

УДК 576.08, 57.085.23

МАРКЕРЫ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

© 2020 г. Н. В. Гончаров^{a, b, *}, П. И. Попова^c, П. П. Авдонин^d, И. В. Кудрявцев^{e, f},
М. К. Серебрякова^e, Е. А. Корф^a, П. В. Авдонин^d

^aИнститут эволюционной физиологии и биохимии

им. И.М. Сеченова РАН, Россия, 194223, Санкт-Петербург, просп. Тореза, 44

^bНИИ гигиены, профпатологии и экологии человека ФМБА России, Россия, 188663, Ленинградская обл.,
Всеволожский район, г.п. Кузьмолесский, ст. Капитолово, корп. 93,

^cСПб ГБУЗ “Городская поликлиника № 19”, Россия, 192238, Санкт-Петербург, Пискаревская ул., 11

^dИнститут биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Россия, 119334 Москва, ул. Вавилова, 26

^eИнститут экспериментальной медицины, Россия, 197376 Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12

^fДальневосточный федеральный университет, Россия, 690091 Владивосток, ул. Суханова, 8

*e-mail: ngoncharov@gmail.com

Поступила в редакцию 28.01.2019 г.

После доработки 28.03.2019 г.

Принята к публикации 02.04.2019 г.

Эндотелиальные клетки (ЭК) выстилают кровеносные и лимфатические сосуды, а также камеры сердца, образуя границу между тканями, с одной стороны, и кровью или лимфой, с другой. Такое стратегическое положение эндотелия обуславливает его важнейшую функциональную роль в регуляции сосудистого тонуса, гемостаза и воспалительных процессов. Повреждение эндотелия может одновременно быть и причиной, и следствием многих заболеваний. О состоянии эндотелия свидетельствует фенотип этих клеток, представленный главным образом (транс)мембранными маркерами (поверхностными антигенами). В данном обзоре дается определение эндотелиальных маркеров, приведен их перечень, рассмотрены механизмы их экспрессии и роль эндотелия в некоторых патологических состояниях.

Ключевые слова: эндотелий, маркеры, экспрессия, старение клеток, патология

DOI: 10.31857/S0233475519040054

ВВЕДЕНИЕ

Эндотелиальные клетки (ЭК) формируют своеобразный контейнер для крови, площадь которого у человека достигает 6000 м² [1]. Это уникальная диффузная ткань, суммарный вес кото-

рой равен примерно 700 г, а большая часть (примерно 600 г) образует стенки капилляров [2]. Микрососуды головного мозга составляют 3–4% его объема, их совокупная длина близка к 700 км, а поверхность обмена между кровью и паренхи-

Список сокращений: АПФ – ангиотензин-превращающий фермент, АФК – активные формы кислорода, Аβ – амилоид-β₁₋₄₀, ГГТ – γ-глутамилтранспептидаза, ГЭБ – гематоэнцефалический барьер, ЛПНП – липопротеины низкой плотности, MAO – моноаминоксидаза, PАС – ренин-ангиотензиновая система, ЦНС – центральная нервная система, ЭК – эндотелиальные клетки, ЭР – эндоплазматический ретикулум, Ang – ангиотензин, Angpt – ангиопоэтин, BMP-7 – костный морфогенетический белок 7, CAM – молекулы клеточной адгезии, Cav1 – кавеолин-1, ECFC – эндотелиальные колониеобразующие клетки, EGF – эндотелиальный фактор роста, EndoMT – эндотелиально-мезенхимальный переход, EPC – эндотелиальные прогениторы, ESAM – эндотелиальная селективная молекула адгезии, ESDN – нейропилин-подобный белок, синтезируемый эндотелиальными и гладкомышечными клетками, ET-1 – эндотелин 1, FAT – транслоказа жирных кислот, FGF – фактор роста фибробластов, GSK – киназа гликогеносинтазы, HIF – фактор, индуцируемый гипоксией, HUVEC – эндотелиальные клетки пупочной вены человека, ICAM-1 – молекула межклеточной адгезии-1, Ig – иммуноглобулин, KTS – синдром Клиппеля–Треноне, MSCAM – молекула адгезии клеток меланомы, MHC I – главный комплекс гистосовместимости I класса, mTOR – мишень рапамицина млекопитающих, NAADP – аденидинуклеотидфосфат никотиновой кислоты, ox-LDL – окисленные липопротеины низкой плотности, OP-1 – остеогенный белок-1, PAMP – патоген-ассоциированные молекулярные паттерны, PECAM – молекула адгезии тромбоцитов и эндотелиальных клеток, PI3K – фосфоинозитид-3-киназа, PKC – протеинкиназа C, PRR – паттерн-распознающие рецепторы, PTK – протеин-тирозин-киназа, TEM – опухолевый эндотелиальный маркер, TGF-β – трансформирующий фактор роста β, TM – тромбомодулин, TNAP – тканевая неспецифическая щелочная фосфатаза, TNF – фактор некроза опухоли, VEGF – фактор роста эндотелия сосудов, VWF – фактор Виллебранда, WPB – тельца Вейбеля–Палада, α-SMA – α-актин гладких мышц.

мой головного мозга — около 20 м^2 [3]. ЭК происходят из мезодермы на ранних стадиях гастрюляции. Ювенильные ЭК формируют первичное сосудистое сплетение и дифференцируются в артериальные, венозные, лимфатические и капиллярные ЭК (эмбриональный васкулогенез). Образование кровеносных сосудов *de novo* имеет место и после рождения за счет эндотелиальных прогениторов (ЕРС) костного мозга (постнатальный васкулогенез). Однако более известным механизмом формирования новых кровеносных сосудов после рождения организма является ангиогенез, когда новые ЭК образуются в результате пролиферации уже имеющихся ЭК с той или иной степенью специализации. Дифференцировка и функциональная специализация ЭК — один из важнейших факторов специализации того или иного органа в целом. Например, в сердце можно обнаружить пять различных типов ЭК: эндокардиальный, ЭК коронарных артерий, венозный, капиллярный и лимфатический; каждый из них имеет соответствующий фенотип [4]. Обмен питательными веществами и регуляторными молекулами, а также газообмен происходят в капиллярах, где соотношение между поверхностью эндотелия и объемом крови в 100–500 раз больше, чем в артериях и венах [5, 6]. Собственно сосудистые и тканеспецифические функции ЭК обусловлены особенностями паренхиматозных и гладкомышечных клеток, оксигенацией крови, скоростью и интенсивностью кровотока. Наиболее известными морфологическими фенотипами эндотелия являются непрерывный (гематоэнцефалический барьер), фенестрированный (экзокринные и эндокринные железы, слизистая оболочка желудка и кишечника, сосудистое сплетение, клубочки и субпопуляция почечных канальцев), синусоидальный, или прерывистый (печень, селезенка, костный мозг) [7]. ЭК гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) образуют непрерывный слой с плотными контактами между клетками, лишены фенестр, что существенно ограничивает пара- и трансцеллюлярный обмен молекул [8]. Кроме того, ЭК ГЭБ имеют низкую экспрессию молекул адгезии лейкоцитов, что делает практически невозможным проникновение иммунных клеток в здоровую ЦНС [9]. Среди характерных маркеров ГЭБ — тканеспецифическая щелочная фосфатаза, благодаря которой ЭК капилляров головного мозга отличаются от ЭК капилляров других органов [3]. Экспрессия γ -глутамил-транспептидазы (ГГТ) и моноаминоксидазы (МАО) также характерна для ЭК микрососудов головного мозга [10, 11]. Напротив, тромбомодулин практически отсутствует в ЭК головного мозга, в то время как в других ЭК его экспрессия отчетливо выражена [5]. Во многих тканях за пределами ГЭБ перенос макромолекул через эндотелий (транцитоз) опосредован кавеолами, везикуло-

вакуолярными органеллами и трансэндотелиальными каналами. Плотность кавеол в эндотелии капилляров может достигать 10000 на клетку, что значительно больше, чем в артериях, артериолах, венах или венулах [12]. Транспорт низкомолекулярных веществ происходит между клетками (парацеллюлярный путь). Эндцитоз крупных молекул наиболее выражен в эндотелии синусов печени, в этом процессе участвуют участки мембраны, покрытые со стороны цитоплазмы кластрином, полимеризация которого приводит к формированию везикулы [7]. ЭК костного мозга экспрессируют Е-селектин (CD62E) конститутивно, тогда как в других типах ЭК Е-селектин экспрессируется только при воспалении. Реакция на воспалительные цитокины и вазоактивные агенты существенно варьирует, но, как правило, реакция посткапиллярных венул более выражена. Экспрессия ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) выражена в ЭК мелких артерий и артериол во всех органах, за исключением почек, в то время как ЭК крупных артерий и вен слабо или совсем не экспрессируют АПФ [13].

Здоровый эндотелий характеризуется сосудорасширяющим фенотипом с высоким содержанием оксида азота (NO) и простаглицлина (PGI₂), а также низким содержанием мочевой кислоты и активных форм кислорода (АФК). С другой стороны, ЭК вовлечены в этиологию таких распространенных заболеваний человека, как инсульт, диабет, инсулинорезистентность, болезни сердца, периферических сосудов, опухолевый рост и метастазирование, хроническая почечная недостаточность, ревматоидный артрит и вирусные инфекции [14]. В обычном неактивированном состоянии ЭК экспрессируют молекулы МНС I (главного комплекса гистосовместимости класса I) и PRR (паттерн-распознающие рецепторы) для обнаружения PAMP (патоген-ассоциированные молекулярные паттерны). Воспалительные стимулы инициируют переход ЭК в провоспалительное и прокоагулянтное состояние. В ответ на воспалительные стимулы ЭК экспрессируют молекулы МНС II, презентующие эндотелиальные антигены иммунным клеткам [15]. Описано также увеличение экспрессии других эндотелиальных маркеров и молекул клеточной адгезии (CAM) после воздействия АФК или провоспалительных стимулов [16, 17]. В больших количествах АФК оказывают негативное влияние на эндотелиальные и другие клетки, тогда как низкие концентрации АФК обладают сигнальными функциями и непрерывно генерируются клетками. Дисбаланс в генерации и нейтрализации АФК обуславливает ремоделирование (преобразование) сосудов. Источниками АФК в эндотелиальных и/или соседних клетках являются NADPH-оксидазы, митохондрии, ксантиноксидазы, NO-синтазы, цитохром P450, липоксигеназы,

циклооксигеназы, пероксидазы, MAO и гемоглобин эритроцитов [18–20].

Несмотря на многочисленные исследования, мы далеки от понимания закономерностей экспрессии эндотелиальных маркеров как в норме, так и при различных патологических состояниях организма.

КАКИЕ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЕ МАРКЕРЫ МОЖНО СЧИТАТЬ ГЛАВНЫМИ, А КАКИЕ ВТОРОСТЕПЕННЫМИ?

Белковые молекулы, экспрессируемые на поверхности клеток, часто служат маркерами определенных типов, популяций или субпопуляций клеток. Морфологические и ультраструктурные особенности также не потеряли своей значимости, хотя еще не так давно они были единственными признаками, по которым можно было судить о типе клеток, ну а некоторые клетки до сих пор не нуждаются в особых молекулярных маркерах для своей идентификации (например, эритроциты). Что касается ЭК, то фактор Виллебранда (VWF), наряду с тельцами Вейбеля–Палада (WPB), АПФ (CD143) и морфологией “булыжной мостовой”, специфичной для монослойных культур, долгое время (примерно четверть века, начиная с 1970-х годов), служили обязательными критериями идентификации и подтверждения чистоты культуры ЭК [21, 22]. Современный (хотя и не исчерпывающий) список эндотелиальных маркеров с их характеристиками приведен в табл. 1. Тем не менее, ставшие “классическими” эндотелиальные маркеры по-прежнему являются объектом многочисленных исследований.

ГЛАВНЫЕ МАРКЕРЫ ЭНДОТЕЛИЯ

Тельца Вейбеля–Паладе (WPB) представляют собой специфические для эндотелия секреторные органеллы. В них содержатся VWF, Р-селектин (CD62P) и ангиопоэтин-2 (Angpt2), участвующие в связывании тромбоцитов, рекрутировании лейкоцитов и модуляции воспаления, соответственно [59]. VWF является важным компонентом гемостаза, связывая тромбоциты в местах повреждения эндотелия; он продуцируется в мегакариocyтах и ЭК [60]. VWF обнаружен примерно в 80% популяции клеток в культуре HUVEC [17]. На поверхности ЭК мультимеры VWF разрезаются на более короткие с помощью металлопротеазы ADAMTS-13, которая связывается с доменами VWF-A3 и разрезает отдельные молекулы VWF в сайте Tyr1605-Met1606 внутри доменов VWF-A2 [61]. Это приводит к поступлению в кровоток более мелких и более округлых мультимеров, длина которых в вытянутом состоянии достигает 20 мкм. Сайты связывания и расщепления для ADAMTS-13 скрыты в их округлой

структуре, но становятся доступными при повышенном напряжении сдвига (shear-stress) [62]. Эндотелиальный VWF может участвовать в ангиогенезе. Ингибирование экспрессии микроРНК VWF в ЭК обуславливает усиление ангиогенеза *in vitro* и повышенную VEGFR-2-зависимую пролиферацию и миграцию в сочетании со снижением уровней интегрина- $\alpha\beta 3$ и повышенным высвобождением ангиопоэтина-2; кроме того, у мышей с дефицитом VWF отмечена повышенная васкуляризация [58]. Потеря VWF в ЭК приводит к усиленному и дисфункциональному ангиогенезу, это согласуется с клиническими наблюдениями, согласно которым у некоторых пациентов с болезнью Виллебранда пороки развития сосудов могут вызывать сильное желудочно-кишечное кровотечение [63].

АПФ (КФ 3.4.15.1), один из основных компонентов ренин-ангиотензиновой системы (РАС), представляет собой С-концевую дипептидил-карбоксипептидазу I, превращающую ангиотензин I в вазоконстрикторный ангиотензин II и расщепляющую брадикинин [64], а также белок бета-амилоида [65]. У человека в среднем около 20% капиллярных ЭК в каждом органе экспрессируют АПФ, исключение составляют легкие и почки. Так, в легких человека все капиллярные ЭК экспрессируют АПФ, тогда как во всей сосудистой сети почек АПФ отсутствует. У крыс, в отличие от человека, гомогенная эндотелиальная экспрессия АПФ наблюдается в артериях и венах всех органов, но в сосудах почек выявлена низкая экспрессия АПФ. Снижение экспрессии АПФ в сосудистой сети почек может защитить почечную циркуляцию от избыточного образования ангиотензина II и истощения кининов, что позволяет поддерживать почечный кровоток [13]. АПФ2 является относительно новым компонентом РАС. Он известен с 2003 года, когда выяснили, что АПФ2 является рецептором коронавируса SARS, и нормальный уровень АПФ2 в легких необходим для борьбы с воспалительными заболеваниями легких [66]. Активные пептиды РАС – это ангиотензин II (Ang II), Ang III, Ang IV и Ang(1–7), среди которых Ang II и Ang(1–7) представляются наиболее важными с точки зрения поддержания нормальных физиологических функций и патогенеза [67]. Функциональные эффекты Ang(1–7) сильно отличаются от таковых при стимуляции рецептора AT(1): это вазодилатация, натрийурез, ингибирование пролиферации, повышение активности системы брадикинин-NO (оксид азота). Каталитическая эффективность АПФ2 примерно в 400 раз выше с Ang II в качестве субстрата, чем с Ang I [68]. Продукт протеолиза Ang(1–7) действует на особый рецептор – онкоген Mas [69], так что ось ACE2/Ang(1–7)/Mas можно рассматривать как систему противовеса оси АПФ/AngII/AT(1). Этот сигнальный путь включает фосфорилирова-

Таблица 1. Маркеры эндотелиальных клеток (модифицировано по [23])

Эндотелиальный маркер	Функция
CD13/APN	CD13/аминопептидаза N – трансмембранная пептидаза, которая индуцируется в сосудистой сети солидных опухолей и является мощным ангиогенным регулятором. CD13 функционирует как модулятор передачи сигнала и подвижности клеток благодаря влиянию на специфическую организацию плазматической мембраны, регулируя таким образом ангиогенез [24]
CD29/интегрин $\beta 1$	Интегрин $\beta 1$ участвует в ангиогенезе, контролируя ветвление прорастающих капилляров, но при этом тормозит пролиферацию ЭК. В формирующихся сосудах интегрин $\beta 1$ необходим для правильной локализации VE-кадгерина и целостности межклеточных контактов [25]. Кроме того, интегрин $\beta 1$ необходим для взаимодействия между кардиомиоцитами и ЭК [26]
CD31/PECAM-1	CD31, известный как PECAM-1 (молекула адгезии тромбоцитов и ЭК 1), является гликозилированным трансмембранным гомофильным белком адгезии, который в значительном количестве экспрессируется в ЭК и необходим для миграции лейкоцитов, играя ключевую роль в удалении старых нейтрофилов. Внеклеточный домен CD31 высвобождается при апоптозе ЭК, его можно обнаружить в сыворотке пациентов, перенесших инфаркт миокарда, острый ишемический инсульт и у больных рассеянным склерозом [27]
CD34	CD34 – трансмембранный фосфогликопротеин, впервые обнаруженный на гемопоэтических стволовых и прогениторных клетках. Клетки, экспрессирующие CD34, в норме имеются в пуповине и костном мозге: это гемопоэтические клетки, субпопуляция мезенхимальных стволовых клеток, эндотелиальные прогениторы (EPC). CD34 могут экспрессировать ЭК кровеносных сосудов и лимфатических сосудов плевры. Присутствие CD34 на негемопоэтических клетках обусловлено общностью фенотипа прогениторов и стволовых клеток взрослого организма [28]
CD36/SR-B3	CD36 известен как рецептор-“мусорщик” 3B класса (SR-B3), гликопротеин IV мембраны тромбоцитов (GPIV), гликопротеин IIIb (GPIIb), рецептор тромбоспондина, рецептор коллагена, транслоказа жирных кислот (FAT) и даже как рецептор врожденного иммунитета. При связывании лиганда CD36 запускает сигнальный каскад, который опосредует широкий спектр провоспалительных ответов. Например, амилоид- β_{1-40} ($A\beta$), взаимодействуя с CD36, активирует образование супероксид-анионов NADPH-оксидазой [29]
CD39/ENTPD1	CD39 (ENTPD1) – это эктонуклеотидаза, экспрессия которой ярко выражена на поверхности ЭК, но также имеется на поверхности тромбоцитов и лейкоцитов. CD39 катализирует внеклеточный гидролиз АТФ до АДФ и АМР. Молекулы CD39 высвобождаются из эндотелия коронарных сосудов при ишемии–реперфузии, так что уровень циркулирующей эктонуклеотидазы отражает степень ишемического повреждения сосудов [30]. Снижение или отсутствие активности CD39 связано с сосудистой дисфункцией и ремоделированием при легочной артериальной гипертензии [31], а также при пониженной регенерации печени [32]
CD44	Экспрессия CD44 в колониеобразующих ЭК (ECFC) связана с регуляцией нейроваскулярного трофического эффекта [33]. ECFC это зрелые EPC, готовые к дифференцировке и восстановлению популяции ЭК. Они находятся в сосудистом русле и могут мигрировать в места повреждения в виде циркулирующих ЭК [34]
CD47	CD47 – иммуноглобулин, который функционально сопряжен с ICAM-1 (CD54), участвуя во внутриклеточной мобилизации кальция, активации киназ Src и AKT1/PI3K, повышении проницаемости микрососудов мозга для трансэндотелиальной миграции Т-клеток и диапедеза других клеток крови [35]

Таблица 1. Продолжение

Эндотелиальный маркер	Функция
CD54/ICAM-1	ICAM-1 (молекула межклеточной адгезии-1) — это трансмембранный белок, экспрессия которого повышается на эндотелиальных и эпителиальных клетках в местах воспаления. ICAM-1 опосредует адгезию и парацеллюлярную миграцию лейкоцитов, экспрессирующих LFA-1 (CD11a/CD18) и Mac-1 (CD11b/CD18). Растворимый ICAM-1 участвует в ангиогенезе и является индикатором активации или повреждения ЭК. Повышенный уровень растворимого (циркулирующего в крови) ICAM-1 сопряжен с оксидативным стрессом, гипертонией, сердечно-сосудистыми заболеваниями, сахарным диабетом 2-го типа, дисфункцией трансплантатов, увеличением массы абдоминального жира, заболеваниями печени, некоторыми злокачественными новообразованиями и сепсисом [36]
CD61/интегрин $\beta 3$	CD61 (интегрин- $\beta 3$) — белок, участвующий в агрегации тромбоцитов. Он считался маркером только этих клеток, но затем был выявлен на поверхности ЭК, где он сопряжен с другими белками, в частности с дисульфидизомеразой [37]
CD62E/E-селектин	E-селектин (молекула адгезии-1 ЭК-лейкоцитов, ELAM-1, CD62E) — одна из трех в семействе селектинов (E-селектин, L-селектин и P-селектин), который транзитно экспрессирован на ЭК в ответ на IL-1 β и TNF- α
CD80/B7-1 CD86/B7-2	В определенных условиях ЭК являются антигенпрезентирующими клетками, экспрессирующими молекулы МНС как класса I, так и класса II [15]. Например, ЭК печеночных синусов экспрессируют молекулы адгезии CD80 (B7-1) и CD86 (B7-2) в ответ на ишемию/реперфузию печени крысы; экспрессия CD80, CD86 и ICAM-1 также повышается в клубочковых и перитубулярных ЭК после ишемии/реперфузии [38]
CD93/C1qR1	C1qR1 (или C1qRp), коллектин (представитель семейства растворимых паттерн-распознающих рецепторов (PRR)), антиген AA4. Это трансмембранный гликопротеин типа I, обнаруживаемый не только на ЭК, но и на гемопоэтических клетках-предшественниках, тромбоцитах и клетках миелоидного происхождения. Молекулы C1qR1 опосредуют повышенный фагоцитоз моноцитами и макрофагами при взаимодействии с растворимыми защитными коллагенами, такими как C1q, MBL и SP-A
CD102/ICAM-2	Молекулы ICAM-2 конститутивно экспрессированы в ЭК сосудов и лимфогемопоэтических клетках. Они участвуют в агрегации Т-клеток, цитотоксичности и миграции NK-клеток
CD105/эндоглин	Эндоглин — трансмембранный рецептор типа III лигандов суперсемейства TGF- β , который играет важную роль в дифференцировке гладкомышечных клеток, ангиогенезе и неоваскуляризации. Его экспрессия ярко выражена на пролиферирующих ЭК сосудов, хондроцитах и синцитиотрофобластах плаценты. Повышенный уровень антиангиогенного эндоглина, циркулирующего в крови, является патогенным маркером при преэклампсии
CD106/VCAM-1	Молекула адгезии 1 клеток сосудов участвует в адгезии иммунных клеток к ЭК сосудов при воспалении. Взаимодействует с интегринами- $\alpha 4/\beta 1$ (VLA-4), $\alpha 4/\beta 7$, $\alpha 9/\beta 1$ и $\alpha D/\beta 2$. VCAM-1 конститутивно экспрессирована в костном мозге, где регулирует миграцию Т- и В-клеток и гемопоэтических прогениторов. Растворимая форма VCAM-1 способствует хемотаксису моноцитов
CD112/нектин-2	Нектины — это трансмембранные гликопротеины типа I, которые являются кальций-независимыми Ig-подобными молекулами адгезии. Нектин-1 (CD111, PRR1, медиатор проникновения вируса герпеса С или HVEC), нектин-2 (CD112, PRR2 и HVEB) и нектин-3 (PRR3) выявлены в адгезивных контактах ЭК, нейронов, эпителиальных клеток и фибробластов

Таблица 1. Продолжение

Эндотелиальный маркер	Функция
CD117/c-Kit	CD117/c-Kit — это рецептор с тирозинкиназной активностью, который связывает фактор стволовых клеток; CD117/c-Kit является маркером некоторых типов гемопоэтических предшественников в костном мозге (гемопоэтические стволовые клетки, мультипотентные прогениторы и общие миелоидные прогениторы). Его экспрессия считается отличительной чертой гемогенных ЭК [39]
CD121a/IL-1 RI	IL-1RI, также известный как рецептор типа 1 IL-1 и CD121a, является трансмембранным белком суперсемейства Toll/IL-1R (TIR). IL-1RI связывает плейотропные цитокины IL-1 α и IL-1 β , а также антагонист рецептора IL-1 (IL-1Ra). IL-1RI экспрессируется главным образом Т-клетками, фибробластами и ЭК, его активация через NF- κ B опосредует острую фазу воспалительных реакций
CD133/проминин-1	CD133, или проминин-1 — гликопротеин, представитель пентаспандовых трансмембранных гликопротеинов, который локализуется в выступах (протрузиях) клеток. CD133 экспрессирован в гемопоэтических стволовых клетках, ЕРС, клетках глиобластомы и во многих других типах клеток [40]. Хотя точная функция CD133 неизвестна, предполагается, что он действует в качестве организатора топологии клеточной мембраны. В ECFC клетках CD133 экспрессирован внутриклеточно и участвует в васкулогенезе [41]. Так, в крови пациентов, перенесших инсульт, повышен уровень стволовых клеток (CD133+) и ранних ЕРС (CD133+CD309+), наряду с повышенным уровнем EGF и фибробластов, однако воспалительные процессы обуславливают снижение уровня ангиогенных факторов и ЕРС [42]
CD141/тромбомодулин/BDCA-3	Тромбомодулин (ТМ, CD141, BDCA3) — это трансмембранный белок, экспрессирующийся на ЭК, гладкомышечных клетках артерий, моноцитах и макрофагах. Он связывает тромбин и усиливает опосредованную тромбином активацию антикоагулянтного белка С и антифибринолитической TAFI/карбоксипептидазы B2. Тромбомодулин также подавляет способность тромбина активировать ряд прокоагулянтных белков, таких как фибриноген, факторы V и XIII, PAR-1. Уровень растворимых фрагментов тромбомодулина повышен в сыворотке, моче и синовиальной жидкости при нарушениях гемостаза и воспалительных процессах
CD142/фактор свертывания крови III/ тканевый фактор/ тромбопластин	Тканевый фактор представляет собой интегральный мембранный белок, экспрессируемый многими типами клеток, в том числе ЭК. Он служит кофактором/рецептором фактора свертывания крови VII
CD143/АПФ	АПФ и АПФ2 — протеазы клеточной поверхности, регулирующие гомеостаз артериального давления и водно-солевой баланс, главным образом, благодаря образованию ангиотензина II и инактивации брадикинина. Кроме того, активность АПФ играет роль в иммунном статусе, репродукции, регуляции активности нейропептидов
CD144/VE-кадгерин	Эндотелиальный кадгерин — это специфическая молекула адгезии, расположенная исключительно в местах соединения между ЭК. Адгезия ЭК с участием VE-кадгерина обеспечивает контроль проницаемости сосудов и экстравазацию лейкоцитов. Кроме того, VE-кадгерин участвует в пролиферации клеток, апоптозе и модулирует функции рецепторов EGF [43]
CD146/MCAM	CD146 известен также как молекула адгезии клеток меланомы (MCAM) и гликопротеин клеточной поверхности MUC18. CD146 служит маркером ЭК, в том числе десквамированных. MCAM является рецептором ламинина- α 4, молекулы внеклеточного матрикса сосудистой стенки. MCAM также экспрессируются гладкомышечными клетками и перицитами. Подавление MCAM ускоряет старение мезенхимальных стволовых клеток пуповинной крови человека [44]. Кроме того, MCAM является неблагоприятным прогностическим фактором при саркоме матки [45]

Таблица 1. Продолжение

Эндотелиальный маркер	Функция
CD147/TRA-1-85	Антиген TRA-1-85, или антиген группы крови Ока, считается специфическим эпитопом белка базигина, известного как EMMPRIN и CD147. Это детерминанта клеточной поверхности, экспрессируемая практически всеми клетками человека
CD151	CD151 представляет собой гликопротеин суперсемейства тетраспанинов, экспрессируемый ЭК, эпителиальными клетками, мегакариоцитами и тромбоцитами. Он взаимодействует с другими тетраспанинами и интегринами, такими как $\alpha 3/\beta 1$, $\alpha 6/\beta 1$, $\alpha 6/\beta 4$ и $\alpha 7/\beta 1$. CD151 участвует в клеточной адгезии, миграции и активации тромбоцитов
CD160	CD160 представляет собой заякоренный гликопротеин с одним Ig-подобным доменом типа V, обнаруженный, в основном, в субпопуляции цитолитических Т-клеток и натуральных киллеров, где служит рецептором для МНС класса I и родственных молекул. Экспрессируемый на ЭК CD160 участвует в передаче антиангиогенных сигналов и апоптотической гибели клеток
CD201/EPCR	EPCR (эндотелиальный рецептор белка C) – трансмембранный гликопротеин, экспрессируемый на ЭК. EPCR ингибирует тромбоз, взаимодействуя с белком C, активированным белком C (aPC) и факторами свертывания крови VII и VIIa. EPCR усиливает активацию белка C при взаимодействии с комплексами тромбин–тромбомодулин. Растворимая форма EPCR подавляет антикоагулянтную активность aPC. EPCR связывается с CD11b/CD18 (Mac-1) на моноцитах, опосредуя адгезию моноцитов к эндотелию сосудов
CD213a/IL-13R alpha 1	Два члена подсемейства 5 рецепторов цитокинов типа I служат также рецепторами IL-13, которые связываются с IL-13R $\alpha 1$ (CD213a1, известный, как IL13Ra или NR4) с низким сродством, а затем взаимодействуют с α -цепью IL-4R, образуя высокоаффинный рецептор, способный активировать STAT6. Кроме того, IL-13 может высокоаффинно взаимодействовать с IL-13R $\alpha 2$ (CD213a2) без активации STAT6, но продуцируя TGF- β
CD248/эндосиалин	Эндосиалин, или эндотелиальный маркер опухолей 1 (Tem1), представляет собой трансмембранный O-гликозилированный белок 165 кДа, который содержит один лектин C-типа, один Суши-домен, один EGF-подобный домен и муциноподобную ножку во внеклеточном домене (ECD). Он экспрессируется на активированных периваскулярных и стромальных клетках в эмбриональных и опухолевых сосудах, но экспрессия подавлена в зрелой сосудистой сети. Эндосиалин регулирует пролиферацию, миграцию и адгезию перицитов к матричному фибронектину и коллагенам I и IV
CD309/VEGFR2/KDR/Flk-1	VEGFR2 (рецептор типа 2 EGF) – это трансмембранная рецепторная тирозинкиназа, которая опосредует ангиогенное действие VEGF-A и VEGF-C. Он экспрессирован главным образом на ЭК сосудов и EPC, но также в гемопоэтических стволовых клетках, эпителии эндометрия, клетках печеночных синусов и многих других клетках. Усиление экспрессии CD309 приводит к увеличению проницаемости эндотелия в микрососудистом русле [46]
ADAM 8, 9, 10, 12, 15, 17, 33	Металлопротеазы ADAM10 и ADAM17 с дезинтегриновым доменом служат основными регуляторами цитокинов, факторов роста и молекул адгезии за счет протеолитического шеддинга [46]. ADAM 12 и 17, экспрессируемые в ЭК, ответственны за нарушение гематоневрального барьера в условиях гипоксии. Вероятно, это происходит в результате протеолиза клаудина-5, одной из молекул плотных контактов ЭК, так как ингибирование металлопротеаз ADAM <i>in vivo</i> восстанавливает нарушенную барьерную функцию [47]

Таблица 1. Продолжение

Эндотелиальный маркер	Функция
ADAMTS-13	ADAMTS-13 (дизинтегрин-подобная металлопротеаза с повторами-13 тромбоспондина типа 1) – цинксодержащая металлопротеаза, которая расщепляет фактор Виллебранда. ADAMTS-13 синтезируется в ЭК и звездчатых клетках печени, присутствует в тромбоцитах. Кроме того, ADAMTS-13 синтезируется в подоцитах почек с последующим отложением в базальной мембране клубочков (гломерул), что предотвращает образование тромбов. ЭК вносят основной вклад в синтез ADAMTS-13 в организме [5]
ADAMTS-18	ADAMTS-18 входит в особое семейство протеаз – дизинтегринов и металлопротеаз с мотивами тромбоспондина, участвующих в ангиогенезе и тромбообразовании. Нарушение регуляции или мутации этих ферментов приводит к воспалению, раку, артриту, атеросклерозу и другим заболеваниям. Секреция ADAMTS-18 ЭК усиливается тромбином. Агрегаты тромбоцитов могут быть разрушены С-концевым фрагментом ADAMTS-18 [48]
CXCL16	Трансмембранный CXCL-хемокиновый лиганд 16. Эритрозные эритроциты прикрепляются к ЭК сосудистой стенки, в частности, благодаря взаимодействию фосфатидилсерина, экспонированного на поверхности эритроцитов, с эндотелиальным CXCL16 [49]
DCBLD2/ESDN	DCBLD2 (дискоидин, CUB и LCCL-домен-содержащий белок 2), также известный как ESDN (нейропептин-подобный белок, синтезируемый ЭК и гладкомышечными клетками) и CLCP1. DCBLD2 имеет структурное сходство с нейропептинами, рецепторами VEGF и семафоринами, он участвует в передвижении клеток и метастазировании
Эндомуцин	Эндомуцин (эндотелиальный сиаломуцин; также эндомуцин-1/2 и муцин-14) – гликопротеин 80–120 кДа, представитель семейства белков-эндомуцинов. Экспрессируется на ЭК и функционирует как про- или антиадгезивная молекула, в зависимости от характера гликозилирования
ESAM	ESAM (эндотелиальная селективная молекула адгезии) – ассоциированный с ЭК представитель подгруппы суперсемейства CTX иммуноглобулинов. Эта молекула ассоциирована с плотными и адгезионными контактами, а также модулирует транс-эндотелиальную миграцию клеток, наряду с FGF-2
FABP	Белки, связывающие жирные кислоты (FABP), – небольшие цитоплазматические белки, которые могут связывать свободные жирные кислоты, холестерин и ретиноиды, участвуя в их внутриклеточном транспорте. Наряду с другими биомаркерами, циркулирующие FABP служат индикаторами повреждения тканей. В частности, гипоксия влияет на экспрессию FABP в ЭК [50]
IgG (иммуноглобулин G)	Под воздействием внешних IgG в клетках эндотелия пупочной вены человека (HUVEC) активируется синтез и секреция FcRn и собственных IgG [50]
Интегрин- $\alpha 4\beta 1$ /VLA-4	Интегрин- $\alpha 4\beta 1$ (VLA-4) и VCAM-1 обеспечивают межклеточную адгезию между ЭК и перикариотами. Интегрин- $\alpha 4\beta 1$ экспрессируется пролиферирующими ЭК, а VCAM-1 – пролиферирующими муральными клетками. Антагонисты этого взаимодействия блокируют адгезию муральных клеток к пролиферирующим ЭК, вызывая тем самым апоптоз ЭК и перикариотов и ингибируя неоваскуляризацию [51]
KLF4	Крюппель-подобный фактор 4 (KLF4) – это транскрипционный фактор и центральный регулятор ангиогенеза через сигнальный путь Notch [52]. Эндотелиальный KLF4 является ренопротективным, он обеспечивает статин-индуцированную защиту от ишемического острого повреждения почек (ОП) путем регуляции экспрессии молекул клеточной адгезии (CAM) и сопутствующего рекрутирования воспалительных клеток [53]

Таблица 1. Продолжение

Эндотелиальный маркер	Функция
LYVE-1	Рецептор-1 гиалуронана эндотелия лимфатических сосудов (LYVE-1) – это транс-мембранный гликопротеин типа I с мол. массой 60 кДа, представитель суперсемейства связывающих белков. Гиалуронан обнаружен во внеклеточном матриксе большинства тканей животных и в биологических жидкостях. LYVE-1 модулирует поведение клеток во время развития, ремоделирования тканей и при разных заболеваниях, он является маркером лимфатических ЭК, а также экспрессируется на ЭК синусов печени. В меньшей степени LYVE-1 экспрессирован на клетках Купфера, островках Лангерганса, корковых нейронах и почечном эпителии
Notch	Notch-сигналинг является эволюционно консервативным механизмом, имеющим важнейшее значение для развития сердечно-сосудистой системы. Вклад Notch-сигналинга в гомеостаз сосудистой системы отражен в новой парадигме, согласно которой этот путь чувствителен к факторам окружающей среды, медиаторам воспаления, компонентам питания [54]
Подокаликсин	Подокаликсин, также известный как подокаликсин-подобный белок 1/PODXL, или PCLP1 является сиалогликопротеином, структурно связанным с CD34. Экспрессируется в эмбриональных стволовых клетках, а также служит маркером гемангиобластов, общих предшественников кроветворных и ЭК
Подопланин	Подопланин, также известный как T1α и Aggrus, является трансмембранным гликопротеином муцинового типа с выраженным О-гликозилированием. Экспрессируется лимфатическими ЭК, а также не ЭК в некоторых тканях. Подопланин участвует в регуляции образования лимфатических сосудов и агрегации тромбоцитов
RLIP76/RALBP1	RLIP76 (Ral-взаимодействующий белок 76 кДа), известный также как RalBP1 (Ral-связывающий белок 1) – это АТФ-зависимый транспортер конъюгатов электрофил-глутатион [55]
Стабилин-1 и -2	Стабилин-1 и -2 – трансмембранные представители типа I семейства гомологов рецептора фасциклиноподобного гиалуронана, экспрессируемые на синусоидальных ЭК и макрофагах. Стабилин-1 участвует в избавлении от собственных нежелательных молекул, тогда как стабилин-2 – это скавенджер-рецептор для гиалуронана и гликированных белков
TEM8/ANTXR1	Опухолевый эндотелиальный маркер 8 (TEM8) является одним из восьми представителей семейства TEM, которые функционально связаны с опухолевым ангиогенезом. TEM8 и CMG2 (ген 2 морфогенеза капилляров) представляют собой трансмембранные белки типа I с внеклеточным доменом A VWF. Они считаются представителями семейства рецепторов токсина сибирской язвы. TEM8 экспрессирован на высоком уровне в сосудистой сети солидных опухолей и может функционировать в качестве молекулы адгезии при капиллярном тубулогенезе
THSD1	THSD1 (белок 1, содержащий домен тромбоспондина типа 1), также известный как трансмембранная молекула с тромбоспондиновым модулем (Tmtsp), – трансмембранный белок типа I, 95 кДа. Он сильно экспрессирован в гемопоэтических стволовых клетках и прогениторах. Кроме того, THSD1 широко представлен на ЭК, особенно в легких. THSD1 участвует в регуляции васкулогенеза и/или ангиогенеза
Tie-1 и Tie-2	Tie-1/Tie и Tie-2/Тек являются рецепторными тирозинкиназами с уникальными структурными характеристиками: двумя иммуноглобулин-подобными доменами, фланкирующими три EGF-подобных домена, за которыми следуют три фибронектин-подобных повтора типа III во внеклеточной области, а также расщепленный тирозинкиназный домен в цитоплазме. Рецептор Tie-2 является важным регулятором барьерной функции эндотелия. Основные лиганды Tie-2, ангиопоэтины 1 и 2, оказывают противоположное действие на этот рецептор в условиях воспаления [56]

Таблица 1. Окончание

Эндотелиальный маркер	Функция
TNAP	Тканевая неспецифическая щелочная фосфатаза (TNAP) локализуется в мембранах ЭК кровеносных сосудов головного мозга и в мембранах нейронов, где она индуцирует нейрональную токсичность посредством тау-дефосфорилирования. Эта функция вовлечена в потерю нейронов, наблюдаемую при болезни Альцгеймера. Уровень TNAP повышается в плазме крови при цереброваскулярных заболеваниях и после травмы головного мозга [3, 57]
TNF RII/TNFRSF1B	TNFRII (рецептор II фактора некроза опухоли), также известный как TNFRSF1B, p75/p80 и CD120b — это один из широко представленных рецепторов TNF- α и лимфотоксина- α . Его активация может инициировать воспаление и выживание ЭК через NF- κ B-зависимые сигнальные пути, но также может индуцировать апоптоз
VE-statin	VE-статин — секретируемый гликопротеин с мол. массой. 41 кДа, представитель довольно большого семейства белков, содержащих EGF-подобные домены. VE-статин — маркер эмбриональных ЭК, но также экспрессирован в ЭК взрослого организма; его секреция блокирует миграцию гладкомышечных клеток
VG5Q	Экспрессия белка VG5Q, или AGGF1, связана с синдромом Клиппеля–Треноне (KTS), врожденной патологии морфогенеза сосудов. VG5Q экспрессируется в ЭК сосудов многих тканей, его секреция способствует пролиферации соседних ЭК
VWF	VWF — это гликопротеин, участвующий в свертывании крови, он опосредует прикрепление тромбоцитов к поврежденным ЭК. VWF высвобождается из телец WPB, имеет сайты связывания для фактора VIII и гепарина. Размер и функция VWF регулируются протеазой ADAMTS-13. Нарушение этой функции может привести, в частности, к тромботической тромбоцитопенической пурпуре. Также VWF участвует в регуляции ангиогенеза [58]

ние Akt, активацию PKC и ингибирование MAP-киназы. Кофилин-1, внутриклеточный актин-модулирующий белок, связывает и деполимеризует нитевидный F-актин и ингибирует полимеризацию мономерного G-актина, а также участвует в перемещении комплекса актин-кофилин из цитоплазмы в ядро, играя доминирующую роль в индуцированном Ang(1–7) торможении клеточного цикла в стадии G0/G1 и аутофагии ЭК аорты человека [70].

Рецепторы VEGF1–3 содержат внеклеточный сегмент с семью иммуноглобулин-подобными доменами, трансмембранный сегмент, юкстамембранный сегмент, протеинкиназный домен со вставкой примерно из 70 аминокислотных остатков и С-концевой хвост. VEGF-A стимулирует активацию преформированных димеров VEGFR2 путем аутофосфорилирования остатков тирозина в сегменте активации с последующим фосфорилированием тирозиновых остатков других белков, что приводит к рекрутированию фосфотирозин-связывающих белков и сигналингу через ERK1/2, AKT, Src и p38 MAP-киназные пути [71]. Формирование кровеносных сосудов происходит, главным образом, за счет ангиогенеза — прорастания ЭК из существующих сосудов. Сосудистая сеть расширяется, когда ростки образуют

новые соединения, а анастомозы сосудов пространственно регулируются VEGFR1 (Flt1), который действует как рецептор-ловушка [72]. VEGFR1 модулирует активность VEGFR2, главного регулятора васкулогенеза и ангиогенеза. Окисленные липопротеины низкой плотности (ox-LDL) нарушают ангиогенез посредством дегградации VEGFR2 и подавляют образование колец ЭК пупочной вены, заодно индуцируя их апоптоз [73]. VEGFR3 и его лиганды (VEGF-C и VEGF-D) участвуют в основном в лимфангиогенезе [71].

Помимо сигнального пути от рецептора VEGF, в ЭК существует другой специфический сигнальный путь — через систему ангиопоетин (Angpt)-Tie, необходимую для эмбрионального развития сердечно-сосудистой и лимфатической систем. Система Angpt-Tie также контролирует постнатальный ангиогенез, ремоделирование и проницаемость сосудов. Эта система задействована в патогенезе многих заболеваний, таких как рак, сепсис, диабет, атеросклероз и ряд других. Мутации в системе сигналинга Tie-2 нарушают морфогенез сосудов, обуславливая венозные мальформации и первичную врожденную глаукому [74]. В ЭК довольно ярко выражена экспрессия Tie-2, его паралога Tie-1, тирозинфосфатазы

VE-PTP и лиганда Angpt-2 [56], тогда как Angpt-1 секретируется перицитами [75]. В здоровой сосудистой сети Tie-2 фосфорилируется по остаткам тирозина во внутриклеточном домене, способствуя усилению барьерной и противовоспалительной функции. При воспалении одновременно происходит быстрое высвобождение Angpt-2 из WBP и активация его транскрипции; Angpt-2 является антагонистом Angpt-1, подавляя сигналинг через Tie-2 [56]. Гипоксия усиливает экспрессию Angpt-1 благодаря опосредованной HIF2 α активации транскрипции в перицитах [76]. В то же время, в условиях гипоксии в ЭК возрастает активность VE-PTP, что обуславливает подавление активации Tie-2 эндотелиальным Angpt-2; особенно этот процесс выражен при неоваскуляризации сетчатки [78]. Tie-2, активированный Angpt-1, стимулирует GTP-азу Rap1, которая сокращает радиальные (стрессовые) волокна посредством Rac1 и немышечного миозина II, независимо от VE-кадгерина. С другой стороны, связка Angpt1-Tie2 также рекрутирует VE-PTP в межэндотелиальные контакты, где VE-PTP дефосфорилирует Tie-2, повышая проницаемость сосудов [74]. Кроме того, активация VEGFR2-зависимого сигнального пути вызывает фосфорилирование VE-кадгерина с последующим бета-аррестин-зависимым эндоцитозом VE-кадгерина и разрывом межэндотелиальных контактов [77]. При этом в межэндотелиальных контактах VE-PTP дефосфорилирует VEGFR2 посредством Tie2-зависимого механизма. Это подавляет фосфорилирование по тирозину VE-кадгерина, способствуя усилению функциональной интеграции ЭК и образованию просвета в капиллярах [74]. Таким образом, эндотелиальная проницаемость контролируется посредством сложного взаимодействия ангиопоэтинов, VEGF, их рецепторов, VE-кадгерина и VE-PTP. Таргетная терапия, направленная на VE-PTP и другие компоненты этого молекулярного комплекса, может стабилизировать кровеносные сосуды, по крайней мере, у пациентов с заболеваниями сетчатки и сосудистой оболочки глаза [78].

Молекулы клеточной адгезии (CAM) составляют значительную группу (не менее двух десятков) эндотелиальных маркеров, которые участвуют в гомо- или гетерофильном связывании с другими клетками или внеклеточным матриксом. Все представители основных четырех семейств CAM (иммуноглобулины, интегрины, кадгерины и селектины), включая IgG, экспрессируются на поверхности ЭК [50]. Молекула адгезии тромбоцитов и эндотелиальных клеток (PECAM-1, CD31) — белок 130 кДа, который широко представлен в эндотелиальных и кровяных клетках. Он поддерживает целостность кровеносных сосудов и участвует, несмотря на название, главным образом во взаимодействии лейкоцитов с

эндотелием и их трансэндотелиальной миграции при воспалении [79]. Повреждение ЭК, образующих ГЭБ, является одним из патогенетических или сопутствующих факторов болезни Альцгеймера, Паркинсона, рассеянного склероза, некоторых случаев бактериального менингита, травмы и ишемии, связанной с наличием опухоли. PECAM-1 и его растворимая форма (sPECAM-1) являются потенциальными маркерами этих и других заболеваний и возможными мишенями для терапии.

Воспаление модулирует экспрессию генов посредством активации NF- κ B и других транскрипционных факторов. Медиаторы воспаления могут влиять на проницаемость ГЭБ через RLIP76 (также известный, как RALBP1), АТР-зависимый транспортер конъюгатов электрофил-глутатион [56]. Адгезивные контакты являются основным компонентом межклеточной адгезии, они состоят из трансмембранных кадгеринов, образующих гомотипические взаимодействия между соседними клетками и взаимодействующих с цитоплазматическими катенинами, которые, в свою очередь, взаимодействуют с цитоскелетом. При воспалении адгезивные контакты разъединяются, и через образующиеся щели происходит диффузия малых молекул и миграция лейкоцитов. Адгезия лейкоцитов к ICAM-1 (CD54), VCAM-1 (CD106) и CD47 индуцирует активацию малых ГТФаз (Rac1, RhoA, RhoG) и сигналинг через РТК, сопряженный с активацией Src и Pyk2 [6]. ICAM-1 является одной из главных молекул адгезии, которая обуславливает изменения проницаемости сосудов и трансэндотелиальной миграции лейкоцитов. Экспрессия ICAM-1 увеличивается после активации ЭК провоспалительными стимулами, действие которых опосредуется сигнальными путями с участием Akt/PKB, NF- κ B, MAP-киназы p38 и ERK1/2 [80]. В ЭК сосудов мозга экспрессия ICAM-1 увеличивается через 4 ч после действия стимула и остается повышенной до 72 ч даже после кратковременного воздействия [81]. Белок ICAM-1 связывается с интегринами CD11/CD18 и LFA-1 лейкоцитов, в основном нейтрофилов, после чего они легко проникают в ткани [82]. Важно отметить, что это взаимодействие обуславливает усиленную генерацию H₂O₂ нейтрофилами, т.е. является необходимым условием формирования положительной обратной связи. В условиях *in vivo* с поверхности ЭК удаляется ICAM-1 (шеддинг), который затем действует как независимый сигнальный агент, поддерживающий воспалительный процесс в эндотелии [83]. Более того, после взаимодействия с лигандами происходит рециркуляция ICAM-1: интернализация, передача сигнала в лизосомы и реинтеграция в плазматическую мембрану [84]. Этот процесс контролируется РКС и Na⁺/H⁺-обменником, которые способствуют удержанию и/или интегра-

ции ICAM-1 в плазматической мембране ЭК [85]. Таким образом, исследования регуляции эндотелиального фенотипа довольно интересны, важны и имеют большие перспективы.

МОДУЛЯТОРЫ СОСТОЯНИЯ И СТАРЕНИЯ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК. ЭНДОТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЙ ПЕРЕХОД

Воздействие многих факторов определяет фенотип и продолжительность жизни ЭК. В течение минут они реагируют на изменения гемодинамики, а также на вазоактивные, тромбогенные или воспалительные агенты. Быстрые ответы следуют за линейными рецептор-опосредованными сигнальными путями, сопряженными с входом и/или мобилизацией ионов кальция, активацией фосфорилирования и различных ферментов. Во многих случаях дисбаланс кальция предшествует АФК-индуцированной дисфункции ЭК. Резервуарами ионов кальция служат эндоплазматический ретикулум (ЭР), митохондрии, аппарат Гольджи или лизосомы. В ЭК около 75% ионов Ca^{2+} находится в ЭР и до 25% — в митохондриях [86]. Митохондрии ЭК представляют собой разветвленную сеть, находящуюся в плотном контакте с кальциевыми каналами ЭР и плазматической мембраной [87]. Выявлено 11 молекулярных источников митохондриальных АФК [18]. Реперфузия/реоксигенация индуцирует кальциевые колебания [88], которые влияют на состояние митохондрий и усиливают генерацию АФК [89], а также экспрессию и экзоцитоз молекул адгезии [90]. Это усугубляет патологическое состояние эндотелия за счет инфильтрации лейкоцитов, которые вырабатывают собственные АФК. В свою очередь, АФК активируют IP_3 - и рианодиновые кальциевые каналы ЭР и некоторые каналы суперсемейства TRP плазматической мембраны, что приводит к кальциевой перегрузке ЭК [91]. В ЭК TRPM2 рассматривается в качестве основных каналов для входа ионов Ca^{2+} [92]. TRPM2 — неселективные катионные каналы, их эндогенными лигандами являются ADP-рибоза (ADPr) и адениндинуклеотидфосфат никотиновой кислоты (NAADP), но ионы Ca^{2+} и молекулы H_2O_2 могут потенцировать активацию TRPM2 [93]. Каналы TRPM2 считаются сенсорами оксидативного стресса и редокс-статуса клеток, а их активация обуславливает дисфункцию эндотелия и повышает вероятность гибели клеток [94]. Так, внеклеточное накопление амилоида- β ($\text{A}\beta$) при болезни Альцгеймера нарушает эндотелиальную структуру и функцию посредством активации TRPM2, приводя к перегрузке клеток ионами Ca^{2+} и вазомоторной дисфункции [95]. Экзогенный пероксид водорода повышает $[\text{Ca}^{2+}]_i$ и сни-

жает трансмембранное электрическое сопротивление в ЭК микрососудов легкого посредством активации TRPV4 [96]. Кроме того, H_2O_2 в низких нетоксических концентрациях вызывает повышение $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в культивируемых ЭК пупочной вены за счет высвобождения кальция через двупоровые каналы из эндолизосомных везикул [97].

Механизмы развития барьерной дисфункции эндотелия могут варьировать в зависимости от активирующего агента и преобладающего или первичного типа АФК. Поскольку H_2O_2 является наиболее стабильным видом АФК, он используется в большинстве экспериментов для модификации редокс-состояния клеток и исследования сигнальных и токсических эффектов АФК. Эффект цитотоксической H_2O_2 на ЭК связан с истощением внутриклеточного глутатиона, активацией редокс-чувствительных киназ p38 MAPK, JNK, передачей сигналов Akt с участием NF- κB , повышенной экспрессией альдозоредуктазы, снижением уровня Sirt6, а также усилением экспрессии и активности β -галактозидазы [98, 99].

Большинство клеток млекопитающих могут реагировать на стрессовые факторы особым изменением фенотипа, связанным не с гибелью, а со старением клеток. В ЭК этот фенотип является провоспалительным, проатеросклеротическим и протромботическим [100]. Различают два типа клеточного старения: репликативное старение с истощением теломер и вызванное стрессом преждевременное старение без вовлечения теломер. Оба типа старения клеток приводят к остановке роста ЭК и нарушению их функций, способствуя тем самым развитию сердечно-сосудистых заболеваний [101]. Так, активация ренин-ангиотензин-альдостероновой и эндотелиновой систем вызывает эндотелиальную дисфункцию, ремоделирование сосудов и старение эндотелия, вызывая выработку АФК и стимулируя воспаление и рост клеток [102]. Изменения в метаболизме оксида азота и протаноеидов, эндотелина-1, тромбомодулина и VWF влияют на прокоагулянтный статус, подчеркивая роль эндотелия в развитии тромбоза [103]. Сиртуины SIRT1, SIRT3 и SIRT6 препятствуют старению ЭК и сосудов [101]. Параллельно со старением и при хроническом оксидативном стрессе, воспалении, влиянии инсулиноподобного фактора роста II, трансформирующего фактора роста- β (TGF- β) ЭК могут способствовать развитию фиброза посредством эндотелиально-мезенхимального перехода (EndoMT) [104]. Это процесс, при котором определенные субпопуляции ЭК утрачивают эндотелиальные характеристики и трансформируются в гладкомышечные или мезенхимоподобные клетки, подверженные дальнейшей редифференцировке в клетки мезодермальной природы, включая остеобласты, хондроциты и адипоциты [105]. Иници-

ирование перепрограммирования осуществляется при участии специфических для EndoMT транскрипционных факторов Slug, Snail, Twist и Zeb1/2. Это событие связано с потерей апикально-базальной полярности и разрывом межклеточных контактов. Важно отметить, что эти изменения сохраняются и после удаления индуцирующих агентов и сопряжены с функциональными изменениями: уменьшением захвата ацетилированных ЛПНП, миграционной способности, обретением способности синтезировать коллаген *de novo* [106]. До сих пор неясно, какие регуляторные сигналы определяют полный или частичный EndoMT. Определенную роль в этом процессе играет контакт-зависимый сигнальный путь Notch [107]. EndoMT способствует развитию фиброза сердца, легких, печени, роговицы и других органов.

Связывание TGF- β с последующей активацией Smad-зависимого и Smad-независимого сигналинга считается наиболее важным путем инициации EndoMT [108]. Повышенная экспрессия NOX4, вызванная TGF- β , приводит к Snail1-опосредованному EndoMT. Кроме того, ET-1 синергически усиливает EndoMT, индуцируемый TGF- β , с участием канонических путей Smad. Еще один фактор, индуцирующий EndoMT посредством HIF1 α -опосредованной активации Snail1, важнейшего регулятора EndoMT, является гипоксия. Уровень Snail1 регулируется GSK3-опосредованным фосфорилированием Snail1, который подвергается протеасомной деградации. Кавеолин Cav1, напротив, подавляет EndoMT через интернализацию рецепторов TGF- β с их последующей деградацией. EndoMT также модулируется морфогенами Wnt, Sonic Hh, Notch и др. Если в результате этих внутриклеточных сигнальных событий активируются гены, специфичные для мезенхимных клеток, то это приводит к усилению синтеза миофибробласт-специфических и профибротических макромолекул, включая α -SMA, COL1, COL3, FN, COMP и TIM (ингибитор MMP). Одновременно происходит подавление ЭК-специфических маркеров, таких как CD31/PECAM-1, VE-кадгерин и VWF, что приводит к фенотипическому превращению ЭК в миофибробласты, ответственные за фиброзный процесс [108].

Показано, что уровень микроРНК-20a (miR-20a) снижается при EndoMT, и восстановление его экспрессии под действием фактора роста фибробластов (FGF)-2 коррелирует с регрессией EndoMT [109]. Напротив, уровень miR-21 повышается после воздействия TGF- β , что приводит к усилению EndoMT, тогда как блокада экспрессии эндотелиальной miR-21 подавляет EndoMT [110]. Таким образом, эти две микроРНК действуют, соответственно, выше (miR-20a) и ниже (miR-21) активированного TGF- β сигналинга [111]. Считается, что TGF- β является основным медиатором EndoMT, тогда как костный морфогенетический

белок 7 (BMP-7), обозначаемый также как остеогенный белок-1 (OP-1), и FGF могут как усиливать, так и ослаблять TGF-управляемый EndoMT в зависимости от условий [112]. Кроме того, эндотелиальная аутофагия также снижает уровень EndoMT. Индукторы аутофагии, рапамицин и треталоза, противодействовали EndoMT в результате подавления фосфорилирования Smad3 и снижения экспрессии Snail [113]. В 2014 году были опубликованы результаты, показывающие способность фибробластов сердца принимать эндотелиальный фенотип после острого ишемического повреждения [114]. ЭК, образованные из фибробластов, имеют морфофункциональные характеристики нативных ЭК; более того, индукция р53 в фибробластах сердца усиливает мезенхимально-эндотелиальный переход, улучшает кровообращение и функциональное состояние сердца.

Для подавления EndoMT при интерстициальном заболевании легких, связанном с системным склерозом, клиницисты назначают циклофосфамид, тогда как микофенолат или метотрексат используют при менее опасном поражении кожи. Среди новых препаратов, модулирующих фиброз и воспаление при системном склерозе, отметим тоцилизумаб, пирфенидон, ингибиторы тирозинкиназы, лизофосфатидную кислоту и ингибиторы NOX4 [115]. Перспективными представляются природные соединения: генипозид (иридоидный гликозид, выделенный из плодов гардении) и глицирризин (сапонин из корня солодки). Генипозид устраняет вызванную блеомицином утрату капилляров и фиброз, ослабляет экспрессию ключевых факторов EndoMT (Slug, Snail и Twist) и подавляет киназы mTOR и S6 [116]. Глицирризин также уменьшает кожный фиброз, вызванный блеомицином, что связано с блокадой сигналинга TGF- β в дермальных фибробластах посредством подавления тромбоспондина 1, латентного рецептора TGF- β и факторов транскрипции Smad3 и Ets1. У мышей, которым вводили глицирризин, блеомицин-зависимые нарушение иммунного ответа и EndoMT были выражены существенно меньше [117].

ДИНАМИКА ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРОВ – ОСНОВА КОНЦЕПЦИИ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ МОЩНОСТИ

Эффективность работы в области экспериментальной и клинической медицины во многом зависит от широты наших представлений о реакции клеток на различные стимулы и предполагает разработку новых теоретико-прикладных инструментов. Одним из таких инструментов может стать концепция “цитотоксической мощности”, первоначальная версия которой опубликована ранее [118]. Принятые в настоящее время понятия “апоптотического индекса” и “апоптотиче-

ского потенциала” недостаточны для адекватной количественной оценки и анализа проапоптотической активности химических веществ в пределах широкого диапазона терапевтических и токсических доз, поэтому в качестве альтернативы этим показателям была разработана концепция “цитотоксической мощности”, суть которой состоит в том, что в экспериментах *in vitro* окончательные расчеты значений эффективности проводятся не только с учетом временного развития процесса гибели клеток, но также с учетом соотношения количества вещества к числу исследуемых клеток. Цитотоксическую мощность (P) вещества можно математически представить в виде отношения произведения количества вещества (S), выраженного в молях, на интенсивность цитотоксического процесса (I , частный случай интенсивности сигнала, свидетельствующего об экспрессии того или иного маркера ЭК или других клеток) к квадрату числа клеток за единицу времени (t):

$$P = \frac{IS}{n^2 t}.$$

Концепция и соответствующий алгоритм вычисления мощности позволяют выполнить корректную трансформацию квантованной зависимости в градуальную, основанную на стратегии многофакторного поиска, и, наряду с относительно универсальными и неспецифическими показателями цитотоксичности, выявить и использовать тканеспецифические показатели (маркеры) — компоненты так называемого фенома. Для клеточной гибели любого типа можно выявить маркеры, уровень (количество) которых постепенно повышается или снижается перед гибелью клетки. Уровень экспрессии каждого маркера зависит от дозы (количества) цитотоксического вещества. Важно отметить, что мы наблюдаем экспрессию в живых клетках вне зависимости от того, какой процент погибших клеток регистрируется. Более того, наряду с этим мы можем определять экспрессию маркеров клетками на стадии раннего апоптоза или аутофагии, поскольку эти клетки считаются еще живыми. Таким образом, интенсивность развития того или иного сигнала отражает повышение числа дискретных, функционально сопряженных, относительно стабильных и, в то же время, переходных внутриклеточных структур, являющихся компонентами клеточного фенома — мы называем их “фенами” (F). В таком случае интенсивность или мощность цитотоксического процесса можно выразить формулой $I = F/t$. Единицей измерения цитотоксической мощности вещества является “мольфен” — количество наномолей вещества, изменяющего интенсивность экспрессии фенотипических маркеров (компонентов фенома) на 100 условных единиц в час с момента начала воздействия на 1000 клеток. Это определение,

не претендующее на завершенность и полноту, придает особое значение количественному соотношению фенов и числа клеток, а также различным начальным состояниям клеток, что объясняет различия в динамике клеточной гибели внутри популяции. Концепция цитотоксической мощности может способствовать интеграции данных, полученных *in vitro* на различных типах клеток, с результатами исследований *in vivo*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Эндотелий занимает стратегическое положение между кровью и интерстициальными тканями, так что ЭК как никакие другие интегрируют в себе функции барьерной ткани, источника многочисленных медиаторов и участника многих физиологических процессов. В силу этого ЭКвольно или невольно служат объектом самых разных видов терапии. Патология сосудов обусловлена, как правило, множеством факторов, включая генетические и факторы среды, так что реакция клеток на широкий спектр воздействий также имеет многомерный характер, но современные методы лечения направлены в основном на отдельные сигнальные молекулы, участвующие в патофизиологических путях. Такой подход к изучению фенотипа по умолчанию регулируется гипотезой “один ген/один признак”. Тем временем, омик-технологии позволяют описать происхождение (этиологию) и сущность (патофизиологию) ЭК-зависимых патологий в виде совокупности “больших данных” (big data) как нового информационно-технологического феномена, а также выявить новые отношения между множеством и вариабельностью данных, с одной стороны, и ограниченным по своей сути традиционным определением клинических фенотипов сосудистых заболеваний, с другой стороны [119].

Феномика, стратегия которой была объявлена около двух десятилетий назад [120], постепенно изменила традиционный подход фенотип/генотип/геном на новую парадигму биологического исследования — триаду феном/геном/протеом. Феном — это совокупность всех фенотипических признаков организма, обусловленных экспрессией генома и специфическим воздействием окружающей среды, причем в динамике. Феномика — это новый подход к определению количественной корреляции между множественными фенотипическими признаками и вариабельностью транскриптома, протеома, метаболома, интерактома и факторов окружающей среды, наряду с геномом. Развитие феномики позволит не только определить набор биомаркеров для диагностики патологии сосудов, но и выявит новые цели для комбинированной терапии, а также новые системы тестирования для оценки химической безопасности и/или терапевтической эффективно-

сти веществ (воздействий в широком смысле), тем самым совершив революционный сдвиг парадигмы доклинического тестирования препаратов [119].

В настоящее время повышенное внимание привлекают показатели качества диеты в целом, в отличие от отдельных компонентов питания или его калорийности. Это особенно актуально для оценки состояния эндотелия и корректировки сосудистых заболеваний. Существует тесная связь между структурой питания и экспрессией эндотелиальных маркеров. Условно здоровые продукты или блюда, в частности, фрукты и овощи, потребляемые регулярно, оказывают положительное влияние на функциональное состояние эндотелия, что можно оценить по уровню его маркеров, таких как молекулы sICAM-1, sVCAM-1, E-селектин и ряд других. “Западная” диета (преимущественно мясо, сладости, рафинированные продукты и жареные блюда) коррелирует с маркерами воспаления и атерогенеза [121]. Кроме того, умеренная физическая активность положительно влияет как на маркеры эндотелия, так и на когнитивные способности у пожилых людей [122].

Новые концепции, методы исследований, обработки данных и целевого воздействия на клетки и организм в целом дают нам уверенность в разработке более естественных подходов к решению проблем здоровья сосудов и заболеваний человека.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант 18-15-00417).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Gimbrone M. 1986. Vascular endothelium: Nature's blood container. In: *Vascular Endothelium in Hemostasis and Thrombosis*. New York: Churchill Livingstone, pp. 1–13.
- Wolinsky H. 1980. A proposal linking clearance of circulating lipoproteins to tissue metabolic activity as a basis for understanding atherogenesis. *Circ. Res.* **47** (3), 301–311.
- Deracinois B., Lenfant A.M., Dehouck M.P., Flahaut C. 2015. Tissue non-specific alkaline phosphatase (TNAP) in vessels of the brain. *Subcell. Biochem.* **76**, 125–151.
- Ishii Y., Langberg J., Rosborough K., Mikawa T. 2009. Endothelial cell lineages of the heart. *Cell Tissue Res.* **335** (1), 67–73.
- van Hinsbergh V.W.M. 2012. Endothelium—role in regulation of coagulation and inflammation. *Semin. Immunopathol.* **34** (1), 93–106.
- Adam A.P. 2015. Regulation of endothelial adherens junctions by tyrosine phosphorylation. *Mediators Inflamm.* **2015**, Article ID 272858, 24.
- Aird W.C. 2012. Endothelial cell heterogeneity. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2** (1), article a006429.
- Abbott N.J., Ronnback L., Hansson E. 2006. Astrocyte—endothelial interactions at the blood—brain barrier. *Nat. Rev. Neurosci.* **7** (1), 41–53.
- Ransohoff R.M., Engelhardt B. 2012. The anatomical and cellular basis of immune surveillance in the central nervous system. *Nat. Rev. Immunol.* **12** (9), 623–635.
- Meresse S., Dehouck M.P., Delorme P., Bensaïd M., Tauber J.P., Delbart C., Fruchart J.C., Cecchelli R. 1989. Bovine brain endothelial cells express tight junctions and monoamine oxidase activity in long-term culture. *J. Neurochem.* **53** (5), 1363–1371.
- Yu C., Kastin A.J., Ding Y., Pan W. 2007. Gamma glutamyl transpeptidase is a dynamic indicator of endothelial response to stroke. *Exp. Neurol.* **203** (1), 116–122.
- Bendayan M. 2002. Morphological and cytochemical aspects of capillary permeability. *Microsc. Res. Tech.* **57** (5), 327–349.
- Metzger R., Franke F.E., Bohle R.M., Alhenc-Gelas F., Danilov S.M. 2011. Heterogeneous distribution of angiotensin I-converting enzyme (CD143) in the human and rat vascular systems: Vessel, organ and species specificity. *Microvasc. Res.* **81** (2), 206–215.
- Rajendran P., Rengarajan T., Thangavel J., Nishigaki Y., Sakthisekaran D., Sethi G., Nishigaki I. 2013. The vascular endothelium and human diseases. *Int. J. Biol. Sci.* **9** (10), 1057–1069.
- Mai J., Virtue A., Shen J., Wang H., Yang X.F. 2013. An evolving new paradigm: Endothelial cells — conditional innate immune cells. *J. Hematol. Oncol.* **6** (1), 61.
- Mutin M., Dignat-George F., Sampol J. 1997. Immunologic phenotype of cultured endothelial cells: Quantitative analysis of cell surface molecules. *Tissue Antigens.* **50** (5), 449–458.
- Kudryavtsev I.V., Garnyuk V.V., Nadeev A.D., Goncharov N.V. 2014. Hydrogen peroxide modulates expression of surface antigens by human umbilical vein endothelial cells *in vitro*. *Biochem. (Moscow) Suppl. Ser. A: Membr. Cell Biol.* **8** (1), 97–102.
- Mailloux R.J. 2015. Teaching the fundamentals of electron transfer reactions in mitochondria and the production and detection of reactive oxygen species. *Redox Biol.* **4**, 381–398.
- Sturza A., Duicu O.M., Vaduva A., Dănilă M.D., Noveanu L., Varró A., Muntean D.M. 2015. Monoamine oxidases are novel sources of cardiovascular oxidative stress in experimental diabetes. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **93** (7), 555–561.
- Goncharov N., Avdonin P., Nadeev A., Zharkikh I., Jenkins R. 2015. Reactive oxygen species in pathogenesis of atherosclerosis. *Curr. Pharm. Des.* **21** (9), 1134–1146.
- Jaffe E.A., Nachman R.L., Becker C.G., Minick C.R. 1973. Culture of human endothelial cells derived from umbilical veins. Identification by morphologic and immunologic criteria. *J. Clin. Invest.* **52** (11), 2745–2756.
- Jaffe E.A., Hoyer L.W., Nachman R.L. 1974. Synthesis of von Willebrand factor by cultured human endothelial cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* **71** (5), 1906–1909.
- Goncharov N.V., Nadeev A.D., Jenkins R.O., Avdonin P.V. 2017. Markers and biomarkers of endothe-

- lium: When something is rotten in the state. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2017**, Article ID 9759735, 27. doi 9759735
24. Petrovic N., Schacke W., Gahagan J.R., O'Connor C.A., Winnicka B., Conway R.E., Mina-Osorio P., Shapiro L.H. 2007. CD13/APN regulates endothelial invasion and filopodia formation. *Blood.* **110** (1), 142–150.
 25. Yamamoto H., Ehling M., Kato K., Kanai K., van Lessen M., Frye M., Zeuschner D., Nakayama M., Vestweber D., Adams R.H. 2015. Integrin β 1 controls VE-cadherin localization and blood vessel stability. *Nat. Commun.* **6**, 6429.
 26. Zhang Y., Li H., Wei R., Ma J., Zhao Y., Lian Z., Liu Z. 2015. Endothelial cells regulate cardiac myocyte reorganisation through β 1-integrin signaling. *Cell. Physiol. Biochem.* **35** (5), 1808–1820.
 27. Riccieri V., Stefanantoni K., Vasile M., Macri V., Sciarra I., Iannace N., Alessandri C., Valesini G. 2011. Abnormal plasma levels of different angiogenic molecules are associated with different clinical manifestations in patients with systemic sclerosis. *Clin. Exp. Rheumatol.* **29** (2, Suppl. 65), S46–S52.
 28. Sidney L.E., Branch M.J., Dunphy S.E., Dua H.S., Hopkinson A. 2014. Concise review: Evidence for CD34 as a common marker for diverse progenitors. *Stem Cells.* **32** (6), 1380–1389.
 29. Park L., Wang G., Moore J., Girouard H., Zhou P., Anrather J., Iadecola C. 2014. The key role of transient receptor potential melastatin-2 channels in amyloid- β -induced neurovascular dysfunction. *Nat. Commun.* **5**, 5318.
 30. Takahashi-Sato K., Murakawa M., Kimura J., Ito M.A., Matsuoka I. 2013. Loss of ectonucleotidases from the coronary vascular bed after ischemia-reperfusion in isolated rat heart. *BMC Cardiovasc. Disord.* **3** (1), 53.
 31. Helenius M.H., Vattulainen S., Orcholski M., Aho J., Komulainen A., Taimen P., Wang L., de Jesus Perez V.A., Koskenvuo J.W., Alastalo T.P. 2015. Suppression of endothelial CD39/ENTPD1 is associated with pulmonary vascular remodeling in pulmonary arterial hypertension. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* **308** (10), L1046–L1057.
 32. Beldi G., Wu Y., Sun X., Imai M., Enjyoji K., Csizmadia E., Candinas D., Erb L., Robson S.C. 2008. Regulated catalysis of extracellular nucleotides by vascular CD39/ENTPD1 is required for liver regeneration. *Gastroenterology.* **135** (5), 1751–1760.
 33. Sakimoto S., Marchetti V., Aguilar E., Lee K., Usui Y., Murinello S., Bucher F., Trombley J.K., Fallon R., Wagey R., Peters C., Scheppke E.L., Westenskow P.D., Friedlander M. 2017. CD44 expression in endothelial colony-forming cells regulates neurovascular trophic effect. *JCI Insight.* **2** (2), article e89906.
 34. Mund J.A., Estes M.L., Yoder M.C., Ingram D.A., Case J. 2012. Flow cytometric identification and functional characterization of immature and mature circulating endothelial cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **32** (4), 1045–1053.
 35. Martinelli R., Newton G., Carman C.V., Greenwood J., Lusinskas F.W. 2013. Novel role of CD47 in rat microvascular endothelium: Signaling and regulation of T-cell transendothelial migration. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **33** (11), 2566–2576.
 36. Page A.V., Liles W.C. 2013. Biomarkers of endothelial activation/dysfunction in infectious diseases. *Virulence.* **4** (6), 507–516.
 37. Cho J., Kennedy D.R., Lin L., Huang M., Merrill-Skoloff G., Furie B.C., Furie B. 2012. Protein disulfide isomerase capture during thrombus formation *in vivo* depends on the presence of β 3 integrins. *Blood.* **120** (3), 647–655.
 38. Satoh S., Suzuki A., Asari Y., Sato M., Kojima N., Sato T., Tsuchiya N., Sato K., Senoo H., Kato T. 2002. Glomerular endothelium exhibits enhanced expression of costimulatory adhesion molecules, CD80 and CD86, by warm ischemia/reperfusion injury in rats. *Lab. Invest.* **82** (9), 1209–1217.
 39. Goldie L.C., Lucitti J.L., Dickinson M.E., Hirschi K.K. 2008. Cell signaling directing the formation and function of hemogenic endothelium during murine embryogenesis. *Blood.* **112** (8), 3194–3204.
 40. Huizer K., Mustafa D.A.M., Spelt J.C., Kros J.M., Sacchetti A. 2017. Improving the characterization of endothelial progenitor cell subsets by an optimized FACS protocol. *PLoS One.* **12** (9), e0184895. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184895>
 41. Rossi E., Poirault-Chassac S., Bieche I., Chocron R., Schnitzler A., Lokajczyk A., Bourdoncle P., Dizier B., Bacha N.C., Gendron N., Blandinieres A., Guerin C.L., Gaussem P., Smadja D.M. 2019. Human endothelial colony forming cells express intracellular CD133 that modulates their vasculogenic properties. *Stem Cell Rev.* <https://doi.org/10.1007/s12015-019-09881-8>
 42. Golab-Janowska M., Paczkowska E., Machalinski B., Kotlega D., Meller A., Nowacki P., Krzysztof S., Pawel W. 2019. Elevated inflammatory parameter levels negatively correlate with populations of circulating stem cells (CD133+), early endothelial progenitor cells. *Curr. Neurovasc. Res.* <https://doi.org/10.2174/1567202616666190129164906>
 43. Vestweber D. 2008. VE-cadherin: The major endothelial adhesion molecule controlling cellular junctions and blood vessel formation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **28** (2), 223–232.
 44. Jin H. J., Kwon J.H., Kim M., Bae Y.K., Choi S.J., Oh W., Yang Y.S., Jeon H.B. 2016. Downregulation of melanoma cell adhesion molecule (MCAM/CD146) accelerates cellular senescence in human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells Transl. Med.* **5** (4), 427–439.
 45. Zhou Y., Huang H., Yuan L.J., Xiong Y., Huang X., Lin J.X., Zheng M. 2015. CD146 as an adverse prognostic factor in uterine sarcoma. *Eur. J. Med. Res.* **20** (1), 67.
 46. Holmes K., Roberts O.L., Thomas A.M., Cross M.J. 2007. Vascular endothelial growth factor receptor-2: Structure, function, intracellular signalling and therapeutic inhibition. *Cell. Signal.* **19** (10), 2003–2012.
 47. Cui D., Arima M., Takubo K., Kimura T., Horiuchi K., Minagawa T., Matsuda S., Ikeda E. 2015. ADAM12 and ADAM17 are essential molecules for hypoxia-induced impairment of neural vascular barrier function. *Sci. Rep.* **5** (1), article 12796.
 48. Wei J., Liu C.J., Li Z. 2014. ADAMTS-18: A metalloproteinase with multiple functions. *Front. Biosci.* **19** (8), 1456–1467.

49. Borst O., Abed M., Alesutan I., Towhid S.T., Qadri S.M., Föller M., Gawaz M., Lang F. 2012. Dynamic adhesion of eryptotic erythrocytes to endothelial cells via CXCL16/SR-PSOX. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **302** (4), C644–C651.
50. Frigo G., Tramentozzi E., Orso G., Ceolotto G., Pagetta A., Stagni C., Menin C., Rosato A., Finotti P. 2016. Human IgGs induce synthesis and secretion of IgGs and neonatal Fc receptor in human umbilical vein endothelial cells. *Immunobiology.* **221** (12), 1329–1342.
51. Garmy-Susini B., Jin H., Zhu Y., Sung R.J., Hwang R., Varner J. 2005. Integrin $\alpha_4\beta_1$ –VCAM-1–mediated adhesion between endothelial and mural cells is required for blood vessel maturation. *J. Clin. Invest.* **115** (6), 1542–1551.
52. Hale A.T., Tian H., Anih E., Recio F.O. 3rd, Shattat M.A., Johnson T., Liao X., Ramirez-Bergeron D.L., Proweller A., Ishikawa M., Hamik A. 2014. Endothelial Krüppel-like factor 4 regulates angiogenesis and the Notch signaling pathway. *J. Biol. Chem.* **289** (17), 12016–12028.
53. Yoshida T., Yamashita M., Iwai M., Hayashi M. 2016. Endothelial Krüppel-like factor 4 mediates the protective effect of statins against ischemic AKI. *J. Am. Soc. Nephrol.* **27** (5), 1379–1388.
54. Briot A., Bouloumie A., Iruela-Arispe M.L. 2016. Notch, lipids, and endothelial cells. *Curr. Opin. Lipidol.* **27** (5), 513–520.
55. Bennani-Baiti B., Toegel S., Viernstein H., Urban E., Noe C.R., Bennani-Baiti I.M. 2015. Inflammation modulates RLIP76/RALBP1 electrophile-glutathione conjugate transporter and housekeeping genes in human blood–brain barrier endothelial cells. *PLoS One.* **10** (9), article e0139101.
56. Milam K.E., Parikh S.M. 2015. The angiopoietin-Tie2 signaling axis in the vascular leakage of systemic inflammation. *Tissue Barriers.* **3** (1–2), article e957508.
57. Kellett K.A.B., Hooper N.M. 2015. The role of tissue non-specific alkaline phosphatase (TNAP) in neurodegenerative diseases: Alzheimer's disease in the focus. *Subcell. Biochem.* **76**, 363–374.
58. Starke R.D., Ferraro F., Paschalaki K.E., Dryden N.H., McKinnon T.A., Sutton R.E., Payne E.M., Haskard D.O., Hughes A.D., Cutler D.F., Laffan M.A., Randi A.M. 2011. Endothelial von Willebrand factor regulates angiogenesis. *Blood.* **117** (3), 1071–1080.
59. Valentijn K.M., Eikenboom J. 2013. Weibel–Palade bodies: A window to von Willebrand disease. *J. Thromb. Haemost.* **11** (4), 581–592.
60. Lenting P.J., Christophe O.D., Denis C.V. 2015. Von Willebrand factor biosynthesis, secretion, and clearance: Connecting the far ends. *Blood.* **125** (13), 2019–2028.
61. Turner N.A., Nolasco L., Ruggeri Z.M., Moake J.L. 2009. Endothelial cell ADAMTS-13 and VWF: Production, release, and VWF string cleavage. *Blood.* **114** (24), 5102–5111.
62. Shim K., Anderson P.J., Tuley E.A., Wiswall E., Evan Sadler J. 2008. Platelet–VWF complexes are preferred substrates of ADAMTS13 under fluid shear stress. *Blood.* **111** (2), 651–657.
63. Randi A.M., Laffan M.A. 2017. Von Willebrand factor and angiogenesis: Basic and applied issues. *J. Thromb. Haemost.* **15** (1), 13–20.
64. Bönner G. 1990. Kinin-related effects of angiotensin-converting enzyme inhibition. *Clin. Physiol. Biochem.* **8** (Suppl. 1), 6–15.
65. Hemming M.L., Selkoe D.J. 2005. Amyloid β -protein is degraded by cellular angiotensin-converting enzyme (ACE) and elevated by an ACE inhibitor. *J. Biol. Chem.* **280** (45), 37644–37650.
66. Li W., Moore M.J., Vasilieva N., Sui J., Wong S.K., Berne M.A., Somasundaran M., Sullivan J.L., Luzuriaga K., Greenough T.C., Choe H., Farzan M. 2003. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature.* **426** (6965), 450–454.
67. Gaddam R., Chambers S., Bhatia M. 2014. ACE and ACE2 in inflammation: A tale of two enzymes. *Inflamm. Allergy Drug Targets.* **13** (4), 224–234.
68. Iwai M., Horiuchi M. 2009. Devil and angel in the renin–angiotensin system: ACE–angiotensin II–AT₁ receptor axis vs. ACE2–angiotensin-(1–7)–mas receptor axis. *Hypertens. Res.* **32** (7), 533–536.
69. Chappell M.C. 2007. Emerging evidence for a functional angiotensin-converting enzyme 2–angiotensin-(1–7)–MAS receptor axis: More than regulation of blood pressure? *Hypertension.* **50** (4), 596–599.
70. Wang H.J., Chen S.F., Lo W.Y. 2016. Identification of Cofilin-1 induces G0/G1 arrest and autophagy in angiotensin-(1–7)-treated human aortic endothelial cells from iTRAQ quantitative proteomics. *Sci. Rep.* **6**, article 35372.
71. Roskoski R. Jr. 2017. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptor inhibitors in the treatment of renal cell carcinomas. *Pharmacol. Res.* **120**, 116–132.
72. Nesmith J.E., Chappell J.C., Cluceru J.G., Bautch V.L. 2017. Blood vessel anastomosis is spatially regulated by Flt1 during angiogenesis. *Development.* **144** (5), 889–896.
73. Zhang M., Jiang L. 2016. Oxidized low-density lipoprotein decreases VEGFR2 expression in HUVECs and impairs angiogenesis. *Exp. Ther. Med.* **12** (6), 3742–3748.
74. Eklund L., Kangas J., Saharinen P. 2017. Angiopoietin–tie signalling in the cardiovascular and lymphatic systems. *Clin. Sci. (Lond.).* **131** (1), 87–103.
75. Armulik A., Genove G., Betsholtz C. 2011. Pericytes: Developmental, physiological, and pathological perspectives, problems, and promises. *Dev. Cell.* **21** (2), 193–215.
76. Park Y.S., Kim G., Jin Y.M., Lee J.Y., Shin J.W., Jo I. 2016. Expression of angiopoietin-1 in hypoxic pericytes: Regulation by hypoxia-inducible factor-2 α and participation in endothelial cell migration and tube formation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **469** (2), 263–269.
77. Gavard J., Gutkind J.S. 2006. VEGF controls endothelial-cell permeability by promoting the β -arrestin-dependent endocytosis of VE-cadherin. *Nat. Cell Biol.* **8** (11), 1223–1234.
78. Shen J., Frye M., Lee B.L., Reinardy J.L., McClung J.M., Ding K., Kojima M., Xia H., Seidel C., Lima e Silva R.,

- Dong A., Hackett S.F., Wang J., Howard B.W., Vestweber D., Kontos C.D., Peters K.G., Campochiaro P.A. 2014. Targeting VE-PTP activates TIE2 and stabilizes the ocular vasculature. *J. Clin. Invest.* **124** (10), 4564–4576.
79. Kalinowska A., Losy J. 2006. PECAM-1, a key player in neuroinflammation. *Eur. J. Neurol.* **13** (12), 1284–1290.
80. Li Q., Syrovets T., Simmet T., Ding J., Xu J., Chen W., Zhu D., Gao P. 2013. Plasmin induces intercellular adhesion molecule 1 expression in human endothelial cells via nuclear factor- κ B/mitogen-activated protein kinases-dependent pathways. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*. **238** (2), 176–186.
81. Wong D., Dorovini-Zis K. 1992. Upregulation of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression in primary cultures of human brain microvessel endothelial cells by cytokines and lipopolysaccharide. *J. Neuroimmunol.* **39** (1–2), 11–21.
82. Yang L., Froio R.M., Sciuto T.E., Dvorak A.M., Alon R., Luscinskas F.W. 2005. ICAM-1 regulates neutrophil adhesion and transcellular migration of TNF- α -activated vascular endothelium under flow. *Blood*. **106** (2), 584–592.
83. Lawson C., Wolf S. 2009. ICAM-1 signaling in endothelial cells. *Pharmacol. Rep.* **61** (1), 22–32.
84. Muro S., Gajewski C., Koval M., Muzykantov V.R. 2005. ICAM-1 recycling in endothelial cells: A novel pathway for sustained intracellular delivery and prolonged effects of drugs. *Blood*. **105** (2), 650–658.
85. Muro S., Mateescu M., Gajewski C., Robinson M., Muzykantov V.R., Koval M. 2006. Control of intracellular trafficking of ICAM-1-targeted nanocarriers by endothelial Na⁺/H⁺ exchanger proteins. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* **290** (5), L809–L817.
86. Malli R., Frieden M., Trenker M., Graier W.F. 2005. The role of mitochondria for Ca²⁺ refilling of the endoplasmic reticulum. *J. Biol. Chem.* **280** (13), 12114–12122.
87. Malli R., Frieden M., Osibow K., Zoratti C., Mayer M., Demareux N., Graier W.F. 2003. Sustained Ca²⁺ transfer across mitochondria is essential for mitochondrial Ca²⁺ buffering, store-operated Ca²⁺ entry, and Ca²⁺ store refilling. *J. Biol. Chem.* **278** (45), 44769–44779.
88. Hu Q., Ziegelstein R.C. 2000. Hypoxia/reoxygenation stimulates intracellular calcium oscillations in human aortic endothelial cells. *Circulation*. **102** (20), 2541–2547.
89. Camello-Almaraz C., Gomez-Pinilla P.J., Pozo M.J., Camello P.J. 2006. Mitochondrial reactive oxygen species and Ca²⁺ signaling. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **291** (5), C1082–C1088.
90. Ichimura H., Parthasarathi K., Quadri S., Issekutz A.C., Bhattacharya J. 2003. Mechano-oxidative coupling by mitochondria induces proinflammatory responses in lung venular capillaries. *J. Clin. Invest.* **111** (5), 691–699.
91. Pires P.W., Earley S. 2017. Redox regulation of transient receptor potential channels in the endothelium. *Microcirculation*. **24** (3), article e12329.
92. Montell C., Birnbaumer L., Flockerzi V., Bindels R.J., Bruford E.A., Caterina M.J., Clapham D.E., Harteneck C., Heller S., Julius D., Kojima I., Mori Y., Penner R., Prawitt D., Scharenberg A.M., Schultz G., Shimizu N., Zhu M.X. 2002. A unified nomenclature for the superfamily of TRP cation channels. *Mol. Cell*. **9** (2), 229–231.
93. Sumoza-Toledo A., Penner R. 2011. TRPM2: A multifunctional ion channel for calcium signaling. *J. Physiol.* **589** (7), 1515–1525.
94. Hara Y., Wakamori M., Ishii M., Maeno E., Nishida M., Yoshida T., Yamada H., Shimizu S., Mori E., Kudoh J., Shimizu N., Kurose H., Okada Y., Imoto K., Mori Y. 2002. LTRPC2 Ca²⁺-permeable channel activated by changes in redox status confers susceptibility to cell death. *Mol. Cell*. **9** (1), 163–173.
95. Koizumi K., Wang G., Park L. 2016. Endothelial dysfunction and amyloid- β -induced neurovascular alterations. *Cell. Mol. Neurobiol.* **36** (2), 155–165.
96. Suresh K., Servinsky L., Reyes J., Baksh S., Undem C., Caterina M., Pearce D.B., Shimoda L.A. 2015. Hydrogen peroxide-induced calcium influx in lung microvascular endothelial cells involves TRPV4. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* **309** (12), L1467–L1477.
97. Avdonin P.V., Nadeev A.D., Tsitrin E.B., Tsitrina A.A., Avdonin P.P., Mironova G.Y., Zharkikh I.L., Goncharov N.V. 2017. Involvement of two-pore channels in the elevation of cytoplasmic Ca²⁺ level in human umbilical vein endothelial cells induced by hydrogen peroxide. *Dokl. Biochem. Biophys.* **474** (4), 1–4.
98. Lee J., Kang I.J., Büniger R., Kang Y.H. 2004. Enhanced survival effect of pyruvate correlates MAPK and NF- κ B activation in hydrogen peroxide-treated human endothelial cells. *J. Appl. Physiol.* **96** (2), 793–801.
99. Xie C.L., Hu L.Q., Pan Y.B., Qian Y.N. 2015. Propofol attenuation of hydrogen peroxide-induced injury in human umbilical vein endothelial cells involves aldose reductase. *Pharmazie*. **70** (2), 103–109.
100. Erusalimsky J.D. 2009. Vascular endothelial senescence: From mechanisms to pathophysiology. *J. Appl. Physiol.* **106** (1), 326–332.
101. Kida Y., Goligorsky M.S. 2016. Sirtuins, cell senescence, and vascular aging. *Can. J. Cardiol.* **32** (5), 634–641.
102. Savoia C., Battistoni A., Calvez V., Cesario V., Montefusco G., Filippini A. 2017. Microvascular alterations in hypertension and vascular aging. *Curr. Hypertens. Rev.* **13** (1), 16–23.
103. Sepulveda C., Palomo I., Fuentes E. 2017. Mechanisms of endothelial dysfunction during aging: Predisposition to thrombosis. *Mech. Ageing Dev.* **164**, 91–99.
104. Dijke P., Egorova A.D., Goumans M.J., Poelmann R.E., Hierck B.P. 2012. TGF- β signaling in endothelial-to-mesenchymal transition: The role of shear stress and primary cilia. *Sci. Signal.* **5** (212).
105. Sanchez-Duffhues G., Orlova V., Ten Dijke P. 2016. In brief: Endothelial-to-mesenchymal transition. *J. Pathol.* **238** (3), 378–380.
106. Rieder F., Kessler S.P., West G.A., Bhilocha S., de la Motte C., Sadler T.M., Gopalan B., Stylianou E., Fiocchi C. 2011. Inflammation-induced endothelial-to-mesenchymal transition: A novel mechanism of intestinal fibrosis. *Am. J. Pathol.* **179** (5), 2660–2673.
107. Welch-Reardon K.M., Wu N., Hughes C.C.W. 2015. A role for partial endothelial-mesenchymal transitions in angiogenesis? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **35** (2), 303–308.

108. Piera-Velazquez S., Mendoza F., Jimenez S. 2016. Endothelial to mesenchymal transition (EndoMT) in the pathogenesis of human fibrotic diseases. *J. Clin. Med.* **5** (4).
109. Correia A.C.P., Moonen J.R.A.J., Brinker M.G.L., Krenning G. 2016. FGF2 inhibits endothelial–mesenchymal transition through microRNA-20a-mediated repression of canonical TGF- β signaling. *J. Cell Sci.* **129** (3), 569–579.
110. Kumarwamy R., Volkmann I., Jazbutyte V., Dangwal S., Park D.H., Thum T. 2012. Transforming growth factor- β -induced endothelial-to-mesenchymal transition is partly mediated by microRNA-21. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **32** (2), 361–369.
111. Dejana E., Hirschi K.K., Simons M. 2017. The molecular basis of endothelial cell plasticity. *Nat. Commun.* **8**, article 14361.
112. Medici D., Kalluri R. 2012. Endothelial–mesenchymal transition and its contribution to the emergence of stem cell phenotype. *Semin. Cancer Biol.* **22** (5–6), 379–384.
113. Wang J., Feng Y., Wang Y., Xiang D., Zhang X., Yuan F. 2017. Autophagy regulates endothelial-mesenchymal transition by decreasing the phosphorylation level of Smad3. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **487** (3), 740–747.
114. Ubil E., Duan J., Pillai I.C.L., Rosa-Garrido M., Wu Y., Bargiacchi F., Lu Y., Stanboully S., Huang J., Rojas M., Vondriská T.M., Stefani E., Deb A. 2014. Mesenchymal–endothelial transition contributes to cardiac neovascularization. *Nature*. **514** (7524), 585–590.
115. Mendoza F.A., Mansoor M., Jimenez S.A. 2016. Treatment of rapidly progressive systemic sclerosis: Current and futures perspectives. *Expert Opin. Orphan Drugs*. **4** (1), 31–47.
116. Qi Q., Mao Y., Tian Y., Zhu K., Cha X., Wu M., Zhou X. 2017. Geniposide inhibited endothelial-mesenchymal transition via the mTOR signaling pathway in a bleomycin-induced scleroderma mouse model. *Am. J. Transl. Res.* **9** (3), 1025–1036.
117. Yamashita T., Asano Y., Taniguchi T., Nakamura K., Saigusa R., Miura S., Toyama T., Takahashi T., Ichimura Y., Yoshizaki A., Trojanowska M., Sato S. 2017. Glycyrrhizin ameliorates fibrosis, vasculopathy, and inflammation in animal models of systemic sclerosis. *J. Invest. Dermatol.* **137** (3), 631–640.
118. Гончаров Н.В., Терпиловский М.А., Надеев А.Д., Кудрявцев И.В., Серебрякова М.К., Зинченко В.П., Авдонин П.В. 2018. Цитотоксическая мощность пероксида водорода по отношению к эндотелиальным клеткам in vitro. *Биол. мембраны*. **35** (1), 16–26.
119. Han Y., Li L., Zhang Y., Ye L., Zhao J., Duan D.D. 2015. Phenomics of vascular disease: The systematic approach to the combination therapy. *Curr. Vasc. Pharmacol.* **13** (4), 433–440.
120. Schilling C.H., Edwards J.S., Palsson B.O. 1999. Toward metabolic phenomics: Analysis of genomic data using flux balances. *Biotechnol. Prog.* **15** (3), 288–295.
121. Defago M.D., Elorriaga N., Irazola V.E., Rubinstein A.L. 2014. Influence of food patterns on endothelial biomarkers: A systematic review. *J. Clin. Hypertens.* **16** (12), 907–913.
122. Alghadir A.H., Gabr S.A., Al-Eisa E.S. 2016. Effects of moderate aerobic exercise on cognitive abilities and redox state biomarkers in older adults. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2016**, Article ID 2545168, 8.

Endothelial Markers in Health and Disease

N. V. Goncharov^{1, 2, *}, P. I. Popova³, P. P. Avdonin⁴, I. V. Kudryavtsev^{5, 6},
M. K. Serebryakova⁵, E. A. Korf¹, P. V. Avdonin⁴

¹Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences,
St. Petersburg, 194223 Russia

²Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology,
p.o. Kuz'molovskii, Leningrad oblast, 188663 Russia

³City Polyclinic no. 19, St. Petersburg, 142238 Russia

⁴Koltzov Institute of Developmental Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119334 Russia

⁵Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, 197376 Russia

⁶Far Eastern Federal University, Vladivostok, 690091 Russia

*e-mail: ngoncharov@gmail.com

Endothelial cells (EC) line the blood vessels and lymphatic vessels, as well as heart chambers, forming the border between the tissues, on the one hand, and blood or lymph, on the other. Such a strategic position of the endothelium determines its most important functional role in the regulation of vascular tone, hemostasis, and inflammatory processes. The damaged endothelium can be both a cause and a consequence of many diseases. The state of the endothelium is indicated by the phenotype of these cells, represented mainly by (trans)membrane markers (surface antigens). This review provides a definition of endothelial markers, lists many of them, discusses the mechanisms of their expression, and considers the role of the endothelium in certain pathological conditions.

Keywords: endothelium, markers, expression, cell aging, pathology