



УДК 616.379-008.64-06:617.586-021.4-002-073.916-079.4
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2026-1-163-175>

Протеомные исследования при коронарном атеросклерозе

Стахнёва Е.М., Рагино Ю.И., Каштанова Е.В., Полонская Я.В.

Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Федерального исследовательского центра «Институт цитологии и генетики СО РАН» (НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН) Россия, 630089, г. Новосибирск, ул. Богаткова, 175/1

РЕЗЮМЕ

Протеомные исследования внесли существенный вклад в изучение патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний, создавая основу для разработки новых потенциальных биомаркеров оценки риска развития заболеваний и их осложнений.

Цель исследования: обобщить имеющиеся данные о протеомных исследованиях в области сердечно-сосудистых заболеваний атеросклеротического генеза и коронарного атеросклероза. Проведен анализ основных зарубежных и отечественных источников преимущественно за последние 15 лет по базам данных PubMed/Medline, РИНЦ/ELIBRARY.RU. Приоритет был отдан исследованиям по поиску новых протеомных биомаркеров коронарного атеросклероза, в том числе протеомных маркеров нестабильной атеросклеротической бляшки. Приведены данные собственных протеомных исследований потенциальных биомаркеров в области коронарного атеросклероза.

Ключевые слова: атеросклероз, протеомика, масс-спектрометрия, биомаркеры, макрофаги

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках бюджетной темы по государственному заданию № FWNR-2024-0004.

Для цитирования: Стахнёва Е.М., Рагино Ю.И., Каштанова Е.В., Полонская Я.В. Протеомные исследования при коронарном атеросклерозе. *Бюллетень сибирской медицины*. 2026;26(1):163–175. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2026-1-163-175>.

Proteomic studies in coronary atherosclerosis

Stakhneva E.M., Ragino Yu.I., Kashtanova E.V., Polonskaya Ya.V.

*Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences
175/1 Bogatkov St., 630089 Novosibirsk, Russian Federation*

ABSTRACT

Proteomic studies have made a significant contribution to the study of the pathogenesis of cardiovascular diseases, creating the basis for the development of new potential biomarkers for assessing the risk of developing diseases and their complications. We analyzed the main foreign and domestic publications over the past 15 years using the PubMed/Medline and RSCI/elibrary.ru databases and summarized the available data on proteomic studies in the field of atherosclerotic cardiovascular diseases and coronary atherosclerosis. In this literature review, priority was given to studies on the search for new proteomic biomarkers of coronary atherosclerosis, including proteomic

✉ Стахнёва Екатерина Михайловна, stakhneva@yandex.ru

markers of unstable atherosclerotic plaques. The data from our own proteomic studies on potential biomarkers of coronary atherosclerosis are presented.

Keywords: atherosclerosis, proteomics, mass spectrometry, biomarkers; macrophages

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was carried out within the budgetary topic of the state assignment No. FWNR-2024-0004.

For citation: Stakhneva E.M., Ragino Yu.I., Kashtanova E.V., Polonskaya Ya.V. Proteomic studies in coronary atherosclerosis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2026;26(1):163–175. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2026-1-163-175>.

ВВЕДЕНИЕ

В современном мире изучение раннего атеросклероза и вызываемых им осложнений является одним из наиболее актуальных направлений научных исследований сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). Протеомные исследования внесли существенный вклад в изучение патогенеза ССЗ, создавая основу для разработки новых потенциальных биомаркеров оценки риска развития заболеваний и их осложнений.

Атеросклероз – хроническое прогрессирующее воспалительное заболевание артерий крупного и среднего размера, для которого характерно образование атеросклеротических бляшек. Атеросклеротические поражения возникают в результате аномального удержания липидов в интиме стенки артерий, что приводит к выработке клетками сосудов цитокинов и медиаторов воспаления, привлекающих к месту поражения циркулирующие моноциты [1, 2]. Прогрессирующее накопление липидов, липопротеинов и воспалительных клеток приводит к образованию жировой полоски, которая впоследствии эволюционирует в обширное поражение и атерому [3].

Патология развивается медленно, и, как правило, симптомы атеросклероза не проявляются в течение нескольких лет. Однако продолжающийся рост бляшки сокращает просвет сосудов до той степени, когда начинается обструкция коронарного кровотока, что приводит к стабильной стенокардии. Сама по себе она редко вызывает смертельный исход, но в обструктивных и необструктивных атеросклеротических бляшках могут произойти эрозия или разрыв, что заканчивается такими клиническими осложнениями, как ишемия, инфаркт миокарда и смерть от сердечно-сосудистых событий [4].

Современные методы исследования повышают понимание процессов, ответственных за прогрессирование атеросклеротической бляшки. Благодаря

имеющимся в настоящее время протеомным методам, были выявлены новые потенциальные биомаркеры для прогнозирования рисков, развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [5–7].

ПРОТЕОМНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ БЛЯШЕК

Для изучения участия белков в патологическом процессе коронарного атеросклероза важно исследовать специфические отношения между белками в коронарных артериях, экспрессию и концентрацию белков. Протеомный профиль сосудистой стенки при коронарном атеросклерозе может помочь обнаружить возможные диагностически значимые белковые структуры или потенциальные биомаркеры заболевания и разработать новые подходы к диагностике коронарного атеросклероза и его осложнений.

В первом крупномасштабном протеомном исследовании белков коронарных артерий человека и коронарных атеросклеротических бляшек идентифицировало 806 дифференциально экспрессированных белков. Некоторые из них участвуют в развитии атеросклероза, тогда как другие могут быть вовлечены в прогрессирование заболевания. Все они были разделены на четыре группы: 1) белки внеклеточного матрикса; 2) липид-связывающие белки и белки, связанные с метаболизмом; 3) белки, связанные с воспалением; 4) фагоцитарные лиганды и рецепторы апоптотических клеток [8].

С точки зрения молекулярной биологии, заболевание ишемической болезнью сердца (ИБС) может быть определено как сообщество из тысяч белков, которые коллективно изменяют клеточные процессы и приводят к характерному ремоделированию локальной среды коронарной артерии. Для характеристики протеома коронарных артерий человека с помощью протеомных методов исследования были изучены образцы коронарных артерий в двух случаях аутопсии (мужчины 64 и 69 лет), разделенных

на 20 сегментов. Было обнаружено 174 дифференциально экспрессированных белка в патологической и нормальной интиме. Молекулярные функции этих белков в первую очередь включали: связывание (41,47%), каталитическую активность (33,24%), активность переносчика (9,41%) и структурную молекулярную активность (7,06%) [9].

Сывороточный амилоидный Р-компонент (SAP) является белком острой фазы и играет значительную роль в биологических процессах сердечно-сосудистой системы, таких как воспаление и фиброз. В геморрагических атеросклеротических бляшках сонных артерий по сравнению с фиброзными бляшками наблюдали повышенную экспрессию SAP [10]. Аннексин 5 обнаружен в сосудистой эндотелии и обладает противовоспалительным, антикоагулянтным и антиапоптотическим действием за счет связывания молекул фосфатидилсерина [7]. Было показано, что уровень аннексина 5 в крови значительно увеличивается после разрушения атеросклеротической бляшки [11]. В более позднем исследовании на стадии нестабильных атеросклеротических бляшек коронарных артерий отмечали повышенное содержание SAP и аннексина 5 [12].

С помощью масс-спектрометрического анализа исследовали артериальный протеом человека и особенности, ассоциированные с ранним атеросклерозом коронарных артерий и образцов аорты (секционный материал от 100 человек в возрасте 15–55 лет, 200 артериальных образцов). Обнаружены значительные различия в распространенности митохондриального белка, фактора некроза опухоли α , инсулинового рецептора, PPAR- α и - γ между коронарными и аортальными образцами, между атеросклеротическими и нормальными тканями. Было показано, что некоторые биомаркеры тканевых белков, указывающих на ранний атеросклероз, предсказывают анатомически определенный коронарный атеросклероз, тем самым подтверждая возможности использования протеомики человеческой ткани для клинико-диагностических целей. Авторы заключили, что человеческий артериальный протеом можно рассматривать как сложную сеть, архитектурные особенности которой значительно различаются в зависимости от анатомического положения и наличия или отсутствия атеросклероза [13].

Циклин-зависимые киназы (CDK) являются сериновыми или треониновыми киназами и фосфорилируют соответствующие аминокислотные остатки в белках. Известно 11 циклин-зависимых киназ, каждая из которых активируется одним или более циклинами и другими подобными молекулами после достижения их критической концентрации. CDK9 активируется циклинами T1, T2a, T2b и K. При умень-

шении внутриклеточной концентрации циклина происходит обратимая инактивация CDK. В исследовании у пациентов с коронарным атеросклерозом были обнаружены высокие концентрации фермента CDK9 по сравнению с контрольной группой. Кроме того, высокие значения фермента коррелировали с высоким содержанием антигеноподобного кластера дифференцировки 14 и моноцитов (макрофагов) в атеросклеротическом очаге. Авторы предполагают, что CDK9 может быть потенциальным биомаркером атеросклеротического воспаления [14].

В протеомном исследовании по изучению гомогенатов атеросклеротических бляшек, полученных во время операции эндартерэктомии у пациентов с атеросклерозом сонных артерий, авторы выявили группу из 33 белков, дифференциально экспрессирующих между стабильными и нестабильными бляшками. В нестабильных бляшках обнаружено устойчивое увеличение белков ферритина, супероксиддисмутазы (СОД) 2, фибриногена (фрагмент D) и снижение уровня глутатионтрансферазы и СОД3. Данные масс-спектрометрии были подтверждены анализом вестерн-блот. Функциональная важность разных изоформ СОД пока не ясна. Повышенный уровень фибриногена (фрагмент D), возможно, способствует нестабильности атеросклеротических бляшек. Кроме того, были получены положительные корреляции между уровнем ферритина в крови и гомогенатах атеросклеротических бляшек, что позволило авторам рассматривать ферритин как потенциальный маркер прогрессирования атеросклероза [15].

Похожие результаты были получены другой группой ученых. При сравнении протеомных профилей гомогенатов стабильных и нестабильных атеросклеротических бляшек одного и того же человека обнаружили, что в нестабильной бляшке высокая концентрация ферритина и фибриногена, а в стабильной атеросклеротической бляшке преобладают ароЕ, актин и L-лактатдегидрогеназа В. Выявленные белки, по мнению авторов, возможно, являются потенциальными маркерами осложнений атеросклеротических поражений [16].

При анализе атеросклеротических бляшек и плазмы крови пациентов с атеросклерозом ($n = 34$), перенесших каротидную эндартерэктомию ($n = 14$), по сравнению с белковым профилем здоровых добровольцев, изучили 463 белка. Получены устойчиво высокие уровни тромбоспондина-1, белка, регулирующего взаимодействия клеток между собой и с внеклеточным матриксом, и витамина D-связывающего белка. Данные были получены с помощью жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии и подтверждены вестерн-блот анализом [17].

В исследовании комплексом протеомных методов было обнаружено 118 белков дифференциально экспрессированных в фиброзных и геморрагических бляшках. Это позволило авторам идентифицировать три биологических процесса, связанных с атеросклерозом (дегрануляция тромбоцитов, аутофагия сосудов и отрицательная регуляция фибринолиза). Данные протеомных исследований позволили идентифицировать новые биомаркеры (кальпонин-1, DJ-1, фактор роста эндотелия сосудов и усилитель протеиназы проколлагена С) уязвимости бляшек [10].

При исследовании биомаркеров рака обнаружили, что гладкомышечные клетки сосудов имеют различную и необычную морфологию в атеросклеротической бляшке, которая коррелирует с пролиферативным состоянием клеток. Протеомный анализ выявляет белки, связанные с формированием атеросклероза, включая мимекан (остеоглицин), протеин-супрессор Ras-1 (RSUP-1) и катепсин D, которые одновременно идентифицированы как биомаркеры раковых опухолей. При этом экспрессия мимекана и RSUP-1 подавляется в атеросклеротической бляшке, тогда как экспрессия катепсина D повышается [17]. Более ранние исследования также идентифицировали снижение экспрессии остеоглицина в геморрагических атеросклеротических бляшках, что, по мнению авторов, может приводить к нестабильности бляшки [10]. Тем не менее существуют исследования с противоположной точкой зрения. Показано, что концентрация остеоглицина в крови пациентов с ИБС увеличивается. Однако у пациентов со сложными коронарными поражениями его уровень был снижен, было высказано предположение, что остеоглицин играет роль в стабилизации коронарных бляшек [18]. В исследовании, изучавшем прогностическую ценность некоторых белков-биомаркеров у пациентов с ИБС, циркулирующий остеоглицин (мимекан), экспрессия которого повышена в уязвимых атеросклеротических бляшках, был назван многообещающим биомаркером неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [19]. Исследование, выполненное с помощью протеомных методов, подтвердило высокое содержание мимекана в образцах стабильных фиброзных и нестабильных некротически-дистрофического типа атеросклеротических бляшек у пациентов с коронарным атеросклерозом [12].

Эндотелиальные клетки образуют метаболически активный барьер между сосудистым просветом и сосудистой стенкой. Окислительный стресс и модификации тубулина, компонента микротрубочек эндотелиальных клеток, дестабилизируют целостность сосудов и увеличивают проницаемость, что приводит к увеличению сердечно-сосудистого риска [20].

У кроликов с гиперлипидемией и атеросклеротическими изменениями повышена регуляция белков тропомиозина, актина и кератина в тканях сонной артерии и средней мозговой артерии [21]. Мутации в гене тропомиозина 1 могут вызывать наследственные кардиомиопатии, гипертрофию левого желудочка или нарушения диастолической функции при отсутствии гипертензии и стеноза аорты [22].

У пациентов с коронарным атеросклерозом в протеомном профиле стабильных атеросклеротических бляшек коронарных артерий показано значительное повышение содержания белков: актина, тропомиозина, виментина, кератина, тубулина и микрофибрилл ассоциированного гликопротеина 4 (MAGP-4) [12].

Человеческий сывороточный альбумин (HSA) является основным белком плазмы крови человека. Продемонстрировано, что низкая концентрация HSA в крови является прогностическим фактором атеросклероза в кровеносных сосудах независимо от традиционных факторов риска у пациентов с ВИЧ-инфекцией. Кроме того, отмечено, что HSA ассоциирован с маркерами системного воспаления и гиперкоагуляции (интерлейкин (ИЛ) 6, фактор некроза опухоли α (ФНО- α), С-реактивный белок, фибриноген и D-димер). Патологическим механизмом, лежащим в основе этой ассоциации, является способность HSA связывать многие лиганды, в том числе проатерогенные, тем самым предотвращая их вклад в окислительный стресс [23]. Нестабильная атеросклеротическая бляшка характеризуется избыточной экспрессией различных проатерогенных факторов и лигандов, что, возможно, приводит к переносу HSA из плазмы крови в атеросклеротические очаги. Протеомное исследование нестабильной атеросклеротической бляшки коронарных артерий некротически-дистрофического типа подтвердило повышенное содержание HSA и фибриногена [12].

ПРОТЕОМИКА МАКРОФАГОВ ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ

Важнейшими компонентами атеросклеротической бляшки являются иммунные клетки, в первую очередь макрофаги [24]. Макрофаги бляшки образуются в основном за счет дифференцировки циркулирующих моноцитов, рекрутируемых из кровотока. Эти моноциты в ходе процесса трансмиграции, в котором участвуют молекулы адгезии и хемотаксические факторы, инфильтрируют артериальную стенку. Кроме того, недавно было показано, что резидентная популяция макрофагов может поддерживаться также за счет местной пролиферации. Макрофаги задействованы во всех стадиях атеросклеротического поражения, от начала до прогрессирования и разрыва.

Кроме того, макрофаги вносят свой вклад в воспаление, аккумуляцию липидов, формирование некротического ядра и деградиацию фиброзного утолщения, ведущую к разрыву бляшки. Однако макрофаги представляют собой гетерогенную и пластичную популяцию. Недавно было показано, что они также могут участвовать в стабилизации атеросклеротических бляшек и даже способствовать их регрессии [24].

ФЕНОТИПЫ МАКРОФАГОВ

В ответ на стимулы со стороны микроокружения, такие как факторы роста, цитокины и хемокины, макрофаги дифференцируются в различные фенотипы. Ранее макрофаги подразделяли на классические (M1) и альтернативные (M2), имеющие провоспалительные характеристики. В частности, цитокины, к которым относятся ФНО- α , интерферон-гамма (ИФН- γ) и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), или бактериальные продукты, такие как липополисахариды (ЛПС), направляют макрофаги в сторону классического фенотипа, тогда как альтернативные макрофаги индуцируются такими цитокинами, как ИЛ-4 и ИЛ-13 либо макрофагальный колониестимулирующий фактор (M-КСФ).

Макрофаги M1 вырабатывают высокие уровни провоспалительных цитокинов, в том числе ИЛ-12, ИЛ-23, ИЛ-6, ИЛ-1 β , ИЛ-8 и ФНО- α , и низкие уровни противовоспалительного цитокина ИЛ-10. Кроме того, они демонстрируют повышенную микробицидную активность и выделяют в большом количестве активные формы кислорода и азотсодержащие радикалы.

В отличие от провоспалительных макрофагов M1, фенотипу макрофагов M2 присущи высокие уровни трансформирующего фактора роста β (TGF β) и низкие уровни ИЛ-12 и ИЛ-23. Макрофаги M2 в большом количестве экспрессируют рецептор маннозы (CD206) и способствуют заживлению раны благодаря процессу эффероцитоза, ремоделированию матрикса и рекрутингу фибробластов [25, 26].

Подразделение макрофагов на M1 и M2 основано на наблюдениях *in vitro* и отражает крайние проявления внутри широкого ряда различных макрофагальных фенотипов. В настоящее время эта классификация представляется слишком упрощенным взглядом на сложную гетерогенность фенотипов макрофагов, особенно в атеросклеротической бляшке, где разноплановое микроокружение участвует в трансформации макрофагов в сторону либо фенотипа M1, либо фенотипа M2. Прежде всего, выделяют четыре подтипа в фенотипе M2. Макрофаги M2a индуцируются ИЛ-4 или ИЛ-13. Они стимулируют клеточный рост и репарацию тканей, и для них характерна высокая

эндоцитозная активность и повышенная экспрессия лигандов хемокинов CC – CCL17, CCL18 и CCL22. Макрофаги M2b индуцируются иммунными комплексами, ИЛ-1 β и толл-подобными рецепторами, а также модулируют иммунные и воспалительные реакции. В сравнении с другими макрофагами M2 они демонстрируют способность вырабатывать как противовоспалительные, так и провоспалительные цитокины, такие как ИЛ-10, ИЛ-6, ИЛ-1 β и ФНО- α [27].

Фенотип M2c или инактивированные макрофаги индуцируются TGF β , ИЛ-10 и глюкокортикоидами. Они в большом количестве секретируют CCL16 и CCL18 и показывают высокую способность к эффероцитозу [28]. Наконец, макрофаги M2d, полученные после стимуляции агонистами толл-подобного рецептора и аденозинового рецептора A2A, в высоких концентрациях вырабатывают фактор роста эндотелия сосудов и в низких концентрациях – ИЛ-12 и ФНО- α . Кроме того, в отличие от других фенотипов M2, эта подгруппа не показывает высокий уровень рецептора CD206 [29].

В геморрагических областях атеросклеротической бляшки человека идентифицированы различные субпопуляции макрофагов, связаны с присутствием гемоглобина и эритроцитов. Макрофаги M(Hb) экспрессируют высокий уровень CD206 и CD163, рецептора-скевенджера для комплекса гемоглобина (гаптоглобина), который необходим для эффективного клиренса гемоглобина после внутрибляшечного кровоизлияния [30]. После переваривания эритроцитов высвободившаяся гемовая группа может стимулировать поляризацию макрофагов в фенотип Mhem с последующей активацией фактора транскрипции 1. Эта активация приводит к экспрессии гем-оксигеназы-1 (HO-1), печеночного X-рецептора (LXR)- α и АТФ-связывающего кассетного транспортера ABCA1, который демонстрирует атеропротективное действие и предотвращает образование пенных клеток [31, 32].

РОЛЬ ФЕНОТИПОВ МАКРОФАГОВ В АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОЙ БЛЯШКЕ

Развитие атеросклеротической бляшки, а также ее активность связаны с возрастанием общего количества резидентных макрофагов в бляшке. В частности, число макрофагов M1 и M2 увеличивается с ростом бляшки, и общее количество макрофагов в нестабильной бляшке больше, чем в стабильной [33, 34]. Поскольку каждый макрофагальный фенотип проявляет различные свойства и демонстрирует различные функции, преобладание определенного фенотипа может оказывать сильное влияние на развитие, стабилизацию или регрессию бляшки. Показано, что

макрофаги, локализованные в плече бляшки (месте, склонном к разрыву), в основном проявляют провоспалительный фенотип и экспрессируют маркеры M1, тогда как макрофаги, расположенные в фиброзной покрышке, экспрессируют как маркеры M1, так и маркеры M2 [33]. Таким образом, если макрофаги M1, находящиеся в фиброзной покрышке, участвуют в дестабилизации бляшки путем выработки ММП, то макрофаги M2 могут частично купировать такое дестабилизирующее действие, выделяя профибротические факторы, такие как фибронектин, инсулиноподобный фактор роста и TGF β , что способствует стабилизации бляшки [35]. Поэтому в стабильных бляшках наблюдается преобладание макрофагов M2. Напротив, макрофаги M1 преобладают в склонных к разрыву бляшках [34–36].

Атеросклеротические бляшки из сонной артерии человека были проанализированы с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени и вестерн-блоттинга. При анализе клеточного содержимого и распределения макрофагов M1 и M2 было показано, что в стабильных бляшках экспрессия CD68 была ниже в 3 раза, экспрессия ABCA1 – в 2,7 раза, а экспрессия CD206 (маркера M2) была выше в 2 раза по сравнению с нестабильными бляшками. Кроме того, показано, что макрофаги M2 в стабильных бляшках встречаются в сравнительно большом количестве ($42 \pm 5\%$ от общей популяции макрофагов), а в нестабильных бляшках – только $23 \pm 3\%$ [37]. Основываясь на этом, возможно выдвинуть гипотезу, что баланс между макрофагами M1 и M2, а также их распределение в бляшке может сильно влиять на судьбу атеросклеротического поражения.

Всестороннее изучение различных фенотипов макрофагов и их распространенности в бляшке могут оказаться важными для предсказания клинического исхода и профилактики смертельных событий при ССЗ. Поскольку главными действующими факторами большинства биологических процессов являются белки, протеомный профиль может стать эффективным инструментом для идентификации сложных молекулярных путей в многофакторных заболеваниях, включая атеросклероз.

ПРОТЕОМНЫЙ АНАЛИЗ МАКРОФАГОВ В АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОЙ БЛЯШКЕ

Атеросклеротическая бляшка представляет собой сложную структуру, состоящую из нескольких типов клеток с различными фенотипами. Характер изменений в бляшке сильно зависит от межклеточных взаимодействий. Благодаря протеомному анализу бляшки, можно получить широкий спектр белков, принимающих участие в развитии атеросклероза.

Присутствие в атеросклеротической бляшке в высоком количестве белков, вырабатываемых макрофагами, также подтверждает важную роль этих клеток.

Анализ 35 атеросклеротических бляшек из коронарных артерий человека с помощью прямой протеомики тканей с использованием жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (ЖХ-МС/ТМС) позволил идентифицировать в общей сложности 806 белков, что дало первую полномасштабную протеомную карту коронарных атеросклеротических бляшек человека. Показано, что среди этих белков в резидентных макрофагах во внутренней оболочке стенки сосудов, которые демонстрируют фенотип пенистых клеток, экспрессируется аннексин I [8]. Кроме того, в этом исследовании авторы показали, что метод прямой протеомики тканей сравним с лазерной захватывающей микродессекцией, и с помощью этого метода возможно определить абсолютное количество специфичных цитокинов и факторов роста в коронарных артериях, встречающихся в низкой концентрации.

Проведено исследование с помощью ЖХ-МС/ТМС на экстрактах стабильных участков и участков после разрыва из только что выделенных бляшек из сонной артерии человека. В ходе анализа было идентифицировано несколько белков и биологические пути, ассоциированные с разрывом бляшки, такие как потеря бляшкой белков базальной мембраны, внеклеточный протеолиз, воспаление и снижение матричной адгезии клеток, которые были подтверждены в экстрактах бляшек с разрывом из сонной артерии человека [38].

Макрофаги играют важнейшую роль в возникновении и прогрессировании развития атеросклеротической бляшки. Они представляют собой сложную гетерогенную популяцию из нескольких фенотипов, для которых характерны различные и зачастую противоположные функции. Возможность определить общий профиль каждого фенотипа – привлекательная цель для разработки терапевтических стратегий, направленных на остановку прогрессирования заболевания и стимулирование регрессии. Протеомика дает эффективный инструмент, включающий различные высокопроизводительные и постоянно развивающиеся методы, которые могут помочь понять многообразие присутствующих в атеросклеротической бляшке клеток и их поведение. Протеом представляет собой богатый источник потенциальных биомаркеров, которые могут оказаться полезными для характеристики прогрессирования атеросклероза и определения диагностических и терапевтических мишеней, направленных на стабилизацию и (или) регрессию бляшки [39].

МЕТОД MALDI И ПРОТЕОМНЫЙ ПРОФИЛЬ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРИ КОРОНАРНОМ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ

В нашем исследовании протеомного профиля сыворотки крови при коронарном атеросклерозе мы использовали традиционный метод матрично-активированной лазерной десорбции (ионизации) (MALDI) по базе данных NCBI с разделением белков методом 2Д электрофореза. Исследовали образцы сыворотки крови от пациентов с ИБС и коронарным атеросклерозом и группы «без ИБС». Исследование белков проводили на пулах (смеси) сывороток крови. Были выделены группы белковых фракций, содержание белка в которых изменяется более чем в 1,5 раза между опытом и контролем ($p < 0,05$). Большинство белков, уровень которых изменяется в образцах сывороток пациентов с коронарным атеросклерозом, можно отнести к белкам острой фазы воспаления и транспортным белкам: церулоплазмин, транстиретин, ретинол-связывающий белок 4, гемопексин и белки – компоненты системы комплемента С3, С4 и

С9. Также в крови больных снижался уровень кининогена и транскрипционных регуляторов – изоформы белка с цинковыми пальцами (zinc finger protein 133) и В-cell CLL/lymphoma 6 member В protein. Выявлено повышение уровня в пуле сывороток крови пациентов с коронарным атеросклерозом следующих белков: гемопексин, транстиретин, ретинол-связывающий белок 4, белки системы комплемента С4, С9 и С3 (цепь В) (табл. 1) [40].

Известно, что при атеросклерозе и ССЗ происходит активация системы комплемента [41]. В нашем исследовании выявлено повышение содержания компонентов комплемента С3 (цепь В), С4, С9, и снижение уровня компонента комплемента С3 (цепь С) в пуле сывороток пациентов с коронарным атеросклерозом. Сопоставление положений данных белков на геле с их теоретическим молекулярным весом свидетельствует о том, что, по-видимому, нами обнаружены некоторые изоформы С3 (цепь С). На сегодняшний день нет данных о связи между концентрациями в сыворотке различных изоформ цепей компонента С3 и атеросклерозом.

Таблица 1

Масс-спектрометрическая идентификация белков сыворотки крови [40]							
№ пята	Id NCBI	Название белка	Масса, кДа	pI	sc, %	score	Δ
1.1	gi 386789	Гемопексин	51 512	6,57	40	70	+1,7
1.2	gi 386789	Гемопексин	51 512	6,57	26	72	+2
1.3	gi 386789	Гемопексин	51 512	6,57	26	74	+1,6
1.4	gi 386789	Гемопексин	51 512	6,57	28	78	+5,7
2.1	gi 180249	Церулоплазмин	97 637	5,29	29	97	-1,6
2.2	gi 47125416	Церулоплазмин	24 668	8,52	57	113	-3,8
2.3	gi 47125416	Церулоплазмин	24 668	8,52	52	69	-2,0
3.1	gi 545478558	Белок с цинковыми пальцами 133 изоформа f	70 201	9,43	33	70	-11
3.2	gi 545478558	Белок с цинковыми пальцами 133 изоформа f	70 201	9,43	31	68	-10
4	gi 62898910	Кининоген I	47 823	6,29	36	74	-1,8
5.1	gi 78101271	Комплемент компонент С3с, цепь С	39 463	4,79	58	102	-3,5
5.2	gi 78101271	Комплемент компонент С3с, цепь С	39 463	4,79	43	79	-2,4
6	gi 2258128	Комплемент компонент 9	61 728	5,42	26	91	+2
7	gi 78101270	Комплемент компонент С3с, цепь В	21 482	5,84	45	114	+2,9
8	gi 401871713	Комплемент компонент С4 chain С	33 052	6,37	45	70	+1,4
9.1	gi 212374952	Транстиретин, вариант V20s, цепь А	13 741	5,35	89	176	+4,6
9.2	gi 377656323	Транстиретин, цепь А	12 869	5,33	81	82	-2,7
9.3	gi 377656323	Транстиретин, цепь А	12 869	5,33	81	83	+3,6
9.4	gi 2098255	Транстиретин, цепь А	13 829	5,35	59	67	+3,7
10	gi 305677614	Ретинол-связывающий белок 4, цепь А	20 018	5,24	77	105	+9

Примечание. Δ – изменение концентрации белков в сыворотке пациентов с коронарным атеросклерозом относительно контроля, sc – покрытие сиквенса.

Транстиретин и ретинол-связывающий белок являются функционально взаимодействующих между собой белками, образующими транспортный комплекс витамина А. В нашем исследовании было обнаружено три изоформы транстиретина (9.1, 9.3 и 9.4), концентрация которых повышалась в сыворот-

ках больных, и одна изоформа (9.2) с пониженной концентрацией (см. табл. 1). Сумма интенсивностей окрашивания всех обнаруженных изоформ показала, что общая концентрация транстиретина повышается в сыворотках больных людей. Изоформы 9.2 и 9.4 имеют одинаковую изоэлектрическую точку

и, возможно, 9.4 является мономером, а 9.2 – мультимерной формой. Таким образом, в сыворотках пациентов с атеросклерозом преобладает мономерная форма транстиретина. Транстиретин синтезируется в печени, в плазме находится в виде гомотетрамера весом 55 кДа, состоящего из субъединиц весом 13,8 кДа, обеспечивает транспорт тироксина и ретинола. Неправильная сборка тетрамера, в том числе вследствие точечных мутаций, может приводить к образованию амилоидных фибрилл, что часто происходит в пораженных артериях [42]. Концентрация тримерной формы транстиретина отрицательно взаимосвязана с риском развития ССЗ [43].

В плазме транстиретин связывается с ретинол-связывающим белком, образуя комплекс, функционирующий как система транспорта витамина А. Концентрация ретинол-связывающего белка 4 ассоциирована с сердечно-сосудистыми факторами риска, связанными с инсулинорезистентностью и ИБС, поэтому этот белок может быть маркером метаболических осложнений, атеросклероза и использован для оценки ИБС [44]. Кроме того, известно, что у пациентов с коронарным атеросклерозом повышенный уровень ретинол-связывающего белка 4 коррелирует с тяжестью течения заболевания [45].

Гемопексин, гликопротеин острой фазы, связывающий гемоглобин и свободный гем, защищает организм от возможных окислительных повреждений. Известно, что железо накапливается в атеросклеротических бляшках и пораженных участках артерий, и в каталитически активной форме способно вызывать проатерогенные события, такие как производство активных форм кислорода и перекисное окисление липидов [46]. Поэтому гем-связывающий гемопексин некоторые исследователи рассматривают как защитный белок в этом процессе, хотя до конца его роль в атеросклерозе не выяснена [47]. Нами выявлено повышение концентрации четырех изоформ гемопексина в сыворотках пациентов с коронарным атеросклерозом [40].

Церулоплазмин – специфический медьсодержащий гликопротеин плазмы, относится к белкам острой фазы. Церулоплазмин обладает про- и противовоспалительными свойствами, поэтому его роль в атеросклерозе противоречива. Есть данные о том, что сниженный уровень церулоплазмينا может быть неблагоприятным прогностическим признаком у больных ишемической болезнью сердца при сочетании с высокими концентрациями С-реактивного белка, известного маркера острой фазы [48]. Однако существуют исследования, ассоциирующие высокий уровень церулоплазмينا с сердечной недостаточностью [49]. Анализ белков, снижающихся в пуле

сывороток крови больных с коронарным атеросклерозом, показал снижение уровня одной изоформы и двух фрагментов церулоплазмينا [50].

МЕТОД MRM ПРИ ИССЛЕДОВАНИЯХ ВЗАИМОСВЯЗЕЙ КОНЦЕНТРАЦИЙ БЕЛКОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ С НЕСТАБИЛЬНОЙ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОЙ БЛЯШКОЙ ПРИ КОРОНАРНОМ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ

Метод MALDI с идентификацией белков по их пептидным картам стал настоящим стандартом в протеомных исследованиях. Но дальнейшее усовершенствование методов и приборов позволило анализировать сложные смеси и достичь более высокой точности. Современный количественный протеомный анализ, используемый для идентификации и определения биологических молекул на основе масс-спектрометрии, является методом с точным количественным одновременным определением большого количества белков в различных биологических образцах. Мониторинг множественных реакций (MRM) с пептидами внутреннего стандарта, меченными стабильными изотопами, является наиболее широко используемым методом абсолютного количественного анализа белков-мишеней в области протеомики [51].

Мы исследовали образцы сыворотки крови 40 мужчин. В 1-ю группу (St) включили пациентов, у которых, по данным гистологического анализа, в образцах атеросклеротических бляшек (АБ) были только стабильные формы; во 2-ю группу (Ns) – пациенты, у которых присутствовали только нестабильные [52]. Концентрации белков в образцах сыворотки крови измеряли с помощью набора PeptiQuant Plus Proteomics Kit (Cambridge Isotope Laboratories, США), идентификацию белков осуществляли методом MRM на тройном квадруполь-времяпролетном масс-спектрометре сверхвысокого разрешения с ионизацией электроспреем, комбинированным с высокоэффективным жидкостным хроматографом. В результате сравнительного анализа были выделены белки, концентрация которых статистически значимо различалась в исследуемых группах ($p < 0,05$) (табл. 2).

В образцах сыворотки крови у пациентов с нестабильными АБ выявили повышенные концентрации белков аттрактина, фактора комплемента Н, фибриногена и фибулина-1, а также сниженное содержание белков, участвующих в развитии воспалительного процесса и реализации иммунного ответа организма, таких как церулоплазмин, гемопексин, гаптоглобин, афамин, компоненты комплемента (С3, С7, С9), и фактора комплемента В.

Таблица 2

Количественная масс-спектрометрическая идентификация белков в крови, $M \pm SD$ [52]				
№	Название белка	Концентрация белка, fmol/ μ l		<i>p</i>
		1-я группа (St)	2-я группа (Ns)	
1	Сывороточный альбумин	374440,00 \pm 61793,83	354465,00 \pm 58076,57	0,140
2	Церулоплазмин	1891,77 \pm 511,66	1646,48 \pm 418,60	0,021
3	α -1-кислый гликопротеин	18027,10 \pm 7298,18	13287,65 \pm 4678,42	0,001
4	α -1-антихимотрипсин	6224,75 \pm 3299,37	4545,25 \pm 2367,32	0,011
5	α -1-антитрипсин	27696,0 \pm 7929,29	23672,0 \pm 9887,34	0,048
6	Гемоглобин (subunit α)	4785,9 \pm 2342,02	4204,15 \pm 2608,95	0,297
7	Гаптоглобин	589,55 \pm 261,55	479,60 \pm 194,18	0,036
8	Гемопексин	1973,6 \pm 247,48	1756,55 \pm 310,65	0,001
9	Серотрансферрин	19999,50 \pm 3002,74	18329,50 \pm 3243,45	0,019
10	Ретинол-связывающий белок 4	1237,08 \pm 287,36	1372,42 \pm 413,33	0,093
11	Трансиретин	510,13 \pm 179,43	640,23 \pm 456,87	0,098
12	Афамин	330,12 \pm 117,85	264,59 \pm 73,53	0,004
13	Аполипопротеин А-I	21096,25 \pm 6127,08	21626,0 \pm 3662,74	0,640
14	Аполипопротеин В-100	276,24 \pm 79,53	211,04 \pm 68,84	0,0001
15	Аполипопротеин С-I	5019,2 \pm 1251,40	5069,6 \pm 1353,80	0,863
16	Аполипопротеин L1	590,28 \pm 158,45	501,25 \pm 200,51	0,031
17	Компонент комплемента C1q (subunit B)	75,86 \pm 31,96	67,07 \pm 17,17	0,129
18	Компонент комплемента C1q (subunit C)	117,84 \pm 36,25	120,22 \pm 35,42	0,768
19	Компонент комплемента C1r	230,49 \pm 51,37	210,20 \pm 70,84	0,147
20	Компонент комплемента C1s	47,18 \pm 10,83	48,99 \pm 22,84	0,652
21	Компонент комплемента C3	590,51 \pm 137,97	516,46 \pm 139,39	0,019
22	Компонент комплемента C7	73,23 \pm 19,38	61,94 \pm 11,18	0,002
23	Компонент комплемента C9	167,05 \pm 66,10	138,93 \pm 56,85	0,045
24	Фактор комплемента B	4951,7 \pm 1358,16	4215,7 \pm 1135,39	0,010
25	Фактор комплемента H	530,54 \pm 79,29	577,37 \pm 84,59	0,014
26	Аттрактин	48,43 \pm 9,97	55,17 \pm 17,14	0,035
27	Фибриноген, α -chain	143,55 \pm 4,79	261,0 \pm 21,88	0,001
28	Фибриноген, γ -chain	55,3 \pm 32,9	113,04 \pm 72,14	0,001
29	Фибулин-1	660,54 \pm 98,04	713,33 \pm 131,49	0,045

При одновременном сниженном уровне белков, участвующих в каскаде коагуляции, процессе фибринолиза и белков, связанных с ними функционально (α -2-антиплазмин, α -2-макроглобулин, кофактор гепарина 2, коагуляционный фактор XII, протромбин, плазминоген, PAI-1, витронектин). Многофакторный логистический регрессионный анализ подтвердил связь нестабильности с концентрацией аттрактин (отношение шансов (ОШ) = 1,045; p = 0,027), афамин (ОШ = 0,988; p = 0,001), гемопексин (ОШ = 0,997; p = 0,020), гаптоглобин (ОШ = 0,967; p = 0,001) и компонентов системы комплемента. Кроме того, многофакторный логистический регрессионный анализ показал связь нестабильности с повышенной концентрацией фибулина-1 (ОШ = 1,008; p = 0,05) у пациентов с нестабильными АБ.

ПРОТЕОМНЫЙ ПРОФИЛЬ ТКАНИ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ БЛЯШЕК НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ РАЗВИТИЯ ПРИ КОРОНАРНОМ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ

Чтобы изучить участие белков в патологическом процессе коронарного атеросклероза, важно исследовать специфические отношения между белками

различных стадий развития атеросклеротических поражений в коронарных артериях. В дополнение к изменениям в известных липидных и воспалительных молекулах некоторые белки могут влиять на развитие атеросклеротических поражений в нестабильные бляшки. Временной анализ протеомного профиля сосудистой стенки при коронарном атеросклерозе может помочь обнаружить возможные диагностически значимые белковые структуры или потенциальные биомаркеры заболевания и разработать новые подходы к диагностике коронарного атеросклероза и его осложнений.

Мы исследовали образцы ткани атеросклеротических бляшек, содержащие комплексы «интима – медиа» коронарных артерий. Все образцы были получены от пациентов, поступивших на операцию коронарного шунтирования, которым в ходе операции по интраоперационным показаниям была проведена эндартерэктомия из коронарных артерий. Для исследования были взяты образцы от пациентов (мужчин) со сходными клиническими характеристиками. По результатам морфологического и гистологического анализа все образцы были классифицированы как стабильные или нестабильные АБ. Для протеомного анализа были подготовлены пулы гомогенатов ате-

росклеротических бляшек на разных стадиях развития: 1) пул гомогенатов стабильных атеросклеротических бляшек на стадии липидоза и фиброза (StL); 2) пул гомогенатов стабильных атеросклеротических бляшек в стадия фиброза и кальцификации (StF); 3) пул гомогенатов нестабильных атеросклеротических бляшек некротически-дистрофического типа (Ns). Кроме того, были определены протеомные профили каждой атеросклеротической бляшки.

Белки были идентифицированы методом масс-спектрометрии MALDI по картам триптической массы с помощью алгоритма поиска Mascot. Для поиска различий применяли количественный критерий разницы как минимум в 1,5 раза между средними значениями интенсивности окрашивания белковых пятен (в относительных единицах интенсивности, отн. ед. инт.) в группах, соответствующих трем стадиям (табл. 3).

Таблица 3.

Сравнение количества белка для пулов и индивидуальных гелей в гомогенатах атеросклеротических бляшек, отн. ед. инт., ×10 ⁵ [53]				
№	Название белка	MIX / INDIVID		
		StL, n = 5	StF, n = 5	Ns, n = 5
1–3	Сывороточный альбумин	4,3 / 5,2	12,3 / 7,7	46,3 / 22,6
4–6	Виментин	101 / 12,9	2,4 / 5	4,1 / 13,2
7	Тубулин (β chain)	2,5 / 7,6	1,4 / 3,1	1,1 / 4,3
8–10	Актин (α cardiac muscle 1) Актин (aortic smooth muscle)	84 / 98,3*	29,2 / 43,5	33,4 / 32,1
11	Актин (cytoplasmic)	91,3 / 92,6	18,4 / 53,1	37,7 / 33,4
12–14	Фибриноген (β chain)	1,3 / –	3,2 / 19,2	2,9 / 331,2
15	Тропомиозин (β chain)	40,3 / 37,9	2 / 17,0	2 / 12,9
16	Тропомиозин (α1 chain)	– / 7,8	– / 2,7	– / 4
17–19	Микрофибрилл-ассоциированный гликопротеин 4	22,4 / 39,4	4,5 / 54,9	3,2 / 26,7
20	Мимекан	26,5 / 44,0	126,5 / 63,7	55,4 / 49,3
21	Аннексин А5	2,8 / 8	0,7 / 16,1	2,2 / 8,4
22	Кератин (type I cytoskeletal 9)	6,4 / 23,8*	– / 7,5	1,7 / 2
23–24	Сывороточный амилоид (P-component)	25,3 / 40	5,9 / 48,8	22,2 / 61
25	Пероксиредоксин-2	– / 1	– / 4,7	– / 2,5

Примечание. MIX – средние данные для пулов гомогенатов бляшек; INDIVID – средние данные для индивидуальных гелей гомогенатов бляшек. *статистически достоверные различия, *p* < 0,05.

Сравнение индивидуальных гелей атеросклеротических бляшек показало существование значительных индивидуальных различий в интенсивности конкретных пятен между образцами бляшек внутри одной стадии. По мере развития бляшки от стабильной на стадии липидоза и фиброза до нестабильной, эти различия возрастают. Этот факт не позволил обнаружить статистически достоверные различия между группами образцов разных стадий в большинстве случаев. Изоформы одного и того же белка, различающиеся только по точке pI, были сгруппированы вместе. Сводные данные по сравнению количества белка (относительные единицы интенсивности) в соответствующих пятнах в группах StL, StF, Ns показаны в табл. 3. На стадии липидоза и фиброза стабильных атеросклеротических бляшек повышено содержание белков цитоскелета: актинов, тубулина, тропомиозина, кератина и виментина. На стадии фиброза и кальциноза стабильных атеросклеротических бляшек обнаружено значи-

тельное повышение уровня белков, ответственных за регуляцию миграции, пролиферации клеток и участвующих в окислительно-восстановительном гомеостазе клеток: микрофибрилл-ассоциированного гликопротеина-4, мимекана, аннексина А5 и пероксиредоксина-2. Нестабильные атеросклеротические бляшки (некротически-дистрофический тип) характеризуются высоким содержанием сывороточного альбумина, фибриногена, сывороточного амилоида (P-компонент) и максимумом содержания виментина [53].

Результаты этих исследований представляют собой потенциальную протеомную платформу для дальнейшего изучения нестабильности бляшек при коронарном атеросклерозе. Определение потенциальной роли исследованных белков в развитии коронарного атеросклероза, а также их прогностической ценности в качестве биомаркеров нестабильности атеросклеротических бляшек должно стать предметом дальнейших исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Попытки прояснить молекулярные механизмы, лежащие в основе сердечно-сосудистых заболеваний, предпринимались неоднократно, тем не менее эти заболевания по-прежнему остаются одной из основных причин смерти во всем мире. Атеросклероз является морфологической основой ИБС и ее осложнений. Протеомика сердечно-сосудистой системы – новая область, в которой за последние несколько лет был достигнут значительный прогресс в определении новых биомаркеров-кандидатов диагностики и получении информации о молекулярной патофизиологии сердечно-сосудистых заболеваний. Протеом плазмы крови человека отражает физиологическое состояние сердечно-сосудистой системы, в течение десятилетий используется для исследования биомаркеров плазмы в стандартном анализе, предназначенном для диагностики и мониторинга сердечно-сосудистых заболеваний.

Диагностика пациентов с атеросклеротическими бляшками высокого риска до проявления клинических проявлений остается сложной задачей и требует улучшения подхода к прогнозированию появления симптомов. Развитие протеомных технологий сделало возможным анализ белков, связанных с развитием заболевания. Эти изменения отражают молекулярные и клеточные механизмы и могут дать возможность прогнозировать динамику заболевания.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Wolf D., Ley K. Immunity and inflammation in atherosclerosis. *Circ. Res.* 2019;124(2):315–327. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.118.313591.
2. Tsao C.W., Aday A.W., Almarazooq Z.I. Alonso A., Beaton A.Z., Bittencourt M.S. et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2022 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation.* 2022;145(8):e153–e639. DOI: 10.1161/CIR.0000000000001052.
3. Bobryshev Y.V. Monocyte recruitment and foam cell formation in atherosclerosis. *Micron.* 2006;37:208–222. DOI: 10.1016/j.micron.2005.10.00.
4. Bentzon J.F., Otsuka F., Virmani R., Falk E. Mechanisms of plaque formation and rupture. *Circ. Res.* 2014;114(12):1852–1866. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.114.302721.
5. Mohamed Bakrim N., Mohd Shah A.N.S., Talib N.A., Ab Rahman J., Abdullah A. Identification of haptoglobin as a potential biomarker in young adults with acute myocardial infarction by proteomic analysis. *Malays. J. Med. Sci.* 2020;27(2):64–76. DOI: 10.21315/mjms2020.27.2.8.
6. Navas-Carrillo D., Marín F., Valdés M., Orenes-Piñero E. Deciphering acute coronary syndrome biomarkers: High-resolution proteomics in platelets, thrombi and microparticles. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2017;54(1):49–58. DOI: 10.1080/10408363.2016.1241214.
7. Stöhr R., Schurgers L., van Gorp R., Jaminon A., Marx N. Reutelingsperger C. Annexin A5 reduces early plaque formation in ApoE –/– mice. *PLoS One.* 2017;12(12):e0190229. DOI: 10.1371/journal.pone.0190229.
8. Bagnato C., Thumar J., Mayya V., Hwang S.I., Zebroski H., Claffey K.P. et al. Proteomics analysis of human coronary atherosclerotic plaque: a feasibility study of direct tissue proteomics by liquid chromatography and tandem mass spectrometry. *Mol. Cell Proteomics.* 2007;6(6):1088–1102. DOI: 10.1074/mcp.M600259-MCP200.
9. Zhou Y., Yuan J., Fan Y., An F., Chen J., Zhang Y. et al. Proteomic landscape of human coronary artery atherosclerosis. *Int. J. Mol. Med.* 2020;46(1):371–383. DOI: 10.3892/ijmm.2020.4600.
10. Malaud E., Merle D., Piquer D., Molina L., Salvetat N., Rubrecht L. et al. Local carotid atherosclerotic plaque proteins for the identification of circulating biomarkers in coronary patients. *Atherosclerosis.* 2014;233(2):551–558. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2013.12.019.
11. Lee R., Fischer R., Charles P.D., Adlam D., Valli A., Di Gleria K. et al. A novel workflow combining plaque imaging, plaque and plasma proteomics identifies biomarkers of human coronary atherosclerotic plaque disruption. *Clin. Proteomics.* 2017;14:22. DOI: 10.1186/s12014-017-9157-x.
12. Stakhneva E.M., Meshcheryakova I.A., Demidov E.A., Starostin K.V., Sadovski E.V., Peltek S.E. et al. A proteomic study of atherosclerotic plaques in men with coronary atherosclerosis. *Diagnostics.* 2019;9(4):177. DOI: 10.3390/diagnostics9040177.
13. Herrington D.M., Mao C., Parker S.J., Fu Z., Yu G., Chen L. et al. Proteomic architecture of human coronary and aortic atherosclerosis. *Circulation.* 2018;137(25):2741–2756. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.034365.
14. Han Y., Zhao S., Gong Y., Hou G., Li X., Li L. Serum cyclin-dependent kinase 9 is a potential biomarker of atherosclerotic inflammation. *Oncotarget.* 2016;7(2):1854–1862. DOI: 10.18632/oncotarget.6443.
15. Lepedda A.J., Cigliano A., Cherchi G.M., Spirito R., Maggioni M., Carta F. et al. A proteomic approach to differentiate histologically classified stable and unstable plaques from human carotid arteries. *Atherosclerosis.* 2009;203(1):112–118. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2008.07.001.
16. Olson F.J., Sihlbom C., Davidsson P., Hulthe J., Fagerberg B., Bergström G. Consistent differences in protein distribution along the longitudinal axis in symptomatic carotid atherosclerotic plaques. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2010;401(4):574–580. DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.09.103.
17. Rocchiccioli S., Pelosi G., Rosini S., Marconi M., Viglione F., Citti L. et al. Secreted proteins from carotid endarterectomy: an untargeted approach to disclose molecular clues of plaque progression. *J. Transl. Med.* 2013;11:260. DOI: 10.1186/1479-5876-11-260.
18. Seki T., Saita E., Kishimoto Y., Ibe S., Miyazaki Y., Miura K. et al. Low levels of plasma osteoglycin in patients with complex coronary lesions. *J. Atheroscler. Thromb.* 2018;25(11):1149–1155. DOI: 10.5551/jat.43059.
19. Cheng J.M., Akkerhuis K.M., Meilhac O., Oemrawsingh R.M., Garcia-Garcia H.M., van Geuns R.J. et al. Circulating osteoglycin and NGAL/MMP9 complex concentrations predict 1-year major adverse cardiovascular events after coronary angiog-

- raphy. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2014;34(5):1078–1084. DOI: 10.1161/ATVBAHA.114.303486.
20. Chistiakov D.A., Orekhov A.N., Bobryshev Y.V. Endothelial barrier and its abnormalities in cardiovascular disease. *Front. Physiol.* 2015;6:365. DOI: 10.3389/fphys.2015.00365.
21. Tu Z.L., Yu B., Huang D.Y., Ojha R., Zhou S.K., An H.D. et al. Proteomic analysis and comparison of intra- and extracranial cerebral atherosclerosis responses to hyperlipidemia in rabbits. *Mol. Med. Rep.* 2017;16(3):2347–2354. DOI: 10.3892/mmr.2017.6869.
22. Matyushenko A.M., Koubassova N.A., Shchepkin D.V., Kopylova G.V., Nabiev S.R., Nikitina L.V. et al. The effects of cardiomyopathy-associated mutations in the head-to-tail overlap junction of α -tropomyosin on its properties and interaction with actin. *Int. J. Biol. Macromol.* 2019;125:1266–1274. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.09.105.
23. Dirajlal-Fargo S., Kulkarni M., Bowman E., Shan L., Sattar A., Funderburg N. et al. Serum albumin is associated with higher inflammation and carotid atherosclerosis in treated human immunodeficiency virus infection. *Open Forum Infect. Dis.* 2018;5(11):ofy291. DOI: 10.1093/ofid/ofy291.
24. Lin P., Ji H.H., Li Y.J., Guo S.D. Macrophage plasticity and atherosclerosis therapy. *Front. Mol. Biosci.* 2021;8:679797. DOI: 10.3389/fmolb.2021.679797.
25. Gordon S., Martinez F.O. Alternative activation of macrophages: Mechanism and functions. *Immunity.* 2010;32(5):593–604. DOI: 10.1016/j.immuni.2010.05.007.
26. Murray P.J., Wynn T.A. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. *Nat. Rev. Immunol.* 2011;11(11):723–737. DOI: 10.1038/nri3073.
27. Wang L.X., Zhang S.X., Wu H.J., Rong X.L., Guo J. M2b macrophage polarization and its roles in diseases. *J. Leukoc. Biol.* 2019;106(2):345–358. DOI: 10.1002/JLB.3RU1018-378RR.
28. Zizzo G., Hilliard B.A., Monestier M., Cohen P.L. Efficient clearance of early apoptotic cells by human macrophages requires M2c polarization and MerTK induction. *J. Immunol.* 2012;189(7):3508–3520. DOI: 10.4049/jimmunol.1200662.
29. Ferrante C.J., Pinhal-Enfield G., Elson G., Cronstein B.N., Hasko G., Outram S., Leibovich S.J. The adenosine-dependent angiogenic switch of macrophages to an M2-like phenotype is independent of interleukin-4 receptor alpha (IL-4Ralpha) signaling. *Inflammation.* 2013;36(4):921–931. DOI: 10.1007/s10753-013-9621-3.
30. Nielsen M.J., Moller H.J., Moestrup S.K. Hemoglobin and heme scavenger receptors. *Antioxid. Redox. Signal.* 2010;12(2):261–273. DOI: 10.1089/ars.2009.2792.
31. Boyle J.J. Heme and haemoglobin direct macrophage M2 phenotype and counter foam cell formation in areas of intraplaque haemorrhage. *Curr. Opin. Lipidol.* 2012;23(5):453–461. DOI: 10.1097/MOL.0b013e328356b145.
32. Boyle J.J., Johns M., Kampf T., Nguyen A.T., Game L., Schaer D.J. et al. Activating transcription factor 1 directs M2 atheroprotective macrophages through coordinated iron handling and foam cell protection. *Circ. Res.* 2012;110(1):20–33. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.111.247577.
33. Stoger J.L., Gijbels M.J., van der Velden S., Nguyen A.T., Game L., Schaer D.J. et al. Distribution of macrophage polarization markers in human atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2012;225(2):461–468. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2012.09.013.
34. Cho K.Y., Miyoshi H., Kuroda S., Yasuda H., Kamiyama K., Nakagawara J. et al. The phenotype of infiltrating macrophages influences arteriosclerotic plaque vulnerability in the carotid artery. *J. Stroke Cereb. Dis.* 2013;22(7):910–918. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2012.11.020.
35. Chinetti-Gbaguidi G., Colin S., Staels B. Macrophage subsets in atherosclerosis. *Nat. Rev. Cardiol.* 2015;12(1):10–17. DOI: 10.1038/nrcardio.2014.173.
36. Barrett T.J. Macrophages in atherosclerosis regression. *Arter. Thromb. Vasc. Biol.* 2020;40(1):20–33. DOI: 10.1161/ATVBAHA.119.312802.
37. De Gaetano M., Crean D., Barry M., Belton O. M1- and M2-type macrophage responses are predictive of adverse outcomes in human atherosclerosis. *Front. Immunol.* 2016;7:275. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00275.
38. Vaisar T., Hu J.H., Airhart N., Fox K., Heinecke J., Nicosia R.F. et al. Parallel murine and human plaque proteomics reveals pathways of plaque rupture. *Circ. Res.* 2020;127(8):997–1022. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.120.317295.
39. Baetta R., Banfi C. Dkk (dickkopf) proteins. *Arter. Thromb. Vasc. Biol.* 2019;39(7):1330–1342. DOI: 10.1161/ATVBAHA.119.312612.
40. Stakhneva E.M., Meshcheryakova I.A., Demidov E.A., Starostin K.V., Peltek S.E., Voevoda M.I., Ragino Y.I. Changes in the proteomic profile of blood serum in coronary atherosclerosis. *J. Med. Biochem.* 2020;39(2):208–214. DOI: 10.2478/jomb-2019-0022.
41. Patzelt J., Verschoor A., Langer H.F. Platelets and the complement cascade in atherosclerosis. *Front. Physiol.* 2015;6:49. DOI: 10.3389/fphys.2015.00049.
42. Teoh C.L., Griffin M.D., Howlett G.J. Apolipoproteins and amyloid fibril formation in atherosclerosis. *Protein Cell.* 2011;2(2):116–127. DOI: 10.1007/s13238-011-1013-6.
43. Cubedo J., Padró T., Alonso R., Cinca J., Mata P., Badimon L. Differential proteomic distribution of TTR (pre-albumin) forms in serum and HDL of patients with high cardiovascular risk. *Atherosclerosis.* 2012;222(1):263–269. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2012.02.024.
44. Li F., Xia K., Li C., Yang T. Retinol-binding protein 4 as a novel risk factor for cardiovascular disease in patients with coronary artery disease and hyperinsulinemia. *Am. J. Med. Sci.* 2014;348(6):474–479. DOI: 10.1097/MAJ.0000000000000347.
45. Lambadiari V., Kadoglou N.P., Stasinou V., Maratou E., Antoniadis A., Kolokathis F. et al. Serum levels of retinol-binding protein-4 are associated with the presence and severity of coronary artery disease. *Cardiovasc. Diabetol.* 2014;13:121. DOI: 10.1186/s12933-014-0121-z.
46. Vinchi F., Muckenthaler M.U., Da Silva M.C., Balla G., Balla J., Jeney V. Atherogenesis and iron: from epidemiology to cellular level. *Front. Pharmacol.* 2014;5:94. DOI: 10.3389/fphar.2014.00094.
47. Mehta N.U., Reddy S.T. Role of hemoglobin/heme scavenger protein hemopexin in atherosclerosis and inflammatory diseases. *Curr. Opin. Lipidol.* 2015;26(5):384–387. DOI: 10.1097/MOL.0000000000000208.

48. Daybanyrova L.V., Shevchenko O.P. Clinical significance levels of C-reactive protein and ceruloplasmin in patients with ischemic heart disease. *Wiad Lek.* 2015;68(4):517–519.
49. Dadu R.T., Dodge R., Nambi V., Virani S.S., Hoogeveen R.C., Smith N.L. et al. Ceruloplasmin and heart failure in the Atherosclerosis Risk in Communities study. *Circ. Heart Fail.* 2013;6(5):936–943. DOI: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.113.000270.
50. Stakhneva E.M., Meshcheryakova I.A., Demidov E.A., Starostin K.V., Ragino Y.I., Peltek S.E. et al. Proteomic study of blood serum in coronary atherosclerosis. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2017;162(3):343–345. DOI: 10.1007/s10517-017-3611-7.
51. Kim K.H., Ahn Y.H., Ji E.S., Lee J.Y., Kim J.Y., An H.J. et al. Quantitative analysis of low-abundance serological proteins with peptide affinity-based enrichment and pseudo-multiple reaction monitoring by hybrid quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta.* 2015;882:38–48. DOI: 10.1016/j.aca.2015.04.033.
52. Стахнёва Е.М., Каштанова Е.В., Полонская Я.В., Гарбузова (Стрюкова) Е.В., Шрамко В.С., Садовский Е.В. и др. Связь белков острой фазы в крови с наличием нестабильных атеросклеротических бляшек при коронарном атеросклерозе. *Профилактическая медицина.* 2023;26(8):76–81. DOI: 10.17116/profmed20232608176.
53. Стахнёва Е.М., Мещерякова И.А., Демидов Е.А., Старостин К.В., Садовский Е.В., Пельтек С.Е. и др. Сравнение белкового состава атеросклеротических бляшек коронарных артерий на разных стадиях развития. *Молекулярная медицина.* 2021;19(5):58–64. DOI: 10.29296/24999490-2021-05-09.

Информация об авторах

Стахнёва Екатерина Михайловна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, stahneva@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0484-6540>

Рагино Юлия Игоревна – д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, гл. науч. сотрудник, руководитель НИИТПМ – филиала ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, ragino@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4936-8362>

Каштанова Елена Владимировна – д-р биол. наук, вед. науч. сотрудник, зав. лабораторией клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, elekastanova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2268-4186>.

Полонская Яна Владимировна – д-р биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, yana-polonskaya@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3538-0280>.

(✉) **Стахнёва Екатерина Михайловна**, stahneva@yandex.ru

Поступила в редакцию 30.07.2025;
одобрена после рецензирования 03.09.2025;
принята к публикации 04.09.2025