

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Механочувствительные молекулярные взаимодействия в атерогенных районах артерий: развитие атеросклероза

Е.Л. Мищенко¹✉, А.М. Мищенко², В.А. Иванисенко¹

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

✉ elmish@bionet.nsc.ru

Аннотация. Атеросклероз, грозное заболевание сердечно-сосудистой системы, развивается в местах изгибов и разветвлений артерий, где меняются направление и модуль вектора скорости тока крови, а следовательно, механическое воздействие на контактирующие с током крови эндотелиальные клетки. Обзор посвящен актуальным исследованиям развития атеросклероза: механобиохимическим событиям, преобразующим проатерогенный механический стимул тока крови – низкое и низкое/осциллирующее напряжение сдвига, оказываемое на стенки артерий, – в цепи биохимических реакций в эндотелиальных клетках, приводящих к экспрессии специфических белков, вызывающих прогрессирование патологического процесса. Описаны стадии, системные факторы риска, а также важный гемодинамический фактор атерогенеза: низкое и низкое/осциллирующее напряжение сдвига, оказываемое током крови на эндотелиальные клетки, выстилающие стенки артерий. Показаны взаимодействия молекул клеточной адгезии, ответственные за развитие атеросклероза в условиях низкого и низкого/осциллирующего напряжения сдвига. Описаны активация регулятора экспрессии молекул клеточной адгезии – транскрипционного фактора NF-κB – и факторы, контролирующие его активацию в этих условиях. Описаны механочувствительные сигнальные пути, приводящие к экспрессии NF-κB в эндотелиальных клетках. Исследования механобиохимических сигнальных путей и взаимодействий, вовлеченных в прогрессирование атеросклероза, необходимы для разработки подходов, задерживающих или блокирующих развитие заболевания. Ключевые слова: атерогенез; напряжение сдвига; транскрипционный фактор NF-κB; экспрессия RelA; механочувствительные рецепторы; молекулы клеточной адгезии; сигнальные пути; механотрансдукция.

Для цитирования: Мищенко Е.Л., Мищенко А.М., Иванисенко В.А. Механочувствительные молекулярные взаимодействия в атерогенных районах артерий: развитие атеросклероза. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021;25(5):552-561. DOI 10.18699/VJ21.062

Mechanosensitive molecular interactions in atherogenic regions of the arteries: development of atherosclerosis

E.L. Mishchenko¹✉, A.M. Mishchenko², V.A. Ivanisenko¹

¹ Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

✉ elmish@bionet.nsc.ru

Abstract. A terrible disease of the cardiovascular system, atherosclerosis, develops in the areas of bends and branches of arteries, where the direction and modulus of the blood flow velocity vector change, and consequently so does the mechanical effect on endothelial cells in contact with the blood flow. The review focuses on topical research studies on the development of atherosclerosis – mechanobiological events that transform the proatherogenic mechanical stimulus of blood flow – low and low/oscillatory arterial wall shear stress in the chains of biochemical reactions in endothelial cells, leading to the expression of specific proteins that cause the progression of the pathological process. The stages of atherogenesis, systemic risk factors for atherogenesis and its important hemodynamic factor, low and low/oscillatory wall shear stress exerted by blood flow on the endothelial cells lining the arterial walls, have been described. The interactions of cell adhesion molecules responsible for the development of atherosclerosis under low and low/oscillating shear stress conditions have been demonstrated. The activation of the regulator of the expression of cell adhesion molecules, the transcription factor NF-κB, and the factors regulating its activation under these conditions have been described. Mechanosensitive signaling pathways leading to the expression of NF-κB in endothelial cells have been described. Studies of the mechanobiological signaling pathways and interactions involved in the progression of atherosclerosis provide valuable information for the development of approaches that delay or block the development of this disease. Key words: atherogenesis; shear stress; transcription factor NF-κB; RelA expression; mechanosensitive receptors; cell adhesion molecules; signaling pathways; mechanotransduction.

For citation: Mishchenko E.L., Mishchenko A.M., Ivanisenko V.A. Mechanosensitive molecular interactions in atherogenic regions of the arteries: development of atherosclerosis. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;25(5):552-561. DOI 10.18699/VJ21.062

Факторы риска и стадии атерогенеза. Напряжение сдвига – важный гемодинамический фактор атерогенеза

В настоящее время сердечно-сосудистые заболевания представляют серьезную проблему для здравоохранения. Атеросклероз является одной из наиболее грозных и распространенных патологий сердечно-сосудистой системы. Известны системные факторы риска развития атеросклероза, среди которых возраст, гипертония, сахарный диабет, курение, низкая физическая активность, жирная диета, почечная недостаточность, повышенный уровень фибриногена, липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), холестерина, С-реактивного белка в плазме крови (Virani et al., 2020). Уровень ЛПНП выделяют в отдельную группу факторов с учетом атерогенности субфракционного профиля апо-В-содержащих липопротеинов (Chang et al., 2017; Озерова и др., 2018). Проникновение ЛПНП плазмы крови через эндотелий в атеровосприимчивых областях артерий, их удержание и накопление во внеклеточном матриксе (ВКМ) субэндотелиального пространства инициируют атерогенез. ЛПНП удерживаются в интиме (в основном за счет взаимодействия с протеогликанам), подвергаются окислению (образование окЛПНП) и вызывают воспалительный ответ – инфильтрацию моноцитов циркулирующей крови в интиму. В интиме моноциты дифференцируются в макрофаги, поглощают окЛПНП и превращаются в пенистые клетки (Libby et al., 2019).

В развитии атеросклероза выделяют следующие стадии: (i) адаптивное утолщение интимы, (ii) образование жировых полосок, (iii) патологическое утолщение интимы, (iv) ранняя и (v) поздняя фиброатерома. На стадии *i* гладкомышечные клетки (ГМК) медиа мигрируют в интиму и секретируют протеогликаны. Образование жировых полосок на стадии *ii* сопровождается накоплением в интиме пенистых клеток (макрофагов, нагруженных липидами). ГМК, нагруженные липидами, представлены в меньшей степени. Патологическое утолщение интимы (*iii*) может быть как с инфильтрацией, так и без инфильтрации макрофагов. В обоих случаях в интиме присутствуют ГМК и внеклеточные липидные пулы. Накопление ГМК происходит в направлении к просвету артерии, а липидные пулы накапливаются вблизи медиа. Образование фиброзной крышки, покрывающей некротический кор, происходит на более поздних стадиях развития атеросклеротического повреждения, включая раннюю и позднюю фиброатерому (*iv*, *v*). В ее состав входят ГМК, инфильтрованные макрофаги, Т-лимфоциты, а также коллагены и протеогликаны внеклеточного матрикса. Программируемая гибель клеток по пути апо- и некроптоза играет существенную роль в ранней фиброатероме (*iv*) с образованием очагов некроза и кристаллов холестерина. В поздней фиброатероме (*v*) появляется обширный некротический кор, включающий клеточный дебрис и большое количество кристаллов свободного холестерина и его эфиров (Otsuka et al., 2015).

Молекулярно-генетические процессы атерогенеза до сих пор не до конца изучены. В результате многочисленных гемодинамических исследований установлено, что атеросклероз на фоне системных факторов риска в основном развивается в областях изгибов и разветвлений

артерий, где происходит изменение характера тока крови (Cecchi et al., 2011; Morbiducci et al., 2016; Zou et al., 2016). В качестве гемодинамических характеристик воздействия тока крови на стенки сосудов рассматривают напряжение сдвига (НС), гидростатическое давление и циклическую деформацию. НС определяется силой трения, возникающей при контакте текущей крови с внутренней стенкой артерии. НС на артериальной стенке описывают формулой (Ku et al., 1985):

$$\vec{\tau}_w = \mu \frac{d\vec{V}(t)}{dr},$$

где μ – коэффициент вязкости крови; $\vec{V}(t)$ – скорость потока крови, параллельная стенке сосуда в момент времени t ; r – радиальная координата.

Исследования, проведенные как на модельных животных, так и при наблюдении за пациентами, продемонстрировали закономерное максимальное утолщение интимы и образование атеросклеротических бляшек в районах с низким (<10 дин/см², у людей) и низким/осциллирующим НС (отклонением мгновенного вектора НС от его усредненного направления), тогда как такие повреждения минимальны в областях высокого НС (>25 дин/см², у людей). Высокие значения НС реализуются в прямолинейных участках артерий при ламинарном токе крови. В областях разветвлений и изгибов артерий вблизи стенок образуются вихревые потоки, приводящие к механическому воздействию на стенки и сопровождающиеся патологическими эффектами. Такие потоки характеризуются низким и низким/осциллирующим НС (Cecchi et al., 2011; Morbiducci et al., 2016). Транспорт ЛПНП в сосудистую стенку, изученный на изолированных сегментах сосудов, через которые осуществлялся поток ЛПНП, рос с уменьшением НС и, напротив, снижался с его увеличением (Colic et al., 2015). Пациент-специфичное моделирование субэндотелиального накопления ЛПНП в стенозированной правой коронарной артерии также показало обратную зависимость между распределением НС и накоплением ЛПНП: зоне рециркулирующего потока и низкого НС соответствовал максимум накопления ЛПНП, в местах высокого НС накопление ЛПНП было низким (Sakellarios et al., 2013).

Для локализации сегментов артерий с низким и низким/осциллирующим НС, а также мониторинга трансформации атеросклеротических бляшек в устойчивый или неустойчивый фенотип активно развивают компьютерное моделирование тока крови в сосудах, позволяющее определять пациент-специфичные поля и градиенты скоростей тока крови в зависимости от геометрии сосудов (Soulis et al., 2006; Timmins et al., 2015, 2017; Hung et al., 2016). С целью решения этих задач применяют уравнения Навье–Стокса для несжимаемой вязкой жидкости. Для реконструкции геометрической формы сосудов – методы внутрисосудистого УЗИ, а также рентгеновской микрокомпьютерной томографии с применением контрастных агентов (Nebuloni et al., 2013; Xing et al., 2016). Для проведения расчетов с математическими моделями стационарных и нестационарных течений крови в разных областях артерий широко используют пакеты программ ANSYS Fluent, OpenFOAM, FLUENT 6.0 и др. Компьютерное

моделирование распределения НС с учетом пациент-специфичных данных о геометрии сосудов представляет высокую ценность для клинической практики.

Молекулы клеточной адгезии и их взаимодействие на ранней стадии атерогенеза

ОкЛПНП в субэндотелиальном пространстве, а также низкое и низкое/осциллирующее НС вызывают провоспалительную активацию эндотелиальных клеток (ЭК), которая приводит к прикатыванию лейкоцитов циркулирующего тока крови к эндотелию, их адгезии и трансэндотелиальной миграции (ТЭМ). Медиаторами этих критических событий ранней стадии атерогенеза выступают молекулы клеточной адгезии, экспрессируемые на поверхности ЭК и клеток циркулирующей крови – моноцитов/лейкоцитов и тромбоцитов: молекула клеточной адгезии тромбоцитов/эндотелиальных клеток 1 (PECAM-1); молекула межклеточной адгезии (ICAM-1, ICAM-2); молекула сосудистой клеточной адгезии 1 (VCAM-1); E-, L- и P-селектины; сосудистый (VE) кадгерин; β 1- и β 2-интегрины; пролинбогатый гликопротеин CD99; молекула межклеточной адгезии А (JAM-A) и др.

Селектины – трансмембранные гликопротеины, экспрессируемые на поверхности ЭК (E-селектин, ELAM-1, P-селектин), лейкоцитов (L-селектин) и тромбоцитов (P-селектин) (Carlos, Harlan, 1994). Ранние эксперименты в проточной камере с ламинарным потоком моноцитов на монослое ЭК (физиологически низкое НС, использование функционально блокирующих моноклональных антител к L-, P-, E-селектину, ICAM-1, VCAM-1, β 1- и β 2-интегринам) показали, что прикатывание моноцитов к ЭК, их слабые обратимые контакты с ЭК (начальная адгезия) и замедление скорости вдоль эндотелия определяют взаимодействия L-селектина моноцитов с гликопротеиновыми лигандами ЭК и в меньшей степени P-селектина ЭК с гликопротеиновым лигандом моноцитов PSGL-1. E-селектин не участвует в процессе (Luscinskas et al., 1994, 1996). Плотная необратимая адгезия лейкоцитов к ЭК происходит при взаимодействии лейкоцитарного α 4 β 1-интегрина (VLA-4) с эндотелиальным иммуноглобулином VCAM-1 (Luscinskas et al., 1994; Huo, Ley, 2001) и лейкоцитарных α L β 2-интегринов (LFA-1, CD11a/CD18; Mac-1, CD11b/CD18) с эндотелиальным иммуноглобулином ICAM-1 (Luscinskas et al., 1994; Sigal et al., 2000; Huo, Ley, 2001).

ОкЛПНП и лизофосфатидилхолин, компонент окЛПНП, индуцируют на поверхности культивируемых ЭК экспрессию ICAM-1, VCAM-1 и стимулируют адгезию моноцитов (Kume et al., 1992; Amberger et al., 1997). Физиологически низкое НС, создаваемое потоком лейкоцитов (моноцитов, нейтрофилов, лимфоцитов, лимфоцитов) на монослое ЭК, за 1–2 мин генерирует на эндотелии направленные вверх докинг-структуры, содержащие кластеры ICAM-1 и VCAM-1. Эти кластеры окружают лейкоциты и выполняют роль якоря (Barreiro et al., 2002; Carman et al., 2003). В свою очередь структуры VCAM-1 и ICAM-1 вокруг лейкоцитов стимулируют образование боковых линейных треков лейкоцитарных β 1- (VLA-4) и β 2-интегринов (LFA-1), ориентированных параллельно класте-

рам ICAM-1 и VCAM-1 (Carman, Springer, 2004). Более того, 90 % лейкоцитов, окруженных кластерами VCAM-1 и ICAM-1, трансмигрируют в субэндотелиальное пространство, а подавление VCAM-1 и ICAM-1 ингибиторами (BARTA-AM, колхицин, токсин-B) значительно снижает ТЭМ. Независимо от пути (параклеточный между ЭК, трансклеточный через ЭК) ТЭМ ассоциирована с появлением чашевидной тяговой конструкции, образованной взаимодействиями эндотелиальных и лейкоцитарных клеток VCAM-1/VLA-4 и ICAM-1/LFA-1, направляющей и облегчающей процесс миграции (Carman et al., 2003).

Важную роль в ТЭМ лейкоцитов выполняет VE-кадгерин. VE-кадгерин экспрессируется только в ЭК, локализуется в основном в межклеточных контактах, играет важную роль в межклеточной адгезии и барьерной функции ЭК (Garrett et al., 2017). Адгезия лейкоцитов к эндотелию в латеральных межклеточных контактах, предшествующая ТЭМ, индуцирует образование разрывов в межклеточном распределении VE-кадгерина и компонент-VE-кадгеринового комплекса (α -, β -, γ -катенин, p120-катенин) в сайтах адгезии/трансмиграции лейкоцитов. Разрывы появляются в результате латерального смещения VE-кадгерина в мембране и облегчают ТЭМ лейкоцитов. После завершения ТЭМ VE-кадгерин перемещается в обратном направлении, закрывая разрывы (эффект раздвигающегося и закрывающегося занавеса) (Allport et al., 2000; Shaw et al., 2001). Латеральное перемещение VE-кадгерина в мембране, вероятно, происходит в результате дестабилизации его связи с актиновым цитоскелетом по следующему механизму: кластеры ICAM-1 и VCAM-1 в сайтах межклеточной адгезии лейкоцитов на ЭК индуцируют внутриклеточную активацию тирозинкиназ Src и Puk2 и фосфорилирование Tyr658 и Tyr731 цитоплазматического домена VE-кадгерина, вовлеченных в низкоаффинное связывание VE-кадгерина с p120- и β -катенином соответственно. Ослабление этих взаимодействий нарушает связь VE-кадгерина с актиновым цитоскелетом, дестабилизирует межклеточные VE-кадгерин/VE-кадгерин-взаимодействия и облегчает латеральное перемещение фосфорилированного VE-кадгерина в мембране (Allingham et al., 2007). p120-катенин регулирует фосфорилирование VE-кадгерина и парацеллярную ТЭМ лейкоцитов через механизм конкуренции с активированными тирозинкиназами Src и Puk2: гиперэкспрессия p120-катенина в ЭК приводит к отсутствию разрывов в распределении VE-кадгерина и блокированию ТЭМ лейкоцитов (Alcaide et al., 2008).

В ТЭМ лейкоцитов важную роль выполняет гликопротеин PECAM-1 (CD31). В ЭК PECAM-1 в основном локализован в межклеточных контактах. Гомофильные взаимодействия этого белка между соседними ЭК осуществляются через внеклеточные Ig-подобные домены IgD1 и IgD2 (Paddock et al., 2016). PECAM-1 также присутствует в особом рециркулирующем мембранно-везикулярном компартменте, примыкающем к мембране боковой границы ЭК (Mamdouh et al., 2009). В покоящемся эндотелии (в отсутствие адгезивных лейкоцитов) отмечен постоянный трафик мембраны между боковой клеточной границей и мембранно-везикулярным компартментом, ко-

торый назван рециркулирующим компартментом боковой границы (LBRC) (Mamdouh et al., 2003, 2008). В присутствии адгезивных лейкоцитов на эндотелии происходит направленная кинезин-зависимая миграция PECAM-1 – несущей мембраны LBRC вдоль микротрубочек ЭК к сайтам как параклеточной, так и клеточной трансмиграции лейкоцитов и окружение лейкоцитов мембраной LBRC. LBRC предоставляет нелигированные PECAM-1 и CD99 эндотелиальных клеток для взаимодействия с их гомофильными лигандами (PECAM-1 и CD99 соответственно) на лейкоцитах, а также инициирует сигналы для дальнейшей рекрутизации LBRC по мере продвижения лейкоцитов сквозь слой эндотелия. Антитела к PECAM-1 и CD99 блокируют ТЭМ лейкоцитов (Mamdouh et al., 2008, 2009). Рекрутизация LBRC к сайтам параклеточной ТЭМ предшествует образованию разрывов в межклеточном распределении VE-кадгерина и необходима для образования этих разрывов (Gonzalez et al., 2016). У мышей ApoE^{-/-} PECAM-1^{-/-} нагрузка бляшек в районах сонной артерии с низким и низким/осциллирующим НС была существенно ниже, чем у контрольных ApoE^{-/-}-мышей (Harrison et al., 2013). Исследование связи однонуклеотидных полиморфизмов (Val125Leu, экзон 3; Asn563Ser, экзон 8; Arg670Gly, экзон 12) в функционально важных доменах PECAM-1 у пациентов с риском развития ишемической болезни сердца и инфаркта миокарда показало, что замена Arg670Gly в гомозиготе может быть протектором развития инфаркта миокарда, так как локализована вблизи Tug663, фосфорилирование которого в условиях низкого НС инициирует сигнальный путь активации ключевого транскрипционного фактора NF-κB-экспрессии молекул клеточной адгезии (Sahebkar et al., 2013). Замены Val125Leu и Asn563Ser не связаны с риском ишемической болезни сердца (Xia et al., 2015).

Интегрины также играют важную роль в клеточной адгезии. Интегрины представляют большое семейство локализованных в плазматической мембране рецепторов, состоящих из 18 α- и 8 β-субъединиц, образующих 24 различных гетеродимера. Внеклеточные домены интегринов взаимодействуют с белками ВКМ – коллагенами (CL), фибронектином (FN), ламининами (LN), витронектином (VN) и др., а также лигандами (например, VCAM-1) на поверхности других типов клеток, вызывая клеточно-субстратную или клеточную адгезию. Взаимодействия интегринов и лигандов индуцируют активацию разнообразных сигнальных путей, модулирующих клеточное поведение (в частности, пролиферацию, форму, подвижность, выживание/апоптоз, дифференциацию, фосфорилирование белков, организацию цитоскелета, экспрессию генов). Многие интегрины экспрессируются на клеточной поверхности в неактивном состоянии, так как мембранно-проксимальные высококонсервативные последовательности цитоплазматических доменов α- и β-субъединиц формируют структурное напряжение, замыкающее конформацию интегринов в неактивном, низкоаффинном состоянии. Активацию интегринов часто индуцируют внутриклеточные сигналы и регуляторные факторы, действующие на цитоплазматические домены, а также фосфорилирование. Это меняет аффинность интегринов к

лигандам через конформационные изменения их внеклеточных доменов, а также кластеризацию (Hynes, 2002).

Адгезию лейкоцитов к эндотелию и их инфильтрацию в субэндотелиальное пространство усиливают цито-, хемокины и другие факторы. Так, моноцитарный хемотаксический белок-1 (MCP-1), продуцируемый макрофагами и клетками сосудистой стенки, а также интерлейкин-8 (IL-8), вырабатываемый макрофагами, вовлечены в поддержку моноцитов периферической циркуляции, их адгезию и миграцию в артериальную интиму через взаимодействие с рецепторами моноциту, относящихся к типам CCR2 и CXCR2 соответственно (Peters, Charo, 2001; Charo, Taubman, 2004). IL-9, в основном секретируемый CD45⁺CD3⁻CD19⁻-лейкоцитами у ApoE^{-/-}-мышей, стимулирует экспрессию VCAM-1 в ЭК аорты мышей через взаимодействие с рецептором IL-9 (IL-9R) и активацию (фосфорилирование) сигнального белка и активатора транскрипции STAT3 (Zhang et al., 2015). В атеросклеротических аортах мышей ApoE^{-/-} обнаружены высокий уровень экспрессии IL-17A, а также большое количество IL-17A-продуцирующих CD4⁺ Т-хелперов 17 (Th17) и γδ⁺ Т-клеток. IL-17A инициирует продукцию ряда цито- и хемокинов клетками аорты, в частности провоспалительного хемокина CXCL1, активирующего моноциты периферической циркуляции и стимулирующего их адгезию и миграцию в стенку аорты (Erbel et al., 2014). Проатерогенный IL-17C, преимущественно экспрессирующийся ГМК аорты у ApoE^{-/-}-мышей, вовлечен в рекрутизацию Т-клеток и макрофагов в стенку аорты (Butcher et al., 2016). TGF-β-(H₂O₂)-индуцируемый клон 5 (His-5), экспрессирующийся на поверхности ЭК и ГМК, вовлечен в формирование структур, подобных микроворсинкам на поверхности ЭК, усиливающих адгезию моноцитов к ЭК (Arita-Okubo et al., 2015).

Транскрипционный фактор NF-κB – ключевой регулятор экспрессии генов молекул клеточной адгезии в условиях физиологически низкого и низкого/осциллирующего напряжения сдвига

Транскрипционный фактор NF-κB положительно регулирует экспрессию молекул клеточной адгезии с участием других транскрипционных факторов и коактиваторов. Промотор гена *VCAM-1* имеет два сайта NF-κB, необходимых для активации транскрипции (Neish et al., 1992). В промоторе гена *ICAM-1* идентифицированы сайты C/EBP и NF-κB, причем мутации последнего полностью подавляют активацию промотора *ICAM-1* (Ledebur et al., 1995). Промотор гена *ELAM-1* включает сайт CRE/ATF, три сайта NF-κB и три сайта HMG I(Y), два из которых находятся в пределах сайтов NF-κB (взаимодействие HMG I(Y) и NF-κB с малой и большой бороздками ДНК соответственно). Все три сайта NF-κB необходимы для активации промотора и усиливают аффинность как NF-κB, так и ATF-2 к промотору (Whitley et al., 1994). Промотор гена *MCP-1* (моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1) содержит сайты NF-κB и AP-1, необходимые для максимальной индукции промотора (Martin et al., 1997). В промоторе *PDGF* (проатерогенного тромбоцитарного

фактора роста), стимулирующего пролиферацию и миграцию ГМК, идентифицирован коровый элемент GAGACC (SSRE) (Resnick et al., 1993), с которым взаимодействует NF-κB (Davis et al., 2003).

В ЭК наиболее распространен гетеродимер NF-κB p50/p65 (RelA). Хорошо известно, что в цитоплазме латентный NF-κB ассоциирован с ингибитором IκB (преимущественно IκBα) и не активен. При стимуляции ЭК цитокинами TNFα, IL-1 или бактериальным липополисахаридом (LPS), взаимодействующими с рецепторами ЭК, образуются сигнальные пути, ведущие к активации IκB-киназы (IKK-комплекса), специфично фосфорилирующей IκB. После убиквитинирования IκB и его протеосомной деградации свободный NF-κB транслоцируется в ядра клеток (активация фактора), взаимодействует с элементами большой бороздки ДНК и активирует экспрессию генов, вовлеченных в иммунный ответ, клеточное выживание, канцерогенез и воспаление с участием других транскрипционных факторов и коактиваторов (Oeckinghaus et al., 2011; Yu et al., 2015). Ранние исследования показали, что активный NF-κB и ICAM-1 присутствовали в ЭК, макрофагах и ГМК в атеросклеротических бляшках артерий умерших пациентов, но отсутствовали в интима-медии здоровых артерий этих больных (Brand et al., 1996). ОкЛПНП запускают в ЭК *in vitro* и *in vivo* сигнальный путь активации IKK-комплекса, включая фокальную адгезионную киназу (FAK) и рибосомальную киназу S6 (RSK), приводя к активации NF-κB, экспрессии VCAM-1 и адгезии моноцитов к ЭК (Yurdagul et al., 2016). С использованием модельной системы flow channel (Frangos et al., 1985), в которой на монослой ЭК действует усредненное физиологически низкое и равномерно распределенное НС, создаваемое ламинарным пульсирующим потоком культуральной среды, содержащей моноциты, показано, что и механический стимул (физиологически низкое НС) активирует IKK-комплекс и NF-κB, стимулирует экспрессию VCAM-1 и адгезию моноцитов к ЭК (Mohan et al., 1999). Модельный пространственный градиент усредненного низкого/осциллирующего НС, близкого к градиенту НС в артериальных разветвлениях и изгибах, приводил к более эффективной активации NF-κB по сравнению с равномерно распределенным низким НС (Nagel et al., 1999).

Высокая активация NF-κB наблюдалась в ЭК, культивируемых в условиях моделирования расчетного профиля НС в одном из сайтов каротидного синуса человека (атерогенный район, усредненное низкое/осциллирующее НС), по сравнению с моделированием расчетного профиля НС в дистальном сегменте бифуркации сонной артерии (атеропротективный район, высокое усредненное НС) или клетками, находящимися в покое (Dai et al., 2004). Изучение транскрипционной экспрессии эндотелия VCAM-1 от характера гемодинамики и расчетных профилей НС в сегментах левой и правой коронарных артерий показало, что низкое/осциллирующее НС у внешней стенки бифуркации левой передней нисходящей артерии (атерогенный район) индуцирует значительно более высокую экспрессию VCAM-1 по сравнению с прямым районом правой артерии (ламинарный поток, высокое НС), в котором атеросклеротические бляшки практически не образуются (O'Keefe et al., 2009). Картирование эндотелиальной экс-

прессии NF-κB/IκB и активации NF-κB в районах арки аорты мышей с высокой (high probability, HP; внутренняя дуга арки аорты) и низкой (low probability, LP; внешняя дуга арки аорты) вероятностью образования атеросклеротических бляшек продемонстрировало, что в HP-районе с низким/осциллирующим НС (Suo et al., 2007) как экспрессия NF-κB/IκB, так и активация NF-κB значительно превышали аналогичные показатели в LP-районе (Hajra et al., 2000). S. Cuhlmann и коллеги (2011) также детектировали в HP-районе дуги арки аорты мышей высокую экспрессию RelA-субъединицы NF-κB и ее более высокую ядерную локализацию по сравнению с LP-районом, что коррелировало с повышенной экспрессией VCAM-1 и накоплением CD68⁺ макрофагов в HP-районе.

Экспрессирующийся в ЭК в условиях низкого НС белок щелевых контактов коннексин 40 (Cx40), цитоплазматический C-конец которого взаимодействует с IκBα и ингибирует его фосфорилирование, является отрицательным регулятором активации NF-κB в районах с низким НС (Denis et al., 2017). Механочувствительная фосфатаза фосфатидной кислоты (PPAR2B), напротив, регулирует активность NF-κB, экспрессию адгезивных белков, адгезию и ТЭМ моноцитов в условиях высокого НС. PPAR2B высоко экспрессируется в ЭК при атеропротективных характеристиках потока (высокое НС, ламинарный поток), но низко – при атерогенных его характеристиках (низкое НС, поток с возмущениями). PPAR2B гидролизует лизофосфатидную кислоту (LPA), проатеро- и тромбогенный глицерофосфолипид крови, и тем самым блокирует сигнальные пути, активируемые взаимодействием LPA с клеточными LPA-рецепторами (LPA-R). Взаимодействие LPA – LPAR1 активирует сигнальный путь Rho-киназа – NF-κB и последующую транскрипционную экспрессию ICAM-1, VCAM-1 и E-селектина в ЭК (Shimada et al., 2010; Wu et al., 2015).

Взаимодействие LPA и LPAR1/2 ведет к росту сократительной способности ЭК и проницаемости эндотелиального монослоя (Wu et al., 2015). LPA является внеклеточной сигнальной молекулой, способной взаимодействовать по крайней мере с шестью связанными с G-белками клеточными рецепторами и инициировать внутриклеточные сигнальные каскады (Yung et al., 2014), воздействуя как на клетки крови (тромбоциты, моноциты), так и на клетки сосудистой стенки (ЭК, ГМК). Так, в тромбоцитах LPA индуцирует изменение формы, агрегацию, образование агрегатов моноцитов с тромбоцитами; в ЭК – клеточную миграцию, экспрессию VCAM-1, ICAM-1, E-селектина, хемокинов (CXCL1), образование актиновых стрессовых волокон, клеточное сокращение; в ГМК – клеточное сокращение, миграцию и пролиферацию. Кроме того, LPA накапливается в богатом липидами коре атеросклеротических бляшек, при разрыве которых выходит в кровоток и активирует тромбоциты, приводя к образованию тромбов (Schober, Siess, 2012). Эндотелиальная NO-синтаза (eNOS) тоже экспрессируется при физиологически высоком НС. Промотор eNOS в этих условиях активируется взаимодействием NF-κB с GAGACC-элементом (Davis et al., 2003). eNOS продуцирует NO-индуктор экспрессии IκBα. NO стабилизирует гетеротример NF-κB·IκBα в цитоплазме, индуцирует транслокацию IκBα в ядра клеток, приво-

ды к инактивации и терминации NF-κB-опосредованной транскрипции (Spiecker et al., 1997). Более того, NO подавляет IκB-киназу (IKK-комплекс) – положительный регулятор активации NF-κB (Yurdagul et al., 2013).

Механочувствительные сигнальные пути, контролирующие транскрипционную экспрессию RelA-субъединицы NF-κB в эндотелиальных клетках

Напряжение сдвига, создаваемое током крови на стенки артерий, активирует в ЭК механочувствительные сигнальные пути. Механосенсор, локализованный в клеточной мембране, воспринимает механический стимул (НС) и запускает внутриклеточный сигналинг, активирующий специфичные транскрипционные факторы, регулирующие транскрипционную экспрессию белков. Внутренний изгиб арки аорты и районы бифуркации артерий, где реализуется низкое и низкое/осциллирующее НС, ассоциированы с локализацией атером. В этих же районах выявлена высокая экспрессия активной с-Jun N-терминальной киназы 1 (JNK1), относящейся к митоген-активируемым протеинкиназам (МАРК) (Zakkar et al., 2008), а также повышенная экспрессия и ядерная локализация RelA-субъединицы NF-κB (Cuhlmann et al., 2011). Гипотеза о том, что физиологически низкое НС регулирует экспрессию RelA и NF-κB-целевые гены (*VCAM-1* и другие) через JNK1-зависимый путь, доказана с помощью моделирования гемодинамики сонной артерии мышей. Имплантация суживающейся конусообразной манжетки вокруг сонной артерии мыши генерирует ламинарный ток крови с низкими скоростью и НС выше по потоку относительно манжетки и ток с возмущениями, сниженной скоростью и низким/осциллирующим НС ниже по потоку относительно манжетки (Cheng et al., 2006; Xing et al., 2016). С помощью этого подхода показано, что для районов с низким и низким/осциллирующим НС характерна высокая экспрессия как RelA, так и активированной JNK1. Транскрипционный фактор ATF2 запускается JNK1 (фосфорилирование) и взаимодействует с сайтами промотора RelA, активируя промотор. Таким образом, в местах с низким/осциллирующим НС реализуется сигнальный путь JNK-ATF2-RelA, который стимулирует экспрессию RelA, NF-κB-целевые гены (*VCAM-1*), а также накопление CD68⁺ макрофагов – индикатора артериального воспаления (Cuhlmann et al., 2011).

Сигнальный путь транскрипционной экспрессии RelA выше JNK1 включает активацию интегринов, инициируемую клеточным поверхностным механосенсорным комплексом, и интегрин-зависимый сигнальный каскад, ведущий к запуску JNK1. Клеточный поверхностный механосенсорный комплекс включает рецепторы PECAM-1, VE-кадгерин и относящийся к подсемейству рецепторных тирозинкиназ рецептор фактора роста сосудистого эндотелия 2 (VEGFR2) (Tzima et al., 2005). В данном комплексе PECAM-1 является ключевой механочувствительной сигнальной молекулой, воспринимающей механический сигнал и преобразующей его в цепь внутриклеточных биохимических реакций. НС, действуя на внеклеточный домен PECAM-1, влияет на конформацию цитоплазматического домена PECAM-1 и доступность Tyr663 и Tyr686

этого домена к фосфорилированию, которое осуществляет мембранно-связанная Гун-тирозинкиназа (тирозинкиназы семейства Src), локализованная в межклеточных контактах вблизи PECAM-1 (Chiu et al., 2008). PECAM-1/PECAM-1-межклеточные взаимодействия ЭК через внеклеточные домены PECAM-1 (Paddock et al., 2016) необходимы для эффективного фосфорилирования и запуска внутриклеточного механочувствительного сигналинга (Chiu et al., 2008; Snyder et al., 2017). Активированный PECAM-1, а также VE-кадгерин, функционирующий как адаптер и ассоциированный с VEGFR2, облегчают фосфорилирование Src-тирозинкиназой VEGFR2 по Tyr801 и Tyr1175. В свою очередь фосфорилированный VEGFR2 через прямое взаимодействие с регуляторной p85-субъединицей фосфатидилинозитол-3-ОН-киназы (PI(3)K) фосфорилирует PI(3)K (Tzima et al., 2005).

Активированная PI(3)K стимулирует конформационную активацию интегринов через консервативный путь ассоциации фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфата (продукта PI(3)K) с плекстрингомодогичными (PH) доменами цитохезина-1 или цитохезин-подобных белков, последующей транслокации этих белков к плазматической мембране и ассоциации с цитоплазматическими доменами β-субъединиц интегринов, который реализуется в разных типах клеток. Это взаимодействие ведет к конформационным изменениям внеклеточных доменов α- и β-субъединиц интегринов и росту их аффинности к специфичным белкам ВКМ, а также кластеризации (Hughes, Pfaff, 1998; Hynes, 2002). В атероустойчивых районах артерий ВКМ богат CL(IV) и LN. Однако в атерогенных местах (условия низкого/осциллирующего НС) ВКМ обогащается провоспалительными белками FN и FG (Orr et al., 2005; Feaver et al., 2010; Collins et al., 2014). С помощью антител, специфичных к лигированным β1- и β3-интегринам, показано, что в условиях низкого/осциллирующего НС происходит рост связывания α5β1-интегрин с FN (лигандом α5β1-, αvβ3-, αvβ5-интегринов) и αvβ3-интегрин – с VN, т. е. конформационная активация интегринов и динамичное образование новых связей интегринов со специфичными лигандами-белками ВКМ (Jalali et al., 2001; Tzima et al., 2001).

Состав ВКМ и лигирование интегринов белками ВКМ активируют множество внутриклеточных сигнальных каскадов, в рассматриваемом случае сигнальный путь Shc-Grb·Sos-Ras-МАРК. Клеточный адаптерный белок Shc, активированный в условиях низкого/осциллирующего НС тирозинкиназами Src и VEGFR2 вблизи контактов ЭК (фосфорилирование Tyr239/240), образует ранний неустойчивый комплекс Shc·VEGFR2·VE-кадгерин (Liu et al., 2008), а затем устойчивый комплекс Shc с αvβ3-интегрином, лигированным FN или VN (Chen et al., 1999; Jalali et al., 2001; Liu et al., 2008). Shc также ассоциирует с β1- и β5-интегринами, лигированными FN и VN (Chen et al., 1999; Jalali et al., 2001). Таким образом, Shc в условиях низкого/осциллирующего НС координирует белки межклеточных контактов (VE-кадгерин) и взаимодействие интегрин и ВКМ. Мембранно-ассоциированные малые G-белки Ras (малые ГТФазы Ras) циклически функционируют между активной и неактивной формами Ras·GDP, являющимися молекулярным переключателем внутрикле-

точного сигнала в ответ на внеклеточный стимул (Johnson, Chen, 2012). Образующиеся на цитоплазматической стороне плазматической мембраны комплексы фосфорилированного Shc с $\alpha\beta 3$ -, $\beta 1$ - и $\beta 5$ -интегринами сопровождаются ассоциацией Shc с цитоплазматическим комплексом Grb2·Sos, связанного с рецептором фактора роста белка 2 (Grb2) и фактора обмена гуанилового нуклеотида Sos, стимулирующего скорость обмена GDP, связанного с Ras, на GTP (взаимодействие Shc с Grb2·Sos рекрутирует Sos к цитоплазматической стороне плазматической мембраны, обеспечивая активацию мембранно-локализованной Ras·GDP) (McCormick, 1993). Активированная Ras, в свою очередь, запускает цитоплазматическую Raf-киназу (киназу киназы MAPK, MAPKKK, MEKK), рекрутируя Raf к внутренней поверхности плазматической мембраны через прямое взаимодействие с ее регуляторными доменами и последующее фосфорилирование четырех сайтов киназного домена (Dumaz, Magais, 2005). Активированная Raf через MAP-киназный каскад запускает MAPK (JNK) (Davis, 2000).

Однако не только активация Shc, но и мембранно-ассоциированных гетеротримерных G-белков, состоящих из α -, β - и γ -субъединиц, приводит к активации Ras в условиях действия НС на клетки. В отсутствие НС G-белки активируются, ассоциируя с лиганд-активированными рецепторами: α -субъединица обменивает связанный с ней GDP на GTP и диссоциирует от $\beta\gamma$ -димера. Как α -GTP, так и $\beta\gamma$ -комплексы становятся медиаторами сигнальных клеточных событий до восстановления α -субъединицей своего неактивного GDP-связанного состояния, так как обладает GTP-азной активностью. Реассоциация α :GDP с $\beta\gamma$ -димером дает неактивный $G_{\alpha\beta\gamma}$ -гетеротример, способный вступать в новый цикл активации (Simon et al., 1991). Изменение физических свойств мембран в условиях НС – упорядоченной конфигурации фосфолипидного бислоя (липидного порядка), текучести, содержания холестерина – влияет на конформацию и функции мембранно-ассоциированных белков и в итоге на сигнальные пути, активируемые этими белками (Yamamoto, Ando, 2018).

Очищенные гетеротримерные G-белки в составе фосфолипидных липосом, нагруженных $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{GTP}$, активировались при действии на липосомы физиологических уровней НС (Gudi et al., 1998). Физиологически низкое НС в течение секунды активировало субъединицы $G_{\alpha_q/11}$ и $G_{\alpha_{13/0}}$ G-белков в ЭК (Gudi et al., 1996). Активированные G_{α_q} -субъединицы и диссоциированные от них $G_{\beta\gamma}$ -субъединицы в условиях градиента НС в физиологически низком диапазоне инициируют активацию Ras и нижестоящий MAPK-сигналинг (Gudi et al., 2003). Более того, два первичных базовых механосенсора $G_{\alpha_q/11}$ и PECAM-1 образуют механочувствительный комплекс $G_{\alpha_q/11}$ ·PECAM-1, который *in vivo* (атеропротективный прямой район нисходящей аорты мышей) и *in vitro* формируется в условиях ламинарного потока (физиологически высокое НС). При осциллирующем потоке (низкое/осциллирующее НС), приводящем к активации G-белков, данный комплекс быстро (в течение 30 с) разрушается (Otte et al., 2009). В образовании комплекса $G_{\alpha_q/11}$ ·PECAM-1 участвуют PECAM-1 внеклеточные Ig-подобные домены 2 и 3, а также $G_{\alpha_q/11}$ – взаимодействующий рецептор, который

ассоциирует как с $G_{\alpha_q/11}$, так и с PECAM-1 Ig-подобными доменами 2 и 3 и служит мостиком в образовании комплекса (Yeh et al., 2008). Комплекс PECAM-1· $G_{\alpha_q/11}$ также включает гепарансульфат протеогликан, который ассоциирует с Ig-подобным доменом 3 PECAM-1 и опосредует образование PECAM-1· $G_{\alpha_q/11}$ (Paz et al., 2014).

Заключение

Компьютерное моделирование тока крови в артериях позволяет определять потенциально наиболее атерогенные районы артерий, характеризующиеся низким и низким/осциллирующим НС. Транскрипционный фактор NF- κ B и молекулы клеточной адгезии ICAM-1, VCAM-1, E-селектин являются самыми ранними маркерами атерогенеза, поэтому значительный интерес вызывают процессы, вовлеченные в экспрессию этих белков в условиях действия механического стимула (низкое и низкое/осциллирующее НС) на эндотелиальные клетки. В обзоре приведены обширные исследования, показывающие, как активация мембранно-связанных белков, воспринимающих механический стимул (низкое и низкое/осциллирующее НС), запускает каскады биохимических реакций, приводящих к транскрипционной экспрессии NF- κ B – ключевого регулятора экспрессии молекул клеточной адгезии. Также подробно описаны механизмы взаимодействия молекул клеточной адгезии эндотелия и лейкоцитов крови, ответственных за адгезию и последующую ТЭМ лейкоцитов в начальной стадии атерогенеза. Изучение молекулярных процессов, вовлеченных в инициацию и развитие атеросклероза, чрезвычайно важно для эффективной борьбы с данным заболеванием.

Список литературы / References

- Озерова И.Н., Метельская В.А., Гаврилова Н.Е. Атерогенная нормолипидемия у больных с коронарным атеросклерозом: особенности субфракционного спектра апо-B-содержащих липопротеинов. *Атеросклероз*. 2018;14(3):5-11. DOI 10.15372/ATER20180301.
- [Ozerova I.N., Metelskaya V.A., Gavrilova N.E. Atherogenic normolipidemia in men with coronary atherosclerosis: some peculiarities of subfractional distribution of apo B-containing lipoproteins. *Atherosclerosis = Atherosclerosis*. 2018;14(3):5-11. DOI 10.15372/ATER20180301. (in Russian)]
- Alcaide P., Newton G., Auerbach S., Sehrawat S., Mayadas T.N., Golan D.E., Yacono P., Vincent P., Kowalczyk A., Lusinskas F.W. p120-Catenin regulates leukocyte transmigration through an effect on VE-cadherin phosphorylation. *Blood*. 2008;112(7):2770-2779. DOI 10.1182/blood-2008-03-147181.
- Allingham M.J., van Buul J.D., Burridge K. ICAM-1-mediated, Src and Pyk2-dependent vascular endothelial cadherin tyrosine phosphorylation is required for leukocyte transendothelial migration. *J. Immunol*. 2007;179(6):4053-4064. DOI 10.4049/jimmunol.179.6.4053.
- Allport J.R., Muller W.A., Lusinskas F.W. Monocytes induce reversible focal changes in vascular endothelial cadherin complex during transendothelial migration under flow. *J. Cell. Biol*. 2000;148(1):203-216. DOI 10.1083/jcb.148.1.203.
- Amberger A., Maczek C., Jürgens G., Michaelis D., Schett G., Trieb K., Eberl T., Jindal S., Xu Q., Wick G. Co-expression of ICAM-1, VCAM-1, ELAM-1 and Hsp60 in human arterial and venous endothelial cells in response to cytokines and oxidized low-density lipoproteins. *Cell Stress Chaperones*. 1997;2(2):94-103. DOI 10.1379/1466-1268(1997)002<0094:ceove>2.3.co;2.

- Arita-Okubo S., Kim-Kaneyama J.R., Lei X.F., Fu W.G., Ohnishi K., Takeya M., Miyuchi A., Honda H., Itabe H., Miyazaki T., Miyazaki A. Role of Hic-5 in the formation of microvilli-like structures and the monocyte-endothelial interaction that accelerates atherosclerosis. *Cardiovasc. Res.* 2015;105(3):361-371. DOI 10.1093/cvr/cvv003.
- Barreiro O., Yanez-Mo M., Serrador J.M., Montoya M.C., Vicente-Manzanares M., Tejedor R., Furthmayr H., Sanchez-Madrid F. Dynamic interaction of VCAM-1 and ICAM-1 with moesin and ezrin in a novel endothelial docking structure for adherent leukocytes. *J. Cell Biol.* 2002;157(7):1233-1245. DOI 10.1083/jcb.200112126.
- Brand K., Page S., Rogler G., Bartsch A., Brandl R., Knuechel R., Page M., Kaltschmidt C., Baeuerle P.A., Neumeier D. Activated transcription factor nuclear factor-kappa B is present in the atherosclerotic lesion. *J. Clin. Invest.* 1996;97(7):1715-1722. DOI 10.1172/JCI118598.
- Butcher M.J., Waseem T.C., Galkina E.V. Smooth muscle cell-derived interleukin-17C plays an atherogenic role via the recruitment of proinflammatory interleukin-17A⁺ T cells to the aorta. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2016;36(8):1496-1506. DOI 10.1161/ATVBAHA.116.307892.
- Carlos T.M., Harlan J.M. Leukocyte-endothelial adhesion molecules. *Blood.* 1994;84(7):2068-2101. DOI 10.1111/j.1582-4934.2009.00811.x.
- Carman C.V., Jun C.D., Salas A., Springer T.A. Endothelial cells proactively form microvilli-like membrane projections upon intercellular adhesion molecule 1 engagement of leukocyte LFA-1. *J. Immunol.* 2003;171(11):6135-6144. DOI 10.4049/jimmunol.171.11.6135.
- Carman C.V., Springer T.A. A transmigratory cup in leukocyte diapedesis both through individual vascular endothelial cells and between them. *J. Cell Biol.* 2004;167(2):377-388. DOI 10.1083/jcb.200404129.
- Cecchi E., Giglioli C., Valente S., Lazzeri C., Gensini G.F., Abbate R., Mannini L. Role of hemodynamic shear stress in cardiovascular disease. *Atherosclerosis.* 2011;214(2):249-256. DOI 10.1016/j.atherosclerosis.2010.09.008.
- Chang C.T., Shen M.Y., Lee A.S., Wang C.C., Chen W.Y., Chang C.M., Chang K.C., Stancel N., Chen C.H. Electronegative low-density lipoprotein increases the risk of ischemic lower-extremity peripheral artery disease in uremia patients on maintenance hemodialysis. *Sci. Rep.* 2017;7(1):4654-4662. DOI 10.1038/s41598-017-04063-3.
- Charo I.F., Taubman M.B. Chemokines in the pathogenesis of vascular disease. *Circ. Res.* 2004;95(9):858-866. DOI 10.1161/01.RES.0000146672.10582.17.
- Chen K.D., Li Y.S., Kim M., Li S., Yuan S., Chien S., Shyy J.Y. Mechanotransduction in response to shear stress. Roles of receptor tyrosine kinases, integrins, and Shc. *J. Biol. Chem.* 1999;274(26):18393-18400. DOI 10.1074/jbc.274.26.18393.
- Cheng C., Tempel D., van Haperen R., van der Baan A., Grosveld F., Daemen M.J., Krams R., de Crom R. Atherosclerotic lesion size and vulnerability are determined by patterns of fluid shear stress. *Circulation.* 2006;113(23):2744-2753. DOI 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.590018.
- Chiu Y.J., McBeath E., Fujiwara K. Mechanotransduction in an extracted cell model: Fyn drives stretch- and flow-elicited PECAM-1 phosphorylation. *J. Cell Biol.* 2008;182(4):753-763. DOI 10.1083/jcb.200801062.
- Colic M., Pantovic S., Jeremic M., Jokovic V., Obradovic Z., Rosic M. Transport of low-density lipoprotein into the blood vessel wall during atherogenic diet in the isolated rabbit carotid artery. *Circ. J.* 2015;79(8):1846-1852. DOI 10.1253/circj.CJ-14-1316.
- Collins C., Osborne L.D., Guilluy C., Chen Z., O'Brien E.T. 3rd, Reader J.S., Burrige K., Superfine R., Tzima E. Haemodynamic and extracellular matrix cues regulate the mechanical phenotype and stiffness of aortic endothelial cells. *Nat. Commun.* 2014;5:3984. DOI 10.1038/ncomms4984.
- Cuhlmann S., Van der Heiden K., Saliba D., Tremoleda J.L., Khalil M., Zakkar M., Chaudhury H., Luong le A., Mason J.C., Udalova I., Gsell W., Jones H., Haskard D.O., Krams R., Evans P.C. Disturbed blood flow induces RelA expression via c-Jun N-terminal kinase 1: a novel mode of NF- κ B regulation that promotes arterial inflammation. *Circ. Res.* 2011;108(8):950-959. DOI 10.1161/CIRCRESAHA.110.233841.
- Dai G., Kaazempur-Mofrad M.R., Natarajan S., Zhang Y., Vaughn S., Blackman B.R., Kamm R.D., Garcia-Cardena G., Gimbrone M.A. Jr. Distinct endothelial phenotypes evoked by arterial waveforms derived from atherosclerosis-susceptible and -resistant regions of human vasculature. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004;101(41):14871-14876. DOI 10.1073/pnas.0406073101.
- Davis M.E., Grumbach I.M., Fukui T., Cutchins A., Harrison D.G. Shear stress regulates endothelial nitric-oxide synthase promoter activity through nuclear factor kappaB binding. *J. Biol. Chem.* 2003;279(1):163-168. DOI 10.1074/jbc.M307528200.
- Davis R.J. Signal transduction by the JNK group of MAP kinases. *Cell.* 2000;103:239-252. DOI 10.1016/S0092-8674(00)00116-1.
- Denis J.F., Scheckenbach K.E.L., Pfenniger A., Meens M.J., Krams R., Miquelol L., Taffet S., Chanson M., Delmar M., Kwak B.R. Connexin40 controls endothelial activation by dampening NF κ B activation. *Oncotarget.* 2017;8(31):50972-50986. DOI 10.18632/oncotarget.16438.
- Dumaz N., Marais R. Integrating signals between cAMP and the RAS/RAF/MEK/ERK signalling pathways. *FEBS J.* 2005;272(14):3491-3504. DOI 10.1111/j.1742-4658.2005.04763.x.
- Erbel C., Akhavanpoor M., Okuyucu D., Wangler S., Dietz A., Zhao L., Stellos K., Little K.M., Lasitschka F., Doesch A., Hakimi M., Dengler T.J., Giese T., Blessing E., Katus H.A., Gleissner C.A. IL-17A influences essential functions of the monocyte/macrophage lineage and is involved in advanced murine and human atherosclerosis. *J. Immunol.* 2014;193(9):4344-4355. DOI 10.4049/jimmunol.1400181.
- Feaver R.E., Gelfand B.D., Wang C., Schwartz M.A., Blackman B.R. Atheroprone hemodynamics regulate fibronectin deposition to create positive feedback that sustains endothelial inflammation. *Circ. Res.* 2010;106(11):1703-1711. DOI 10.1161/CIRCRESAHA.109.216283.
- Frangos J.A., Eskin S.G., McIntire L.V., Ives C.L. Flow effects on prostacyclin production by cultured human endothelial cells. *Science.* 1985;227(4693):1477-1479. DOI 10.1126/science.3883488.
- Garrett J.P., Lowery A.M., Adam A.P., Kowalczyk A.P., Vincent P.A. Regulation of endothelial barrier function by p120-catenin-VE-cadherin interaction. *Mol. Biol. Cell.* 2017;28(1):85-97. DOI 10.1091/mbc.E16-08-0616.
- Gonzalez A.M., Cyrus B.F., Muller W.A. Targeted recycling of the lateral border recycling compartment precedes adherens junction dissociation during transendothelial migration. *Am. J. Pathol.* 2016;186(5):1387-1402. DOI 10.1016/j.ajpath.2016.01.010.
- Gudi S.R., Clark C.B., Frangos J.A. Fluid flow rapidly activates G proteins in human endothelial cells. Involvement of G proteins in mechanochemical signal transduction. *Circ. Res.* 1996;79(4):834-839. DOI 10.1161/01.RES.79.4.834.
- Gudi S., Huvar I., White C.R., McKnight N.L., Dusserre N., Boss G.R., Frangos J.A. Rapid activation of Ras by fluid flow is mediated by G α (q) and G β gamma subunits of heterotrimeric G proteins in human endothelial cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2003;23(6):994-1000. DOI 10.1161/01.ATV.0000073314.51987.84.
- Gudi S., Nolan J.P., Frangos J.A. Modulation of GTPase activity of G proteins by fluid shear stress and phospholipid composition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998;95(5):2515-2519. DOI 10.1073/PNAS.95.5.2515.
- Hajra L., Evans A.I., Chen M., Hyduk S.J., Collins T., Cybulsky M.I. The NF- κ B signal transduction pathway in aortic endothelial cells is primed for activation in regions predisposed to atherosclerotic lesion formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000;97(16):9052-9057. DOI 10.1073/pnas.97.16.9052.
- Harrison M., Smith E., Ross E., Krams R., Segers D., Buckley C.D., Nash G.B., Rainger G.E. The role of platelet-endothelial cell adhe-

- sion molecule-1 in atheroma formation varies depending on the site-specific hemodynamic environment. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2013;33(4):694-701. DOI 10.1161/ATVBAHA.112.300379.
- Hughes P.E., Pfaff M. Integrin affinity modulation. *Trends. Cell Biol.* 1998;8(9):359-364. DOI 10.1016/s0962-8924(98)01339-7.
- Hung O.Y., Molony D., Corban M.T., Rasoul-Arzrumly E., Maynard C., Eshtehardi P., Dhawan S., Timmins L.H., Piccinelli M., Ahn S.G., Gogas B.D., McDaniel M.C., Quyyumi A.A., Giddens D.P., Samady H. Comprehensive assessment of coronary plaque progression with advanced intravascular imaging, physiological measures, and wall shear stress: a pilot double-blinded randomized controlled clinical trial of nebivolol versus atenolol in nonobstructive coronary artery disease. *J. Am. Heart. Assoc.* 2016;5(1):e002764. DOI 10.1161/JAHA.115.002764.
- Huo Y., Ley K. Adhesion molecules and atherogenesis. *Acta Physiol. Scand.* 2001;173(1):35-43. DOI 10.1046/j.1365-201X.2001.00882.x.
- Hynes R.O. Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell.* 2002;110(6):673-87. DOI 10.1016/s0092-8674(02)00971-6.
- Jalali S., del Pozo M.A., Chen K., Miao H., Li Y., Schwartz M.A., Shyy J.Y., Chien S. Integrin-mediated mechanotransduction requires its dynamic interaction with specific extracellular matrix (ECM) ligands. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2001;98(3):1042-1046. DOI 10.1073/pnas.98.3.1042.
- Johnson D.S., Chen Y.H. Ras family of small GTPases in immunity and inflammation. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2012;12(4):458-463. DOI 10.1016/j.coph.2012.02.003.
- Ku D.N., Giddens D.P., Zarins C.K., Glagov S. Pulsatile flow and atherosclerosis in the human carotid bifurcation. Positive correlation between plaque location and low oscillating shear stress. *Arteriosclerosis.* 1985;5(3):293-302. DOI 10.1161/01.ATV.5.3.293.
- Kume N., Cybulsky M.I., Gimbrone M.A. Jr. Lysophosphatidylcholine, a component of atherogenic lipoproteins, induces mononuclear leukocyte adhesion molecules in cultured human and rabbit arterial endothelial cells. *J. Clin. Invest.* 1992;90(3):1138-1144. DOI 10.1172/JCI115932.
- Ledebur H.C., Parks T.P. Transcriptional regulation of the intercellular adhesion molecule-1 gene by inflammatory cytokines in human endothelial cells. Essential roles of a variant NF-kappa B site and p65 homodimers. *J. Biol. Chem.* 1995;270(2):933-943. DOI 10.1074/jbc.270.2.933.
- Libby P., Buring J.E., Badimon L., Hansson G.K., Deanfield J., Bittencourt M.S., Tokgözoğlu L., Lewis E.F. Atherosclerosis. *Nat. Rev. Dis. Primers.* 2019;5(1):56. DOI 10.1038/s41572-019-0106-z.
- Liu Y., Sweet D.T., Irani-Tehrani M., Maeda N., Tzima E. She coordinates signals from intercellular junctions and integrins to regulate flow-induced inflammation. *J. Cell Biol.* 2008;182(1):185-196. DOI 10.1083/jcb.200709176.
- Luscinskas F.W., Ding H., Tan P., Cumming D., Tedder T.F., Gerritsen M.E. L- and P-selectins, but not CD49d (VLA-4) integrins, mediate monocyte initial attachment to TNF-alpha-activated vascular endothelium under flow *in vitro*. *J. Immunol.* 1996;157(1):326-335.
- Luscinskas F.W., Kansas G.S., Ding H., Pizcueta P., Schleiffenbaum B.E., Tedder T.F., Gimbrone M.A. Jr. Monocyte rolling, arrest and spreading on IL-4-activated vascular endothelium under flow is mediated via sequential action of L-selectin, beta 1-integrins, and beta 2-integrins. *J. Cell Biol.* 1994;125(6):1417-1427. DOI 10.1083/jcb.125.6.1417.
- Mamdouh Z., Chen X., Pierini L.M., Maxfield F.R., Muller W.A. Targeted recycling of PECAM from endothelial surface-connected compartments during diapedesis. *Nature.* 2003;421(6924):748-753. DOI 10.1038/nature01300.
- Mamdouh Z., Kreitzer G.E., Muller W.A. Leukocyte transmigration requires kinesin-mediated microtubule-dependent membrane trafficking from the lateral border recycling compartment. *J. Exp. Med.* 2008;205(4):951-966. DOI 10.1084/jem.20072328.
- Mamdouh Z., Mikhailov A., Muller W.A. Transcellular migration of leukocytes is mediated by the endothelial lateral border recycling compartment. *J. Exp. Med.* 2009;206(12):2795-2808. DOI 10.1084/jem.20082745.
- Martin T., Cardarelli P.M., Parry G.C., Felts K.A., Cobb R.R. Cytokine induction of monocyte chemoattractant protein-1 gene expression in human endothelial cells depends on the cooperative action of NF-kappa B and AP-1. *Eur. J. Immunol.* 1997;27(5):1091-1097. DOI 10.1002/eji.1830270508.
- McCormick F. Signal transduction. How receptors turn Ras on. *Nature.* 1993;363(6424):15-16. DOI 10.1038/363015a0.
- Mohan S., Mohan N., Valente A.J., Sprague E.A. Regulation of low shear flow-induced HAEC VCAM-1 expression and monocyte adhesion. *Am. J. Physiol.* 1999;276(5):C1100-1107. DOI 10.1152/ajpcell.1999.276.5.C1100.
- Morbiducci U., Kok A.M., Kwak B.R., Stone P.H., Steinman D.A., Wentzel J.J. Atherosclerosis at arterial bifurcations: evidence for the role of haemodynamics and geometry. *Thromb. Haemost.* 2016;115(3):484-492. DOI 10.1160/TH15-07-0597.
- Nagel T., Resnick N., Dewey C.F. Jr., Gimbrone M.A. Jr. Vascular endothelial cells respond to spatial gradients in fluid shear stress by enhanced activation of transcription factors. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1999;19(8):1825-1834. DOI 10.1161/01.ATV.19.8.1825.
- Nebuloni L., Kuhn G.A., Müller R.A. A comparative analysis of water-soluble and blood-pool contrast agents for *in vivo* vascular imaging with micro-CT. *Acad. Radiol.* 2013;20(10):1247-1255. DOI 10.1016/j.acra.2013.06.003.
- Neish A.S., Williams A.J., Palmer H.J., Whitley M.Z., Collins T. Functional analysis of the human vascular cell adhesion molecule 1 promoter. *J. Exp. Med.* 1992;176(6):1583-1593. DOI 10.1084/jem.176.6.1583.
- Oeckinghaus A., Hayden M.S., Ghosh S. Crosstalk in NF-kB signaling pathways. *Nat. Immunol.* 2011;12(8):695-708. DOI 10.1038/ni.2065.
- O'Keefe L.M., Muir G., Piterina A.V., McGloughlin T. Vascular cell adhesion molecule-1 expression in endothelial cells exposed to physiological coronary wall shear stresses. *J. Biomech. Eng.* 2009;131(8):081003. DOI 10.1115/1.3148191.
- Orr A.W., Sanders J.M., Bevard M., Coleman E., Sarembock I.J., Schwartz M.A. The subendothelial extracellular matrix modulates NF-kappaB activation by flow: a potential role in atherosclerosis. *J. Cell Biol.* 2005;169(1):191-202. DOI 10.1083/jcb.200410073.
- Otsuka F., Kramer M.C., Woudstra P., Yahagi K., Ladich E., Finn A.V., de Winter R.J., Kolodgie F.D., Wight T.N., Davis H.R., Joner M., Virmani R. Natural progression of atherosclerosis from pathologic intimal thickening to late fibroatheroma in human coronary arteries: a pathology study. *Atherosclerosis.* 2015;241(2):772-782. DOI 10.1016/j.atherosclerosis.2015.05.011.
- Otte L.A., Bell K.S., Loufrani L., Yeh J.-C., Melchior B., Dao D.N., Stevens H.Y., White C.R., Frangos J.A. Rapid changes in shear stress induce dissociation of a G alpha(q/11)-platelet endothelial cell adhesion molecule-1 complex. *J. Physiol.* 2009;587(Pt.10):2365-2373. DOI 10.1113/jphysiol.2009.172643.
- Paddock C., Zhou D., Lertkiatmongkol P., Newman P.J., Zhu J. Structural basis for PECAM-1 homophilic binding. *Blood.* 2016;127(8):1052-1061. DOI 10.1182/blood-2015-07-660092.
- Paz dela N.G., Melchior B., Shayo F.Y., Frangos J.A. Heparan sulfates mediate the interaction between platelet endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1) and the Gαq/11 subunits of heterotrimeric G proteins. *J. Biol. Chem.* 2014;289(11):7413-7424. DOI 10.1074/jbc.M113.542514.
- Peters W., Charo I.F. Involvement of chemokine receptor 2 and its ligand, monocyte chemoattractant protein-1, in the development of atherosclerosis: lessons from knockout mice. *Curr. Opin. Lipidol.* 2001;12(2):175-180. DOI 10.1097/00041433-200104000-00011.
- Resnick N., Collins T., Atkinson W., Bonthron D.T., Dewey C.F. Jr., Gimbrone M.A. Jr. Platelet-derived growth factor B chain promoter contains a cis-acting fluid shear-stress-responsive element. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1993;90(10):4591-4595. DOI 10.1073/pnas.90.10.4591.
- Sahebkar A., Morris D.R., Biros E., Golledge J. Association of single nucleotide polymorphisms in the gene encoding platelet endothelial cell adhesion molecule-1 with the risk of myocardial infarction: a sys-

- tematic review and meta-analysis. *Thromb. Res.* 2013;132(2):227-233. DOI 10.1016/j.thromres.2013.07.007.
- Sakellarios A.I., Papafaklis M.I., Siogkas P., Athanasiou L.S., Exarchos T.P., Stefanou K., Bourantas C.V., Naka K.K., Michalis L.K., Parodi O., Fotiadis D.I. Patient-specific computational modeling of subendothelial LDL accumulation in a stenosed right coronary artery: effect of hemodynamic and biological factors. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2013;304(11):H1455-70. DOI 10.1152/ajpheart.00539.2012.
- Schober A., Siess W. Lysophosphatidic acid in atherosclerotic diseases. *Br. J. Pharmacol.* 2012;167(3):465-482. DOI 10.1111/j.1476-5381.2012.02021.x.
- Shaw S.K., Bamba P.S., Perkins B.N., Luscinikas F.W. Real-time imaging of vascular endothelial-cadherin during leukocyte transmigration across endothelium. *J. Immunol.* 2001;167(4):2323-2330. DOI 10.4049/jimmunol.167.4.2323.
- Shimada H., Rajagopalan L.E. Rho kinase-2 activation in human endothelial cells drives lysophosphatidic acid-mediated expression of cell adhesion molecules via NF-kappaB p65. *J. Biol. Chem.* 2010;285(17):12536-12542. DOI 10.1074/jbc.M109.099630.
- Sigal A., Bleijs D.A., Grabovsky V., van Vliet S.J., Dwir O., Figdor C.G., van Kooyk Y., Alon R. The LFA-1 integrin supports rolling adhesions on ICAM-1 under physiological shear flow in a permissive cellular environment. *J. Immunol.* 2000;165(1):442. DOI 10.4049/jimmunol.165.1.442.
- Simon M.I., Strathmann M.P., Gautam N. Diversity of G proteins in signal transduction. *Science.* 1991;252(5007):802-808. DOI 10.1126/science.1902986.
- Snyder J.L., McBeath E., Thomas T.N., Chiu Y.J., Clark R.L., Fujiwara K. Mechanotransduction properties of the cytoplasmic tail of PECAM-1. *Biol. Cell.* 2017;109(8):312-321. DOI 10.1111/boc.201600079.
- Soulis J.V., Farnakis T.M., Giannoglou G.D., Louridas G.E. Wall shear stress in normal left coronary artery tree. *J. Biomech.* 2006;39(4):742-749. DOI 10.1016/j.jbiomech.2004.12.026.
- Spiecker M., Peng H.B., Liao J.K. Inhibition of endothelial vascular cell adhesion molecule-1 expression by nitric oxide involves the induction and nuclear translocation of I kappa B alpha. *J. Biol. Chem.* 1997;272(49):30969-30974. DOI 10.1074/jbc.272.49.30969.
- Suo J., Ferrara D.E., Sorescu D., Guldberg R.E., Taylor W.R., Giddens D.P. Hemodynamic shear stresses in mouse aortas - implications for atherogenesis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007;27:346-351. DOI 10.1161/01.ATV.0000253492.45717.46.
- Timmings L.H., Molony D.S., Eshthardi P., McDaniel M.C., Oshinski J.N., Giddens D.P., Samady H. Oscillatory wall shear stress is a dominant flow characteristic affecting lesion progression patterns and plaque vulnerability in patients with coronary artery disease. *J. R. Soc. Interface.* 2017;14(127):20160972. DOI 10.1098/rsif.2016.0972.
- Timmings L.H., Molony D.S., Eshthardi P., McDaniel M.C., Oshinski J.N., Samady H., Giddens D.P. Focal association between wall shear stress and clinical coronary artery disease progression. *Ann. Biomed. Eng.* 2015;43(1):94-106. DOI 10.1007/s10439-014-1155-9.
- Tzima E., del Pozo M.A., Shattil S.J., Chien S., Schwartz M.A. Activation of integrins in endothelial cells by fluid shear stress mediates Rho-dependent cytoskeletal alignment. *EMBO J.* 2001;20(17):4639-4647. DOI 10.1093/emboj/20.17.4639.
- Tzima E., Irani-Tehrani M., Kiosses W.B., Dejana E., Schultz D.A., Engelhardt B., Cao G., DeLisser H., Schwartz M.A. A mechanosensory complex that mediates the endothelial cell response to fluid shear stress. *Nature.* 2005;437(7057):426-431. DOI 10.1038/nature03952.
- Virani S.S., Alonso A., Benjamin E.J., Bittencourt M.S., Callaway C.W., Carson A.P., Chamberlain A.M., Chang A.R., Cheng S., Delling F.N., ... Stokes A., Tirschwell D.L., VanWagner L.B., Tsao C.W., American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics-2020 update: a report from the American Heart Association. *Circulation.* 2020;141(9):e139-e596. DOI 10.1161/CIR.0000000000000757.
- Whitley M.Z., Thanos D., Read M.A., Maniatis T., Collins T. A striking similarity in the organization of the E-selectin and beta interferon gene promoters. *Mol. Cell Biol.* 1994;14(10):6464-6475. DOI 10.1128/mcb.14.10.6464.
- Wu C., Huang R.T., Kuo C.H., Kumar S., Kim C.W., Lin Y.C., Chen Y.J., Birukova A., Birukov K.G., Dulin N.O., Civelek M., Lusis A.J., Loyer X., Tedgui A., Dai G., Jo H., Fang Y. Mechanosensitive PPAP2B regulates endothelial responses to atherorelevant hemodynamic forces. *Circ. Res.* 2015;117(4):e41-e53. DOI 10.1161/CIRCRESAHA.117.306457.
- Xia T., Liu X., Du C.J., Jin X., Kong X.Q., Li G. Association of Leu-125Val polymorphisms in the PECAM-1 gene with the risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2015;8(2):2219-2225.
- Xing R., De Wilde D., McCann G., Ridwan Y., Schrauwen J.T., van der Steen A.F., Gijzen F.J., Van der Heiden K. Contrast-enhanced micro-CT imaging in murine carotid arteries: a new protocol for computing wall shear stress. *Biomed. Eng. Online.* 2016;15(Suppl.2):156. DOI 10.1186/s12938-016-0270-2.
- Yamamoto K., Ando J. Emerging role of plasma membranes in vascular endothelial mechanosensing. *Circ. J.* 2018;82(11):2691-2698. DOI 10.1253/circj.CJ-18-0052.
- Yeh J.-C., Otte L.A., Frangos J.A. Regulation of G protein-coupled receptor activities by the platelet-endothelial cell adhesion molecule, PECAM-1. *Biochemistry.* 2008;47(34):9029-9039. DOI 10.1021/bi8003846.
- Yu X.H., Zheng X.L., Tang C.K. Nuclear factor-kB activation as a pathological mechanism of lipid metabolism and atherosclerosis. *Adv. Clin. Chem.* 2015;70:1-30. DOI 10.1016/bs.acc.2015.03.004.
- Yung Y.C., Stoddard N.C., Chun J. LPA receptor signaling: pharmacology, physiology, and pathophysiology. *J. Lipid Res.* 2014;55(7):1192-1214. DOI 10.1194/jlr.R046458.
- Yurdagul A.Jr., Chen J., Funk S.D., Albert P., Kevil C.G., Orr A.W. Altered nitric oxide production mediates matrix-specific PAK2 and NF-kB activation by flow. *Mol. Biol. Cell.* 2013;24(3):398-408. DOI 10.1091/mbc.E12-07-0513.
- Yurdagul A.Jr., Sulzmaier F.J., Chen X.L., Pattillo C.B., Schlaepfer D.D., Orr A.W. Oxidized LDL induces FAK-dependent RSK signaling to drive NF-kB activation and VCAM-1 expression. *J. Cell Sci.* 2016;129(8):1580-1591. DOI 10.1242/jcs.182097.
- Zakkar M., Chaudhury H., Sandvik G., Enesa K., Luong le A., Cuhlmann S., Mason J.C., Krams R., Clark A.R., Haskard D.O., Evans P.C. Increased endothelial mitogen-activated protein kinase phosphatase-1 expression suppresses proinflammatory activation at sites that are resistant to atherosclerosis. *Circ. Res.* 2008;103(7):726-732. DOI 10.1161/CIRCRESAHA.108.183913.
- Zhang W., Tang T., Nie D., Wen S., Jia C., Zhu Z., Xia N., Nie S., Zhou S., Jiao J., Dong W., Lu B., Xu T., Sun B., Lu Y., Li Y., Cheng L., Liao Y., Cheng X. IL-9 aggravates the development of atherosclerosis in ApoE-/- mice. *Cardiovasc. Res.* 2015;106(3):453-464. DOI 10.1093/cvr/cvv110.
- Zou Y., Huang X., Feng L., Hou J., Xing L., Yu B. Localization of in-stent neoatherosclerosis in relation to curvatures and bifurcations after stenting. *J. Thorac. Dis.* 2016;8(12):3530-3536. DOI 10.21037/jtd.2016.11.108.

Благодарности. Работа выполнена при поддержке бюджетного проекта № 0259-2021-0009.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 27.01.2021. После доработки 26.03.2021. Принята к публикации 08.04.2021.