ГЕНОТОКСИЧЕСКИЙ СТРЕСС КАК ТРИГГЕР ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ: РЕЗЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТА IT VITRO

Синицкий М.Ю., Синицкая А.В., Шишкова Д.К., Асанов М.А., Хуторная М.В., Понасенко А.В.

Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (Кемерово, Россия)

Источник финансирования: Грант Российского научного фонда № 21-75-10052 «Молекулярные механизмы развития эндотелиальной дисфункции в ответ на генотоксический стресс», https://rscf.ru/project/21-75-10052/.

Введение

Ежегодно от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) умирает около 18 миллионов человек, при этом причиной большинства смертей от ССЗ является атеросклероз. Поскольку доказано, что повреждение эндотелия является обязательным инициирующим фактором развития атеросклероза, для понимания развития и течения данной патологии принципиально детально знать механизмы действия триггеров повреждения эндотелия, к которым, помимо классических факторов риска, можно отнести и генотоксический стресс.

Цель

Установить закономерность изменения экспрессии молекулярных маркеров эндотелиальной дисфункции в культурах первичных эндотелиальных клеток коронарной (HCAEC) и внутренней грудной артерий (HITAEC) человека, культивируемых в течение 6 часов в присутствии мутагена митомицина С (ММС).

Методы

- Оценка уровня генотоксического стресса в клеточных культурах с помощью микроядерного теста с блоком цитокинеза;
- Определение экспрессии генов-маркеров эндотелиальной дисфункции с помощью количественной ПЦР с обратной транскрипцией;
- Протеомное профилирование с помощью дот-блоттинга с использованием наборов Human Inflammation Antibody Array, Human Chemokine Antibody Array, Human Cytokine Array, Human Angiogenesis Array и Human Cell Stress Array Kit.

Результаты

Экспериментальные клетки HCAEC и HITAEC характеризуются повышенной частотой микроядер **(рис. 1B),** нуклеоплазменных мостов **(рис. 1C)** и ядерных протрузий **(рис. 1D)** по сравнению с контролем, что свидетельствует об ярко выраженном генотоксическом стрессе, развивающемся в клетках в ответ на экспозицию ММС.

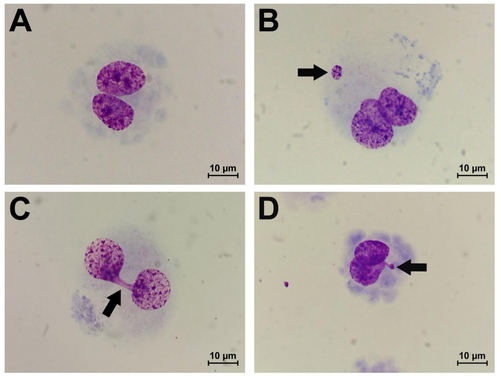

Рисунок 1. Типы цитогенетических повреждений в эндотелиальных клетках (A – клетка без повреждений, B – микроядро, C – нуклеоплазменный мост, D – ядерная протрузия).

В клетках HCAEC и HITAEC, экспонированных ММС, отмечается повышенная экспрессия генов *VCAM1*, *ICAM1*, *SELE*, *IL6*, *IL8*, *CXCL1*, *SNAI2* и сниженная экспрессия *CDH5*, *ZEB1*, *VWF* относительно контроля. В экспериментальных клетках HCAEC также было отмечено увеличение экспрессии генов *CCL2*, *PLAU*, *PLAT*, *SERPINE1*, а в клетках HITAEC – гена *TWIST1* **(рис. 2)**.

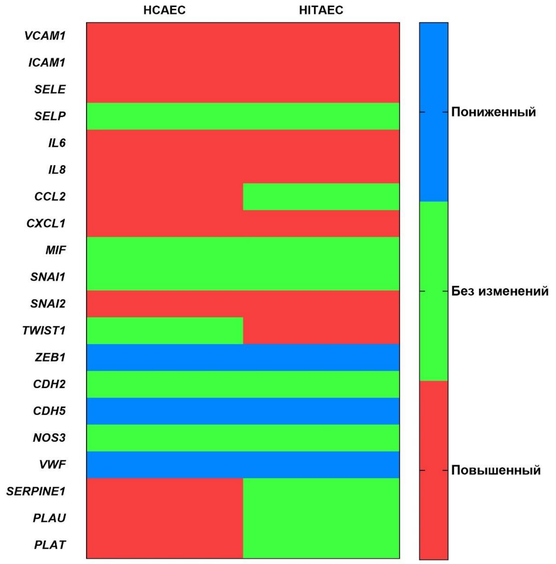

Рисунок 2. Уровень экспрессии генов-маркеров эндотелиальной дисфункции в эндотелиальных клетках, экспонированных ММС, относительно контроля.

В обеих изученных клеточных линиях, экспонированных ММС, отмечено увеличение секреции белков MIF, IL-6, IL-8, IP-10, MCP-1, Serpin E1 и PDGF-BB, снижение уровня TIMP-1, PTX-3 и TSP-1, а также отсутствие различий в продукции MIP-1β относительно неэкспонированного контроля. Белок TIMP-2 синтезировался активнее в экспонированных ММС клетках HCAEC, но не в клетках HITAEC. Белок sTNF RI был отмечен только в клетках HCAEC, в которых он экспрессировался на одинаковом уровне и в контроле, и в эксперименте **(рис. 3)**.

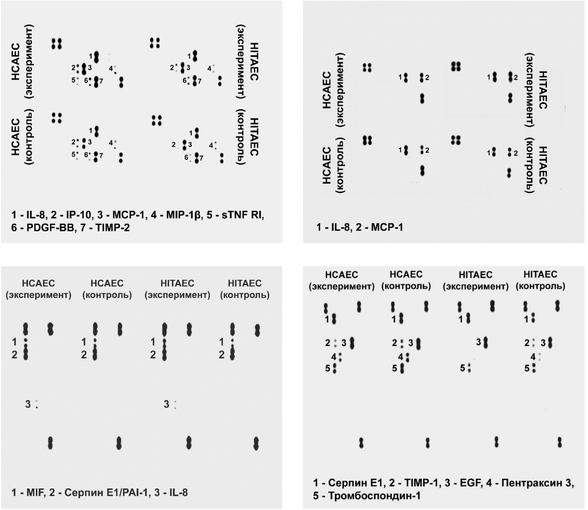

Рисунок 3. Протеомный профиль изученных клеточных культур

Заключение

В эксперименте in vitro, ММС-индуцированный генотоксический стресс ассоциирован с провоспалительной и протромбической активацией эндотелия, а также с инициацией эндотелиально-мезенхимального перехода, что свидетельствует о развитии эндотелиальной дисфункции в ответ на повреждение ДНК, что позволяет рассматривать генотоксический стресс в качестве одного из факторов риска данного процесса.