495,80	935,31	1,89
<i>CLIC4</i>	493,13	929,90	1,89
<i>AIMP1</i>	8,31	14,89	1,79
<i>CALD1</i>	159,73	269,58	1,69
<i>ITGB1</i>	299,02	500,75	1,67
<i>CAV1</i>	845,47	1 368,38	1,62
<i>NCL</i>	104,99	165,13	1,57
<i>YWHAZ</i>	187,65	290,31	1,55
<i>NRCAM</i>	96,92	147,58	1,52
<i>CEMIP2</i>	28,63	43,51	1,52
<i>ERAP1</i>	50,85	75,92	1,49
<i>PDCD6</i>	11,85	16,91	1,43
<i>TEK</i>	61,99	86,09	1,39
<i>ADGRG1</i>	23,17	32,03	1,38
<i>RNF213</i>	29,49	39,19	1,33
<i>UBP1</i>	31,47	41,56	1,32
<i>CALCRL</i>	83,60	109,61	1,31
<i>KDR</i>	405,26	482,19	1,19
<i>PXDN</i>	444,38	513,75	1,16
<i>HMOX1</i>	400,87	457,99	1,14
<i>WASF2</i>	286,59	315,99	1,10
<i>COL18A1</i>	277,26	279,45	1,01
<i>CD93</i>	700,67	699,60	1,00
<i>MCAM</i>	1 407,90	1 401,50	1,00
<i>MAPK14</i>	25,60	24,58	0,96
<i>RASIP1</i>	81,22	76,95	0,95
<i>ANXA2</i>	651,32	607,24	0,93
<i>FMNL3</i>	77,48	71,61	0,92
<i>PDGFB</i>	413,62	359,44	0,87
<i>PRKD2</i>	51,03	43,49	0,85
<i>ANGPT2</i>	97,83	79,66	0,81
<i>PRKCA</i>	17,90	14,21	0,79
<i>PTPRB</i>	111,96	87,51	0,78
<i>ATP5F1B</i>	712,04	548,40	0,77
<i>HSPG2</i>	1 748,95	1 269,24	0,73
<i>NRP1</i>	108,38	76,92	0,71
<i>MMP2</i>	827,57	586,12	0,71
<i>PTK2</i>	61,71	42,60	0,69
<i>COL8A1</i>	149,09	100,80	0,68
<i>TIE1</i>	475,24	319,75	0,67
<i>BSG</i>	494,82	328,62	0,66
<i>SHC1</i>	441,97	280,82	0,64
<i>PLXND1</i>	517,24	325,03	0,63
<i>NRP2</i>	75,24	46,89	0,62
<i>EPHB4</i>	148,12	90,51	0,61
<i>RHOB</i>	2 101,65	1 277,13	0,61
<i>ADAM15</i>	264,52	160,45	0,61
<i>RHOJ</i>	389,49	235,06	0,60
<i>MMP14</i>	1 310,55	767,52	0,59
<i>POFUT1</i>	61,04	35,58	0,58
<i>EPHA2</i>	352,80	198,73	0,56
<i>MMRN2</i>	319,16	173,41	0,54
<i>COL4A2</i>	688,10	348,76	0,51
<i>TGFBI</i>	38,85	19,14	0,49
<i>MYH9</i>	1 483,90	701,67	0,47
<i>FLNA</i>	1 697,47	798,10	0,47
<i>ACTG1</i>	7 950,97	3 704,07	0,47
<i>ANPEP</i>	354,13	158,81	0,45
<i>IGFBP7</i>	2 536,69	1 052,57	0,41
<i>NOTCH1</i>	123,08	47,19	0,38
<i>SERPINE1</i>	27 530,03	10 393,65	0,38
<i>SRPX2</i>	240,13	89,97	0,37
<i>ITGA5</i>	2 089,70	645,41	0,31
<i>EPHB2</i>	57,85	17,47	0,30
<i>FNI</i>	5 013,95	1 258,94	0,25
<i>NOS3</i>	114,90	28,62	0,25

10 из 17 генов сигнальных путей ангиогенеза, гиперэкспрессированных в ЭК-КА, были гипоекспрессированы при дисфункции эндотелия, в то время как для ЭК-ВГА такой закономерности не наблюдалось (табл. 13). Наиболее важными из данных молекул были матриксная металлопротеиназа MMP2, мембранная металлопротеиназа BSG, рецептор к ангиопоэтину TIE1, рецепторы к эфрину EPHB2 и EPHB4, фибронектин (FN1), рецептор эндотелиальной дифференцировки NOTCH1 и эндотелиальная NO-синтаза (NOS3, табл. 13). В сочетании с важностью ангиогенеза для развития воспаления и склонностью КА к развитию атеросклероза это позволило предпо-

ложить патологический фенотип ЭК-КА в сравнении с ЭК-ВГА.

В отличие от провоспалительной активации эндотелия, неизменно сопровождающей его дисфункцию, молекулярных признаков протромботической активации (преобладания гиперэкспрессии генов сигнальных путей агрегации тромбоцитов, активации тромбоцитов и свертывания крови над их гипоекспрессией) в дисфункциональных ЭК в сравнении с контрольными отмечено не было (табл. 14). Кратность изменения экспрессии  $\geq 1,50$  наблюдалась лишь для 9 генов из данной биоинформатической категории (из них кратность изменения экспрессии  $\geq 2,00$  имели 7 генов), в то время

**Таблица 13.** Ранжирование компонентов сигнальных путей ангиогенеза по разности рангов их экспрессии между ЭК-КА и ЭК-ВГА при анализе данных высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией. Более высокий ранг отражает более высокую экспрессию. Отрицательная разность рангов экспрессии отражает повышенную экспрессию белка в ЭК-КА, положительная – в ЭК-ВГА

**Table 13.** Expression of angiogenic proteins in primary HCAEC and primary HITAEC. Ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Higher rank indicates higher expression. Negative and positive values indicate an increased expression in HCAEC and HITAEC, respectively

Белок / Protein	Средний ранг среди белков в протеоме ЭК-КА / Average rank in HCAEC	Средний ранг среди белков в протеоме ЭК-ВГА / Average rank in HITAEC	Разность рангов экспрессии между ЭК-КА и ЭК-ВГА / Expression rank difference between HCAEC and HITAEC
NRCAM	897	2 128	-1 231
COL8A1	1 203	2 150	-947
MMP2	1 890	2 766	-876
EPHB2	1 832	2 528	-696
SHC1	1 967	2 599	-632
IGFBP7	809	1 381	-572
FN1	410	814	-405
TGFBI	2 368	2 746	-377
NOS3	2 027	2 401	-373
NOTCH1	2 307	2 634	-328
ITGAV	307	594	-287
HTATIP2	2 315	2 577	-262
PDCD6	552	777	-225
EPHB4	1 606	1 823	-216
TIE1	2 195	2 401	-206
BSG	525	730	-205
MAPK14	1 606	1 810	-203
CEMP2	2 691	2 888	-197
CD93	1 915	2 099	-183
ADGRG1	2 780	2 923	-144
MYDGF	479	620	-141
RHOJ	2 077	2 177	-100
EPHA2	783	864	-81
KDR	1 822	1 897	-75
HMOX1	450	521	-71
WASF2	1 878	1 922	-44
HSPG2	435	475	-41
PDCD10	2 321	2 355	-35
CALD1	234	268	-34
PRKCA	2 037	2 067	-30
RNF213	2 396	2 423	-27
CLIC4	179	198	-19
ATP5F1B	37	47	-9
YWHAZ	63	71	-9
SRPX2	2 915	2 922	-8
NCL	261	267	-6
MCAM	180	185	-5
ITGB1	248	251	-3
ANXA2	5	5	-1
ACTG1	1	2	0
ANPEP	217	208	8
FLNA	106	94	12
AIMP1	900	884	16
RASIP1	1 197	1 174	23
MYH9	117	93	24
CAV1	78	54	24
SERPINE1	252	218	34
POFUT1	1 492	1 448	45
PLXND1	1 453	1 404	49
ITGA5	305	246	60
CALCRL	2 090	2 025	65
MMP14	841	771	69
ADAM15	1 980	1 873	106
PTK2	1 881	1 746	135
PRKD2	2 647	2 509	137
NRP1	1 382	1 233	149
COL4A2	1 381	1 225	156
ESM1	2 869	2 692	176
COL18A1	1 250	1 063	187
VPS4B	1 211	1 009	203
TEK	2 442	2 217	225
MMRN2	1 202	970	232
RHOB	1 248	1 012	236
PXDN	1 236	991	245
NAA15	1 065	803	262
FMNL3	2 071	1 623	449
PDGFB	2 542	2 018	524
NRP2	2 257	1 580	677
UBP1	2 808	2 095	712
ANGPT2	2 896	2 143	753
ERAP1	1 826	1 052	774
PTPRB	2 023	1 198	825

как кратность изменения экспрессии  $\leq 0,67$  имели 16 генов (из них кратность изменения экспрессии  $\leq 0,50 - 10$  генов, табл. 14).

При сравнении ЭК-КА и ЭК-ВГА было выявлено, что белки сигнальных путей агрегации и активации тромбоцитов, а также свертывания крови в большей степени гиперэкспрессированы в ЭК-ВГА (12 белков с разностью рангов  $> 100$ ) в сравнении с ЭК-КА (3 белка с аналогичной разностью рангов, табл. 15). При этом в ЭК-ВГА были гиперэкспрес-

сированы белки данных сигнальных путей из числа как более представленных в контрольных ЭК (мультимерин-1, рецептор к белку С, фактор фон Виллебранда, ингибитор пути тканевого фактора TFPI), так и более представленных в дисфункциональных ЭК (альфа-2 субъединица интегринов, синтаксин-связывающий белок, а также белок метаболизма гуанина GNA13, табл. 15).

Поскольку изменения экспрессии генов цитокинов, молекул клеточной адгезии и прочих генов

**Таблица 14.** Ранжирование генов сигнальных путей активации и агрегации тромбоцитов и свертывания крови по кратности изменения их экспрессии (отражаемой средним значением количества транскриптов на миллион прочтений) в дисфункциональных ЭК в сравнении с контрольными ЭК при анализе данных полнотранскриптомного секвенирования

Ген / Gene	Среднее значение количества транскриптов на миллион прочтений в контрольной группе / Mean TPM in the intact ECs	Среднее значение количества транскриптов на миллион прочтений в группе дисфункции эндотелия / Mean TPM in dysfunctional ECs	Кратность изменения экспрессии / Fold change
STXBP3	9,84	27,27	2,77
PLAU	83,12	201,61	2,43
RAP2B	21,62	46,76	2,16
ITGA2	68,36	144,85	2,12
PAPSS2	43,71	90,66	2,07
GNA13	48,87	87,59	1,79
ANXA5	363,69	591,80	1,63
PPIA	319,36	494,21	1,55
CD59	263,68	403,10	1,53
METAP1	18,37	27,32	1,49
PLSCR1	19,71	26,55	1,35
PDIA3	119,11	143,84	1,21
FERMT3	104,42	107,45	1,03
CLIC1	645,49	561,85	0,87
ANGPT2	97,83	79,66	0,81
VCL	198,80	157,50	0,79
GNAS	188,53	145,12	0,77
TFPI	97,42	70,72	0,73
ILK	224,78	154,76	0,69
GLA	10,06	6,25	0,62
ITGB3	123,39	72,18	0,58
PABPC4	110,92	64,81	0,58
MMRN1	594,30	328,41	0,55
CSRP1	185,54	101,07	0,54
TLN1	462,74	239,09	0,52
PROCR	577,98	285,68	0,49
STXBP1	32,59	15,63	0,48
MYH9	1 483,90	701,67	0,47
FLNA	1 697,47	798,10	0,47
ACTG1	7 950,97	3 704,07	0,47
VWF	3 825,92	1 516,57	0,40
PLAUR	100,96	31,41	0,31
ACTB	9 994,80	2 892,67	0,29
TFPI2	143,57	35,56	0,25
HSPB1	5 969,56	1 055,79	0,18

**Таблица 15.** Ранжирование генов сигнальных путей агрегации тромбоцитов по кратности изменения их экспрессии (отражаемой средним значением количества транскриптов на миллион прочтений) в дисфункциональных ЭК в сравнении с контрольными ЭК при анализе данных полнотранскриптомного секвенирования

**Table 15.** Expression of platelet activation, platelet aggregation, and blood coagulation proteins in primary HCAEC and primary HITAEC. Ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Higher rank indicates higher expression. Negative and positive values indicate an increased expression in HCAEC and HITAEC, respectively

Белок / Protein	Средний ранг среди белков в протеоме ЭК-КА / Average rank in HCAEC	Средний ранг среди белков в протеоме ЭК-ВГА / Average rank in HITAEC	Разность рангов экспрессии между ЭК-КА и ЭК-ВГА / Expression rank difference between HCAEC and HITAEC
ITGB3	425	1 474	-1 049
PABPC4	499	1 157	-658
PAPSS2	1 261	1 748	-487
PLAUR	2 471	2 565	-94
PLAU	2 586	2 672	-86
VCL	275	329	-54
CSRP1	194	241	-47
METAP1	1 720	1 760	-40
RAP2B	2 012	2 047	-35
TLN1	104	133	-29
GLA	2 750	2 765	-15
CD59	57	69	-12
CLIC1	111	113	-2
PPIA	10	11	-1
PDIA3	63	64	0
ACTG1	1	2	0
FLNA	106	94	12
ACTB	57	41	16
HSPB1	32	11	22
MYH9	117	93	24
FERMT3	1 081	1 001	80
ILK	820	740	80
STXBP3	2 153	2 038	116
ITGA2	781	661	120
GNAS	1 849	1 723	126
PROCR	522	385	138
VWF	439	234	205
PLSCR1	2 821	2 576	245
GNA13	1 603	1 150	454
TFPI	1 717	1 206	511
MMRN1	1 021	390	631
STXBP1	2 526	1 849	677
ANGPT2	2 896	2 143	753
TFPI2	2 644	924	1 720

врожденного иммунного ответа при провоспалительной активации ЭК-КА и ЭК-ВГА были рассмотрены нами ранее, в данной работе были проанализированы гены сигнальных путей окислительного и эндоплазматического стресса. В отличие от генов, кодирующих маркеры эндотелиального фенотипа, компоненты эндотелиальной базальной мембраны, компоненты субэндотелиального внеклеточного матрикса, белки сигнальных путей ангиогенеза, а также белки сигнальных путей активации и агрегации тромбоцитов и свертывания крови, гены сигнальных путей окислительного стресса были

**Таблица 16.** Ранжирование генов сигнальных путей окислительного стресса по кратности изменения их экспрессии (отражаемой средним значением количества транскриптов на миллион прочтений) в дисфункциональных ЭК в сравнении с контрольными ЭК при анализе данных полнотранскриптомного секвенирования

**Table 16.** Expression of the genes encoding the oxidative stress proteins (measured as mean transcripts per million at RNA sequencing) in control and dysfunctional ECs. Fold change ranking

Ген / Gene	Среднее значение количества транскриптов на миллион прочтений в контрольной группе / Mean TPM in the intact ECs	Среднее значение количества транскриптов на миллион прочтений в группе дисфункции эндотелия / Mean TPM in dysfunctional ECs	Кратность изменения экспрессии / Fold change
<i>PARK7</i>	57,23	138,96	2,43
<i>STX4</i>	17,76	41,28	2,32
<i>CUL3</i>	10,02	20,20	2,02
<i>STK24</i>	12,33	24,43	1,98
<i>SLC25A24</i>	18,38	34,55	1,88
<i>PRDX5</i>	295,53	549,00	1,86
<i>PNPT1</i>	11,00	19,96	1,81
<i>PRDX3</i>	40,72	71,45	1,75
<i>EIF2S1</i>	33,73	57,03	1,69
<i>PPIA</i>	319,36	494,21	1,55
<i>NUDT2</i>	27,29	42,13	1,54
<i>RBX1</i>	26,86	41,36	1,54
<i>ARL6IP5</i>	127,29	195,06	1,53
<i>ATP2A2</i>	43,14	64,89	1,50
<i>VKORC1L1</i>	31,49	46,95	1,49
<i>HTRA2</i>	27,60	40,99	1,49
<i>GSR</i>	32,04	45,63	1,42
<i>GPX8</i>	59,49	79,93	1,34
<i>HSPA1A</i>	55,08	73,99	1,34
<i>PRKAA1</i>	39,56	49,04	1,24
<i>PYCR2</i>	33,14	38,30	1,16
<i>LONP1</i>	41,81	45,43	1,09
<i>NAGLU</i>	36,77	38,60	1,05
<i>ERMP1</i>	6,48	6,28	0,97
<i>STAU1</i>	165,40	159,73	0,97
<i>RWDD1</i>	31,96	30,46	0,95
<i>NQO1</i>	404,63	339,55	0,84
<i>G6PD</i>	139,70	110,52	0,79
<i>GPX1</i>	2 042,33	1 482,36	0,73
<i>SNCA</i>	31,23	21,15	0,68
<i>PRDX2</i>	219,79	148,21	0,67
<i>ABCC1</i>	50,07	31,82	0,64
<i>PARP1</i>	25,68	16,22	0,63
<i>HM13</i>	87,21	44,53	0,51
<i>STK25</i>	155,46	78,37	0,50
<i>PRKRA</i>	18,93	8,31	0,44
<i>PYCR1</i>	130,75	45,02	0,34

ожидаемо более гиперэкспрессированы в дисфункциональных ЭК (14 генов с кратностью изменения экспрессии  $\geq 1,50$  и 7 генов с кратностью изменения экспрессии  $\leq 0,67$ ) в сравнении с контрольными ЭК (табл. 16).

Аналогичное наблюдение было сделано в отношении генов сигнальных путей эндоплазматического стресса, гиперэкспрессия которых чаще наблюдалась в дисфункциональных ЭК в сравнении с контрольными (16 генов с кратностью изменения экспрессии  $\geq 1,50$  и 9 генов с кратностью изменения экспрессии  $\leq 0,67$ , табл. 17). Выраженность

**Таблица 17.** Ранжирование генов сигнальных путей эндоплазматического стресса по кратности изменения их экспрессии (отражаемой средним значением количества транскриптов на миллион прочтений) в дисфункциональных ЭК в сравнении с контрольными ЭК при анализе данных полнотранскриптомного секвенирования

**Table 17.** Expression of the genes encoding the endoplasmic reticulum stress proteins (measured as mean transcripts per million at RNA sequencing) in control and dysfunctional ECs. Fold change ranking

Ген / Gene	Среднее значение количества транскриптов на миллион прочтений в контрольной группе / Mean TPM in the intact ECs	Среднее значение количества транскриптов на миллион прочтений в группе дисфункции эндотелия / Mean TPM in dysfunctional ECs	Кратность изменения экспрессии / Fold change
<i>BCAP31</i>	56,77	145,89	2,57
<i>TMX1</i>	14,23	34,57	2,43
<i>UFM1</i>	24,38	57,82	2,37
<i>TARDBP</i>	29,61	68,18	2,30
<i>CDK5RAP3</i>	14,58	32,75	2,25
<i>PPP2CB</i>	47,89	96,82	2,02
<i>NCK1</i>	16,06	31,55	1,96
<i>PDIA6</i>	152,74	288,14	1,89
<i>UBA5</i>	6,16	11,56	1,88
<i>DDRGK1</i>	30,13	56,05	1,86
<i>ERO1A</i>	35,28	61,69	1,75
<i>MARCKS</i>	243,53	422,77	1,74
<i>EIF2S1</i>	33,73	57,03	1,69
<i>TNFRSF10B</i>	191,97	319,77	1,67
<i>UBQLN1</i>	49,66	74,77	1,51
<i>ATP2A2</i>	43,14	64,89	1,50
<i>TMTC3</i>	15,21	21,96	1,44
<i>UFL1</i>	19,04	27,39	1,44
<i>ERP44</i>	10,87	14,92	1,37
<i>PDIA3</i>	119,11	143,84	1,21
<i>EIF2B5</i>	14,04	16,64	1,19
<i>UFC1</i>	92,84	104,67	1,13
<i>DNAJC10</i>	31,95	34,44	1,08
<i>OS9</i>	282,09	270,39	0,96
<i>GORASP2</i>	77,63	70,31	0,91
<i>FLOT1</i>	85,27	73,16	0,86
<i>HSP90B1</i>	294,98	237,47	0,81
<i>SRPX</i>	686,46	451,31	0,66
<i>TMEM33</i>	26,00	16,23	0,62
<i>SEC16A</i>	68,12	39,01	0,57
<i>HSPA5</i>	639,07	347,14	0,54
<i>P4HB</i>	671,76	331,35	0,49
<i>THBS1</i>	6 146,34	2 862,75	0,47
<i>PDIA4</i>	533,33	220,61	0,41
<i>HYOU1</i>	264,28	106,27	0,40
<i>WFS1</i>	137,99	36,35	0,26

окислительного и эндоплазматического стресса в дисфункциональных ЭК позволила предположить их значимость в контексте выявленной ранее провоспалительной активации ЭК.

Биоинформатический анализ молекулярных категорий, статистически значимо более представленных среди 300 (10%) генов, гиперэкспрессированных в дисфункциональных ЭК, выявил среди них группы молекул ответа на повреждения ДНК, реакции клетки на различные виды стресса, аутофагии (физиологической утилизации собственных компонентов клетки для получения мономеров и энергии) и провоспалительной активации (табл. 18).

### Обсуждение

Анализ диагностических инструментов для определения дисфункции эндотелия в клинической практике требует предварительных поисковых исследований при помощи высокопроизводительных подходов для корректной идентификации патологических изменений в биохимических процессах и соответствующих молекулярных маркеров. Полнотранскриптомное секвенирование позволяет объективно сравнить глобальный профиль генной экспрессии в интактных и дисфункциональных ЭК и установить патологические изменения, характерные для дисфункции эндотелия. При этом важно отметить, что многочисленность способов посттранскрипционной регуляции (альтернативный сплайсинг, редактирование нуклеотидов внутри мРНК, 5'-кэппинг и 3'-полиаденилирование и соответствующие обратные механизмы декэппинга и деаденилирования, механизмы регуляции транспорта мРНК из ядра в цитоплазму белками-шаттлами, деградация мРНК в результате связывания микроРНК с 3'-нетранслируемыми последовательностями) обуславливает существенные различия между иерархией экспрессии молекул на геномном и на белковом уровне и ограничивает силу соответствующей корреляционной связи. В свою очередь, ультравысокоэффективная жидкостная хроматография, совмещенная с тандемной масс-спектрометрией, позволяет оценить профиль наиболее экспрессируемых белков (как правило, от 3000 до 4000 молекул) и оценить соответствующие изменения молекулярного профиля. Именно этот метод и был применен в данной работе для сравнения различий между ЭК-КА и ЭК-ВГА, а также для сравнения качественного и количественного состава экспрессируемых ими молекул с таковым у интактных (контрольных) и дисфункциональных ЭК.

Дисфункциональное состояние ЭК характеризовалось снижением экспрессии типичных маркеров эндотелиального фенотипа, белков базальной мембраны и субэндотелиального внеклеточного матрикса, а также ангиогенных белков на фоне повышения экспрессии белков окислительного и

эндоплазматического стресса. Полученные результаты подтверждают ранее опубликованные данные о снижении выделения ЭК компонентов эндотелиальной базальной мембраны и субэндотелиального внеклеточного матрикса ЭК-КА и ЭК-ВГА при дисфункции эндотелия [18] и согласуются с выявленным ранее снижением жизнеспособности ЭК и развивающемся окислительном и эндоплазматическом стрессе при воздействии кальципротениновых частиц [19–22]. Выявленный в настоящем исследовании дисфункциональный фенотип ЭК совпадает с таковым при патологическом старении, сопровождающемся нарушением барьерной функции ЭК, в том числе снижением экспрессии характерных для ЭК белков плотных и адгезивных контактов [23–25], сниженной ангиогенной активностью ЭК [26–29] и выраженным окислительным [26–29] и эндоплазматическим [30, 31] стрессом. Ассоциированный со старением секреторный фенотип также характеризуется повышенным выделением провоспалительных цитокинов и хемокинов [32–34], что совпадает с профилем дисфункциональных ЭК [35, 36]. Работы, посвященные сравнению генной и белковой экспрессии ЭК-КА и ЭК-ВГА, в литературе практически отсутствуют, хотя ранее было показано, что паракринные взаимодействия между ЭК-КА и ЭК-ВГА более благотворны, чем между ЭК-КА и эндотелиальными клетками большой подкожной вены человека, и сопровождаются повышенной экспрессией транскрипционного фактора эндотелиальной дифференцировки *HES1*, снижением транскрипционных факторов эндотелиально-мезенхимального перехода *Snail* и *Slug* (кодируемых генами *SNAIL1* и *SNAIL2*), повышенной экспрессией эндотелиальной NO-синтазы, подавлением провоспалительной активации и увеличением ангиогенного потенциала [37, 38]. Частично это нашло подтверждение и в данной работе. ЭК-КА и ЭК-ВГА характеризовались дифференциальной экспрессией белков различных сигнальных путей ангиогенеза: в ЭК-КА были гиперэкспрессированы эфринные рецепторы, а в ЭК-ВГА – ангиопоэтины, их рецепторы и корецепторы к VEGF. Кроме того, профиль компонентов базальной мембраны и внеклеточного матрикса ЭК-ВГА и интактных ЭК отличался схожестью. Следует отметить, что даже транскриптомное и протеомное исследование не смогли выявить отдельных белков-маркеров, специфичных конкретно для ЭК-КА или ЭК-ВГА. Вероятнее всего, даже ЭК атерочувствительных и атерорезистентных артерий не имеют уникальных белков, которые могли бы позволить отличить их друг от друга в культуре. Тем не менее, это не умаляет различий в экспрессии различных сигнальных путей между ЭК-КА и ЭК-ВГА.

Полученные результаты разграничивают молекулярные профили интактных и дисфункциональных ЭК, а также позволяют провести некото-

**Таблица 18.** Молекулярные категории биоинформатических баз данных (Gene Ontology и Reactome) среди 300 (10%) генов с наиболее высоким рангом гиперэкспрессии в дисфункциональных ЭК относительно контрольных ЭК при анализе данных полнотранскриптомного секвенирования. Ранжирование по мануально выделенным классам молекул и по кратности изменения экспрессии (fold change) (Table 18. Molecular terms (defined through the Gene Ontology and Reactome databases) among 300 (10%) genes with the highest overexpression in dysfunctional ECs in comparison with the control ECs. Molecular class ranking followed by a fold change ranking)

База данных / Database	Молекулярная категория / Molecular term	Номер молекулярной категории в базе данных / ID number	Количество генов в молекулярной категории наиболее экспрессированных генов / Number of molecular term genes in 300 most expressed genes	Процент генов молекулярной категории из 300 наиболее экспрессированных генов / Proportion of molecular term genes from 300 most expressed genes	Кратность изменения экспрессии / Fold change	Значение FDR / FDR	Класс молекула / Molecular class
Reactome	p53-независимый ответ на повреждение ДНК / p53-independent DNA damage response	R-HSA-69610	12	3,95	14,61	$4,29 \times 10^{-9}$	Ответ на повреждение ДНК / DNA damage response
Reactome	p53-независимая контрольная точка оценки повреждений ДНК на стадии G1/S / p53-independent G1/S DNA damage checkpoint	R-HSA-69613	12	3,95	14,61	$4,29 \times 10^{-9}$	Ответ на повреждение ДНК / DNA damage response
Reactome	Регуляция апоптоза / Regulation of apoptosis	R-HSA-169911	12	3,95	13,90	$7,48 \times 10^{-9}$	Ответ на повреждение ДНК / DNA damage response
Reactome	p53-зависимая контрольная точка оценки повреждений ДНК на стадии G1 / p53-dependent G1 DNA damage response	R-HSA-69563	12	3,95	10,75	$9,58 \times 10^{-8}$	Ответ на повреждение ДНК / DNA damage response
Reactome	p53-зависимая контрольная точка оценки повреждений ДНК на стадии G1/S / p53-dependent G1/S DNA damage checkpoint	R-HSA-69580	12	3,95	10,75	$9,58 \times 10^{-8}$	Ответ на повреждение ДНК / DNA damage response
Reactome	Контрольные точки оценки повреждений ДНК на стадии G1/S / G1/S DNA damage checkpoints	R-HSA-69615	12	3,95	10,36	$1,33 \times 10^{-7}$	Ответ на повреждение ДНК / DNA damage response
Reactome	Апоптоз / Apoptosis	R-HSA-109581	16	5,26	4,58	$1,27 \times 10^{-5}$	Ответ на повреждение ДНК / DNA damage response
Reactome	Программируемая гибель клетки / Programmed cell death	R-HSA-5357801	17	5,59	4,06	$2,57 \times 10^{-5}$	Ответ на повреждение ДНК / DNA damage response
Reactome	Клеточный ответ на гипоксию / Cellular response to hypoxia	R-HSA-1234174	13	4,28	9,96	$5,22 \times 10^{-8}$	Реакция клетки на стресс / Stress response
Reactome	Клеточный ответ на голодание / Cellular response to starvation	R-HSA-9711097	28	9,21	8,47	$1,19 \times 10^{-15}$	Реакция клетки на стресс / Stress response
Gene Ontology Biological Process	Клеточный ответ на нарушения фолдинга / Response to unfolded protein	GO:0006986	8	2,63	8,10	$5,89 \times 10^{-3}$	Реакция клетки на стресс / Stress response
Gene Ontology Molecular Function	Связывание белков с нарушенным фолдингом / Unfolded protein binding	GO:0051082	14	4,61	7,04	$8,39 \times 10^{-6}$	Реакция клетки на стресс / Stress response
Reactome	Клеточный ответ на химический стресс / Cellular response to chemical stress	R-HSA-9711123	20	6,58	4,77	$2,92 \times 10^{-7}$	Реакция клетки на стресс / Stress response
Reactome	Клеточный ответ на стресс / Cellular responses to stress	R-HSA-2262752	59	19,41	3,47	$1,66 \times 10^{-15}$	Реакция клетки на стресс / Stress response
Reactome	Клеточный ответ на стимулы / Cellular responses to stimuli	R-HSA-8953897	59	19,41	3,05	$4,47 \times 10^{-13}$	Реакция клетки на стресс / Stress response
Gene Ontology Cellular Component	Главный комплекс протеасом / Proteasome core complex	GO:0005839	7	2,30	24,10	$6,29 \times 10^{-6}$	Аутофагия / Autophagy
Gene Ontology Cellular Component	Комплекс протеасом / Proteasome complex	GO:0000502	12	3,95	14,00	$2,19 \times 10^{-8}$	Аутофагия / Autophagy
Reactome	Сборка протеасом / Proteasome assembly	R-HSA-9907900	12	3,95	10,96	$8,16 \times 10^{-8}$	Аутофагия / Autophagy
Reactome	Аутофагия / Autophagy	R-HSA-9612973	10	3,29	2,97	$2,50 \times 10^{-2}$	Аутофагия / Autophagy
Reactome	Деубиквитинирование / Deubiquitination	R-HSA-5688426	15	4,93	2,30	$2,24 \times 10^{-2}$	Аутофагия / Autophagy
Reactome	Активация транскрипционного фактора NF-κB в В-лимфоцитах / Activation of NF-κappaB in B cells	R-HSA-1169091	12	3,95	10,55	$1,14 \times 10^{-7}$	Воспаление / Inflammation
Reactome	Сигнальный путь интерлейкина-12 / Interleukin-12 signaling	R-HSA-9020591	8	2,63	7,60	$3,87 \times 10^{-4}$	Воспаление / Inflammation
Reactome	Сигнальный путь интерлейкина-1 / Interleukin-1 signaling	R-HSA-9020702	13	4,28	6,05	$8,65 \times 10^{-6}$	Воспаление / Inflammation
Reactome	Сигнальные пути интерлейкинов / Signaling by Interleukins	R-HSA-449147	22	7,24	2,22	$4,00 \times 10^{-3}$	Воспаление / Inflammation
Reactome	Сигнальные пути цитокинов / Cytokine Signaling in Immune system	R-HSA-1280215	29	9,54	1,72	$2,05 \times 10^{-2}$	Воспаление / Inflammation
Reactome	Врожденная иммунная система / Innate immune system	R-HSA-168249	40	13,16	1,65	$7,15 \times 10^{-3}$	Воспаление / Inflammation

рые параллели между дисфункциональными (при моделировании дисфункции эндотелия *in vitro*) и атерочувствительными (*in vivo*) и интактными (при моделировании на клеточных культурах) и атерорезистентными (в организме человека) ЭК. Последующие эксперименты могут быть направлены на расширенную оценку совокупности молекул, выделяемых ЭК-КА и ЭК-ВГА в культуральную среду (эндотелиального секретомата) посредством дот-блоттинга. При помощи таких панелей возможно провести скрининговое измерение маркеров эндотелиального фенотипа, белков эндотелиальной базальной мембраны и субэндотелиального внеклеточного матрикса, а также ангиогенных белков в микроокружении ЭК для более подробного сопоставления интактных ЭК, дисфункциональных ЭК, ЭК-КА и ЭК-ВГА [39, 40]. Дальнейшие исследования могут быть направлены на определение белков, являющихся приоритетными кандидатами на включение в эти панели.

К ограничениям данного исследования можно отнести разных доноров, от которых были получены ЭК-КА и ЭК-ВГА, что подразумевает некоторые индивидуальные (донор-зависимые) различия между культурами клеток. В данном случае, однако, это ограничение исследования было неизбежным (в отличие от ЭК-ВГА, которые могут быть получены прижизненно, ЭК-КА могут быть получены только от кадаверного материала, что априори исключало возможность их выделения). В числе прочих ограничений можно назвать определенное количество пассажей (от трех до пяти), которое ЭК-КА и ЭК-ВГА провели в культуре, что также несколько нивелирует исходные различия между данными клетками *in vivo*. Данное ограничение, однако, также можно назвать неотъемлемым, поскольку получение конфлюэнтного монослоя для выделения достаточного для полнотранскриптомного секвенирования количества РНК и достаточного для хромато-масс-спектрометрического анализа количества белка требует определенного количества клеточных делений и не менее двух пассажей (с учетом двух-трех пассажей, необходимых для начала эксперимента и для получения конфлюэнтной культуры). К преимуществам исследования можно отнести его мультиомиксный подход (сочетание транскриптомного и протеомного методов), который позволяет провести одновременное измерение экспрессии значительного количества молекул на геномном и белковом уровне. Вероятнее всего, анализ секретомата ЭК-КА и ЭК-ВГА позволит сделать вывод о молекулярных основах их гетерогенности в патофизиологическом контексте.

### Заключение

Дисфункция ЭК может приводить к снижению экспрессии генов ряда маркеров эндотелиально-

го фенотипа, компонентов базальной мембраны и субэндотелиального внеклеточного матрикса и молекул сигнальных путей ангиогенеза, а также к повышению экспрессии генов сигнальных путей окислительного и эндоплазматического стресса. В сравнении с ЭК-ВГА ЭК-КА характеризуются повышенной экспрессией белков сигнальных путей ангиогенеза, в том числе эфриновых рецепторов (EPHB2 и EPHB4), а также обеих субъединиц эндотелиального интегрин  $\alpha\text{v}\beta 3$  (ITGAV и ITGB3). ЭК-ВГА отличаются повышенной экспрессией транскрипционных факторов эндотелиальной дифференцировки (ERG и FLI1), ангиопоэтинов (ANGPT2 и ANGPTL2), их рецепторов (PTPRB и TEK) и ко-рецепторов к VEGF (NRP1 и NRP2), а также более высокой экспрессией компонентов базальной мембраны и внеклеточного матрикса, гиперэкспрессированных в интактных ЭК (ламнина, коллагена IV типа, фактора фон Виллебранда, ангиопоэтиноподобного белка, бигликана, мультимерина-1 и катепсина С). Таким образом, ЭК-КА и ЭК-ВГА имеют выраженные различия в экспрессии маркеров эндотелиального фенотипа, белков базальной мембраны, внеклеточного матрикса и сигнальных путей ангиогенеза.

### Конфликт интересов

В.Е. Маркова заявляет об отсутствии конфликта интересов. Д.К. Шишкова заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.Д. Степанов заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.В. Фролов заявляет об отсутствии конфликта интересов. Ю.О. Юрьева заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.И. Лазебная заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.А. Репкин заявляет об отсутствии конфликта интересов. М.Р. Кабилов заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.Е. Тупикин заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.Г. Кутихин входит в редакционную коллегию журнала «Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний».

### Финансирование

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-65-00039 «Идентификация циркулирующего маркера провоспалительной дисфункции эндотелия в контексте гетерогенности эндотелиальных клеток», <https://rscf.ru/project/24-65-00039/>.

### Благодарности

Ультравысокоэффективная жидкостная хроматография, совмещенная с тандемной масс-спектрометрией (УФЭЖХ-МС/МС), была проведена на оборудовании Ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» Научного парка СПбГУ.

## Информация об авторах

*Маркова Виктория Евгеньевна*, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной, трансляционной и цифровой медицины отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-6652-5745

*Шишкова Дарья Кирилловна*, кандидат биологических наук заведующая лабораторией молекулярной, трансляционной и цифровой медицины отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-1518-3888

*Степанов Александр Денисович*, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной, трансляционной и цифровой медицины отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0009-0009-7947-5917

*Фролов Алексей Витальевич*, доктор медицинских наук 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

*Юрьева Юлия Олеговна*, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной, трансляционной и цифровой медицины отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0009-0007-6734-3787

*Лазебная Анастасия Ивановна*, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной, трансляционной и цифровой медицины отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-1867-6354

*Репкин Егор Алексеевич*, специалист ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» научного парка федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-8599-3173

*Кабиров Марсель Расимович*, руководитель центра коллективного пользования «Геномика» федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-2777-0833

*Тупикин Алексей Евгеньевич*, научный сотрудник центра коллективного пользования «Геномика» федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-8194-0322

## Author Information Form

*Markova Victoria E.*, Junior Researcher, Laboratory for Molecular, Translational, and Digital Medicine, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-6652-5745

*Shishkova Daria K.*, PhD, Head of the Laboratory for Molecular, Translational, and Digital Medicine, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-1518-3888

*Stepanov Alexander D.*, Junior Researcher, Laboratory of Molecular, Translational, and Digital Medicine, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0009-0009-7947-5917

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

*Yurieva Yulia O.*, Junior Researcher, Laboratory for Molecular, Translational, and Digital Medicine, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases” Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0009-0007-6734-3787

*Lazebnaya Anastasia I.*, Junior Researcher, Laboratory for Molecular, Translational, and Digital Medicine, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-1867-6354

*Repkin Egor A.*, Specialist, Resource Centre Development of Molecular and Cellular Technologies, Research Park, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-8599-3173

*Kabilov Marsel R.*, Head of the Genomics Core Facility, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-2777-0833

*Tupikin Alexey E.*, Research Fellow, Genomics Core Facility, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-8194-0322

*Кутихин Антон Геннадьевич*, доктор медицинских наук заведующий отделом экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-8679-4857

*Kutikhin Anton G.*, MD, PhD, Head of the Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-8679-4857

#### Вклад авторов в статью

*MVE* – вклад в концепцию и дизайн исследования, получение, анализ и интерпретация данных исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

*ШДК* – вклад в концепцию и дизайн исследования, получение, анализ и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

*САД* – вклад в концепцию и дизайн исследования, получение, анализ и интерпретация данных исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

*ФАВ* – вклад в концепцию и дизайн исследования, анализ и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

*ЮЮО* – получение, анализ и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

*ЛАИ* – получение, анализ и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

*РЕА* – получение, анализ и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

*КМР* – получение, анализ и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

*ТАЕ* – получение, анализ и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

*КАГ* – вклад в концепцию и дизайн исследования, анализ и интерпретация данных исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

#### Author Contribution Statement

*MVE* – contribution to the concept and design of the study, data collection, analysis and interpretation, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

*SDK* – contribution to the concept and design of the study, data collection, analysis and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

*SAD* – contribution to the concept and design of the study, data collection, analysis and interpretation, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

*FAV* – contribution to the concept and design of the study, data analysis and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

*YuYuO* – data collection, analysis and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

*LAI* – data collection, analysis and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

*REA* – data collection, analysis and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

*KMR* – data collection, analysis and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

*TAE* – data collection, analysis and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

*KAG* – contribution to the concept and design of the study, data analysis and interpretation, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Trimm E, Red-Horse K. Vascular endothelial cell development and diversity. *Nat Rev Cardiol.* 2023;20(3):197-210. doi: 10.1038/s41569-022-00770-1.

2. Segers VFM, Bringmans T, De Keulenaer GW. Endothelial dysfunction at the cellular level in three dimensions: severity, acuteness, and distribution. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2023;325(2):H398-H413. doi: 10.1152/ajpheart.00256.2023.

3. Baaten CCFMJ, Vondenhoff S, Noels H. Endothelial Cell Dysfunction and Increased Cardiovascular Risk in Patients With Chronic Kidney Disease. *Circ Res.* 2023;132(8):970-992. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.123.321752.

4. Philippe A, Chocron R, Gendron N, Bory O, Beauvais A, Peron N, Khider L, Guerin CL, Goudot G, Levasseur F, Peronino C, Duchemin J, Brichet J, Sourdeau E, Desvard F, Bertil S, Pene F,

Cheurfia C, Szwebel TA, Planquette B, Rivet N, Jourdi G, Hauw-Berlemont C, Hermann B, Gaussem P, Mirault T, Terrier B, Sanchez O, Diehl JL, Fontenay M, Smadja DM. Circulating Von Willebrand factor and high molecular weight multimers as markers of endothelial injury predict COVID-19 in-hospital mortality. *Angiogenesis.* 2021;24(3):505-517. doi: 10.1007/s10456-020-09762-6.

5. El Otmani H, Frunt R, Smits S, Barendrecht AD, de Maat S, Fijnheer R, Lenting PJ, Tersteeg C. Plasmin-cleaved von Willebrand factor as a biomarker for microvascular thrombosis. *Blood.* 2024;143(20):2089-2098. doi: 10.1182/blood.2023021265.

6. Chung DW, Platten K, Ozawa K, Adili R, Pamir N, Nussdorfer F, St John A, Ling M, Le J, Harris J, Rhoads N, Wang Y, Fu X, Chen J, Fazio S, Lindner JR, López JA. Low-density lipoprotein promotes microvascular thrombosis by enhancing von

- Willebrand factor self-association. *Blood*. 2023;142(13):1156-1166. doi: 10.1182/blood.2023019749.
7. Plautz WE, Haldeman SH, Dyer MR, Sperry JL, Guyette FX, Loughran PA, Alvikas J, Hassoune A, Hoteit L, Alsaadi N, Zuckerbraun BS, Rollins-Raval MA, Raval JS, Mota RI, Neal MD; A TACTIC Publication. Reduced cleavage of von willebrand factor by ADAMTS13 is associated with microangiopathic acute kidney injury following trauma. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2022;33(1):14-24. doi: 10.1097/MBC.0000000000001089.
8. Edvardsen MS, Hansen ES, Ueland T, Aukrust P, Brækkan SK, Morelli VM, Hansen JB. Impact of the von Willebrand factor-ADAMTS-13 axis on the risk of future venous thromboembolism. *J Thromb Haemost*. 2023;21(5):1227-1237. doi: 10.1016/j.jtha.2023.01.024.
9. Michels A, Dwyer CN, Mewburn J, Nesbitt K, Kawecki C, Lenting P, Swystun LL, Lillcrap D. von Willebrand Factor Is a Critical Mediator of Deep Vein Thrombosis in a Mouse Model of Diet-Induced Obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2020;40(12):2860-2874. doi: 10.1161/ATVBAHA.120.314690.
10. Kozlov S, Okhota S, Avtaeva Y, Melnikov I, Matroze E, Gabbasov Z. Von Willebrand factor in diagnostics and treatment of cardiovascular disease: Recent advances and prospects. *Front Cardiovasc Med*. 2022;9:1038030. doi: 10.3389/fcvm.2022.1038030.
11. Cho ME, Brunt VE, Shiu YT, Bunsawat K. Endothelial dysfunction in chronic kidney disease: a clinical perspective. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2025;329(1):H135-H153. doi: 10.1152/ajpheart.00908.2024.
12. Kutikhin AG, Shishkova DK, Velikanova EA, Sinitsky MY, Sinitskaya AV, Markova VE. Endothelial Dysfunction in the Context of Blood-Brain Barrier Modeling. *J Evol Biochem Physiol*. 2022;58(3):781-806. doi: 10.1134/S0022093022030139.
13. Rafii S, Butler JM, Ding BS. Angiocrine functions of organ-specific endothelial cells. *Nature*. 2016;529(7586):316-25. doi: 10.1038/nature17040.
14. Gomez-Salinero JM, Redmond D, Rafii S. Microenvironmental determinants of endothelial cell heterogeneity. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2025;26(6):476-495. doi: 10.1038/s41580-024-00825-w.
15. Becker LM, Chen SH, Rodor J, de Rooij LPMH, Baker AH, 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.
16. Gaudino M, Bakaev FG, Sandner S, Aldea GS, Arai H, Chikwe J, Firestone S, Fremes SE, Gomes WJ, Bong-Kim K, Kisson K, Kurlansky P, Lawton J, Navia D, Puskas JD, Ruel M, Sabik JF, Schwann TA, Taggart DP, Tatoulis J, Wyler von Ballmoos M. Expert systematic review on the choice of conduits for coronary artery bypass grafting: endorsed by the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) and The Society of Thoracic Surgeons (STS). *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2023;166(4):1099-1114. doi: 10.1016/j.jtcvs.2023.06.017.
17. 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.
18. Stepanov A, Shishkova D, Markova V, Markova Y, Frolov A, Lazebnaya A, Oshchepkova K, Perepletchikova D, Smirnova D, Basovich L, Repkin E, Kutikhin A. Proteomic Profiling of Endothelial Cell Secretomes After Exposure to Calciprotein Particles Reveals Downregulation of Basement Membrane Assembly and Increased Release of Soluble CD59. *Int J Mol Sci*. 2024;25(21):11382. doi: 10.3390/ijms252111382.
19. Feenstra L, Kutikhin AG, Shishkova DK, Buikema H, Zeper LW, Bourgonje AR, Krenning G, Hillebrands JL. Calciprotein Particles Induce Endothelial Dysfunction by Impairing Endothelial Nitric Oxide Metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2023;43(3):443-455.
20. Feenstra L, Zeper LW, van de Langenberg B, Kahlman EJEM, de La Roij G, Reijrink M, Bernay B, Chatre L, Kuipers J, Giepmans BNG, Mastik MF, Kooistra W, Lodewijk ME, Zuidschewoude M, Pol RA; TransplantLines Investigators; Smith ER, Krenning G, de Baaij JHF, Hillebrands JL, Hoenderop GJG. Calciprotein particle-activated endothelial cells aggravate smooth muscle cell calcification via paracrine signalling. *Cell Mol Life Sci*. 2025;82(1):177. doi: 10.1007/s00018-025-05702-z.
21. Shishkova DK, Velikanova EA, Bogdanov LA, Sinitsky MY, Kostyunin AE, Tsepokina AV, Gruzdeva OV, Mironov AV, Mukhamadiyarov RA, Glushkova TV, Krivkina EO, Matveeva VG, Hryachkova ON, Markova VE, Dyleva YA, Belik VV, Frolov AV, Shabaev AR, Efimova OS, Popova AN, Malysheva VY, Kolmykov RP, Sevostyanov OG, Russakov DM, Dolganyuk VF, Gutakovskiy AK, Zhivodkov YA, Kozhukhov AS, Brusina EB, Ismagilov ZR, Barbarash OL, Yuzhalin AE, Kutikhin AG. Calciprotein Particles Link Disturbed Mineral Homeostasis with Cardiovascular Disease by Causing Endothelial Dysfunction and Vascular Inflammation. *Int J Mol Sci*. 2021;22(22):12458. doi: 10.3390/ijms222212458.
22. Shishkova D, Lobov A, Repkin E, Markova V, Markova Y, Sinitskaya A, Sinitsky M, Kondratiev E, Torgunakova E, Kutikhin A. Calciprotein Particles Induce Cellular Compartment-Specific Proteome Alterations in Human Arterial Endothelial Cells. *J Cardiovasc Dev Dis*. 2023;11(1):5. doi: 10.3390/jcdd11010005.
23. Najari Beidokhti M, Villalba N, Ma Y, Reynolds A, Villamil JH, Yuan SY. Lung endothelial cell senescence impairs barrier function and promotes neutrophil adhesion and migration. *Geroscience*. 2025;47(3):2655-2671. doi: 10.1007/s11357-025-01517-9.
24. Ting KK, Coleman P, Kim HJ, Zhao Y, Mulangala J, Cheng NC, Li W, Gunatilake D, Johnstone DM, Loo L, Neely GG, Yang P, Götz J, Vadas MA, Gamble JR. Vascular senescence and leak are features of the early breakdown of the blood-brain barrier in Alzheimer's disease models. *Geroscience*. 2023;45(6):3307-3331. doi: 10.1007/s11357-023-00927-x.
25. Novo JP, Gee L, Caetano CA, Tomé I, Vilaça A, von Zglinicki T, Moreira IS, Jurk D, Rosa S, Ferreira L. Blood-brain barrier dysfunction in aging is mediated by brain endothelial senescence. *Aging Cell*. 2024;23(9):e14270. doi: 10.1111/accel.14270.
26. Ungvari Z, Tarantini S, Kiss T, Wren JD, Giles CB, Griffin CT, Murfee WL, Pacher P, Csiszar A. Endothelial dysfunction and angiogenesis impairment in the ageing vasculature. *Nat Rev Cardiol*. 2018;15(9):555-565. doi: 10.1038/s41569-018-0030-z.
27. Xiao P, Zhang Y, Zeng Y, Yang D, Mo J, Zheng Z, Wang J, Zhang Y, Zhou Z, Zhong X, Yan W. Impaired angiogenesis in ageing: the central role of the extracellular matrix. *J Transl Med*. 2023;21(1):457. doi: 10.1186/s12967-023-04315-z.
28. Bloom SI, Islam MT, Lesniewski LA, Donato AJ. Mechanisms and consequences of endothelial cell senescence. *Nat Rev Cardiol*. 2023;20(1):38-51. doi: 10.1038/s41569-022-00739-0.
29. Han Y, Kim SY. Endothelial senescence in vascular diseases: current understanding and future opportunities in senotherapeutics. *Exp Mol Med*. 2023;55(1):1-12. doi: 10.1038/s12276-022-00906-w.
30. Fatima S, Ambreen S, Mathew A, Elwakiel A, Gupta A, Singh K, Krishnan S, Rana R, Khawaja H, Gupta D, Manoharan J, Besler C, Laufs U, Kohli S, Isermann B, Shahzad K. ER-Stress and Senescence Coordinately Promote Endothelial Barrier Dysfunction in Diabetes-Induced Atherosclerosis. *Nutrients*. 2022;14(14):2786. doi: 10.3390/nu14142786.
31. Biwer LA, Askew-Page HR, Hong K, Milstein J, Johnstone SR, Macal E, Good ME, Bagher P, Sonkusare SK, Isakson BE. Endothelial calreticulin deletion impairs endothelial function in aged mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2020;318(5):H1041-H1048. doi: 10.1152/ajpheart.00586.2019.
32. Wang B, Han J, Elisseff JH, Demaria M. The senescence-associated secretory phenotype and its physiological and pathological implications. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2024;25(12):958-978. doi: 10.1038/s41580-024-00727-x.
33. Mehdizadeh M, Aguilar M, Thorin E, Ferbeyre G, Nattel S. The role of cellular senescence in cardiac disease: basic biology and clinical relevance. *Nat Rev Cardiol*. 2022;19(4):250-264. doi: 10.1038/s41569-021-00624-2.
34. Di Micco R, Krizhanovskiy V, Baker D, d'Adda di Fagagna F. Cellular senescence in ageing: from mechanisms to therapeutic opportunities. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2021;22(2):75-95. doi: 10.1038/s41580-020-00314-w.
35. Shishkova D, Markova V, Markova Y, Sinitsky M, Sinitskaya A, Matveeva V, Torgunakova E, Lazebnaya A, Stepanov A, Kutikhin A. Physiological Concentrations of Calciprotein Particles Trigger Activation and Pro-Inflammatory Response in Endothelial

Cells and Monocytes. *Biochemistry (Mosc)*. 2025;90(1):132-160. doi: 10.1134/S0006297924604064.

36. Shishkova D, Lobov A, Zainullina B, Matveeva V, Markova V, Sinitskaya A, Velikanova E, Sinitsky M, Kanonykina A, Dyleva Y, Kutikhin A. Calciprotein Particles Cause Physiologically Significant Pro-Inflammatory Response in Endothelial Cells and Systemic Circulation. *Int J Mol Sci*. 2022;23(23):14941. doi: 10.3390/ijms232314941.

37. 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.

38. Фролов А.В., Шишкова Д.К., Маркова В.Е., Синицкий М.Ю., Синицкая А.В., Поддубняк А.О., Канонькина А.Ю., Загородников Н.И., Григорьев Е.В., Кутихин А.Г. Оценка паракринных эффектов кондиционированной среды в ходе ее пе-

рекрестного добавления при моделировании взаимодействия в морфофункциональной системе “конduit–артерия”. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2022. Т. 108. № 8. С. 940-956. doi: 10.31857/S0869813922080039.

39. Шишкова Д.К., Фролов А.В., Маркова В.Е., Маркова Ю.О., Лазебная А.И., Кутихин А.Г. Актуальные проблемы методологии изучения нормальной и патологической физиологии эндотелиальных клеток в культуре. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2024. Т. 13. № 3. С. 118-129. doi: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-118-129.

40. Шишкова Д.К., Фролов А.В., Маркова В.Е., Маркова Ю.О., Канонькина А.Ю., Лазебная А.И., Матвеева В.Г., Торгунакова Е.А., Кутихин А.Г. Современные подходы к моделированию дисфункции эндотелия и системному поиску ее циркулирующих маркеров. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2024. Т. 13. № S3. С. 173-190. doi: 10.17802/2306-1278-2024-13-3S-173-190.

## REFERENCES

1. Trimm E, Red-Horse K. Vascular endothelial cell development and diversity. *Nat Rev Cardiol*. 2023;20(3):197-210. doi: 10.1038/s41569-022-00770-1.

2. Segers VFM, Bringmans T, De Keulenaer GW. Endothelial dysfunction at the cellular level in three dimensions: severity, acuteness, and distribution. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2023;325(2):H398-H413. doi: 10.1152/ajpheart.00256.2023.

3. Baaten CCFMJ, Vondenhoff S, Noels H. Endothelial Cell Dysfunction and Increased Cardiovascular Risk in Patients With Chronic Kidney Disease. *Circ Res*. 2023;132(8):970-992. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.123.321752.

4. Philippe A, Chocron R, Gendron N, Bory O, Beauvais A, Peron N, Khider L, Guerin CL, Goudot G, Levasseur F, Peronino C, Duchemin J, Brichet J, Sourdeau E, Desvard F, Bertil S, Pene F, Cheurfa C, Szwebel TA, Planquette B, Rivet N, Jourdi G, Hauw-Berlemont C, Hermann B, Gaussem P, Mirault T, Terrier B, Sanchez O, Diehl JL, Fontenay M, Smadja DM. Circulating Von Willebrand factor and high molecular weight multimers as markers of endothelial injury predict COVID-19 in-hospital mortality. *Angiogenesis*. 2021;24(3):505-517. doi: 10.1007/s10456-020-09762-6.

5. El Otmani H, Frunt R, Smits S, Barendrecht AD, de Maat S, Fijnheer R, Lenting PJ, Tersteeg C. Plasmin-cleaved von Willebrand factor as a biomarker for microvascular thrombosis. *Blood*. 2024;143(20):2089-2098. doi: 10.1182/blood.2023021265.

6. Chung DW, Platten K, Ozawa K, Adili R, Pamir N, Nussdorfer F, St John A, Ling M, Le J, Harris J, Rhoads N, Wang Y, Fu X, Chen J, Fazio S, Lindner JR, López JA. Low-density lipoprotein promotes microvascular thrombosis by enhancing von Willebrand factor self-association. *Blood*. 2023;142(13):1156-1166. doi: 10.1182/blood.2023019749.

7. Plautz WE, Haldeman SH, Dyer MR, Sperry JL, Guyette FX, Loughran PA, Alvikas J, Hassoune A, Hoteit L, Alsaadi N, Zuckerbraun BS, Rollins-Raval MA, Raval JS, Mota RI, Neal MD; A TACTIC Publication. Reduced cleavage of von willebrand factor by ADAMTS13 is associated with microangiopathic acute kidney injury following trauma. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2022;33(1):14-24. doi: 10.1097/MBC.0000000000001089.

8. Edvardsen MS, Hansen ES, Ueland T, Aukrust P, Brækkan SK, Morelli VM, Hansen JB. Impact of the von Willebrand factor-ADAMTS-13 axis on the risk of future venous thromboembolism. *J Thromb Haemost*. 2023;21(5):1227-1237. doi: 10.1016/j.jtha.2023.01.024.

9. Michels A, Dwyer CN, Mewburn J, Nesbitt K, Kawecki C, Lenting P, Swystun LL, Lillcrap D. von Willebrand Factor Is a Critical Mediator of Deep Vein Thrombosis in a Mouse Model of Diet-Induced Obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2020;40(12):2860-2874. doi: 10.1161/ATVBAHA.120.314690.

10. Kozlov S, Okhota S, Avtaeva Y, Melnikov I, Matroze E, Gabbasov Z. Von Willebrand factor in diagnostics and treatment of cardiovascular disease: Recent advances and prospects. *Front Cardiovasc Med*. 2022;9:1038030. doi: 10.3389/fcvm.2022.1038030.

11. Cho ME, Brunt VE, Shiu YT, Bunsawat K. Endothelial

dysfunction in chronic kidney disease: a clinical perspective. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2025;329(1):H135-H153. doi: 10.1152/ajpheart.00908.2024.

12. Kutikhin AG, Shishkova DK, Velikanova EA, Sinitsky MY, Sinitskaya AV, Markova VE. Endothelial Dysfunction in the Context of Blood-Brain Barrier Modeling. *J Evol Biochem Physiol*. 2022;58(3):781-806. doi: 10.1134/S0022093022030139.

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

14. Gomez-Salinerro JM, Redmond D, Rafii S. Microenvironmental determinants of endothelial cell heterogeneity. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2025;26(6):476-495. doi: 10.1038/s41580-024-00825-w.

15. Becker LM, Chen SH, Rodor J, de Rooij LPMH, Baker AH, 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.

16. Gaudino M, Bakaeen FG, Sandner S, Aldea GS, Arai H, Chikwe J, Firestone S, Fremes SE, Gomes WJ, Bong-Kim K, Kisson K, Kurlansky P, Lawton J, Navia D, Puskas JD, Ruel M, Sabik JF, Schwann TA, Taggart DP, Tatoulis J, Wyler von Ballmoos M. Expert systematic review on the choice of conduits for coronary artery bypass grafting: endorsed by the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) and The Society of Thoracic Surgeons (STS). *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2023;166(4):1099-1114. doi: 10.1016/j.jtcvs.2023.06.017.

17. 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.

18. Stepanov A, Shishkova D, Markova V, Markova Y, Frolov A, Lazebnaya A, Oshchepkova K, Perepletchikova D, Smirnova D, Basovich L, Repkin E, Kutikhin A. Proteomic Profiling of Endothelial Cell Secretomes After Exposure to Calciprotein Particles Reveals Downregulation of Basement Membrane Assembly and Increased Release of Soluble CD59. *Int J Mol Sci*. 2024;25(21):11382. doi: 10.3390/ijms252111382.

19. Feenstra L, Kutikhin AG, Shishkova DK, Buikema H, Zeper LW, Bourgonje AR, Krenning G, Hillebrands JL. Calciprotein Particles Induce Endothelial Dysfunction by Impairing Endothelial Nitric Oxide Metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2023;43(3):443-455.

20. Feenstra L, Zeper LW, van de Langenberg B, Kahlman EJEM, de La Roij G, Reijrink M, Bernay B, Chatre L, Kuipers J, Giepmans BNG, Mastik MF, Kooistra W, Lodewijk ME, Zuidschewoude M, Pol RA; TransplantLines Investigators; Smith ER, Krenning G, de Baaij JHF, Hillebrands JL, Hoenderop JGJ. Calciprotein particle-activated endothelial cells aggravate smooth muscle cell calcification via paracrine signalling. *Cell Mol Life Sci*. 2025;82(1):177. doi: 10.1007/s00018-025-05702-z.

21. Shishkova DK, Velikanova EA, Bogdanov LA, Sinitsky

- MY, Kostyunin AE, Tsepokina AV, Gruzdeva OV, Mironov AV, Mukhamadiyarov RA, Glushkova TV, Krivkina EO, Matveeva VG, Hryachkova ON, Markova VE, Dyleva YA, Belik EV, Frolov AV, Shabaev AR, Efimova OS, Popova AN, Malysheva VY, Kolmykov RP, Sevostyanov OG, Russakov DM, Dolganyuk VF, Gutakovskiy AK, Zhivodkov YA, Kozhukhov AS, Brusina EB, Ismagilov ZR, Barbarash OL, Yuzhalin AE, Kutikhin AG. Calciprotein Particles Link Disturbed Mineral Homeostasis with Cardiovascular Disease by Causing Endothelial Dysfunction and Vascular Inflammation. *Int J Mol Sci.* 2021;22(22):12458. doi: 10.3390/ijms222212458.
22. Shishkova D, Lobov A, Repkin E, Markova V, Markova Y, Sinitskaya A, Sinitsky M, Kondratiev E, Torgunakova E, Kutikhin A. Calciprotein Particles Induce Cellular Compartment-Specific Proteome Alterations in Human Arterial Endothelial Cells. *J Cardiovasc Dev Dis.* 2023;11(1):5. doi: 10.3390/jcdd11010005.
23. Najari Beidokhti M, Villalba N, Ma Y, Reynolds A, Villamil JH, Yuan SY. Lung endothelial cell senescence impairs barrier function and promotes neutrophil adhesion and migration. *Geroscience.* 2025;47(3):2655-2671. doi: 10.1007/s11357-025-01517-9.
24. Ting KK, Coleman P, Kim HJ, Zhao Y, Mulangala J, Cheng NC, Li W, Gunatilake D, Johnstone DM, Loo L, Neely GG, Yang P, Götz J, Vadas MA, Gamble JR. Vascular senescence and leak are features of the early breakdown of the blood-brain barrier in Alzheimer's disease models. *Geroscience.* 2023;45(6):3307-3331. doi: 10.1007/s11357-023-00927-x.
25. Novo JP, Gee L, Caetano CA, Tomé I, Vilaça A, von Zglinicki T, Moreira IS, Jurk D, Rosa S, Ferreira L. Blood-brain barrier dysfunction in aging is mediated by brain endothelial senescence. *Aging Cell.* 2024;23(9):e14270. doi: 10.1111/ace1.14270.
26. Ungvari Z, Tarantini S, Kiss T, Wren JD, Giles CB, Griffin CT, Murfee WL, Pacher P, Csizsar A. Endothelial dysfunction and angiogenesis impairment in the ageing vasculature. *Nat Rev Cardiol.* 2018;15(9):555-565. doi: 10.1038/s41569-018-0030-z.
27. Xiao P, Zhang Y, Zeng Y, Yang D, Mo J, Zheng Z, Wang J, Zhang Y, Zhou Z, Zhong X, Yan W. Impaired angiogenesis in ageing: the central role of the extracellular matrix. *J Transl Med.* 2023;21(1):457. doi: 10.1186/s12967-023-04315-z.
28. Bloom SI, Islam MT, Lesniewski LA, Donato AJ. Mechanisms and consequences of endothelial cell senescence. *Nat Rev Cardiol.* 2023;20(1):38-51. doi: 10.1038/s41569-022-00739-0.
29. Han Y, Kim SY. Endothelial senescence in vascular diseases: current understanding and future opportunities in senotherapeutics. *Exp Mol Med.* 2023;55(1):1-12. doi: 10.1038/s12276-022-00906-w.
30. Fatima S, Ambreen S, Mathew A, Elwakiel A, Gupta A, Singh K, Krishnan S, Rana R, Khawaja H, Gupta D, Manoharan J, Besler C, Laufs U, Kohli S, Isermann B, Shahzad K. ER-Stress and Senescence Coordinately Promote Endothelial Barrier Dysfunction in Diabetes-Induced Atherosclerosis. *Nutrients.* 2022;14(14):2786. doi: 10.3390/nu14142786.
31. Biwer LA, Askew-Page HR, Hong K, Milstein J, Johnstone SR, Macal E, Good ME, Bagher P, Sonkusare SK, Isakson BE. Endothelial calreticulin deletion impairs endothelial function in aged mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2020;318(5):H1041-H1048. doi: 10.1152/ajpheart.00586.2019.
32. Wang B, Han J, Elisseeff JH, Demaria M. The senescence-associated secretory phenotype and its physiological and pathological implications. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2024;25(12):958-978. doi: 10.1038/s41580-024-00727-x.
33. Mehdizadeh M, Aguilar M, Thorin E, Ferbeyre G, Nattel S. The role of cellular senescence in cardiac disease: basic biology and clinical relevance. *Nat Rev Cardiol.* 2022;19(4):250-264. doi: 10.1038/s41569-021-00624-2.
34. Di Micco R, Krizhanovskiy V, Baker D, d'Adda di Fagagna F. Cellular senescence in ageing: from mechanisms to therapeutic opportunities. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2021;22(2):75-95. doi: 10.1038/s41580-020-00314-w.
35. Shishkova D, Markova V, Markova Y, Sinitsky M, Sinitskaya A, Matveeva V, Torgunakova E, Lazebnaya A, Stepanov A, Kutikhin A. Physiological Concentrations of Calciprotein Particles Trigger Activation and Pro-Inflammatory Response in Endothelial Cells and Monocytes. *Biochemistry (Mosc).* 2025;90(1):132-160. doi: 10.1134/S0006297924604064.
36. Shishkova D, Lobov A, Zainullina B, Matveeva V, Markova V, Sinitskaya A, Velikanova E, Sinitsky M, Kanonykina A, Dyleva Y, Kutikhin A. Calciprotein Particles Cause Physiologically Significant Pro-Inflammatory Response in Endothelial Cells and Systemic Circulation. *Int J Mol Sci.* 2022;23(23):14941. doi: 10.3390/ijms232314941.
37. 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.
38. Frolov A.V., Shishkova D.K., Markova V.E., Sinitsky M.Yu., Sinitskaya A.V., Poddubnyak A.O., Kanonykina A.Yu., Zagorodnikov N.I., Grigoriev E.V., Kutikhin A.G. Paracrine effects of conditioned medium during its cross-addition to arterial and venous endothelial cells. *Russian Journal of Physiology.* 2022. Vol. 108. № 8. P. 940-956. doi: 10.31857/S0869813922080039.
39. Shishkova D.K., Frolov A.V., Markova V.E., Markova Y.O., Lazebnaya A.I., Kutikhin A.G. Improving methodology of endothelial cell research: synopsis and prospects. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases = Kompleksnyye problemy serdечно-sosudistykh zaboolevaniy.* 2024. Vol. 13. № 3. P. 118-129. doi: 10.17802/2306-1278-2024-13-3-118-129.
40. Shishkova D.K., Frolov A.V., Markova V.E., Markova Yu.O., Kanonykina A.Yu., Lazebnaya A.I., Matveeva V.G., Torgunakova E.A., Kutikhin A.G. Modeling of endothelial dysfunction and search for its circulating biomarkers. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases = Kompleksnyye problemy serdечно-sosudistykh zaboolevaniy.* 2024. Vol. 13. № S3. P. 173-190. doi: 10.17802/2306-1278-2024-13-3S-173-190.

**Для цитирования:** Маркова В.Е., Шишкова Д.К., Степанов А.Д., Фролов А.В., Юрьева Ю.О., Лазебная А.И., Репкин Е.А., Кабилов М.Р., Тупикин А.Е., Кутихин А.Г. Сравнительный анализ экспрессии молекулярных маркеров дисфункции первичных эндотелиальных клеток коронарной и внутренней грудной артерии человека. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2025;14(6): 80-104. DOI: 10.17802/2306-1278-2025-14-6-80-104

**To cite:** Markova V.E., Shishkova D.K., Stepanov A.D., Frolov A.V., Yurieva Yu.O., Lazebnaya A.I., Repkin E.A., Kabilov M.R., Tupikin A.E., Kutikhin A.G. Molecular markers of endothelial dysfunction in primary human coronary artery and internal thoracic artery endothelial cells. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2025;14(6): 80-104. DOI: 10.17802/2306-1278-2025-14-6-80-104