

©Коллектив авторов

ЦИТОКИНОВЫЙ ОТВЕТ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК КОРОНАРНОЙ АРТЕРИИ ЧЕЛОВЕКА НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ДОКСОРУБИЦИНОМ: ЭКСПЕРИМЕНТ *IN VITRO*

А.В. Синицкая*, Е.А. Великанова, Е.А. Сенокосова, М.Ю. Синицкий,
М.В. Хуторная, М.А. Асанов, А.О. Поддубняк, А.В. Понасенко

Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний,
652002, Кемерово, Сосновый бульвар, 6; *эл. почта: сероав1991@gmail.com

Методами иммуноферментного анализа и кПЦР оценен цитокиновый профиль первичных эндотелиальных клеток коронарной артерии, культивируемых в присутствии доксорубина в концентрациях 2 мкг/мл и 6 мкг/мл. Показано, что при культивировании клеток в течение суток с этими концентрациями доксорубина наблюдается повышение экспрессии генов *IL6* (в 2,30 и 2,66 раза соответственно), *IL1B* (в 1,25 и 3,44 раза), *CXCL8* (в 6,47 и 6,42 раза), а также *MIF* (в 2,34 и 2,28 раз), *CCL2* (в 4,22 и 3,98 раз); гипоксепрессия показана для генов *IL10*, *IL1R2*, *TNF*. Культивирование клеток в присутствии доксорубина (2 мкг/мл и 6 мкг/мл) в течение суток также повышало секрецию IL-6.

Ключевые слова: первичные эндотелиальные клетки коронарной артерии человека; доксорубин гидрохлорид; кПЦР; экспрессия генов; цитокины

DOI: 10.18097/PBMC20247003156

ВВЕДЕНИЕ

Доксорубин — антрациклиновый антибиотик, используемый при лечении различных видов злокачественных новообразований у человека. Однако, несмотря на эффективное действие в отношении различных типов рака, доксорубин обладает кардиотоксическим действием [1, 2]. Введение доксорубина приводит к накоплению активных форм кислорода (АФК) вследствие того, что хинон, который входит в состав антрациклинов, способен восстанавливаться до семихинона под действием клеточных оксидоредуктаз. Далее происходит окисление семихинона в присутствии молекулярного кислорода с образованием супероксидного аниона. Таким образом, происходит запуск цикла окислительно-восстановительных реакций, в результате которых в клетке накапливаются свободные радикалы, к воздействию которых чувствительны как кардиомиоциты, так и эндотелиальные клетки сосудов [3]. Количество АФК может также увеличиваться за счёт свободного двухвалентного железа, образующего комплекс с доксорубином, продуктами которого являются токсичные радикалы и активные формы азота, индуцирующие нитрозативный стресс и митохондриальную дисфункцию [4]. Попадая в системный кровоток, доксорубин воздействует на эндотелиальные клетки сосудов, что может привести к развитию хронических сосудистых заболеваний уже после окончания терапии [2]. Эндотелий выполняет ряд важных функций для поддержания сосудистого гомеостаза, в том числе барьерную, являясь главным регулятором транспорта веществ и миграции клеток через сосудистую стенку [5]. Независимо от природы повреждающего агента, поражение эндотелия приводит к нарушению барьерной функции и высвобождению про- и противовоспалительных цитокинов; это способствует разрушению адгезивных и клеточных контактов, инициируя развитие

эндотелиально-мезенхимального перехода [6]. Важно отметить, что баланс про- и противовоспалительных цитокинов является неотъемлемой частью устранения системных побочных эффектов и токсичности химиотерапии [7].

Цель нашего исследования заключалась в оценке цитокинового профиля первичных эндотелиальных клеток коронарной артерии человека, культивируемых в присутствии доксорубина.

МЕТОДИКА

Культивирование эндотелиальных клеток в присутствии доксорубина

Для проведения эксперимента использована коммерческая культура первичных эндотелиальных клеток коронарной артерии человека (“Cell Applications”, США), полученных от здоровых артерий доноров. Эндотелиальные клетки размораживали и культивировали во флаконах T-75 (“Techno Plastic Products”, Швейцария) в соответствии с протоколом производителя в среде для роста клеток Human MesoEndo Growth Medium (“Cell Applications”). После достижения конfluence 80% клетки рассевали в культуральные флаконы T-75 и T-25 (“Techno Plastic Products”). Все культуральные работы проводили в стерильных условиях при 37°C, 5% CO₂ и высокой влажности (“Sanyo”, Япония). Далее в культуральные флаконы добавляли доксорубин гидрохлорид (“Sigma Aldrich”, США) в концентрации 2 мкг/мл или 6 мкг/мл и инкубировали в течение суток. Данные концентрации доксорубина были выбраны с учётом литературных данных и рекомендаций OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) по тестированию химических соединений [8]. В качестве контроля использовали клетки, к которым добавляли деонизированную воду в объёме, равном объёму вводимого доксорубина.

Выделение РНК и определение уровня
геной экспрессии

Для экстракции РНК клетки после инкубации отмывали холодным раствором фосфатно-солевого буфера, а затем лизировали тризолом ("Thermo Fisher Scientific", США). Выделение РНК проводили с использованием коммерческого набора RNeasy Plus Universal Mini Kit ("Qiagen", Германия), следуя протоколу производителя. Качество и количество выделенной РНК определяли на приборе Qubit 4 ("Invitrogen", США) путём оценки индекса RIQ (RNA Integrity and Quality) с использованием набора реагентов Qubit RNA IQ Assay Kit ("Invitrogen"). Экспрессию генов оценивали методом кПЦР с обратной транскрипцией по протоколу, описанному ранее [9]. В качестве генов интереса отобраны гены, кодирующие основные провоспалительные цитокины (*IL1B*, *IL6*, *CXCL8*, *IL10*, *IL12A*, *IL12B*, *TNF*, *CCL2*, *MIF*), а также некоторые их рецепторы (*IL1R1*, *IL1R2*). Нормирование результатов экспрессии проводили на референсные гены *GAPDH*, *ACTB*, *B2M*.

Анализ уровня цитокинов, секретируемых
первичными эндотелиальными клетками

После завершения инкубации клеточных культур с доксорубицином забирали культуральную среду, которую разделяли на аликвоты в пробирки объемом 1,5 мл типа "Эппендорф" и хранили при температуре -40°C . Секрецию цитокинов (*IL-1 β* , *IL-6*, *IL-8*, *TNF α*) в эндотелиальных клетках, культивируемых в присутствии доксорубицина, проводили путём измерения их содержания в культуральной среде при помощи твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов ("Invitrogen"; "Вектор-бест", Россия), согласно инструкции производителей. Оптическую плотность измеряли на микропланшетном спектрофотометре Multiskan Sky ("Thermo Fisher Scientific").

Статистическую обработку данных проводили в программе GraphPad Prism 7 ("GraphPad Software", США). Нормальность распределения оценивали при помощи теста Шапиро-Уилка, сравнение между группами — при помощи U-критерия Манна-Уитни. Экспрессию изучаемых генов рассчитывали по методу Pfaffl [10] и выражали в виде кратного изменения относительно контрольных культур эндотелиальных клеток.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Культивирование клеток в присутствии доксорубицина с концентрацией 2 мкг/мл в течение суток индуцировало повышение секреции *IL-6* ($p=0,045$) по сравнению с неэкспонированными клетками, а культивирование с доксорубицином в концентрации 6 мкг/мл приводило к статистически значимому снижению уровня данного цитокина ($p=0,011$), по-видимому, связанному с увеличением цитотоксичности (табл. 1). Для фактора некроза опухоли (*TNF α*) и *IL-1 β* , а также *IL-8* статистически значимых различий в результатах не выявлено. Кроме того, сравнение секреции изучаемых цитокинов в двух исследуемых группах продемонстрировало различия только в уровне *IL-6* ($p=0,021$).

Сравнительный анализ профиля экспрессии генов, кодирующих изученные цитокины, выявил значительное повышение уровня мРНК *IL6*, *IL1B*, *CXCL8*, а также *MIF*, *CCL2*, гипоксепрессия показана для генов *IL10*, *IL1R2* и *TNF*, для остальных статистически значимых результатов получено не было (табл. 2).

Проведённое исследование показало, что первичные эндотелиальные клетки коронарной артерии человека характеризуются специфическим ответом на воздействие 2 мкг/мл и 6 мкг/мл доксорубицина. По профилю геной экспрессии эндотелиальные клетки, культивируемые с 2 мкг/мл и 6 мкг/мл доксорубицина, не различались между собой, однако были выявлены различия по уровню *IL-6*, выделяемого в культуральную среду.

Ранее было продемонстрировано, что культивирование эндотелиальных клеток в условиях генотоксической нагрузки, вызванной митомицином С, приводит к увеличению уровня геной экспрессии *IL6* и *CXCL8*, а также повышению концентрации данных молекул в культуральной среде [11]. Также показано, что добавление кальций-фосфатных бионов к культурам первичных эндотелиальных клеток коронарной артерии индуцирует секрецию провоспалительных цитокинов (*IL-6* и *IL-8*) в окружающую среду в результате повышения уровня мРНК данных молекул [12]. В нашем исследовании выявлено, что воздействие доксорубицина в концентрациях 2 мкг/мл и 6 мкг/мл на эндотелиальные клетки приводит к выраженному увеличению экспрессии генов *IL6* и *CXCL8*, а также *IL1B* в сравнении

Таблица 1. Уровень провоспалительных цитокинов, секретируемых в культуральную среду

Секретируемые цитокины	Уровень цитокинов, секретируемых в культуральную среду, Me (Q1;Q3)		
	Контроль	2 мкг/мл	6 мкг/мл
<i>IL-1β</i>	3,82 (3,61–4,13)	5,04 (4,27–6,04)	4,82 (4,68–5,15)
<i>IL-6</i>	8,21 (7,21–8,24)	24,69 (20,38–45,56)*	0,83 (0,74–2,86)**
<i>IL-8</i>	151,70 (136,90–174,80)	170,50 (134,60–179,20)	177,70 (175,40–194,30)
<i>TNFα</i>	10,48 (10,38–11,68)	11,13 (10,77–11,54)	10,50 (10,35–11,39)

Примечание: * – статистически значимое различие концентрации *IL-6* между контролем и концентрацией 2 мкг/мл ($p=0,045$); ** – статистически значимое различие концентрации *IL-6* между контролем и концентрацией 6 мкг/мл ($p=0,011$).

ВОЗДЕЙСТВИЕ ДОКСОРУБИЦИНА НА ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ

Таблица 2. Сравнительный анализ профиля генной экспрессии цитокинов

Ген	Белок	Праймеры	Кратность изменения экспрессии	
			2 мкг/мл	6 мкг/мл
<i>IL1B</i>	Interleukin-1 beta	Прямой: TGGCTTATTACAGTGGCAATG Обратный: GTGGTGGTCGGAGATTCTG	1,25	3,44
<i>IL6</i>	Interleukin-6	Прямой: GGCAGTGGCAGAAAACAACC Обратный: GCAAGTCTCCTCATTGAATCC	2,30	2,66
<i>CXCL8</i>	Interleukin-8	Прямой: CAGAGACAGCAGAGCACAC Обратный: AGTTCTTTAGCACTCCTTGGC	6,47	6,42
<i>IL10</i>	Interleukin-10	Прямой: GGAGGACTTTAAGGGTTAC Обратный: TTCACAGGGAAGAAATCG	0,58	0,56
<i>IL12A</i>	Interleukin-12 subunit alpha	Прямой: GCCTTCACCACTCCCCAAAAC Обратный: TGTCTGGCCTTCTGGAGCAT	Отсутствие амплификации	Отсутствие амплификации
<i>IL12B</i>	Interleukin-12 subunit beta	Прямой: GGACATCATCAAACCTGACC Обратный: AGGGAGAAGTAGGAATGTGG	Отсутствие амплификации	Отсутствие амплификации
<i>IL1R1</i>	Interleukin-1 receptor type 1	Прямой: GGCTGAAAAGCATAGAGGGAAC Обратный: CTGGGCTCACAATCACAGG	1,35	1,71
<i>IL1R2</i>	Interleukin-1 receptor type 2	Прямой: TGGCACCTACGTCTGCACTACT Обратный: TTGCGGGTATGAGATGAACG	0,38	0,50
<i>TNF</i>	Tumor necrosis factor	Прямой: ATGAGCACTGAAAGCATGATCC Обратный: GAGGGCTGATTAGAGAGAGGTC	0,20	0,33
<i>MIF</i>	Macrophage migration inhibitory factor	Прямой: GGTGTCCGAGAAGTCAGGCA Обратный: GGGGCACGTTGGTGTTTACG	2,34	2,28
<i>CCL2</i>	Monocyte chemoattractant protein 1	Прямой: TTCTGTGCCCTGCTGCTCATAG Обратный: AGGTGACTGGGGCATTGATTG	4,22	3,98

с контролем, однако на уровне белков эти различия показаны только для IL-6. Повышение уровня провоспалительных цитокинов может быть одним из триггеров развития эндотелиальной дисфункции, что впоследствии может привести к развитию серьёзных сердечно-сосудистых катастроф [13].

В проведённом исследовании также отмечено статистически значимое повышение уровня экспрессии фактора ингибирования миграции макрофагов (*MIF*) в двух изучаемых группах. Фактор ингибирования миграции макрофагов (*MIF*) — гомотримерный белок, действующий как плейотропный провоспалительный цитокин и вовлечённый в процессы рекрутирования лейкоцитов, воспаления, пролиферации клеток [14]. *MIF* продуцируют различные типы эндотелиальных и эпителиальных клеток. Отмечается, что увеличение секреции *MIF* способствует привлечению лейкоцитов за счёт повышения экспрессии Е-селектина, ICAM-1, VCAM-1, IL-8, а также MCP-1 [15], что является специфическим ответом на повреждение клеток. Таким образом можно предположить, что доксорубин, возможно, вносит свой вклад в развитие эндотелиальной дисфункции. Однако для подтверждения данной гипотезы необходимо проведение дополнительного комплекса исследований как *in vitro*, так и *in vivo*. Подобное исследование на эндотелиальных клетках проведено впервые, так как в основном внимание исследователей сосредоточено на изучении воздействия доксорубина на кардиомиоциты. Вместе с тем, встречаются единичные работы, посвящённые изучению воздействия данного антрациклина на эндотелий

сосудов. Так, Иванова в своём исследовании на экспериментальных животных установила, что однократное введение крысам доксорубина в дозе 4 мкг/кг приводит к изменению массы тела животных и реактивности сосудов (увеличение амплитуды вазоконстрикции на фенилэфрин на 18,5%, а также снижение реактивности на экзогенный NO) [16]. Ещё один коллектив авторов проводил исследования, в которых изолировали грудную аорту крыс линии Wistar и инкубировали её в растворе 10 мкМ доксорубина; как показали результаты экспериментов, инкубация изолированных колец грудной аорты в течение часа приводит к усилению вазоконстрикторных реакций на фенилэфрин [17].

Группа исследователей из Китая продемонстрировала, что в грудной аорте мышей, которым в течение 3 недель вводили 2,5 мг/кг доксорубина, наблюдались признаки воспалительной инфильтрации, а также гипертрофии интерстициальных клеток [18]. Кроме того, они показали, что добавление к эндотелиальным клеткам пупочной вены 100 мкМ доксорубина вызывало увеличение концентрации лактатдегидрогеназ в культуральной среде, а также снижало жизнеспособность клеток [18]. Помимо работ, описывающих воздействие доксорубина на эндотелиальные клетки, также появляются данные о его влиянии на гладкомышечные клетки [19, 20]. Так, установлено изменение функциональной активности гладкомышечных клеток при однократном внутривентральном введении доксорубина мышам в дозе 4 мг/кг [21].

Подводя итог, можно отметить, что имеющиеся экспериментальные данные ограничиваются единичными исследованиями, которые посвящены молекулярным механизмам действия доксорубина на эндотелиальные и гладкомышечные клетки. Проведённое нами исследование является пилотным, для дальнейшего изучения молекулярно-генетических механизмов действия доксорубина на эндотелиальные клетки необходимо проведение ряда дополнительных экспериментов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведённого исследования установлено, что первичные эндотелиальные клетки коронарной артерии человека, культивируемые в присутствии доксорубина (2 мкг/мл и 6 мкг/мл) в различных концентрациях, характеризуются изменением уровня экспрессии цитокинов, свидетельствующим об их провоспалительной активации.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0419-2022-0001.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Работа не связана с исследованиями, в которых в качестве объекта выступают люди или животные, и выполнена на коммерческих культурах первичных эндотелиальных клеток.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Wenningmann N., Knapp M., Ande A., Vaidya T.R., Ait-Oudhia S.* (2019) Insights into doxorubicin-induced cardiotoxicity: Molecular mechanisms, preventive strategies, and early monitoring. *Mol. Pharmacol.*, **96**(2), 219–232. DOI: 10.1124/mol.119.115725
2. *Luu A.Z., Chowdhury B., Al-Omran M., Teoh H., Hess D.A., Verma S.* (2018) Role of endothelium in doxorubicin-induced cardiomyopathy. *JACC Basic Transl. Sci.*, **3**(6), 861–870. DOI: 10.1016/j.jacbs.2018.06.005
3. *McGowan J.V., Chung R., Maulik A., Piotrowska I., Walker J.M., Yellon D.M.* (2017) Anthracycline chemotherapy and cardiotoxicity. *Cardiovasc. Drugs Ther.*, **31**(1), 63–75. DOI: 10.1007/s10557-016-6711-0
4. *Синицкий М.Ю., Цепкина А.В., Хуторная М.В., Понасенко А.В., Сумин А.Н.* (2021) Генетические основы кардиотоксичности антрациклинов: обзор литературы. *Acta Biomedica Scientifica*, **6**(4), 27–38. [*Sinitzky M.Yu., Tsepokina A.V., Khutornaya M.V., Ponasenko A.V., Sumin A.N.* (2021) Genetic basis of anthracyclines cardiotoxicity: Literature review. *Acta Biomedica Scientifica*, **6**(4), 27–38.] DOI: 10.29413/ABS.2021-6.4.3
5. *Иванов А.Н., Попыхова Э.Б., Терешкина Н.Е., Степанова Т.В., Злобина О.В., Норкин И.А.* (2020) Вазомоторная функция эндотелия. *Успехи физиологических наук*, **51**(4), 82–104. [*Ivanov A.N., Popyhova E.B., Tereshkina N.Ye., Stepanova T.V., Zlobina O.V., Norkin I.A.* (2020) Vasomotor function of endothelium. *Uspekhi Fiziologicheskikh Nauk*, **51**(4), 82–104.] DOI: 10.31857/S0301179820030066
6. *Podyacheva E., Danilchuk M., Toropova Y.* (2023) Molecular mechanisms of endothelial remodeling under doxorubicin treatment. *Biomed. Pharmacother.*, **162**, 114576. DOI: 10.1016/j.biopha.2023.114576
7. *Shi S., Chen Y., Luo Z., Nie G., Dai Y.* (2023) Role of oxidative stress and inflammation-related signaling pathways in doxorubicin-induced cardiomyopathy. *Cell Commun. Signal.*, **21**(1), 61. DOI: 10.1186/s12964-023-01077-5
8. OECD (2016) Test No. 487: *In vitro* mammalian cell micronucleus test, OECD guideline for the testing of chemicals, Section 4, OECD Publishing.
9. *Синицкий М.Ю., Цепкина А.В., Кутихин А.Г., Шишкова Д.К., Понасенко А.В.* (2021) Профиль генной экспрессии в эндотелиальных клетках, культивируемых в присутствии митомицина С. *Биомедицинская химия*, **67**(2), 130–136. [*Sinitzky M.Yu., Tsepokina A.V., Kutikhin A.G., Shishkova D.K., Ponasenko A.V.* (2021) The gene expression signature in endothelial cells exposed to mitomycin C. *Biomeditsinskaya Khimiya*, **67**(2), 130–136.] DOI: 10.18097/PBMC20216702130
10. *Pfaffl M.W.* (2001) A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic. Acids Res.*, **29**(9), e45. DOI: 10.1093/nar/29.9.e45
11. *Синицкий М.Ю., Цепкина А.В., Кутихин А.Г., Шишкова Д.К., Понасенко А.В.* (2020) Особенности секреции и генной экспрессии проатеросклеротических цитокинов IL-6 и IL-8 в культурах эндотелиальных клеток, культивируемых в условиях мутагенной нагрузки. *Медицинская генетика*, **19**(12), 38–46. [*Sinitzky M.Yu., Tsepokina A.V., Kutikhin A.G., Shishkova D.K., Ponasenko A.V.* (2020) Secretion and gene expression of proatherosclerotic cytokines IL6 and IL8 by endothelial cells exposed to mutagen. *Medical Genetics*, **19**(12), 38–46.] DOI: 10.25557/2073-7998.2020.12.38-46
12. *Кутихин А.Г., Шишкова Д.К., Синицкий М.Ю., Великанова Е.А.* (2020) Кальций-фосфатные бионы независимо от формы вызывают выделение интерлейкина-6 и интерлейкина-8 в культурах первичных артериальных эндотелиальных клеток. *Патогенез*, **18**(2), 53–60. [*Kutikhin A.G., Shishkova D.K., Sinitzky M.Yu., Velikanova E.A.* (2020) Calcium phosphate bions cause increased release of interleukin-6 and interleukin-8 in primary arterial endothelial cells regardless of their shape. *Pathogenesis*, **18**(2), 53–60.] DOI: 10.25557/2310-0435.2020.02.53-60
13. *Gallo G., Savoia C.* (2024) New insights into endothelial dysfunction in cardiometabolic diseases: Potential mechanisms and clinical implications. *Int. J. Mol. Sci.*, **25**(5), 2973. DOI: 10.3390/ijms25052973
14. *Sumaiya K., Langford D., Natarajaseenivasan K., Shanmughapriya S.* (2022) Macrophage migration inhibitory factor (MIF): A multifaceted cytokine regulated by genetic and physiological strategies. *Pharmacol. Ther.*, **233**, 108024. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2021.108024

15. Cheng Q., McKeown S.J., Santos L., Santiago F.S., Khachigian L.M., Morand E.F., Hickeyacrophage M.J. (2010) Migration inhibitory factor increases leukocyte-endothelial interactions in human endothelial cells via promotion of expression of adhesion molecules. *J. Immunol.*, **185**(2), 1238–1247. DOI: 10.4049/jimmunol.0904104
16. Иванова Г.Т. (2022) Влияние доксорубина на реактивность брыжеечных артерий крыс Вистар. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова, **108**(11), 1453–1467. DOI: 10.31857/S0869813922110036 [Ivanova G.T. (2022) Effect of doxorubicin on the reactivity of rat mesenteric arteries. *J. Evol. Biochem. Phys.*, **58**, 1914–1925.] DOI: 10.1134/S0022093022060205
17. Henidi H.A., Al-Abbasi F.A., El-Moselhy M.A., El-Bassossy H.M., Al-Abd A.M. (2020) Despite blocking doxorubicin-induced vascular damage, quercetin ameliorates its antitumor activity. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, **2020**, 8157640. DOI: 10.1155/2020/8157640
18. He H., Wang L., Qiao Y., Zhou Q., Li H., Chen S., Yin D., Huang Q., He M. (2020) Doxorubicin induces endotheliotoxicity and mitochondrial dysfunction via ROS/eNOS/NO pathway. *Front. Pharmacol.*, **10**, 1531. DOI: 10.3389/fphar.2019.01531
19. Gibson N.M., Greufe S.E., Hydock D.S., Hayward R. (2013) Doxorubicin-induced vascular dysfunction and its attenuation by exercise preconditioning. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **62**, 355–360. DOI: 10.1097/FJC.0b013e31829c9993
20. Olukman M., Can C., Erol A., Oktem G., Oral O., Cinar M.G. (2009) Reversal of doxorubicin-induced vascular dysfunction by resveratrol in rat thoracic aorta: Is there a possible role of nitric oxide synthase inhibition? *Anadolu Kardiyoloji Dergisi*, **9**, 260–266.
21. Bosman M., Krüger D.N., Favere K., Wesley C.D., Neutel C.H.G., van Asbroeck B., Diebels O.R., Faes B., Schenk T.J., Martinet W., de Meyer G.R.Y., van Craenenbroeck E.M., Gans P.-J.D.F. (2021) Doxorubicin impairs smooth muscle cell contraction: Novel insights in vascular toxicity. *Int. J. Mol. Sci.*, **22**(23), 12812. DOI: 10.3390/ijms222312812

Поступила в редакцию: 12. 01. 2024.
После доработки: 02. 05. 2024.
Принята к печати: 06. 05. 2024.

THE CYTOKINE RESPONSE OF HUMAN CORONARY ARTERY ENDOTHELIAL CELLS TREATED WITH DOXORUBICIN: RESULTS OF AN *IN VITRO* EXPERIMENT

A.V. Sinitskaya*, E.A. Velikanova, E.A. Senokosova, M.Yu. Sinitsky,
M.V. Khutornaya, M.A. Asanov, A.O. Poddubnyak, A.V. Ponasenko

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases,
6 Sosnovy blvd., Kemerovo, 652020 Russia; *e-mail: cepoav1991@gmail.com

The cytokine profile of primary coronary artery endothelial cells cultivated in the presence of doxorubicin (2 µg/ml and 6 µg/ml) was evaluated using enzyme-linked immunosorbent assay and qPCR. Cultivation of cells in the presence of these concentrations of doxorubicin for 24 h, upregulated expression of the following genes: *IL6* (by 2.30 and 2.66 times, respectively), *IL1B* (by 1.25 and 3.44 times), and *CXCL8* (by 6.47 times and 6.42 times), *MIF* (2.34 and 2.28 times), *CCL2* (4.22 and 3.98 times). Under these conditions the following genes were downregulated: *IL10*, *IL1R2*, *TNF*. Cultivation of cells in the presence of doxorubicin (2 µg/ml and 6 µg/ml) for 24 h also increased the secretion of IL-6.

The whole English version is available at <http://pbmc.ibmc.msk.ru>.

Key words: primary human coronary artery endothelial cells; doxorubicin hydrochloride; qPCR; gene expression; cytokines

Funding. This research was supported by the Complex Program of Fundamental Research of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences within the framework of the fundamental research project of Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases No. 0419-2022-0001.

Received: 12.01.2024; revised: 02.05.2024; accepted: 06.05.2024.