

Оценка воспалительной реакции и митофагии в моноцитах, ТНР-1, гладкомышечных клетках и фибробластах

С.С. Верхова^{1,2}, Н.Г. Никифоров^{1,2,3}, А.Д. Журавлев¹, Е.Е. Егоров³, М.А. Попов⁴,
Е.С. Чегодаев¹, Д.Б. Эрдынеева¹, Х.С. Вишнякова³, У.С. Хованцева², А.М. Маркин^{2,5},
Д.Г. Брешенков², Э.Р. Чарчян², А.Н. Орехов¹

¹ ФГБНУ Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия

² Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

³ ФГБУН Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

⁴ ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского (МОНИКИ), Москва, Россия

⁵ ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы, Москва, Россия

Резюме. Введение. Воспаление сосудистой стенки является одним из ключевых механизмов атерогенеза. Сосудистая стенка представлена в основном эндотелиальными, гладкомышечными и соединительнотканными клетками. При атерогенезе активированный эндотелий обеспечивает рекрутирование моноцитов в интиму, где они дифференцируются в макрофаги и пенстые клетки, что поддерживает локальное воспаление и формирование атеросклеротической бляшки. При этом относительный вклад отдельных клеточных типов в формирование воспалительного ответа остается недостаточно изучен. В условиях атерогенеза клетки подвергаются липидной нагрузке, окислительному стрессу и гипоксии, что может сопровождаться повреждением митохондрий. Если поврежденные митохондрии не удаляются своевременно в ходе митофагии, их накопление может поддерживать воспаление. Целью данного исследования было сравнить способность различных клеточных моделей к ответу на стимуляцию липополисахаридом (LPS), а также оценить потенциал прижизненной визуализации митохондрий и лизосом в выбранных моделях, что необходимо для анализа митофагии.

Материалы и методы. В рамках исследования использованы CD14⁺ моноциты человека, моноцитарная линия ТНР-1, гладкомышечные клетки и фибробласты линии hTERT977. Клетки стимулировали LPS в концентрации 1 мкг/мл в течение 24 часов, после чего оценивали секрецию TNF, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 и CCL2 в супернатанте методом ELISA.

Результаты. Наиболее выраженный ответ на LPS был в моноцитах и макрофагах, тогда как гладкомышечные клетки и фибробласты секретировали только IL-6, IL-8, CCL2. Также были получены изображения прижизненно окрашенных митохондрий и лизосом для дальнейшего изучения митофагии в них. При этом обработка фтороболовым эфиром сопровождалась устойчивым провоспалительным фоном, что усложняло интерпретацию LPS-индуцированного воспаления.

Заключение. Показано, что выбранные модели подходят для количественной оценки секреции цитокинов в ответ на стимуляцию LPS, анализа экспрессии генов провоспалительных цитокинов и изучения митофагии с использованием конфокальной микроскопии.

Ключевые слова: моноциты, макрофаги, гладкомышечные клетки, фибробласты, воспаление

Для корреспонденции: Светлана Сергеевна Верхова. E-mail: verxova.svetlana@gmail.com

Для цитирования: Верхова С.С., Никифоров Н.Г., Журавлев А.Д., Егоров Е.Е., Попов М.А., Чегодаев Е.С., Эрдынеева Д.Б., Вишнякова Х.С., Хованцева У.С., Маркин А.М., Брешенков Д.Г., Чарчян Э.Р., Орехов А.Н. Оценка воспалительной реакции и митофагии в моноцитах, ТНР-1, гладкомышечных клетках и фибробластах. Клин. эксп. морфология. 2026;15(3):34–47. DOI: 10.31088/CEM2026.15.3.34-47.

Финансирование. Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (грант № 22-15-00273-П).

Статья поступила 12.03.2026. Получена после рецензирования 02.04.2026. Принята в печать 14.05.2026.

Assessment of inflammatory response and mitophagy in monocytes, THP-1 cells, smooth muscle cells, and fibroblasts

S.S. Verkhova^{1,2,3}, N.G. Nikiforov^{1,2,3}, A.D. Zhuravlev¹, Y.E. Yegorov³, M.A. Popov⁴,
Y.S. Chegodaev¹, D.B. Erdyneeva¹, K.S. Vishnyakova³, U.S. Khovantseva², A.M. Markin^{2,5},
D.G. Breshenkov², E.R. Charchyan², A.N. Orekhov¹

¹Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia

²Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI "Petrovsky National Research Center of Surgery", Moscow, Russia

³Engelhardt Institute of Molecular Biology, Moscow, Russia

⁴Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI), Moscow, Russia

⁵Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

Abstract. *Introduction.* Vascular wall inflammation is a key mechanism of atherogenesis. The vascular wall is composed primarily of endothelial, smooth muscle, and connective tissue cells. During atherogenesis, activated endothelium promotes the recruitment of monocytes into the intima, where they differentiate into macrophages and foam cells, thereby sustaining local inflammation and contributing to the formation of atherosclerotic plaques. At the same time, the relative contribution of individual cell types to shaping the inflammatory response remains insufficiently studied. Under atherogenic conditions, cells are exposed to lipid load, oxidative stress, and hypoxia, which may be accompanied by mitochondrial damage. If damaged mitochondria are not removed in a timely manner by mitophagy, their accumulation may sustain inflammation. Thus, the study aimed to compare the ability of different cellular models to respond to LPS stimulation and assess the feasibility of live-cell visualization of mitochondria and lysosomes in the selected models, which is necessary for mitophagy analysis.

Materials and methods. We used human CD14+ monocytes, the monocytic THP-1 cell line, smooth muscle cells, and hTERT 977 fibroblasts. After cell stimulation with LPS at 1 µg/mL for 24 h, we assessed the secretion of TNF, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, and CCL2 in the supernatant with ELISA.

Results. The strongest response to LPS was observed in monocytes and macrophages, whereas smooth muscle cells and fibroblasts secreted only IL-6, IL-8, and CCL2. We also obtained images of live-cell-stained mitochondria and lysosomes for subsequent studies of mitophagy. For THP-1, we additionally tested PMA that increased cell attachment and spreading for confocal imaging. However, treatment with the phorbol ester was associated with a persistent pro-inflammatory background, which complicated the interpretation of LPS-induced inflammation.

Conclusion. The selected models are suitable for quantitative assessment of LPS response, gene expression analysis, and evaluation of mitophagy using confocal microscopy.

Keywords: monocytes, macrophages, smooth muscle cells, fibroblasts, inflammation

Corresponding author: Svetlana S. Verkhova. E-mail: verkhova.svetlana@gmail.com

For citation: Verkhova S.S., Nikiforov N.G., Zhuravlev A.D., Yegorov Y.E., Popov M.A., Chegodaev Y.S., Erdyneeva D.B., Vishnyakova K.S., Khovantseva U.S., Markin A.M., Breshenkov D.G., Charchyan E.R., Orekhov A.N. Assessment of inflammatory response and mitophagy in monocytes, THP-1 cells, smooth muscle cells, and fibroblasts. Clin. exp. morphology. 2026;15(3)34–47. DOI: 10.31088/CEM2026.15.3.34-47.

Funding. The study was supported by the Russian Science Foundation, grant No. 22-15-00273-П.

Received 12.03.2026. **Received in revised form** 02.04.2026. **Accepted** 14.05.2026.

Введение

Атеросклероз остается одной из ведущих причин сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности [1, 2]. Наиболее ранним центральным событием атерогенеза считают накопление липопротеинов в интима сосуда, что сопровождается эндотелиальной активацией и инициацией воспаления, которое может переходить в хроническую форму [3]. По мере прогрессирования в интима артерии формируется атеросклеротическая бляшка с липидным ядром, включающая иммунные клетки, гладкомышечные клетки и клетки соединительной ткани [4].

В исследованиях воспаления при атеросклерозе основное внимание чаще всего уделяют иммунным клеткам. Моноциты рекрутируются из кровотока в сосудистую стенку, где дифференцируются в макрофаги. Макрофаги захватывают липопротеины низкой плотности и формируют пенистые клетки. Эти процессы сопровождаются секрецией провоспалительных цитокинов, включая фактор некроза опухоли (tumor necrosis factor, TNF), интерлейкины (IL) IL-1β, IL-6, IL-8 и хемокин лиганд 2 (chemokine (C-C motif) ligand 2, CCL2) [5]. В терапии CANTOS (Canakinumab Anti-inflammatory Thrombosis Outcome Study, Исследование эффектив-

ности канакинумаба при лечении тромбоза) было показано, что ингибирование IL-1 β снижало частоту повторных сердечно-сосудистых событий [6]. В другом исследовании пациенты с каротидным атеросклерозом имели более высокий уровень IL-6 в плазме [7]. В исследовании второй фазы RESCUE зилтевекимаб (ингибитор IL-6) снижал маркеры системного воспаления [8]. В настоящее время в исследовании ZEUS оценивают, снижает ли ингибирование IL-6 частоту сердечно-сосудистых событий у пациентов с атеросклерозом [9]. В популяционном исследовании показано, что более высокий уровень CCL2 в крови был ассоциирован с повышенным риском сердечно-сосудистой смертности [10]. Кроме того, показано, что макрофаги, полученные от пациентов с субклиническим атеросклерозом (оценивали по толщине интима-медиа), характеризовались повышенной секрецией CCL2, IL-6, IL-10 [11].

При этом в атерогенезе участвуют не только иммунные клетки, но и клетки сосудистой стенки. Важно, что по мере прогрессирования поражения они могут изменять фенотип и мигрировать в атеросклеротическую бляшку. Так, в мышинной модели атеросклероза на атерогенной диете было показано, что CD26⁺ фибробласты при прогрессировании атеросклероза появлялись в интима и преимущественно локализовались в области фиброзной покрышки [12]. В модели сосудистого повреждения было показано, что активированные адвентициальные фибробласты секретируют IL-6, а их кондиционированная среда стимулирует пролиферацию и миграцию гладкомышечных клеток *in vitro*, причем при дефиците IL-6 этот эффект исчезал [13]. Гладкомышечные клетки при атеросклерозе не только мигрировали в бляшку, но и накапливали липиды, переходя в пеностоподобное состояние. В lineage-tracing (отслеживание клеточной линии) модели гладкомышечных клеток (Myh11-CreERT2, ApoE^{-/-} на атерогенной диете) было показано, что значительная часть клеток гладкомышечного происхождения в бляшке теряла маркеры гладкомышечных клеток и переходила в модифицированные состояния [14]. Клетки сосудистой стенки способны приобретать воспалительный фенотип, поэтому их ответ на стимулы врожденного иммунитета может быть значим для атерогенеза. Липополисахарид (LPS) активирует TLR4-зависимые сигнальные пути и индуцирует продукцию провоспалительных цитокинов и хемокинов не только в моноцитах и макрофагах, но и в клетках сосудистой стенки. Однако выраженность такого ответа может существенно зависеть от типа клеток.

Помимо цитокиновых каскадов в патогенезе атеросклероза активно обсуждается роль митохондрий. Для макрофагов показана связь митохондриального повреждения с активацией воспалительного ответа и секрецией IL-1 β , IL-18 на моделях THP-1 и первичных культурах клеток [15]. Drp1 является ключевым белком, регулирующим деление митохондрий. Нарушения

Drp1-зависимой митохондриальной динамики в гладкомышечных клетках были ассоциированы с пролиферацией, миграцией и кальцификацией клеток [16]. Atg7 необходим для удаления поврежденных митохондрий, то есть митофагии. В модели ApoE^{-/-} специфическая делеция Atg7 в гладкомышечных клетках сосудов приводила к нарушению аутофагии и накоплению фрагментированных митохондрий, апоптозу гладкомышечных клеток, что ассоциировалось с дестабилизацией бляшки и утончением фиброзной покрышки [17].

Целью данного исследования было сравнение способности различных клеточных моделей отвечать на стимуляцию LPS, а также оценка возможности прижизненной визуализации митохондрий и лизосом в выбранных моделях, необходимой для анализа митофагии.

Материалы и методы

Исследование проводилось в строгом соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (2013) и соответствовало руководящим принципам надлежащей клинической практики. Протокол исследования первичных моноцитов был рассмотрен и одобрен локальным этическим комитетом Московского областного научно-исследовательского клинического института имени М.Ф. Владимирского (протокол № 8 от 20.05.2020). Исследование первичных гладкомышечных клеток (ГМК) одобрено локальным этическим комитетом Национального исследовательского центра хирургии имени академика Б.В. Петровского (протокол № 8 от 20.10.2022). Все участники исследования до включения в него добровольно подписали форму информированного согласия, утвержденную в составе протокола исследования этическим комитетом.

Линию фибробластов hTERT 977 (ATCC, США) культивировали в модифицированной среде Дульбекко (DMEM, «ПанЭко», Россия) с низкой глюкозой, дополненной L-глутамином, 10% фетальной бычьей сывороткой (FBS, «БиолоТ», Россия), 50 ед/мл пенициллином и 50 мкг/мл стрептомицином («ПанЭко», Россия) при 37°C и 5% CO₂. Концентрация клеток: 200 тыс. в 1 мл.

ГМК были получены из аортальной стенки во время операции протезирования аорты и предоставлены сотрудниками I кардиохирургического отделения Российского научного центра хирургии имени академика Б.В. Петровского [18]. Внутреннюю и среднюю оболочки аорты разделяли механическим способом в асептических условиях. Первичную культуру гладкомышечных клеток выделяли из оболочек грудной аорты человека после ферментативной обработки коллагеназой I типа (StemCell Technologies, США) в соответствии с протоколом. Иммунофенотипирование выделенных ГМК проводили методом иммуноцитохимического окрашивания с применением антител против актина альфа 2, MYH11 (myosin heavy chain 11, тяжелая цепь миозина 11) и кальпонина 1 (1:100; Abcam,

Великобритания) по протоколам производителя [18]. В качестве вторичных антител использовали Goat Anti-Mouse IgG H+L (PE) и Goat Anti-Rabbit IgG H+L (FITC) (1:100; Abcam, Великобритания). Ядра клеток докрашивали 4',6-диамидино-2-фенилиндолом (DAPI), после чего препараты заключали в среду Aqueous Mounting Medium (водная среда для монтирования). Анализ и съемку препаратов выполняли с помощью флуоресцентного микроскопа Leica DM4000 B LED (Leica Microsystems, Германия) и программного обеспечения LAS-AF viewer v. 3.1.0 build 8587 (Германия). Клетки культивировали в среде DMEM с L-глутамином и 4,5 г/л глюкозы («ПанЭко», Россия), дополненной 15% FBS, 50 ед/мл пенициллина и 50 мкг/мл стрептомицина при 37°C и 5% CO₂. Концентрация клеток: 200 тыс. в 1 мл.

Нативную линию THP-1 культивировали в среде RPMI-1640 с L-глутамином («ПанЭко», Россия), дополненной 10% FBS, 50 ед/мл пенициллина и 50 мкг/мл стрептомицина при 37°C и 5% CO₂. Концентрация клеток: 300 тыс. в 1 мл. Для THP-1 дополнительно тестировали форбол-12-миристинат-13-ацетат (PMA), повышавший прикрепление и распластанность клеток для конфокальной съемки.

CD14+ моноциты выделяли из цельной крови здоровых доноров с использованием магнитной сортировки. Кровь центрифугировали 20 минут при 500 g, без торможения, удаляли плазму, осадок разбавляли PBS («ПанЭко», Россия) и наслаивали на Ficoll («ПанЭко», Россия). После центрифугирования при тех же условиях отбирали лейкоцитарную фракцию и дважды промывали PBS. Клеточный осадок ресуспендировали в растворе Версена («ПанЭко», Россия) с 0,5% FBS (MACS-буфер), добавляли CD14 MicroBeads (Miltenyi Biotec, США) и инкубировали 15 минут при 4°C. Моноциты выделяли с помощью магнитных колонок, затем дважды промывали фосфатно-солевым буфером (PBS). Клетки ресуспендировали в среде RPMI-1640 («ПанЭко», Россия), дополненной 10% FBS, 50 ед/мл пенициллина, 50 мкг/мл стрептомицина, L-глутамин 2 мМ («ПанЭко», Россия), заменимых аминокислот 1х («ПанЭко», Россия), пирувата натрия 1х («ПанЭко», Россия), 2-меркаптоэтанол 55 мкМ (Thermo Fisher Scientific, США) и rhGM-CSF 10 нг/мл («СайСтопЛаб», Россия) и культивировали в концентрации 1 млн/мл при 37°C и 5% CO₂.

Было необходимо подобрать клеточные модели для дальнейшего исследования LPS-индуцированного ответа (на уровне секреции цитокинов и экспрессии генов) и для прямого изучения митофагии. Для этого протестировали CD14+ моноциты человека, моноцитарную линию THP-1, ГМК и фибробласты (hTERT 977). Критериями пригодности были воспроизводимая реакция на LPS и совместимость с конфокальной визуализацией митохондрий и лизосом с использованием MitoTracker Green и LysoTracker Deep Red для последующей оценки индуцируемой митофагии.

Для экспериментов по оценке провоспалительной реакции клетки высевали по 200 тыс. в 1 мл (для hTERT 977, ГМК) или по 1 млн в 1 мл (для THP-1, первичных макрофагов) в 24-луночные планшеты (по 1 мл на лунку). Добавляли 1 мкг/мл LPS (Sigma-Aldrich, США) и инкубировали 24 часа при 37°C и 5% CO₂. Потом отбирали супернатант (суспензионную культуру предварительно центрифугировали) для анализа секреции цитокинов методом ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, иммуноферментный анализ). Для дальнейшего анализа экспрессии генов к клеточному осадку добавляли 1 мл ExtractRNA («Евроген», Россия).

Для оценки воспалительного ответа клетки стимулировали LPS (1 мкг/мл) в течение 24 часов, после чего в супернатанте определяли концентрации TNF, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10 и CCL2 методом ELISA (рис. 1). Оценку содержания цитокинов в культуральной жидкости измеряли методом ELISA. Концентрации TNF, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10 и CCL2 в культуральной жидкости определяли методом ELISA (R&D Systems, США) согласно протоколу производителя. В качестве субстрата для пероксидазы хрена использовали ТМБ-набор («ИМТЕК», Россия). Реакцию останавливали добавлением серной кислоты («ХимМед», Россия). Оптическую плотность измеряли на микропланшетном считывателе CLARIOstar (BMG LABTECH, Германия) при длине волны 450 нм с поправкой на 495 нм. Чтобы подтвердить, что LPS-индуцированная секреция цитокинов сопряжена с изменениями на уровне экспрессии, в THP-1 дополнительно измеряли экспрессию генов, соответствующих провоспалительных маркеров после стимуляции различными концентрациями LPS. Результаты сравнивали попарно с контролем.

Для выделения РНК к клеткам добавляли ExtractRNA 200 мкл хлороформа («Экос-1», Россия), перемешивали переворачиванием и инкубировали 10 минут при комнатной температуре. Затем центрифугировали при 12 000 g в течение 15 минут. Водную фазу переносили в новые пробирки, добавляли 600 мкл изопропанола («Экос-1», Россия) и центрифугировали при 12 000 g в течение 15 минут. Супернатант удаляли, осадок промывали 75% этанолом, охлажденным до -20°C, и центрифугировали при 12 000 g в течение 15 минут. Этанол удаляли, осадок сушили 5 минут и растворяли в 22 мкл безнуклеазной воды («ПанЭко», Россия). Для удаления примесей ДНК применяли DNase I (RNase-Free) (New England Biolabs, Великобритания) согласно протоколу производителя. Концентрацию РНК определяли на NanoPhotometer. Образцы хранили при температуре -70°C.

Обратную транскрипцию проводили с использованием набора MMLV RT kit («Евроген», Россия) согласно протоколу производителя. Выполняли отжиг праймера oligo(dT) в течение 2 минут, затем переносили образцы на лед. Далее добавляли реакционную смесь, содержащую 4 мкл 5× First strand buffer, 2 мкл dNTP, 2 мкл DTT и 1 мкл MMLV Reverse Transcriptase.

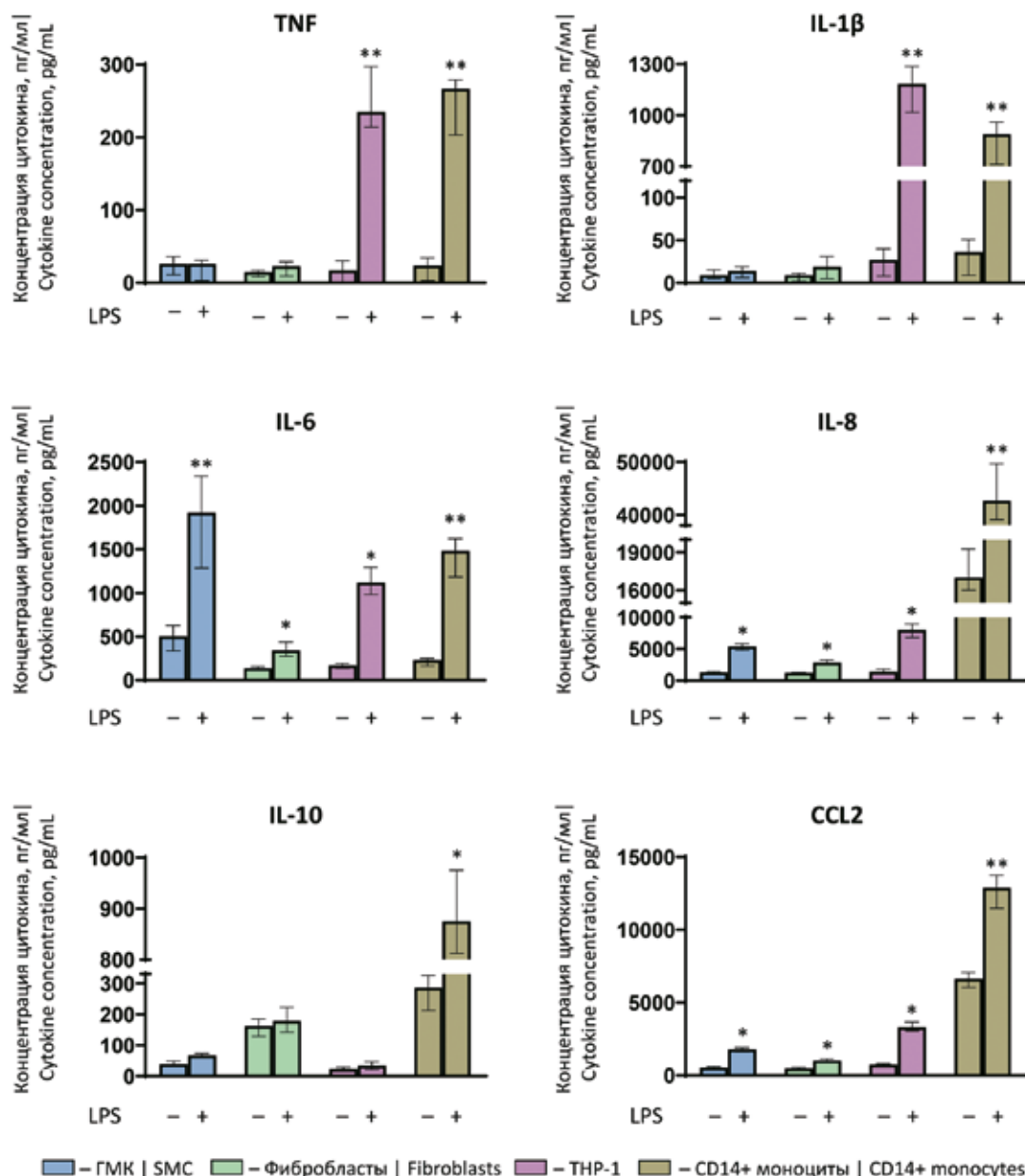


Рис. 1. Секретция цитокинов (TNF, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, CCL2) различными типами клеток на фоне стимуляции LPS. Типы клеток (ГМК [голубой], фибробласты [зеленый], THP-1 [сиреневый], CD14+ моноциты [коричневый]). Концентрации указаны в пг/мл. * p<0,05, ** p<0,01; (критерий Манна-Уитни). N=3

Fig. 1. Cytokine secretion (TNF, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, and CCL2) by different cell types upon LPS stimulation. Cell types (SMC [blue], fibroblasts [green], THP-1 [lilac], and CD14+ monocytes [brown]). Concentrations are shown in pg/mL. * p<0.05; ** p<0.01 (Mann-Whitney test). N=3

Реакцию проводили на амплификаторе с нагревающейся крышкой при 40°C в течение 1 часа, затем при 70°C в течение 10 минут и охлаждали.

Для полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени готовили смесь, содержащую 5 мкл SYBR-mix («Евроген», Россия), 14 мкл воды и праймеры (прямой и обратный) в конечной концентрации 400 нМ. В каждую лунку вносили 5 нг кДНК и 20 мкл реакционной смеси. Условия амплификации: 95°C – 5 минут (95°C – 20 секунд,

59°C – 15 секунд, 72°C – 30 секунд) X 40. В качестве референсного гена использовали RPL37. В работе использовали последовательности праймеров:

TNF (F: GCTTGTCCTCAGCCTCTTCT;
R: GGTTTGCTACAACATGGGCTA),
IL-1β (F: CCAGTGAAATGATGGCTTATTAC;
R: CTGTAGTGGTGGTCGGAGATT),
IL-6 (F: CACAGACAGCCACTCACCTC;
R: TTTTCTGCCAGTGCCTCTTT),
IL-8 (F: AGTTTTTGAAGAGGGCTGAGAAT;

R: CAACAGACCCACACAATACATGA),
CCL2 (F: TGCCCCAGTCACCTGCTGTTAT;
R: GAATCCTGAACCCACTTCTGCTTG),
RPL37 (F: TGGCTCTAAGGCCTACCACC;
R: GCCTCATTCGACCAGTTCCG).

Для изучения влияния форбол-12-миристат-13-ацетата (PMA) на провоспалительный ответ клетки THP-1 высевали в 24-луночные планшеты по 1 мл на лунку при концентрации 1 млн в 1 мл. В среду добавляли PMA (Sigma-Aldrich, США) в конечной концентрации 5, 10 или 20 нг/мл и инкубировали 24 часа при 37°C и 5% CO₂. Через 24 часа культуральную среду отбирали для последующего анализа и заменяли на свежую среду без PMA. Культивирование продолжали еще 48 часов в тех же условиях. Культуральную среду отбирали на 1-е и 3-и сутки от начала стимуляции PMA (соответственно, через 24 часа и 72 часа) и использовали для определения концентраций цитокинов методом ELISA.

Для оценки возможности изучения митофагии и прижизненной конфокальной микроскопии использовали митохондриальный зонд MitoTracker Green (Thermo Fisher Scientific, США) и лизосомальный зонд LysoTracker Deep Red (Thermo Fisher Scientific, США) в конечных концентрациях 100 нМ и 50 нМ, соответственно. Для усиления адгезии и распластности THP-1 клетки стимулировали PMA. Поскольку PMA способен сам по себе запускать провоспалительную секрецию, уровни TNF, IL-1 β , IL-6, IL-8 и CCL2 оценивали через 1 и 3 суток после обработки. Так как клетки находились в монослое распластанные, съемку проводили в X/Y-сечении. Клетки THP-1 инкубировали 30 минут в 2 мл среды с красителями, затем центрифугировали при 300 g в течение 5 минут, удаляли супернатант и ресуспендировали осадок в свежей среде. Полученную суспензию переносили в конфокальную чашку и проводили съемку. Для hTERT 977, ГМК и CD14+ моноцитов клетки предварительно инкубировали в конфокальном планшете в течение 24 часов для прикрепления, затем удаляли супернатант, добавляли 2 мл среды с красителями и инкубировали 30 минут. После инкубации клетки промывали PBS и проводили съемку в среде. Конфокальная съемка проводилась с использованием микроскопа Leica DMi8 STELLARIS (Leica Microsystems, Германия), оснащенного объективом HC PL APO CS2 63 $\times$ /1,40 (иммерсионное масло, показатель преломления 1,518). Изображения регистрировались в режиме X/Y съемки при частоте 600 Гц и времени экспозиции на пиксель 0,21 мкс, без усреднения по линиям и кадрам. Размер диафрагмы pinhole составлял 85,6 мкм ($\approx$ 1 AU). Возбуждение флуоресценции осуществлялось лазерами с длиной волны 488 и 638 нм (мощность 2%). Детекция сигнала проводилась с использованием HyD в диапазонах 494–568 нм (gain 30, offset 0) и 647–787 нм (gain 20, offset 0). Размер изображения составлял 4096 $\times$ 4096 пикселей, размер пикселя – 0,05 мкм. Для анализа колокализации задействовали программ-

ное обеспечение CellProfiler (Imaging Platform Broad Institute, США) [19]. В качестве входных данных загружали три канала изображений: митохондриальный сигнал (MitoTracker Green), лизосомальный сигнал (LysoTracker Deep Red) и канал, содержащий изображение клеток. Для определения границ клеток применяли модуль IdentifyPrimaryObjects, при этом каждая клетка рассматривалась как отдельный объект анализа. Количественную оценку колокализации выполняли при помощи модуля MeasureColocalization, в котором рассчитывали коэффициент Мандерса, отражающий долю митохондриального сигнала, совпадающего с лизосомальным сигналом. Полученные данные экспортировали с использованием модуля ExportToSpreadsheet.

Статистический анализ проводили в IBM SPSS Statistics (IBM, США). Нормальность распределения оценивали, применяя критерий Колмогорова–Смирнова. При нормальном распределении данные представляли как среднее $\pm$ стандартная ошибка среднего и использовали t-критерий Стьюдента. При ненормальном распределении данные представляли как медиану (Q1; Q3) и применяли тест Уилкоксона для связанных выборок. Уровень статистической значимости принимали равным $p < 0,05$. При сравнении нескольких экспериментальных групп с одной контрольной группой применяли поправку Бонферрони для множественных сравнений. Скорректированный уровень значимости определяли как $0,05/m$, где m – число парных сравнений. Различия считали статистически значимыми при $p_{adj} < 0,05$.

Результаты

На фоне стимуляции LPS клетки демонстрировали разный провоспалительный профиль. В THP-1 повышалась секреция TNF, IL-1 β , IL-6, IL-8 и CCL2. ГМК и фибробласты секретируют IL-6, IL-8 и CCL2. В CD14+ моноцитах повышалась секреция цитокинов TNF, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 и CCL2 (рис. 1).

Данные экспрессии согласовывались с результатами по секреции цитокинов и поддерживали вывод о воспроизводимой LPS-индуцированной активации в этой модели (рис. 2).

ГМК и фибробласты демонстрировали выраженную распластанность. При этом клеток было мало в поле зрения, они сильно различались по размеру, что затрудняло количественную оценку митофагии. Первичные макрофаги также были распластанными, однородными по размеру, их было больше в поле зрения. Клетки THP-1 не распластывались, их было больше в поле зрения, и они были однородными, что удобно для стандартизированного анализа. Расширенная версия конфокальных снимков по отдельным каналам MitoTracker Green, LysoTracker Deep Red и с наложением каналов представлена на рисунке 3.

Отдельные зоны интереса, выделенные справа на рисунке 3, представлены на рисунке 4 с расчетом колокализации по коэффициенту Мандерса (рис. 4 B).

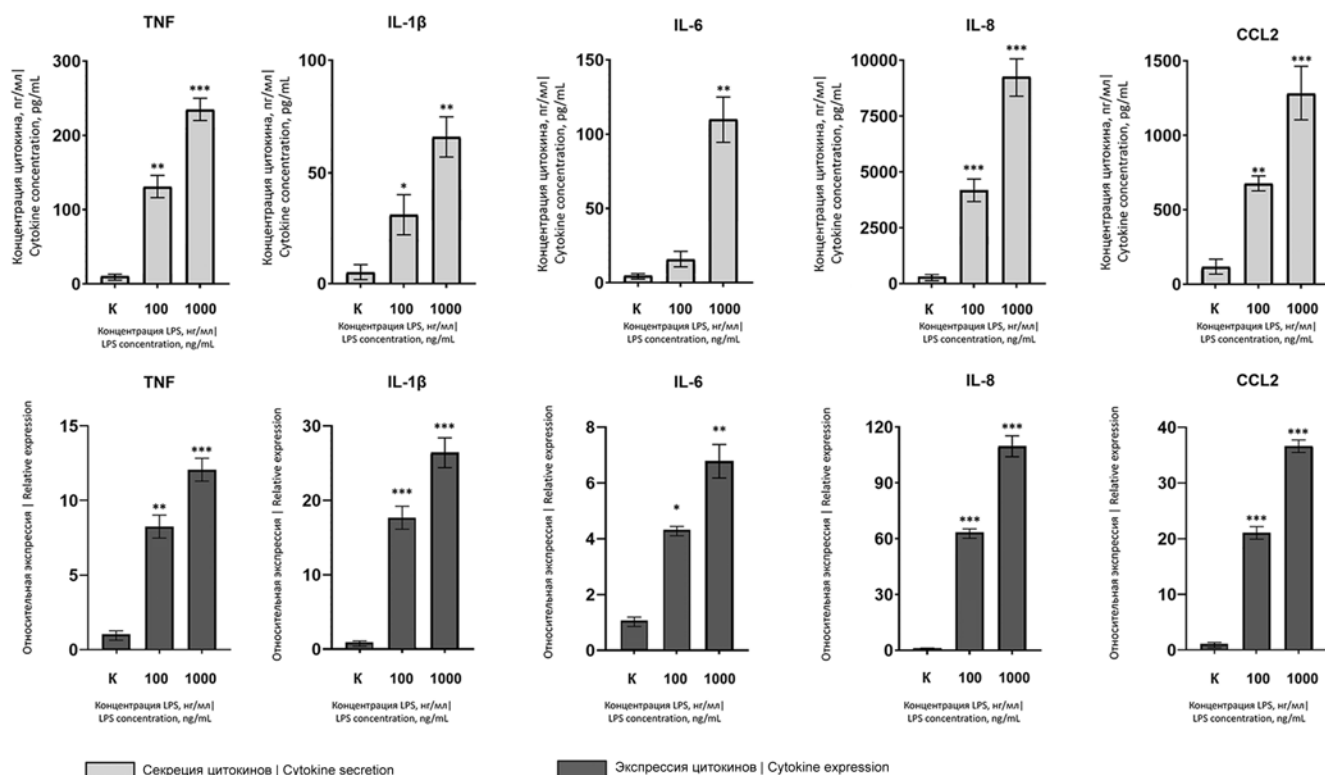


Рис. 2. Секретия и экспрессия цитокинов в ответ на стимуляцию LPS клеточной линией THP-1. На верхних графиках по оси Y – секретия цитокинов TNF, IL-1β, IL-6, IL-8, CCL2. На нижних графиках относительная экспрессия цитокинов. По оси X – концентрация LPS (контроль, 100 нг/мл, 1000 нг/мл). Данные представлены как среднее ± SEM. Статистическую значимость оценивали при сравнении каждой экспериментальной группы с контролем с использованием t-критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони на множественные сравнения. * – $p_{adj} < 0,05$, ** – $p_{adj} < 0,01$, *** – $p_{adj} < 0,001$. Представлены данные одного репрезентативного эксперимента из трех

Fig. 2. Secretion and expression of cytokines in response to LPS stimulation by the THP-1 cell line. On the upper graphs, along the Y-axis, is the secretion of the cytokines TNF, IL-1β, IL-6, IL-8, and CCL2. On the lower graphs, the relative expression of cytokines. On the X-axis, the concentration of LPS (control, 100 ng/mL, 1000 ng/mL). Data are presented as mean ± SEM. Statistical significance was assessed by comparing each experimental group with the control group using Student's t-test with Bonferroni correction for multiple comparisons. Significance levels are indicated as follows: * – $p_{adj} < 0,05$, ** – $p_{adj} < 0,01$, *** – $p_{adj} < 0,001$. Data from one representative experiment out of three are shown

РМА вызывал выраженную провоспалительную активацию, сопоставимую и местами превышающую эффект LPS по уровню секретируемых цитокинов. Кроме того, после обработки РМА сохранялась повышенная концентрация цитокинов IL-8 и CCL2 в супернатанте даже спустя 3 дня вне зависимости от количества добавленного РМА (рис. 5).

Показано, что выбранные модели подходят для количественной оценки LPS-ответа, анализа экспрессии и оценки митофагии с использованием конфокальной микроскопии.

Были подобраны условия, при которых выбранные клеточные модели позволяют проводить комплексный анализ LPS-индуцированного ответа, выполнять конфокальную съемку и оценивать митофагию. Кроме того, секретия цитокинов, количественно измеренная методом ELISA, дополнительно подтверждалась изменениями экспрессии соответствующих генов. Следовательно, данные клеточные модели подходят

для изучения различий в механизмах формирования иммунного ответа.

Обсуждение

В рамках данной работы была проведена оценка LPS-индуцированной секретии цитокинов в нескольких клеточных моделях, включая моноциты, макрофаги, фибробласты и гладкомышечные клетки. Провоспалительные цитокины секретируются не только иммунными клетками, но и клетками сосудистой стенки. Перед запуском исследования по изучению молекулярных механизмов воспаления требовалось подтвердить воспроизводимую реакцию каждой клеточной модели на стимуляцию LPS. В исследовании секретия цитокинов (IL-6, IL-8, CCL2) фибробластами и гладкомышечными клетками воспроизводилась, хотя ее уровень был ниже, чем у моноцитов и макрофагов. Ранее для адвентициальных фибробластов человека было показано, что LPS через TLR4/NF-κB может

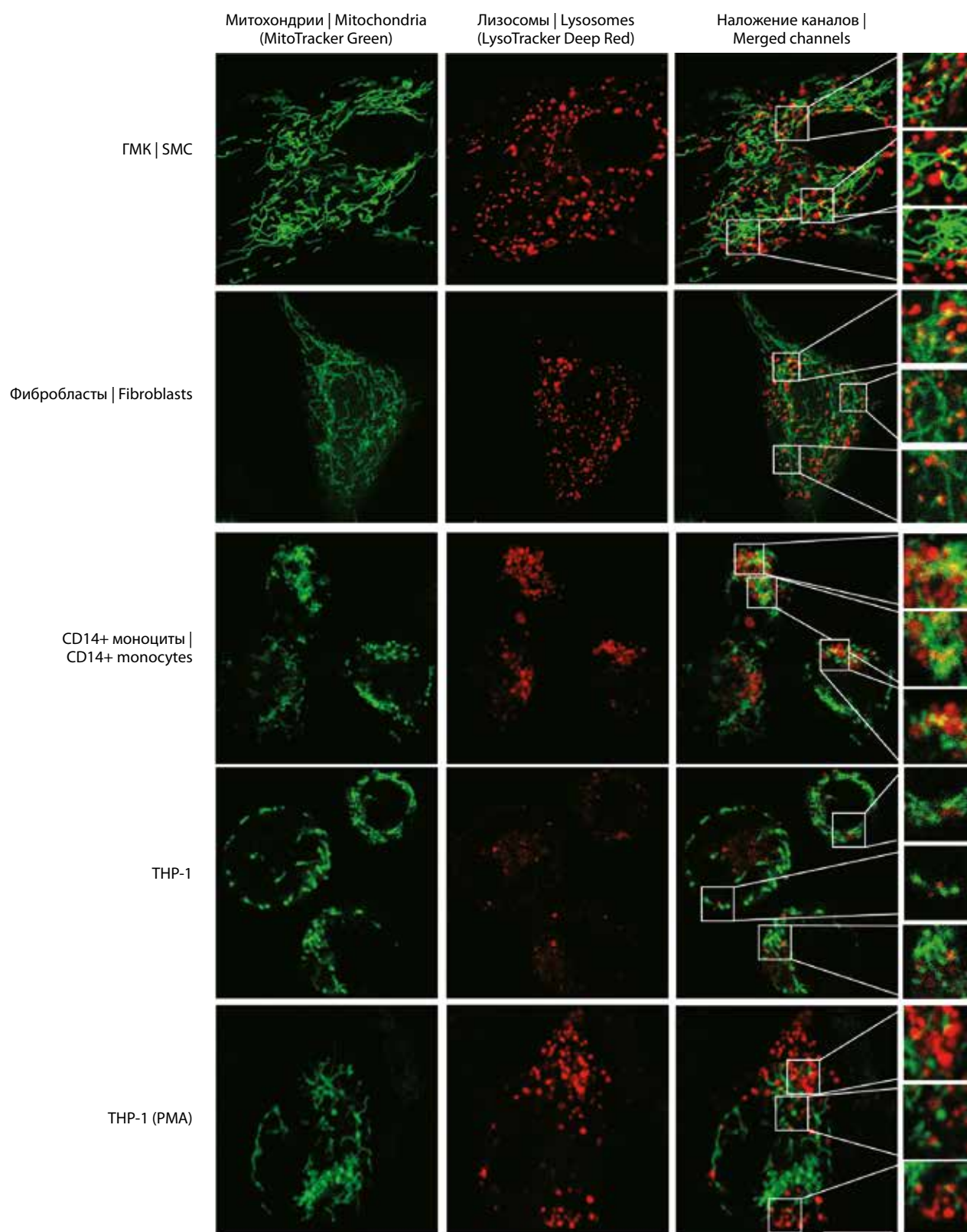


Рис. 3. Конфокальные изображения различных типов клеток. Представлены репрезентативные фотографии каналов и их совмещения в ГМК, фибробластах, CD14+ моноцитах, THP-1, THP-1 (PMA). Митохондрии (MitoTracker Green) отмечены зеленым, лизосомы (LysoTracker Deep Red) красным. Отдельно выделены зоны колокализации митохондрий и лизосом. Масштаб 20 μ m

Fig. 3. Confocal representative images of various cell types show channels and their superposition in SMCs, fibroblasts, CD14+ monocytes, THP-1, and THP-1 (PMA). Mitochondria (MitoTracker Green) are shown in green and lysosomes (LysoTracker Deep Red), in red. Colocalization zones of mitochondria and lysosomes are highlighted separately. Scale bar, 20 μ m

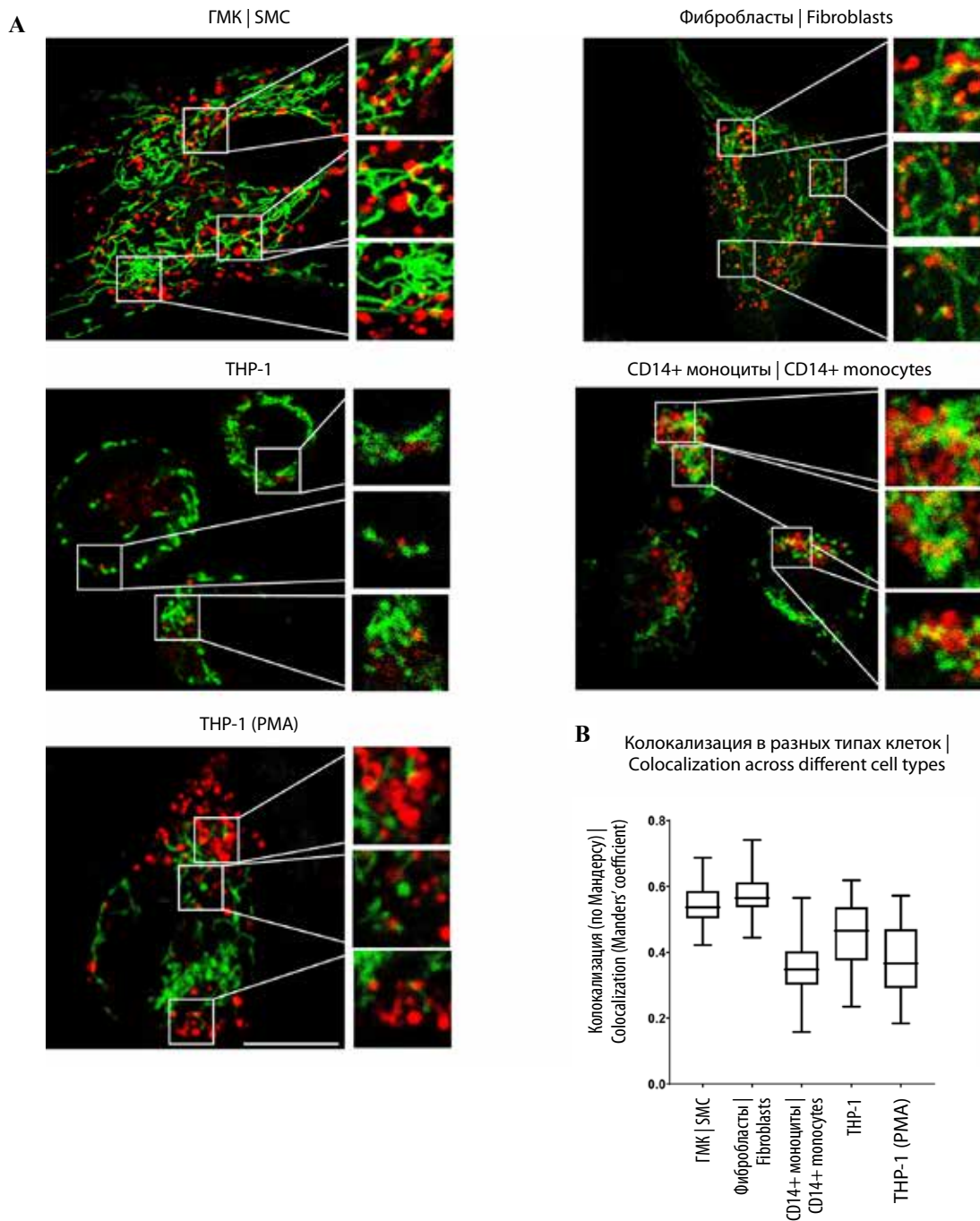


Рис. 4. Конфокальные изображения различных типов клеток.

А – изображения совмещения каналов в ГМК, фибробластов, CD14+ моноцитов, THP-1, THP-1 (PMA). Митохондрии (MitoTracker Green) отмечены зеленым, лизосомы (LysoTracker Deep Red) красным. Отдельно выделены зоны колокализации митохондрий и лизосом. Масштаб 20 μ m. В – уровень митофагии в разных типах клеток. Колокализацию оценивали по коэффициенту Мандерса, рассчитанному как доля сигнала MitoTracker Green, совпадающего с сигналом LysoTracker Deep Red. На диаграмме типа boxplot медиана представлена центральной линией внутри бокса, границы бокса соответствуют первому и третьему квартилям (Q1 и Q3), а усы отражают минимальное и максимальное значения

Fig. 4. Confocal images of different cell types.

A – representative merged-channel images of smooth muscle cells, fibroblasts, CD14+ monocytes, THP-1 cells, and PMA-treated THP-1 cells. Mitochondria stained with MitoTracker Green are shown in green, and lysosomes stained with LysoTracker Deep Red, in red. Regions of mitochondria-lysosome colocalization are highlighted separately. Scale bar, 20 μ m. B – mitophagy levels in different types. Colocalization was assessed using the Manders coefficient, calculated as the proportion of the MitoTracker Green signal that coincides with the LysoTracker Deep Red signal. In the boxplot, the median is represented by the central line within the box, the box boundaries correspond to the first and third quartiles (Q1 and Q3), and the whiskers indicate the minimum and maximum values

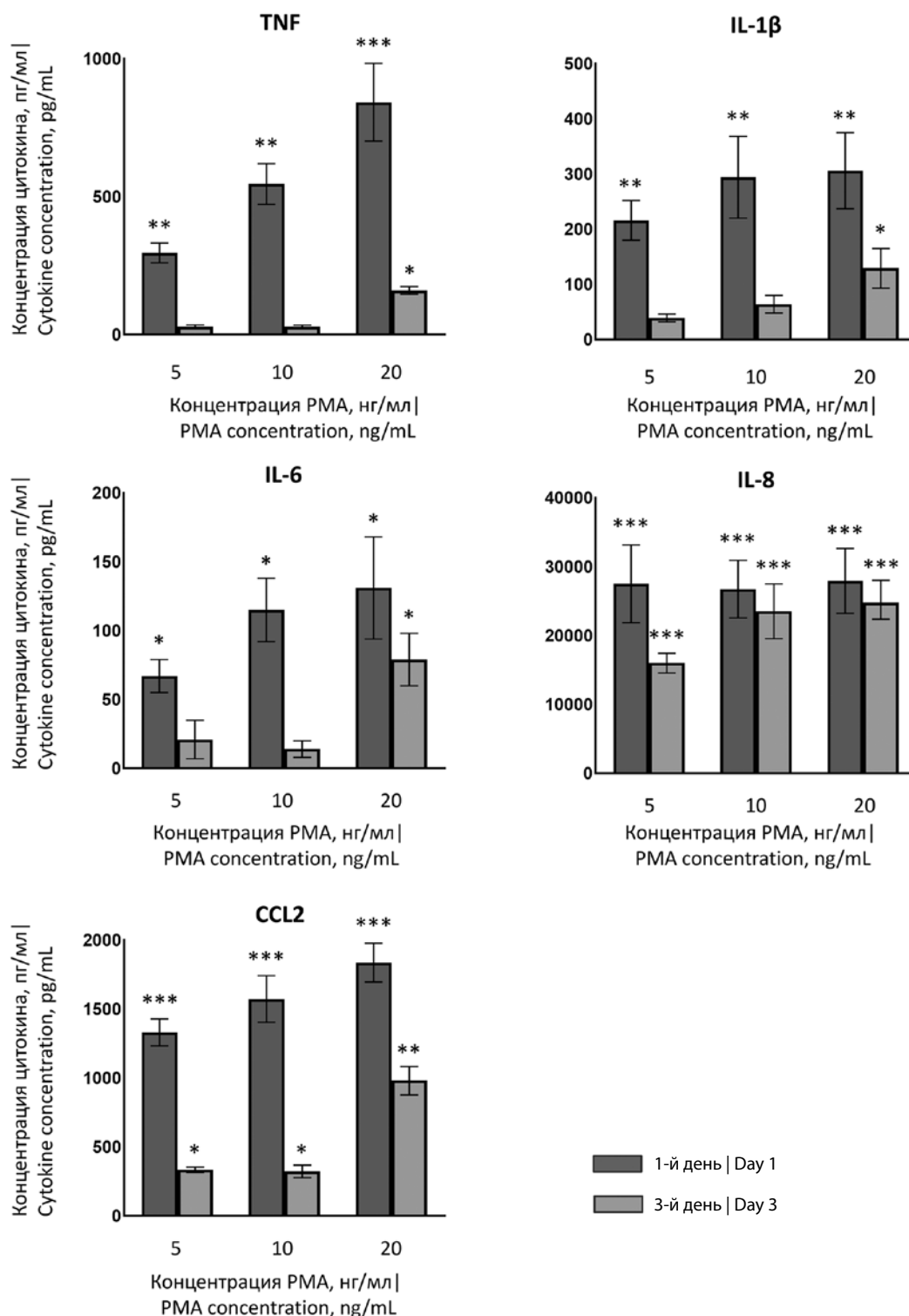


Рис. 5. Секретция цитокинов в ответ на стимуляцию PMA клеточной линией THP-1. По оси X концентрация PMA (5 нг/мл, 10 нг/мл, 20 нг/мл). Темно-серый – спустя 1 день, светло-серый – спустя 3 дня. Секретцию сравнивали с базальным уровнем (не представлен, так как был около нуля). * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ по результатам t-критерия Стьюдента. Представлены данные одного репрезентативного эксперимента из трех

Fig. 5. Cytokine secretion in response to PMA stimulation by the THP-1 cell line. The X-axis shows PMA concentration (5 ng/mL, 10 ng/mL, 20 ng/mL). Dark gray – day 1, light gray – day 3. Secretion was compared with the basal level (not shown, as it was near zero) * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$ according to the results of Student's t-test. Data from one representative experiment out of three are shown

усиливать секрецию CCL2 в супернатанте [20]. Для гладкомышечных клеток (как мышинных, так и человеческих) также показано, что стимуляция LPS индуцировала продукцию IL-6 [21]. Кроме того, в культуре человеческих аортальных адвентициальных фибробластов и гладкомышечных клеток LPS повышал секрецию IL-8, CCL2 и IL-6 [22]. В совокупности это согласуется с представленными данными о том, что гладкомышечные клетки и фибробласты способны повышать секрецию провоспалительных цитокинов в ответ на LPS.

Для задач, связанных с митохондриями и митофагией, было важно подтвердить применимость прижизненной конфокальной визуализации митохондрий и лизосом в разных типах клеток. В других работах на человеческих гладкомышечных клетках митофагию оценивали по набору белковых маркеров (LC3-I/LC3-II, Beclin-1, p62, PINK1, Parkin, VDAC1, Tom20) [23]. В исследованиях на фибробластах у пациентов с тяжелой бронхиальной астмой применяли qRT-PCR, Western blot и иммунофлуоресцентную оценку маркеров [24]. Также для оценки митофагии использовали флуоресцентную метку mt-Keima [25]. В данной работе основной акцент сделан на визуализации. Мы использовали прижизненное окрашивание MitoTracker Green и LysoTracker Deep Red для оценки колокализации митохондрий и лизосом как наглядного клеточного признака митофагии, такой подход уже применяется в опубликованных исследованиях [24, 26].

Для усиления адгезии ТНР-1 в настоящем исследовании использовали РМА. Известно, что РМА-индуцированная дифференцировка ТНР-1 сопровождается изменением цитокинового профиля. В частности, показаны повышение секреции TNF, IL-10 и IFN- γ при добавлении РМА в концентрации 10 нг/мл [27], а также устойчивые изменения уровня экспрессии IL-8 при дифференцировке ТНР-1 [28]. Предполагалось, что минимальная доза РМА (5 нг/мл) и последующий период покоя в течение 3 суток будут достаточны для снижения остаточного эффекта РМА, однако для части цитокинов (IL-6, IL-8, CCL2) сохранялся повышенный уровень секреции, что может усложнять интерпретацию экспериментов, направленных на изучение молекулярных механизмов воспаления.

Закключение

Проведенная работа убедительно демонстрирует, что выбранные клеточные модели позволяют количественно оценивать LPS-индуцированную секрецию цитокинов, сопоставлять ее с изменениями экспрессии генов и выполнять прижизненную конфокальную визуализацию митохондрий и лизосом. Это создает основу для последующих исследований механизмов воспалительного ответа, толерантности и процессов, связанных с митофагией, в разных типах клеток сосудистой стенки и в моноцитах.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – С.С. Верхова, Н.Г. Никифоров, Е.Е. Егоров, А.Н. Орехов.
Сбор и обработка материала – С.С. Верхова, А.Д. Журавлев, Е.С. Чегодаев, Д.Б. Эрдынеева, М.А. Попов, Х.С. Вишнякова, У.С. Хованцева, А.М. Маркин, Д.Г. Брешенков, Э.Р. Чарчян.
Написание текста – С.С. Верхова, Н.Г. Никифоров.
Редактирование – Н.Г. Никифоров, А.Д. Журавлев.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – S.S. Verkhova, N.G. Nikiforov, Y.E. Egorov, A.N. Orekhov.
Collected the data and performed the analysis – S.S. Verkhova, A.D. Zhuravlev, Y.S. Chegodaev, D.B. Erdynееva, M.A. Popov, K.S. Vishnyakova, U.S. Khovantseva, A.M. Markin, D.G. Breshenkov, E.R. Charchyan.
Wrote the paper – S.S. Verkhova, N.G. Nikiforov.
Edited the manuscript – N.G. Nikiforov, A.D. Zhuravlev.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Благодарность

Авторы выражают благодарность Институту биологии гена РАН за возможность использовать необходимое оборудование.

Acknowledgment

The authors express their sincere gratitude to the Institute of Gene Biology of the Russian Academy of Sciences for providing access to the equipment necessary for this research.

Литература/References

1. Roth GA, Mensah GA, Johnson CO, Addolorato G, Ammirati E, Baddour LM et al. Global burden of cardiovascular diseases and risk factors, 1990-2019: Update from the GBD 2019 study. *J Am Coll Cardiol.* 2020;76(25):2982–3021. DOI: 10.1016/j.jacc.2020.11.010.
2. Libby P. The changing landscape of atherosclerosis. *Nature.* 2021;592(7855):524–33. DOI: 10.1038/s41586-021-03392-8.
3. Borén J, Chapman MJ, Krauss RM, Packard CJ, Bentzon JF, Binder CJ et al. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease: pathophysiological, genetic, and therapeutic insights: a consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *Eur Heart J.* 2020;41(24):2313–30. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz962.
4. Depuydt MAC, Prange KHM, Slenders L, Örd T, Elbersen D, Boltjes A et al. Microanatomy of the human atherosclerotic plaque by single-cell transcriptomics. *Circ Res.* 2020;127(11):1437–55. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.120.316770.
5. Groh L, Keating ST, Joosten LAB, Netea MG, Riksen NP. Monocyte and macrophage immunometabolism in atherosclerosis. *Semin Immunopathol.* 2018;40(2):203–14. DOI: 10.1007/s00281-017-0656-7.
6. Ridker PM, Everett BM, Thuren T, MacFadyen JG, Chang WH, Ballantyne C et al. Antiinflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease. *N Engl J Med.* 2017;377(12):1119–31. DOI: 10.1056/NEJMoa1707914.
7. Okazaki S, Sakaguchi M, Miwa K, Furukado S, Yamagami H, Yagita Y et al. Association of interleukin-6 with the progres-

- sion of carotid atherosclerosis: a 9-year follow-up study. *Stroke*. 2014;45(10):2924–9. DOI: 10.1161/STROKEAHA.114.005991.
8. *Ridker PM, Devalaraja M, Baeres FMM, Engelmann MDM, Hovingh GK, Ivkovic M et al.* IL-6 inhibition with ziltivekimab in patients at high atherosclerotic risk (RESCUE): a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet*. 2021;397(10289):2060–9. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)00520-1.
 9. *Ridker PM, Baeres FMM, Hveplund A, Engelmann MMD, Hovingh GK, Lincoff AM et al.* Rationale, design, and baseline clinical characteristics of the Ziltivekimab Cardiovascular Outcomes Trial: interleukin-6 inhibition and atherosclerotic event rate reduction. *JAMA Cardiol*. 2026;11(1):89–97. DOI: 10.1001/jamacardio.2025.4491.
 10. *Georgakis MK, de Lemos JA, Ayers C, Wang B, Björkbacka H, Pana TA et al.* Association of circulating monocyte chemoattractant protein-1 levels with cardiovascular mortality: a meta-analysis of population-based studies. *JAMA Cardiol*. 2021;6(5):587–92. DOI: 10.1001/jamacardio.2020.5392.
 11. *Nikiforov NG, Kirichenko TV, Kubekina MV, Chegodaev YS, Zhuravlev AD, Ilchuk LA et al.* Macrophages derived from LPS-stimulated monocytes from individuals with subclinical atherosclerosis were characterized by increased pro-inflammatory activity. *Cytokine*. 2023;172:156411. DOI: 10.1016/j.cyt.2023.156411.
 12. *Bashore AC, Coronel J, Xue C, Zhu LY, Reilly MP.* Single-cell multimodal profiling reveals a novel CD26⁺ fibroblast subpopulation in atherosclerosis – brief report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2025;45(8):1389–97. DOI: 10.1161/ATVBAHA.124.322370.
 13. *Dutzmann J, Daniel JM, Korte L, Kloss FJ, Knöpp K, Kalies K et al.* Adventitial fibroblasts release interleukin-6 after vascular injury and induce smooth muscle cell proliferation and neointima formation. *J Am Heart Assoc*. 2025;14(14):e040143. DOI: 10.1161/JAHA.124.040143.
 14. *Shankman LS, Gomez D, Cherepanova OA, Salmon M, Alencar GF, Haskins RM et al.* KLF4-dependent phenotypic modulation of smooth muscle cells has a key role in atherosclerotic plaque pathogenesis. *Nat Med*. 2015;21(6):628–37. DOI: 10.1038/nm.3866.
 15. *Ding Z, Liu S, Wang X, Dai Y, Khaidakov M, Deng X et al.* LOX-1, mtDNA damage, and NLRP3 inflammasome activation in macrophages: implications in atherogenesis. *Cardiovasc Res*. 2014;103(4):619–28. DOI: 10.1093/cvr/cvu114.
 16. *Meechem M, Jadli A, Gomes K, Mackay C, Chen Y, Ballasy N et al.* Vascular smooth muscle cell phenotypic differentiation and metabolic dysfunction in thoracic aorta atherosclerosis. *Can J Cardiol*. 2022;38(10):S220. DOI: 10.1016/j.cjca.2022.08.206.
 17. *Nahapetyan H, Moulis M, Grousset E, Faccini J, Grazide MH, Mucher E et al.* Altered mitochondrial quality control in Atg7-deficient VSMCs promotes enhanced apoptosis and is linked to unstable atherosclerotic plaque phenotype. *Cell Death Dis*. 2019;10(2):119. DOI: 10.1038/s41419-019-1400-0.
 18. *Khovantseva U, Kiseleva D, Cherednichenko V, Chakal D, Breshenkov D, Markina Y et al.* The new perspective on understanding the mechanisms of cardiovascular diseases development. *Sci Rep*. 2025;15(1):26596. DOI: 10.1038/s41598-025-11345-8.
 19. *Dunn KW, Kamocka MM, McDonald JH.* A practical guide to evaluating colocalization in biological microscopy. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2011;300(4):C723–42. DOI: 10.1152/ajpcell.00462.2010.
 20. *Wang J, Si Y, Wu C, Sun L, Ma Y, Ge A et al.* Lipopolysaccharide promotes lipid accumulation in human adventitial fibroblasts via TLR4-NF- κ B pathway. *Lipids Health Dis*. 2012;11:139. DOI: 10.1186/1476-511X-11-139.
 21. *Lee GL, Wu JY, Tsai CS, Lin CY, Tsai YT, Lin CS et al.* TLR4-activated MAPK-IL-6 axis regulates vascular smooth muscle cell function. *Int J Mol Sci*. 2016;17(9):1394. DOI: 10.3390/ijms17091394.
 22. *Schnittker D, Kwofie K, Ashkar A, Trigatti B, Richards CD.* Oncostatin M and TLR-4 ligand synergize to induce MCP-1, IL-6, and VEGF in human aortic adventitial fibroblasts and smooth muscle cells. *Mediators Inflamm*. 2013;2013:317503. DOI: 10.1155/2013/317503.
 23. *He L, Zhou Q, Huang Z, Xu J, Zhou H, Lv D et al.* PINK1/Parkin-mediated mitophagy promotes apelin-13-induced vascular smooth muscle cell proliferation by AMPK α and exacerbates atherosclerotic lesions. *J Cell Physiol*. 2019;234(6):8668–82. DOI: 10.1002/jcp.27527.
 24. *Ramakrishnan RK, Bajbouj K, Hachim MY, Mogas AK, Mahboub B, Olivenstein R et al.* Enhanced mitophagy in bronchial fibroblasts from severe asthmatic patients. *PloS One*. 2020;15(11):e0242695. DOI: 10.1371/journal.pone.0242695.
 25. *Kelly G, Kataura T, Panek J, Ma G, Salmonowicz H, Davis A et al.* Suppressed basal mitophagy drives cellular aging phenotypes that can be reversed by a p62-targeting small molecule. *Dev Cell*. 2024;59(15):1924–39.e7. DOI: 10.1016/j.devcel.2024.04.020.
 26. *Klionsky DJ, Abdel-Aziz AK, Abdelfatah S, Abdellatif M, Abdoli A, Abel S et al.* Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition). *Autophagy*. 2021;17(1):1–382. DOI: 10.1080/15548627.2020.1797280.
 27. *Biriken D, Yazihan N, Yılmaz Ş.* Investigation of cytokine and midkine responses of human THP-1 leukemia cells induced by phorbol-12-Myristate-13-Acetate (PMA) at different concentrations and times. *Mikrobiyol Bul*. 2018;52(2):147–55. DOI: 10.5578/mb.66745.
 28. *Mahmoud L, Al-Enezi F, Al-Saif M, Warsy A, Khabar KS, Hitti EG.* Sustained stabilization of interleukin-8 mRNA in human macrophages. *RNA Biol*. 2014;11(2):124–33. DOI: 10.4161/rna.27863.

Информация об авторах

Светлана Сергеевна Верхова – старший лаборант лаборатории ангиопатологии НИИ общей патологии и патофизиологии, аспирантка при лаборатории клеточной и молекулярной патологии сердечно-сосудистой системы НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Никита Геннадьевич Никифоров – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории ангиопатологии НИИ общей патологии и патофизиологии, старший научный сотрудник лаборатории клеточной и молекулярной патологии сердечно-сосудистой системы НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского, старший инженер лаборатории клеточных основ развития злокачественных заболеваний ИМБ им. В.А. Энгельгардта РАН.

Александр Дмитриевич Журавлев – младший научный сотрудник лаборатории ангиопатологии НИИ общей патологии и патофизиологии.

Егор Евгеньевич Егоров – доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных основ развития злокачественных заболеваний ИМБ им. В.А. Энгельгардта РАН.

Михаил Александрович Попов – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения кардиохирургии МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского.

Егор Сергеевич Чегодаев – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории ангиопатологии НИИ общей патологии и патофизиологии.

Даяна Батоевна Эрдынеева – старший лаборант лаборатории ангиопатологии НИИ общей патологии и патофизиологии.

Хава Сафиулловна Вишнякова – кандидат биологических наук, ведущий инженер лаборатории клеточных основ развития злокачественных заболеваний ИМБ им. В.А. Энгельгардта РАН.

Ульяна Сергеевна Хованцева – научный сотрудник лаборатории клеточной и молекулярной патологии сердечно-сосудистой системы НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Александр Михайлович Маркин – кандидат медицинских наук, руководитель ресурсного центра, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной и молекулярной патологии сердечно-сосудистой системы НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского, старший преподаватель кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии Российского университета дружбы народов имени Патриса Лумумбы.

Денис Геннадьевич Брешенков – кандидат медицинских наук, врач-сердечно-сосудистый хирург операционного блока, ведущий научный сотрудник I кардиохирургического отделения (отделение реконструктивно-восстановительной сердечно-сосудистой хирургии) Научно-клинического центра № 1 РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Эдуард Рафаэлович Чарчян – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий отделением – врач-сердечно-сосудистый хирург, главный научный сотрудник I кардиохирургического отделения (отделение реконструктивно-восстановительной сердечно-сосудистой хирургии) Научно-клинического центра № 1 РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского.

Александр Николаевич Орехов – доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией ангиопатологии НИИ общей патологии и патофизиологии.

Author information

Svetlana S. Verkhova – Senior Laboratory Assistant, Laboratory of Angiopathology, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology; Postgraduate Student, Laboratory of Cellular and Molecular Pathology of the Cardiovascular System, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.
<https://orcid.org/0000-0002-7953-0586>

Nikita G. Nikiforov – Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Laboratory of Angiopathology, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology; Senior Researcher, Laboratory of Cellular and Molecular Pathology of the Cardiovascular System, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”; Senior Engineer, Laboratory of Cellular Bases of Malignant Disease Development, Engelhardt Institute of Molecular Biology.
<https://orcid.org/0000-0002-2082-2429>

Alexander D. Zhuravlev – Junior Researcher, Laboratory of Angiopathology, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology.
<https://orcid.org/0000-0002-0451-2594>

Yegor E. Yegorov – Dr. Sci. (Biol), Professor, Leading Researcher, Laboratory of Cellular Foundations of Malignant Disease Development, Engelhardt Institute of Molecular Biology.
<https://orcid.org/0000-0002-5990-4077>

Mikhail A. Popov – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Department of Cardiac Surgery, Moscow Regional Research and Clinical Institute.
<https://orcid.org/0000-0002-0316-8410>

Yegor S. Chegodaev – Cand. Sci. (Biol.), Junior Researcher, Laboratory of Angiopathology, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology.
<https://orcid.org/0009-0005-7710-2202>

Daiana B. Erdyneeva – Senior Laboratory Assistant, Laboratory of Angiopathology, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology.
<https://orcid.org/0000-0003-2279-0157>

Khava S. Vishnyakova – Cand. Sci. (Biol.), Leading Engineer, Laboratory of Cellular Foundations of Malignant Disease Development, Engelhardt Institute of Molecular Biology.
<https://orcid.org/0000-0002-3288-6382>

Ulyana S. Khovantseva – Junior Researcher, Laboratory of Cellular and Molecular Pathology of the Cardiovascular System, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”.
<https://orcid.org/0000-0002-2875-6999>

Alexander M. Markin – Cand. Sci. (Med.), Head of the Resource Center, Leading Researcher, Laboratory of Cellular and Molecular Pathology of the Cardiovascular System, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI “Petrovsky National Research Centre of Surgery”; Senior Lecturer, Department of Histology, Cytology and Embryology, Patrice Lumumba Peoples’ Friendship University of Russia.
<https://orcid.org/0000-0002-6649-7924>

Denis G. Breshenkov – Cand. Sci. (Med.), Cardiovascular Surgeon at the Operating Room, Leading Researcher, Cardiosurgery Department (Department of Reconstructive Cardiovascular Surgery) No. 1, Scientific Clinical Center No. 1 of FSBSI “Petrovsky National Research Center of Surgery”.
<https://orcid.org/0000-0002-9459-9282>

Eduard R. Charchyan – Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department: Cardiovascular Surgeon, Chief Researcher, Cardiosurgery Department (Department of Reconstructive Cardiovascular Surgery) No. 1, Scientific Clinical Center No. 1 of FSBSI “Petrovsky National Research Center of Surgery”.
<https://orcid.org/0000-0002-0488-2560>

Alexander N. Orekhov – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Head of the Laboratory of Angiopathology, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology.
<https://orcid.org/0000-0002-6495-1628>

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0).

This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0).