

Д.В. Савицкий<sup>1</sup>, Н.С. Линькова<sup>1,2</sup>, И.М. Кветной<sup>3,4</sup>, А.С. Дятлова<sup>1</sup>,  
Г.Б. Сараяв<sup>1</sup>, К.Л. Козлов<sup>1,5</sup>, Е.М. Пальцева<sup>6</sup>

## СЕКРЕТОРНЫЙ ФЕНОТИП ЭНДОТЕЛИОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА, АССОЦИИРОВАННЫЙ С РЕПЛИКАТИВНЫМ И ИНДУЦИРОВАННЫМ СТАРЕНИЕМ

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, 197110, Санкт-Петербург, пр. Динамо, 3, e-mail: ibg@gerontology.ru; <sup>2</sup> Белгородский национальный исследовательский университет, 308015, Белгород, ул. Победы, 85; <sup>3</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, 2; <sup>4</sup> Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии, 191036, Санкт-Петербург, Лиговский пр., 2–4; <sup>5</sup> Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6; <sup>6</sup> Российская академия наук, 119991, Москва, Ленинский пр., 14

Секреторный фенотип, ассоциированный со старением (SASP), — гетерогенный фенотип клеток, секретирующих провоспалительные цитокины, факторы роста, апоптоза и протеазы. SASP является одним из трех основных признаков стареющих клеток. Нарушение регуляции синтеза молекул, формирующих SASP, приводит к развитию ассоциированных с возрастом заболеваний, в том числе сердечно-сосудистой патологии. Цель исследования — охарактеризовать SASP эндотелиоцитов человека при репликативном и индуцированном старении. Для моделирования репликативного и вызванного воспалением старения использовали линию изолированных эндотелиальных клеток пупочной вены человека HUVEC. Установлено, что молекулами, формирующими SASP при репликативном и индуцированном воспалением старении HUVEC, являются факторы апоптоза (p16, p21, p53), адгезии (E-селектин, VCAM-1) и цитокины (IL-1 $\beta$ , IL-6). При репликативном старении эндотелиоцитов в большей степени повышается синтез молекул апоптоза. Для индуцированного воспалением старения HUVEC характерно многократное увеличение синтеза молекул адгезии и провоспалительных цитокинов.

**Ключевые слова:** SASP, эндотелий, инфламэйджинг, апоптоз, клеточная адгезия, цитокины

Формирование секреторного фенотипа, ассоциированного со старением (SASP), вовлечено как в естественные процессы старения на уровне клеток и организма, так и в развитие возраст-ассоциированных патологий. SASP характеризуется продукцией цитокинов, хемокинов, ростовых факторов и протеаз. Множество молекулярных факторов, формирующих SASP, проявляют амбивалентную биологическую активность в зависимости от физиологического контекста. Молекулы SASP

стимулируют обновление и дифференцировку стволовых клеток, восстановление тканей. Однако эти молекулы могут быть активаторами патологических процессов неоангиогенеза, воспаления, эпителиально-мезенхимального перехода и формирования устойчивости к химиотерапии [5].

SASP является результатом повреждения ДНК, дисфункции теломер, митогенных или эпигеномных сигналов, оксидативного стресса [10]. Такое разнообразие индуцирующих SASP сигналов объясняет его гетерогенную биологическую активность. Первоначально предполагалось, что определенные фенотипы SASP могут приводить к формированию злокачественного фенотипа [6]. Однако позднее было показано его участие в формировании других возраст-ассоциированных патологий, в том числе заболеваний сердечно-сосудистой системы [23, 24]. Выявлена стимуляция миграции и пролиферации гладкомышечных клеток легочной артерии стареющими клетками, продуцирующими цитокины IL-6 и IL-8 и макромолекулы внеклеточного матрикса [19]. Эти процессы могут приводить к утолщению интимы, медиальной гипертрофии, что приводит к легочной гипертензии.

Возрастные сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) вызывают особую клиническую озабоченность по мере старения населения мира. 38% людей 40–60 лет и 83% людей старше 85 лет имеют ССЗ, которые включают атеросклероз, ХСН, артериальную гипертензию и ИБС. Учитывая растущую популяцию пациентов пожилого возраста, существует потребность в определении новых терапевтических целей для лечения или предотвращения ССЗ.

Согласно бимодальной модели клеточного старения при ССЗ, предложенной В.С. Childs и соавт., первичные сенесцентные клетки с возрастом накапливаются в сердечно-сосудистой ткани, снижая ее функциональный резерв. Затем, по мере развития ССЗ, повышенный клеточный стресс в микроокружении пораженной ткани вызывает вторую волну формирования SASP — такие клетки называют вторичными стареющими клетками. Образование вторичных сенесцентных клеток продолжает усугублять существовавшие ранее ССЗ [8].

Изначально SASP нацелен на элиминацию иммунной системой стареющих и преднеопластических клеток, но наблюдается корреляция SASP, старения эндотелия и ССЗ. Содержание укороченных теломер и маркеров окислительного стресса повышается в сердечно-сосудистой ткани с возрастом и при наличии ССЗ [14]. Предотвращение клеточного старения путем генетической элиминации эффекторных молекул, участвующих в этом процессе, может замедлить возрастную потерю функции ткани [3].

Практически все заболевания, ассоциированные с возрастом, характеризуются эндотелиальной дисфункцией, что обуславливает исследование SASP на клеточных моделях с использованием эндотелиальных клеток пупочной вены человека (HUVEC) [16, 20, 26]. Цель исследования — оценка роли экспрессии белков апоптоза, воспаления, молекул клеточной адгезии в формировании SASP эндотелиоцитов человека линии HUVEC при репликативном и индуцированном старении.

### Материалы и методы

Первичную культуру изолированных эндотелиальных клеток пупочной вены человека (human umbilical vein endothelial cells, HUVEC) культивировали в среде DMEM с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки и 1% смеси антибиотиков (пенициллина и стрептомицина) в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при температуре 37 °С. Жизнеспособность клеток оценивали с использованием MTS-теста. Репликативное старение клеток осуществляли при их культивировании до 18-го пассажа. Пассаж, соответствующий «старым» культурам, был определен экспериментально по снижению жизнеспособности клеток в соответствии с ранее описанной методикой [1]. Контрольной культурой в этой модели служили «молодые» клетки 3-го пассажа. Для индуцированного клеточного старения применяли липополисахарид (ЛПС). Культивирование про-

водили в шестилуночном планшете. На 3-м пассаже клетки в концентрации  $6 \cdot 10^6$  на лунку культивировали в течение 12 ч. Затем в течение 6 сут клетки инкубировали с ЛПС (Lipopolysaccharides from *Escherichia coli* O55:B5, Sigma, USA) в концентрации 0,5 мкг/мл [22]. Контрольные культуры клеток культивировали по аналогичной схеме, но без добавления ЛПС.

Для вестерн-блот-анализа белки изолировали из клеток HUVEC с использованием RIPA-буфера и коммерческого набора «Extraction Kit» («BestBio BB-3102», Китай). Концентрацию исследуемых белков измеряли с помощью BCA™ Protein Assay Kit («Thermo Fisher Scientific», США). Белок выделяли методом электрофореза в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия и переносили на PVDF-мембраны. Неспецифическое связывание белка на PVDF-мембранах блокировали в 5% растворе обезжиренного молока на Tris-буфере при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем инкубировали с первичными антителами при 4 °С: anti-p16, anti-p21, anti-p53, anti-E-selectin, anti-VCAM-1, anti-IL-1β, anti-IL-6 (Abcam, USA) и anti-β-actin («Abcam», США). Все первичные антитела разводили в соотношении 1:8 000. После этого PVDF-мембраны промывали и проводили инкубацию со вторичными антителами (1:8 000, «Abcam», США) при комнатной температуре в течение 2 ч. Белки визуализировали хемотрофлюоресценцией при помощи коммерческого набора «Thermo Fisher Scientific» («Waltham», США).

Вовлеченность всех исследуемых маркеров в формирование SASP продемонстрирована в разной степени. Взаимодействие белков-супрессоров опухолей p16, p21, p53 вызывает стресс-индуцированное старение [7, 18], результатом которого, в частности, является формирование SASP. Уровень мРНК p16INK4a и IL-6 растет в стареющих культурах клеток по сравнению с «молодыми» культурами [4]. Стареющие клетки имеют измененную экспрессию молекул адгезии, в том числе E-селектина и VCAM-1 [9].

Интенсивность полученных полос (бэндов) и соответствующий уровень экспрессии белков определяли количественно методом денситометрии с использованием программного обеспечения ImageJ по отношению к экспрессии β-актина. Статистическую обработку полученных данных осуществляли в программном обеспечении SPSS 21.0. Оценивали среднее значение интенсивности свечения и стандартную ошибку. Достоверность различий между группами оценивали с помо-

щью *t*-критерия Стьюдента или с применением одностороннего дисперсионного анализа (Anova). Достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

Установлено, что при репликативном старении клеток HUVEC пассажами происходит повышение синтеза белков-маркеров апоптоза  $p16$ ,  $p21$  и  $p53$  в клетках в 2–3 раза по сравнению с контрольными культурами клеток 3-го пассажа. При ЛПС-индуцированном старении клеток происходило увеличение числа исследуемых белков в 2,5–3,3 раза по сравнению с контрольной культурой клеток. При репликативном старении клеток HUVEC наиболее выраженное увеличение синтеза отмечено для белка  $p53$ . При индуцированном ЛПС-старении эндотелиоцитов в большей степени повышался синтез  $p21$  и  $p53$ . Для  $p21$  относительная интенсивность хемолуминесценции была

в 1,5 раза выше в модели ЛПС-индуцированного старения по сравнению с репликативным, для  $p53$  — в 1,7 раза. Для  $p16$  различий между группами репликативного и ЛПС-индуцированного старения не наблюдали (рис. 1).

При репликативном старении клеток HUVEC пассажами происходит повышение синтеза белков-маркеров адгезии. Число E-селектина при репликативном старении повышалось в 2 раза по сравнению с контрольными культурами клеток 3-го пассажа. Число VCAM-1 при репликативном старении достоверно повышалось в 1,7 раза по сравнению с контрольной культурой клеток. При ЛПС-индуцированном старении клеток происходило увеличение числа исследуемых белков в 5–7 раз по сравнению с контрольной культурой клеток. Наиболее выраженное увеличение относительной интенсивности хемолуминесценции отмечено для E-селектина (рис. 2).

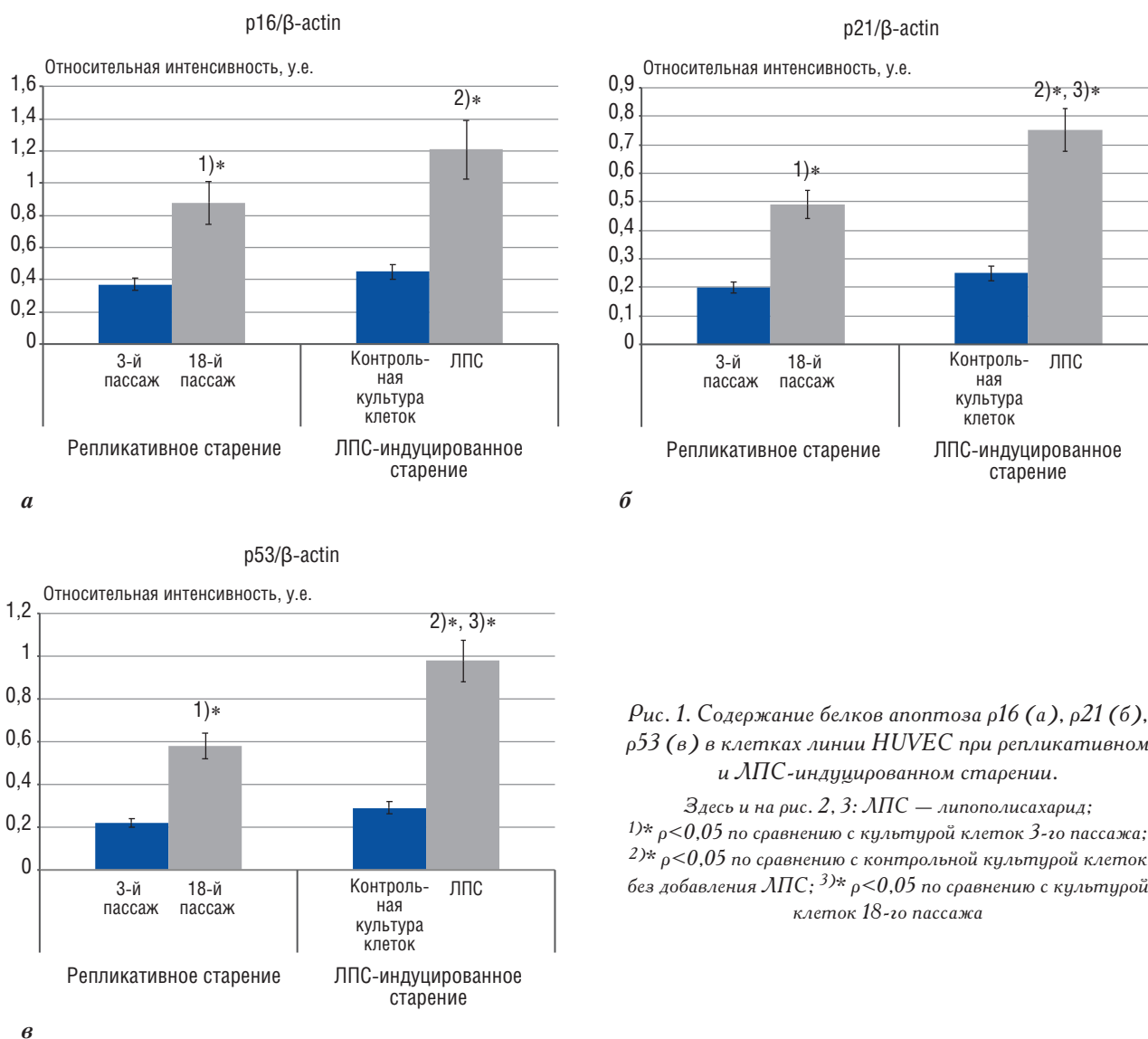


Рис. 1. Содержание белков апоптоза  $p16$  (а),  $p21$  (б),  $p53$  (в) в клетках линии HUVEC при репликативном и ЛПС-индуцированном старении.

Здесь и на рис. 2, 3: ЛПС — липополисахарид; 1)\*  $p < 0,05$  по сравнению с культурой клеток 3-го пассажа; 2)\*  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной культурой клеток без добавления ЛПС; 3)\*  $p < 0,05$  по сравнению с культурой клеток 18-го пассажа

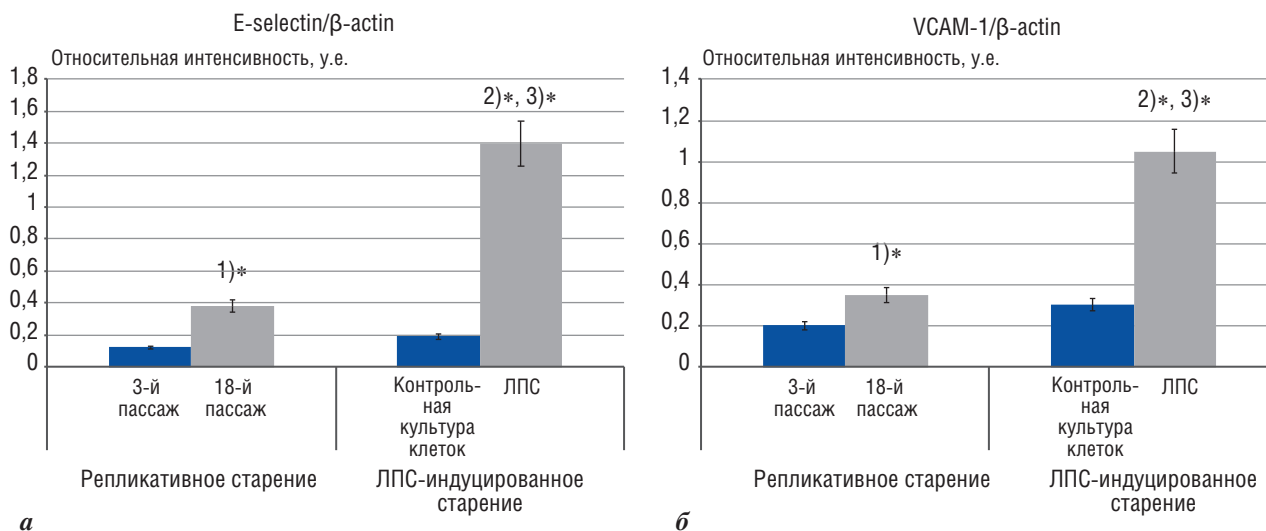


Рис. 2. Содержание молекул адгезии E-селектина (а) и VCAM-1 (б) в клетках линии HUVEC при репликативном и ЛПС-индуцированном старении

Как и в случае маркеров апоптоза, для молекул адгезии также наблюдали повышение их содержания в культурах клеток, старение которых было ЛПС-индуцированным, по сравнению с культурами клеток 18-го пассажа (модель репликативного старения). Это выражалось в повышении относительной интенсивности хемолуминесценции E-селектина в ЛПС-индуцированных клетках в 3,5 раза по сравнению с клетками 18-го пассажа. Для VCAM-1 относительная интенсивность хемолуминесценции была в 2,7 раза выше в модели ЛПС-индуцированного старения по сравнению с репликативной моделью старения (см. рис. 2).

При репликативном старении клеток HUVEC не происходит изменения средней хемолуминесценции цитокина IL-1 $\beta$ , в то время как число IL-6 по-

вышается в 2 раза по сравнению с культурами 3-го пассажа. При ЛПС-индуцированном старении клеток выявлено значительное повышение содержания как IL-1 $\beta$ , так и IL-6 в исследуемых клетках — в 12–16 раз по сравнению с контрольной культурой клеток. Наиболее выраженное увеличение относительной интенсивности хемолуминесценции при ЛПС-индуцированном старении наблюдается для IL-6. Кроме того, значительно повышалось содержание IL-1 $\beta$  и IL-6 в ЛПС-индуцированных клетках по сравнению с клетками 18-го пассажа — в 9 и 8 раз соответственно (рис. 3).

Полученные данные демонстрируют выраженное сходство секреторных фенотипов клеток HUVEC при репликативном и ЛПС-индуцированном старении. Как при репликативном,

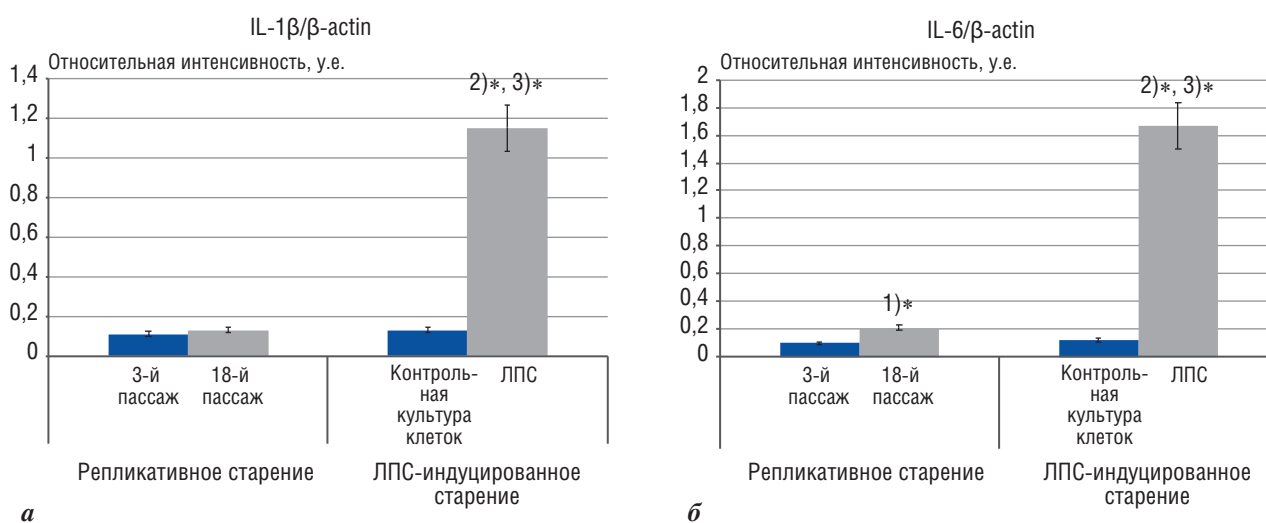


Рис. 3. Содержание цитокинов IL-1 $\beta$  (а) и IL-6 (б) в клетках линии HUVEC при репликативном и ЛПС-индуцированном старении



так и при ЛПС-индуцированном старении наблюдают повышение синтеза молекул апоптоза p16, p21, p53, молекул адгезии E-селектина и VCAM-1, цитокинов IL-1 $\beta$  и IL-6. При этом в культурах клеток, подвергнутых воздействию ЛПС, наблюдали более выраженное увеличение синтеза исследуемых молекул.

Полученные результаты согласуются с ранее проведенным исследованием К. Suzuki и соавт., в котором клетки HUVEC также были подвержены ЛПС-индуцированному старению [25]. Относительная экспрессия молекулы адгезии ICAM-1, которая, как и VCAM-1, экспрессируется на поверхности эндотелиальных клеток, увеличивалась в 4–10 раз в зависимости от концентрации ЛПС (10 и 100 нг/мл соответственно). Кроме того, при ЛПС-индуцированном старении клеток HUVEC наблюдали повышение экспрессии транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B-p65, являющегося маркером воспаления и опухолевой прогрессии. В этом случае не наблюдали дозозависимого эффекта ЛПС — различия были обнаружены только для концентрации ЛПС 100 нг/мл. Вероятно, стареющие клетки больше подвержены воздействию ЛПС из-за повышения на их поверхности экспрессии рецептора TLR4, с которым взаимодействует ЛПС [25].

S. Honda и соавт. предполагают, что клеточное старение эндотелия вызывает гипервоспаление и приводит к развитию атеросклероза посредством эпигенетических изменений [13]. Авторы изучали экспрессию эндотелиальными клетками мРНК молекулы адгезии VCAM-1 при репликативном старении. Базовый уровень экспрессии мРНК VCAM-1 был минимальным, в то время как у стареющих эндотелиоцитов относительный уровень экспрессии мРНК был высоким — в 10 раз выше по сравнению с «молодыми» культурами клеток. Обработка стареющих эндотелиоцитов ЛПС или TNF- $\alpha$  вызывала многократное увеличение экспрессии мРНК VCAM-1 по сравнению с «молодыми» культурами с добавлением тех же факторов. При этом добавление в культуры клеток ЛПС вызывало более значительные изменения в экспрессии мРНК у стареющих клеток по сравнению с «молодыми» (в 150 раз), чем добавление TNF- $\alpha$ , — в этом случае экспрессия увеличивалась в 2 раза. Авторы установили сильное увеличение связывания NF- $\kappa$ B-p65 с промотором VCAM-1, активированным по H3K4me3 в стареющих эндотелиоцитах, по сравнению с промотором VCAM-1 в «молодых» культурах [13].

Показано, что HUVEC в модели репликативного старения продуцируют высокий уровень провоспалительных цитокинов IL-8 [12] и IL-6 [17], что также согласуется с полученными в настоящем исследовании результатами.

Увеличение экспрессии p21 и p16 в стареющих клетках HUVEC может быть связано со сниженной экспрессией *Fis1* и *Drp1*, кодирующих белки, которые участвуют в делении митохондрий. Сайленсинг *Drp1* вызывает старение «молодых» HUVEC с повышенной экспрессией p21 и p16. Экспрессия *Drp1* также снижена в эндотелии аорты у старых крыс, что связано с нарушением аутофагического процессинга [17]. Кроме того, повышение экспрессии p21 и p16 в стареющих клетках HUVEC может быть связано со снижением экспрессии длинной некодирующей РНК H19, являющейся важным регулятором клеточного старения в эндотелии сосудов. Экспрессия H19 снижена в эндотелии сосудов старых мышей. Сайленсинг H19 приводит к остановке клеточного цикла в фазе G0/G1 и увеличению экспрессии p16 и p21 в эндотелиоцитах [15].

Инфламэйджинг [воспаление (inflammation) + старение (aging)] — термин, описывающий хроническое слабовыраженное воспаление в процессе старения, не вызванное внешними факторами и связанное с нарушением способности организма справляться с оксидативным стрессом [11]. Он представляет собой сложный системный процесс, который является результатом взаимодействия нескольких факторов. Биомаркерами инфламэйджинга являются, в частности, провоспалительные цитокины (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ) и C-реактивный белок [2].

### Заключение

SASP рассматривают в качестве одного из факторов развития инфламэйджинга [21]. Можно заключить, что в процессе естественного старения происходят изменения секреторного фенотипа эндотелиальных клеток, индуцированные молекулярными и генетическими факторами, в результате чего наблюдают формирование профиля SASP. Повышение числа клеток с SASP ведет к увеличению хронического системного слабовыраженного воспаления, называемого инфламэйджингом, которое является одним из основных факторов риска развития возраст-ассоциированных заболеваний (рис. 4). Как показано в нашем исследовании, молекулами, формирующими SASP эндотелиоцитов человека, являются факторы апоптоза (p16, p21, p53), адгезии (E-селектин, VCAM-1) и цитокины (IL-1 $\beta$ , IL-6).

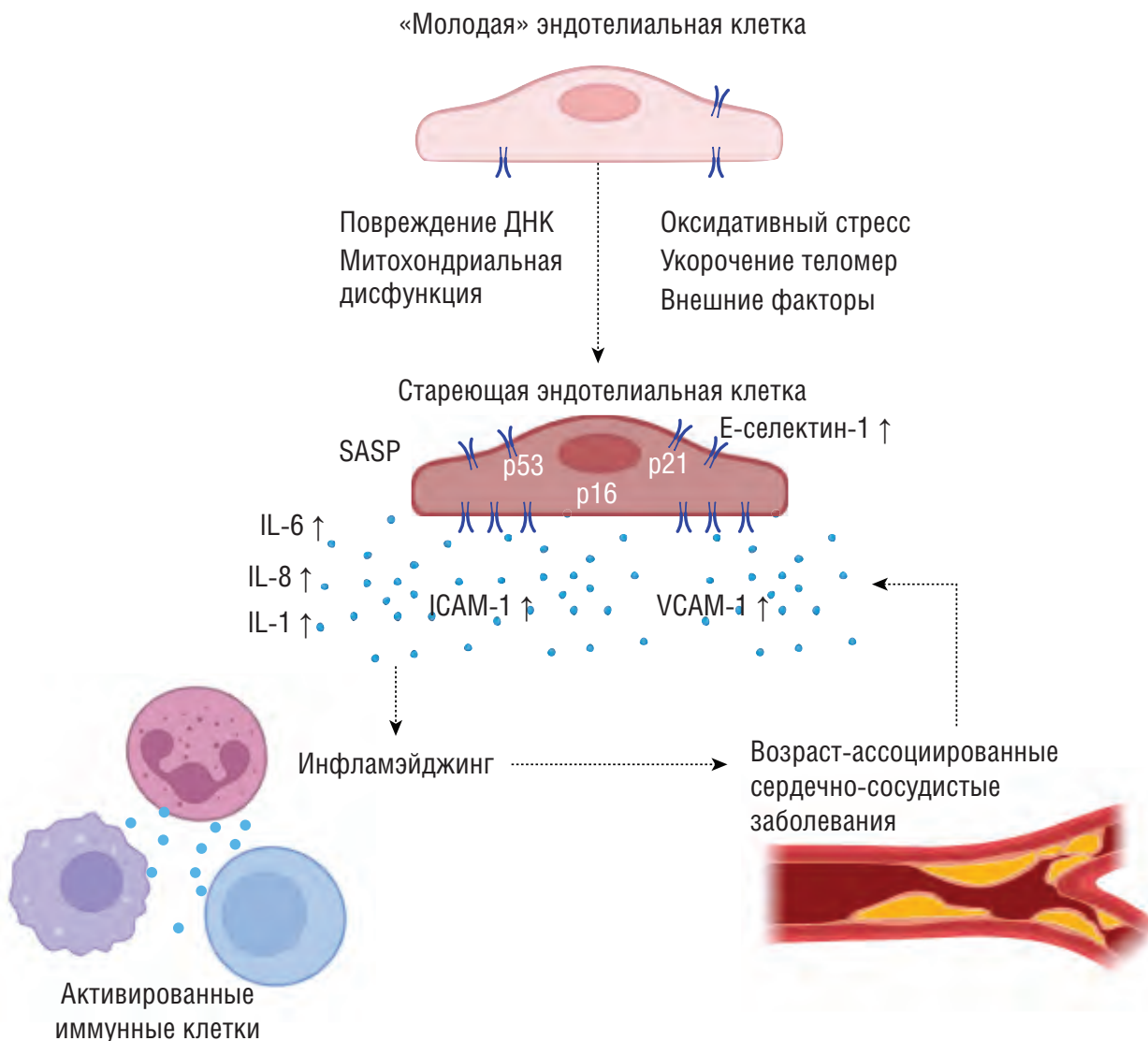


Рис. 4. Роль SASP в формировании инфламэйджинга и развитии сердечно-сосудистых заболеваний, ассоциированных с возрастом

Таким образом, SASP эндотелиоцитов может рассматриваться в качестве перспективной терапевтической цели для замедления возрастного снижения функций сердечно-сосудистой системы и предотвращения развития инфламэйджинга.

Конфликт интересов отсутствует.

### Литература

1. Хохлов А.Н. Тестирование геропротекторов в экспериментах на клеточных культурах: выбор оптимальной модельной системы // Вестн. МГУ (серия 16 «Биология»). 2014. № 1. С. 13–18.
2. Alberro A., Iribarren-Lopez A., Sáenz-Cuesta M. et al. Inflammaging markers characteristic of advanced age show similar levels with frailty and dependency // Sci. Rep. 2021. Vol. 11, № 1. P. 4358. doi.org/10.1038/s41598-021-83991-7
3. Baker D.J., Childs B.G., Durik M. et al. Naturally occurring p16<sup>Ink4a</sup>-positive cells shorten healthy lifespan // Nature. 2006. Vol. 530. P. 184–189. doi.org/10.1038/nature16932
4. Basisty N., Kale A., Jeon O.H. et al. A proteomic atlas of senescence-associated secretomes for aging biomarker development // PLoS Biol. 2020. Vol. 18, № 1. P. e3000599. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000599
5. Campisi J. Aging, cellular senescence, and cancer // Ann. Rev. Physiol. 2013. Vol. 75. P. 685–705. https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-030212-183653
6. Campisi J., Andersen J.K., Kapahi P., Melow S. Cellular senescence: a link between cancer and age-related degenerative disease? // Seminars Cancer Biol. 2011. Vol. 21. P. 354–359. https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2011.09.001
7. Campisi J., d'Adda di Fagagna F. Cellular senescence: when bad things happen to good cells // Nat. Rev. molec. Cell Biol. 2007. Vol. 8, № 9. P. 729–740. https://doi.org/10.1038/nrm2233
8. Childs B.G., Li H., Van Deursen J.M. Senescent cells: a therapeutic target for cardiovascular disease // J. clin. Invest. 2018. Vol. 128, № 4. P. 1217–1228. https://doi.org/10.1172/JCI95146
9. Coleman P.R., Chang G., Hutás G. et al. Age-associated stresses induce an anti-inflammatory senescent phenotype in endothelial cells // Aging (Albany NY). 2013. Vol. 5, № 12. P. 913–924. https://doi.org/10.18632/aging.100622
10. Coppé J.P., Desprez P.Y., Krtolica A., Campisi J. The senescence-associated secretory phenotype: the dark side of tumor suppression // Ann. Rev. Pathol. 2010. Vol. 5. P. 99–118. https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-121808-102144

11. Franceschi C., Bonafe M., Valensin S. et al. Inflammaging. An evolutionary perspective on immunosenescence // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2000. Vol. 908. P. 244–254. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06651.x>
12. Hampel B., Fortschegger K., Ressler S. et al. Increased expression of extracellular proteins as a hallmark of human endothelial cell in vitro senescence // *Exp. Geront.* 2006. Vol. 41. P. 474–481. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2006.03.001>
13. Honda S., Ikeda K., Urata R. et al. Cellular senescence promotes endothelial activation through epigenetic alteration, and consequently accelerates atherosclerosis // *Sci. Rep.* 2021. Vol. 11. P. 14608. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94097-5>
14. Herrmann W., Herrmann M. The Importance of Telomere Shortening for Atherosclerosis and Mortality // *J. Cardiovasc. Dev. Dis.* 2020. Vol. 7, № 3. P. 29. <https://doi.org/10.3390/jcdd7030029>
15. Hofmann P., Sommer J., Theodorou K. et al. Long non-coding RNA H19 regulates endothelial cell aging via inhibition of STAT3 signalling // *Cardiovasc. Res.* 2019. Vol. 115. P. 230–242. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvy206>
16. Hwang H.J., Lee Y.R., Kang D. et al. Endothelial cells under therapy-induced senescence secrete CXCL11, which increases aggressiveness of breast cancer cells // *Cancer Lett.* 2020. Vol. 490. P. 100–110. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2020.06.019>
17. Lin J.R., Shen W.L., Yan C., Gao P.J. Downregulation of dynamin-related protein 1 contributes to impaired autophagic flux and angiogenic function in senescent endothelial cells // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2015. Vol. 35. P. 1413–1422. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.115.305706>
18. Mirzayans R., Andraiss B., Hansen G., Murray D. Role of p16(INK4A) in Replicative Senescence and DNA Damage-Induced Premature Senescence in p53-Deficient Human Cells // *Biochem. Res. Int.* 2012. Vol. 2012. Article ID 951574. <https://doi.org/10.1155/2012/951574>
19. Noureddine H., Gary-Bobo G., Alifano M. et al. Pulmonary artery smooth muscle cell senescence is a pathogenic mechanism for pulmonary hypertension in chronic lung disease // *Circ. Res.* 2011. Vol. 109. P. 543–553. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.111.241299>
20. Olivieri F., Lazzarini R., Recchioni R. et al. MiR-146a as marker of senescence-associated pro-inflammatory status in cells involved in vascular remodelling // *Age (Dordr.)* 2013. Vol. 35. № 4. P. 1157–1172. <https://doi.org/10.1007/s11357-012-9440-8>
21. Olivieri F., Prattichizzo F., Grillari J., Balistreri C.R. Cellular Senescence and Inflammaging in Age-Related Diseases // *Mediat. Inflamm.* 2018. Vol. 2018. Article ID 9076485. <https://doi.org/10.1155/2018/9076485>
22. Pan X., Wu B., Fan X. et al. YAP accelerates vascular senescence via blocking autophagic flux and activating mTOR // *J. Cell molec. Med.* 2021. Vol. 25, № 1. P. 170–183. <https://doi.org/10.1111/jcmm.15902>
23. Sun J., Li Y., Graziani G.M., Filion L., Allan D.S. E-selectin mediated adhesion and migration of endothelial colony forming cells is enhanced by SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 // *PLoS One.* 2013. Vol. 8, № 4. P. e60890. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060890>
24. Sun X., Feinberg M.W. Vascular Endothelial Senescence: Pathobiological Insights, Emerging Long Noncoding RNA Targets, Challenges and Therapeutic Opportunities // *Front. Physiol.* 2021. Vol. 12. P. 693067. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.693067>
25. Suzuki K., Ohkuma M., Nagaoka I. Bacterial lipopolysaccharide and antimicrobial LL-37 enhance ICAM-1 expression and NF- $\kappa$ B p65 phosphorylation in senescent endothelial cells // *Int. J. molec. Med.* 2019. Vol. 44, № 4. P. 1187–1196. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2019.4294>
26. Wong P.F., Tong K.L., Jamal J. et al. Senescent HUVECs-secreted exosomes trigger endothelial barrier dysfunction in young endothelial cells // *EXCLI J.* 2019. Vol. 18. P. 764–776. <https://doi.org/10.17179/excli2019-1505>

Поступила в редакцию 23.05.2022  
 После доработки 14.06.2022  
 Принята к публикации 17.06.2022

Adv. geront. 2022. Vol. 35. № 4. P. 478–484

D.V. Savitskiy<sup>1</sup>, N.S. Linkova<sup>1,2</sup>, I.M. Kvetnoy<sup>3,4</sup>, A.S. Diatlova<sup>1</sup>, G.B. Saraev<sup>1</sup>,  
 K.L. Kozlov<sup>1,5</sup>, E.M. Paltseva<sup>6</sup>

### SECRETORY PHENOTYPE OF THE HUMAN ENDOTHELIAL CELLS ASSOCIATED WITH REPLICATIVE AND INDUCED AGING

<sup>1</sup> Saint-Petersburg institute of Bioregulation and Gerontology, 3 Dynamo pr., St. Petersburg 197110, e-mail: [ibg@gerontology.ru](mailto:ibg@gerontology.ru); <sup>2</sup> Belgorod State National Research University, 85 Pobeda str., Belgorod 308015; <sup>3</sup> Saint-Petersburg State University, 2 Mendeleevskaia line, St. Petersburg 199034; <sup>4</sup> Saint-Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology, 2–4 Ligovsky pr., St. Petersburg 191036; <sup>5</sup> S.M. Kirov Military Medical Academy, 6 Academic Lebedev str., St. Petersburg 194044; <sup>6</sup> Russian Academy of Sciences, 14 Leninsky pr., Moscow 119991

The aging-associated secretory phenotype (SASP) is a heterogeneous phenotype of cells secreting pro-inflammatory cytokines, growth factors, apoptosis' regulatory molecules, and proteases. SASP is one of the three main hallmarks of senescent cells. Dysregulation of the synthesis of SASP-forming molecules leads to the development of age-associated diseases, including cardiovascular pathology. The aim of this study is to characterize the SASP of human endotheliocytes during replicative and induced aging. Isolated human umbilical vein endothelial cells HUVEC were used to model replicative and inflammation-induced aging. It has been established that the molecules that form SASP during replicative and inflammation-induced aging of HUVEC are molecules that control apoptosis (p16, p21, p53), adhesion (E-selectin, VCAM-1) and some cytokines (IL-1 $\beta$ , IL-6). With replicative aging of endotheliocytes, the synthesis of apoptosis' regulatory molecules increases to a greater extent. Inflammation-induced aging of HUVEC is characterized by a multiple increase in the synthesis of adhesion molecules and pro-inflammatory cytokines.

**Key words:** SASP, endothelium, inflammaging, apoptosis, cell adhesion, cytokines