



УДК 576.5+57.021

DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ114811>

## ГИДРОЛИЗАТ *MYTILUS EDULIS* УСИЛИВАЕТ ПРОЛИФЕРАЦИЮ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК И ЗАЩИЩАЕТ ОТ ИНДУЦИРОВАННОГО ХЛОРНОВАТИСТОЙ КИСЛОТОЙ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

Э.А. Старикова<sup>1-3</sup>, Дж.Т. Маммедова<sup>1</sup>, О.Я. Порембская<sup>1, 4</sup><sup>1</sup> Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;<sup>2</sup> Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия;<sup>3</sup> Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия;<sup>4</sup> Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

**Для цитирования:** Старикова Э.А., Маммедова Дж.Т., Порембская О.Я. Гидролизат *Mytilus edulis* усиливает пролиферацию эндотелиальных клеток и защищает от индуцированного хлорноватистой кислотой окислительного стресса // Медицинский академический журнал. 2022. Т. 22. № 4. С. 57–67. DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ114811>

Рукопись получена: 23.11.2022

Рукопись одобрена: 01.12.2022

Опубликована: 29.12.2022

**Обоснование.** Эндотелиальная дисфункция лежит в основе патогенеза многих социально значимых заболеваний. Поиск новых оригинальных препаратов для терапии этого состояния остается важной научно-практической задачей. Для гидролизата двусторчатых моллюсков из семейства мидий *Mytilus edulis* и его производных в разных модельных системах описаны противовоспалительные, антикоагулянтные и антиоксидантные эффекты.

**Цель исследования** — изучение влияния препарата гидролизата *M. edulis* на функциональную активность эндотелиальных клеток линии EA.hy926.

**Материалы и методы.** Жизнеспособность и метаболическую активность эндотелиальных клеток изучали в МТТ-тесте. Для исследования пролиферативной активности использовали тест с окрашиванием монослоя клеток кристаллическим фиолетовым. Оценку способности препарата нейтрализовать токсическое действие НОС1 и H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> проводили с применением флуоресцентных красителей и проточной цитометрии.

**Результаты.** Было установлено, что гидролизат *M. edulis* не обладал цитотоксичностью и в разведениях от 1 : 10 до 1 : 60 достоверно повышал пролиферацию эндотелиальных клеток, обладал нейтрализующим действием в отношении НОС1 и во всех исследуемых разведениях достоверно повышал жизнеспособность эндотелия. Препарат оказался неэффективным в отношении H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, а в присутствии максимальной исследуемой концентрации усиливал окислительное действие H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. В то же время противовоспалительного действия гидролизата *M. edulis* выявлено не было. Препарат не оказывал влияния на продукцию IL-8 и экспрессию адгезионной молекулы CD54 (ICAM-1) и тканевого фактора CD146 эндотелиальными клетками.

**Заключение.** Препарат гидролизата *M. edulis* усиливает пролиферацию эндотелиальных клеток и способен нейтрализовать окислительные эффекты НОС1.

**Ключевые слова:** гидролизат *Mytilus edulis*; эндотелиальные клетки; пролиферация; окислительный стресс; IL-8; CD54 (ICAM-1); CD146.

## MYTILUS EDULIS HYDROLYSATE ENHANCES PROLIFERATION AND PROTECTS ENDOTHELIAL CELLS AGAINST HYPOCHLOROUS ACID-INDUCED OXIDATIVE STRESS

Eleonora A. Starikova<sup>1-3</sup>, Jennet T. Mammedova<sup>1</sup>, Olga Ya. Porembskaya<sup>1, 4</sup><sup>1</sup> Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia;<sup>2</sup> Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia;<sup>3</sup> Academician I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia;<sup>4</sup> North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia

**For citation:** Starikova EA, Mammedova JT, Porembskaya OYa. *Mytilus edulis* hydrolysate enhances proliferation and protects endothelial cells against hypochlorous acid-induced oxidative stress. *Medical Academic Journal*. 2022;22(4):57–67. DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ114811>

Received: 05.10.2022

Accepted: 26.10.2022

Published: 29.12.2022

### Список сокращений

DMEM, Dulbecco's modified Eagles medium — среда Игла, модифицированная Дульбекко; FBS, Fetal Bovine Serum — эмбриональная телячья сыворотка; НАТ, Нурохантин-аминоптерин-тимидин — гипоксантин-аминоптерин-тимидин; ICAM-1, Inter-Cellular Adhesion Molecule 1 — молекула межклеточной адгезии 1-го типа человека; IL-6, IL-8 — интерлейкины; iNOS, Inducible nitric oxide synthase — индуцируемая синтаза оксида азота; MAPK, Mitogen-activated protein kinase — митоген-активируемая протеинкиназа; NF-κB — ядерный фактор κB; TNFα, Tumor necrosis factor-alpha — фактор некроза опухоли альфа; VCAM-1, Vascular cell adhesion molecule 1 — васкулярная молекула клеточной адгезии 1; МТТ — 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолий бромид.

**BACKGROUND:** Endothelial dysfunction underlies the pathogenesis of many socially significant diseases. The search for new original drugs for the treatment of this condition remains an important scientific and practical task. Anti-inflammatory, anticoagulant and antioxidant effects of bivalve mollusks from the family of mussels (*Mytilus edulis*) hydrolysate and its derivatives have been described in different model systems.

**AIM:** The purpose of this study was to investigate the effect of *M. edulis* hydrolysate on the functional activity of EA.hy926 endothelial cell line.

**MATERIALS AND METHODS:** The viability and metabolic activity of endothelial cells were studied in MTT-test. To investigate the proliferative activity, a test with staining of cells with crystal violet dye was used. The ability of the preparation to neutralize the toxic effect of HOCl and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was evaluated using fluorescent dyes and flow cytometry.

**RESULTS:** It was found that the preparation did not have cytotoxicity and significantly increased the proliferation of endothelial cells in dilutions from 1:10 to 1:60. The preparation had a neutralizing effect against HOCl, and in all the studied dilutions significantly increased the viability of the endothelium. The preparation was not effective against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, and increased H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> toxic effect in the maximal studied concentration. At the same time, the anti-inflammatory effect of *M. edulis* hydrolysate was not confirmed in this model system. The preparation had no effect on the IL-8 production and adhesion molecule CD54 (ICAM-1) and tissue factor CD146 the expression.

**CONCLUSIONS:** The preparation of *M. edulis* hydrolysate enhances the proliferation of endothelial cells and is able to neutralize HOCl toxic effects.

**Keywords:** *Mytilus edulis* hydrolysate; endothelial cells; proliferation; oxidative stress; IL-8; CD54 (ICAM-1); CD146.

## Обоснование

Кровеносные сосуды пронизывают все органы и ткани организма, поэтому эндотелиальная дисфункция служит универсальным звеном патогенеза широкого спектра социально-значимых заболеваний — инсульта, болезней сердца, инсулинорезистентности, хронической почечной недостаточности и др. [1]. Системная эндотелиальная дисфункция, которая развивается при ряде инфекционных заболеваний, часто заканчивается развитием таких тяжелых осложнений как острый респираторный дистресс-синдром, синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания и системный воспалительный ответ. При этом нарушаются противовоспалительная, антикоагулянтная и вазодилаторная функции эндотелия [2–4]. В настоящее время эндотелий сосудов рассматривается как мишень терапевтического воздействия, направленного на профилактику и лечение сосудистых осложнений при разных патологиях [5, 6]. Поиск новых оригинальных веществ с эндотелиопротекторным действием — актуальная проблема экспериментальной и клинической фармакологии [7]. Морская фауна — природный ресурс, предоставляющий большие возможности для разработки новых фармацевтических препаратов [8]. В частности, ранее проведенные исследования показывают, что гидролизат двустворчатых моллюсков из семейства мидий *M. edulis* и его компоненты могут обладать ангиопротекторными свойствами и положительно влиять на основные функции эндотелия, оказывать противовоспалительное, антикоагулянтное действие и регулировать тонус сосудов [9–18]. Работы по исследованию препаратов на основе производных *M. edulis* немногочисленны, и по-прежнему плохо изучены механизмы действия таких препаратов. В настоящей работе мы исследуем антиоксидантное действие препарата гидролизата *M. edulis*, а также его

влияние на жизнеспособность и функциональную активность эндотелиальных клеток человека линии EA.hy926.

## Материалы и методы

Исследование эффектов производных моллюсков на эндотелиальные клетки проводили с использованием ранее охарактеризованного препарата гидролизата *M. edulis* [9].

**Культивирование эндотелиальных клеток линии EA.hy926.** Эндотелиальные клетки линии EA.hy926 культивировали в среде DMEM/F12 (Биолот, Россия) с добавлением 10 % эмбриональной телячьей сыворотки (Fetal Bovine Serum, FBS, Sigma, США), 50 мкг/мл сульфата гентамицина, 2 ммоль/л глутамин (Биолот, Россия) и НАТ (Sigma, США), при 37 °С во влажной атмосфере с 5 % CO<sub>2</sub> в пластиковых флаконах объемом 50–250 мл (Sarstedt, Австрия). Для дезинтеграции монослоя клетки инкубировали в растворе Версена (Биолот, Россия) в течение 5–10 мин. Пересев производили 1 раз в 3–4 дня.

**Оценка влияния гидролизата *M. edulis* на жизнеспособность и метаболическую активность клеток.** Влияние препарата на жизнеспособность эндотелиальных клеток оценивали по активности митохондриальных дегидрогеназ с помощью МТТ-теста. Для этого эндотелиальные клетки вносили в лунки 96-луночного планшета (Sarstedt, Австрия) из расчета  $0,3 \cdot 10^6$  клеток в 100 мкл культуральной среды и культивировали до образования конфлюэнтного монослоя, что исключало возможность пролиферации клеток благодаря присущему этой культуре механизму контактного торможения. После этого производили смену культуральной среды, содержащей 10 % FBS, на среду, содержащую 2,5 % FBS. Клетки культивировали в присутствии исследуемого вещества во влажной атмосфере с 5 % CO<sub>2</sub>

при 37 °С 24 ч, на последние 4 ч инкубации в каждую лунку вносили по 10 мкл МТТ так, что конечная концентрация составила 1 мкг/мл. Через 4 ч в каждую лунку вносили по 100 мкл лизирующего буфера [19, 20] и инкубировали в течение ночи до полного растворения. Результаты анализировали при помощи автоматического спектрофотометра (Bio-Rad, Япония) при длине волны 540 нм. Результаты выражали в процентах, принимая за 100 % оптическую плотность в контрольных лунках, содержащих культуральную среду без добавок.

**Оценка пролиферативной активности эндотелиальных клеток с использованием красителя кристаллического фиолетового.** Для оценки пролиферативной активности эндотелиальные клетки вносили в лунки 96-луночного планшета в концентрации  $5 \cdot 10^3$  клеток на 100 мкл культуральной среды с 2,5 % FBS, что соответствовало состоянию разреженного монослоя. Клетки культивировали в присутствии исследуемого вещества во влажной атмосфере с 5 % CO<sub>2</sub> при 37 °С 72 ч. После этого культуральную среду удаляли и производили фиксацию/окрашивание монослоя клеток 0,2 % раствором кристаллического фиолетового, приготовленного на 10 % метаноле. Далее проводили трехкратную отмывку 10 % раствором уксусной кислоты с последующей экстракцией красителя. Регистрацию оптической плотности растворов проводили с помощью автоматического спектрофотометра (Bio-Rad, Япония) при длине волны 570 нм. Сравнивая оптическую плотность в контрольных и опытных лунках, судили о пролиферативной активности клеток. Результаты выражали в процентах, принимая за 100 % оптическую плотность в контрольных лунках, содержащих культуральную среду без добавок.

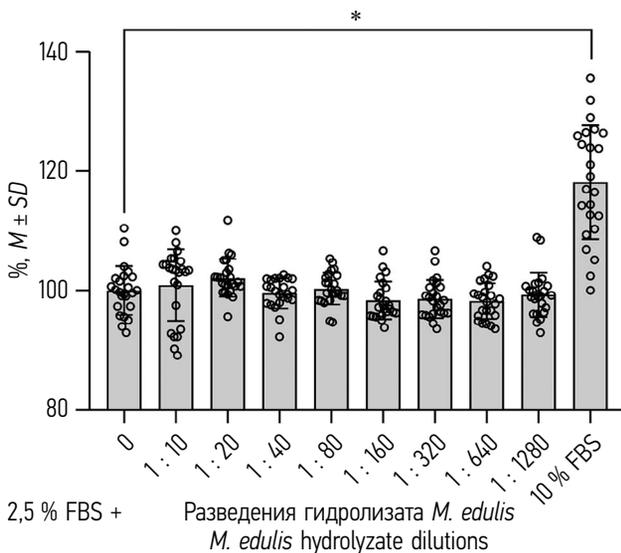
**Исследование выживаемости клеток в присутствии окислителей H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и HOCl.** Активность гидролизата *M. edulis* оценивали по его способности влиять на жизнеспособность эндотелиальных клеток после их культивирования в присутствии окислителей H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и HOCl. Принимая во внимание, что рК HOCl составляет 7,5, и при физиологических значениях рН примерно половина кислоты находится в молекулярной, а остальная — в диссоциированной форме, далее под HOCl мы будем понимать смесь HOCl/OCl<sup>-</sup>, присутствующую в исследуемой среде. Клетки вносили в лунки 24-луночного плоскодонного планшета (Sarstedt, Австрия) в концентрации  $2,5 \cdot 10^6$  клеток в 500 мкл полной культуральной среды. В каждую лунку вносили H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> или HOCl в конечной концентрации 12,5, 25, 50, 100 мкмоль/л и одновременно с окислителями вносили исследуемый препарат в разведении 1 : 5 по объему. После 24 ч инкубации

при 37 °С во влажной атмосфере с 5 % CO<sub>2</sub> производили дезинтеграцию монослоя с помощью раствора аккутазы (Sigma, США). Клетки переносили в пробирки для анализа и производили окрашивание клеточной суспензии раствором YO-PRO® (Invitrogen, США) в конечной концентрации 100 нмоль/л и раствором йодида пропидия (Sigma, США) в конечной концентрации 2 мкг/мл. YO-PRO® — флуоресцентный краситель, который свободно проникает в клетки, находящиеся в состоянии раннего апоптоза. Йодид пропидия — флуоресцентный краситель, который свободно проникает в клетки, находящиеся в состоянии некроза и позднего апоптоза. Клеточную суспензию ресуспендировали и после 5 мин инкубации с красителями проводили анализ образцов на проточном цитометре Navios (Beckman Coulter, США).

**Оценка уровня экспрессии поверхностных молекул на эндотелиальных клетках линии EA.hy926.** Эндотелиальные клетки линии EA.hy926 вносили в лунки 12-луночного планшета (Orange Scientific, Бельгия) в концентрации  $0,4 \cdot 10^6$  клеток в лунку в 2 мл среды DMEM/F12 (Биолот, Россия) с добавлением 10 % FBS (Gibco, США), 50 мкг/мл гентамицина (Биолот, Россия), 2 ммоль/л глутамина (Биолот, Россия) и НАТ (Flow laboratories, США). В некоторые лунки вносили Рефнолин — провоспалительный цитокин TNFα (Sanitas, Литва) в концентрации 50 ЕД/мл (1 ЕД = 0,06 нг) и/или исследуемый препарат и инкубировали в течение 24 ч при 37 °С во влажной атмосфере с 5 % CO<sub>2</sub>. После окончания инкубации содержимое каждой лунки собирали путем 20-минутной экспозиции в растворе Версена (Биолот, Россия) и помещали в микропробирки (Sarstedt, Австрия). Клетки осаждали на центрифуге, надосадочную жидкость собирали и замораживали при -20 °С для последующего анализа концентрации цитокинов. Экспрессию поверхностных молекул на эндотелиальных клетках оценивали с помощью моноклональных антител против CD54 (ICAM-1), меченых PE (Кат. № PN IM1239U, Beckman Coulter, США) и CD142, меченых PE (Кат. № 550312, Becton Dickinson, США). Клетки инкубировали в присутствии моноклональных антител соответствующей специфичности в течение 25 мин при комнатной температуре в темноте. После однократной отмывки физиологическим раствором (Биолот, Россия), содержащим 0,1 % NaN<sub>3</sub> (Helicon, Россия), регистрировали результаты. Интенсивность флуоресценции оценивали с помощью проточного цитофлуориметра Navios фирмы Beckman Coulter, США. Результаты выражали как среднее значение интенсивности флуоресценции (mean fluorescence intensity — MFI).

**Количественная оценка секреции цитокинов в надосадочных жидкостях клеточных культур.** Для определения концентрации ИЛ-8 в биологических жидкостях использовали коммерческие тест-системы ООО «Цитокин» (Россия). Иммуоферментный анализ проводили согласно рекомендациям производителя.

**Статистическая обработка данных.** Полученные данные проверяли на нормальность распределения с помощью теста Шапиро – Уилка. Оценку достоверности различий между контрольными и опытными выборками проводили методом однофакторного дисперсионного анализа ANOVA



**Рис. 1.** Влияние гидролизата *M. edulis* на активность митохондриальных дегидрогеназ клеток линии EA.hy926. Влияние препарата на эндотелиальные клетки оценивали с помощью МТТ-теста. Результаты выражали в процентах, принимая за 100 % оптическую плотность в контрольных лунках, содержащих культуральную среду без добавок. Здесь и далее полученные данные проверяли на нормальность распределения с помощью теста Шапиро – Уилка. Оценку достоверности различий между контрольными и опытными выборками проводили методом однофакторного дисперсионного анализа ANOVA ( $p < 0,001$ ), попарное сравнение средних значений производили при помощи апостериорных тестов Даннетта и Тьюки. Данные представляли как среднее значение ( $M$ )  $\pm$  стандартное отклонение ( $SD$ ). Различия достоверны по сравнению с контролем при: \* $p < 0,001$ ;  $n = 24$

**Fig. 1.** The effect of *M. edulis* hydrolysate on the mitochondrial dehydrogenases activity of EA.hy926 cells. The preparation effect on endothelial cells was assessed using MTT-test. The results were expressed as a percentage, taking the optical density in control wells containing culture medium as 100%. Here and further, the obtained data were checked for the normality of the distribution using the Shapiro-Wilk test. The differences between the control and experimental samples was assessed by one-way analysis of variance ANOVA ( $p < 0.001$ ), pairwise comparison was performed using the post-hoc Dunnett and Tukey tests. The data were expressed as Mean ( $M$ )  $\pm$  standard deviation ( $SD$ ). The differences are significant compared to the control at: \* $p < 0.001$ ,  $n = 24$

( $p < 0,001$ ), попарное сравнение средних значений производили при помощи апостериорных тестов Даннетта и Тьюки. Данные представляли как среднее значение ( $M$ )  $\pm$  стандартное отклонение ( $SD$ ). Анализ проводили с помощью программ Statistica 6.0, Microsoft Office Excel 2010, Navios Software 1.0 и GraphPad Prism 8.

## Результаты

**Исследование влияния гидролизата *M. edulis* на жизнеспособность и метаболическую активность клеток.** Исследований влияния гидролизата *M. edulis* на метаболизм эндотелиальных клеток до сих пор не проводили, и теоретически препарат мог оказывать как ингибирующее, так и стимулирующее действие на клетки. Поэтому эксперимент проводили в условиях пониженного (2,5 %) содержания сыворотки в культуральной среде, чтобы эффект сыворотки не скрывал возможное стимулирующее действие препарата. Культивирование в среде с повышенным содержанием FBS, а именно 10 %, достоверно усиливало активность митохондриального дыхания эндотелиальных клеток (рис. 1). Исследуемый препарат не оказывал никакого влияния на активность митохондриальных дегидрогеназ. Полученные результаты показали, что препарат в широком диапазоне концентраций не оказывал токсического действия на клетки и не усиливал их метаболизм.

**Влияние препарата на пролиферативную активность эндотелиальных клеток.** Культивирование в присутствии повышенного (10 %) содержания сыворотки приводило к достоверному усилению пролиферации клеток по сравнению с этим показателем в контроле (2,5 % FBS) (рис. 2). Исследуемый препарат в широком диапазоне концентраций (разведения от 1:10 до 1:40) по сравнению с контролем также достоверно повышал пролиферативную активность эндотелиальных клеток.

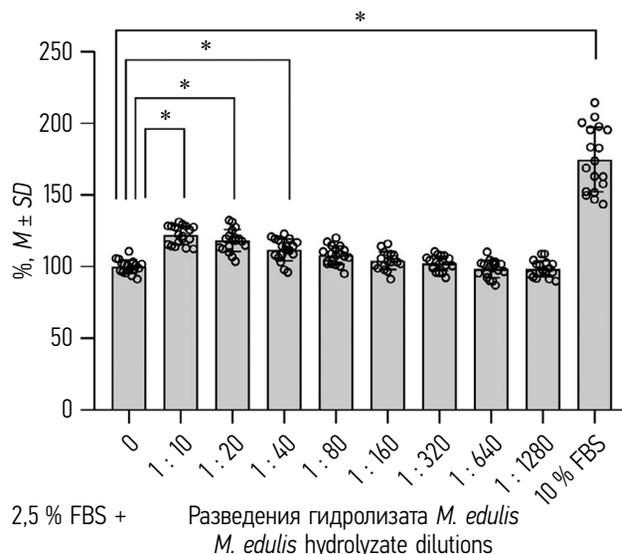
**Влияние гидролизата *M. edulis* на жизнеспособность эндотелиальных клеток после инкубации в присутствии  $H_2O_2$  и  $HOCl$ .**  $H_2O_2$ , начиная с концентрации 25 мкмоль/л, приводил к снижению жизнеспособности эндотелиальных клеток. При этом происходило достоверное снижение доли живых клеток при одновременном повышении доли клеток в состоянии некроза и раннего апоптоза относительно этих значений в контроле (культуральная среда) (рис. 3, а). Добавка исследуемого препарата в разведении 1:5 не оказывала достоверного влияния на исследуемые параметры во всех случаях, кроме пробы с содержанием  $H_2O_2$  в максимальной концентрации 100 мкмоль/л. При этом доля живых клеток была достоверно ниже, а доля клеток в состоянии

некроза и раннего апоптоза — достоверно выше по сравнению с данными показателями в тех же условиях без препарата. НОС1 приводила к снижению жизнеспособности эндотелиальных клеток, начиная с концентрации 21,5 мкмоль/л (рис. 3, *b*). В этом случае также наблюдалось достоверное снижение доли живых клеток и повышение доли клеток в состоянии некроза, а доля клеток в состоянии раннего апоптоза достоверно не изменялась. При дальнейшем повышении концентрации НОС1 происходило достоверное снижение доли живых клеток относительно этого показателя в контроле. Добавка гидролизата *M. edulis* в разведении 1 : 5 в этом случае достоверно повышала жизнеспособность эндотелиальных клеток так, что доля живых клеток не опускалась ниже уровня контроля. В присутствии гидролизата *M. edulis* только при концентрации НОС1 100 мкмоль/л доля живых клеток становилась достоверно ниже по сравнению с этим показателем в контроле. Таким образом, исследования показали, что препарат обладал нейтрализующим действием в отношении НОС1, но оказался неэффективным в отношении  $H_2O_2$ .

**Влияние гидролизата *M. edulis* на активацию эндотелиальных клеток.** Далее исследовали влияние препарата *M. edulis* на спонтанную и индуцированную активацию эндотелиальных клеток. Для этого изучали влияние препарата на спонтанную и индуцированную продукцию провоспалительного цитокина IL-8 и экспрессию активационных маркеров CD54 и CD142. В качестве стандартного индуктора использовали провоспалительный цитокин TNF $\alpha$ . Как и ожидалось, TNF $\alpha$  достоверно усиливал продукцию IL-8 и экспрессию активационного маркера CD54, но не оказывал влияния на экспрессию CD142 эндотелиальными клетками (рис. 4). Исследуемый препарат в широком диапазоне концентраций (разведения от 1 : 20 до 1 : 400) не оказывал статистически достоверного влияния на спонтанную секрецию IL-8 (рис. 4, *a*). Влияние препарата на индуцированную под действием TNF $\alpha$  секрецию IL-8 также не было достоверным, однако наблюдалась тенденция к подавлению продукции цитокина, максимально выраженная в разведении препарата 1 : 200. Не было обнаружено достоверных эффектов препарата в отношении спонтанной и индуцированной экспрессии эндотелиальными клетками активационных маркеров CD54 и CD142 (рис. 4, *b* и *c*).

## Обсуждение

Проведенные исследования показали, что гидролизат *M. edulis* в исследуемых концентрациях не обладал токсическим действием в отношении

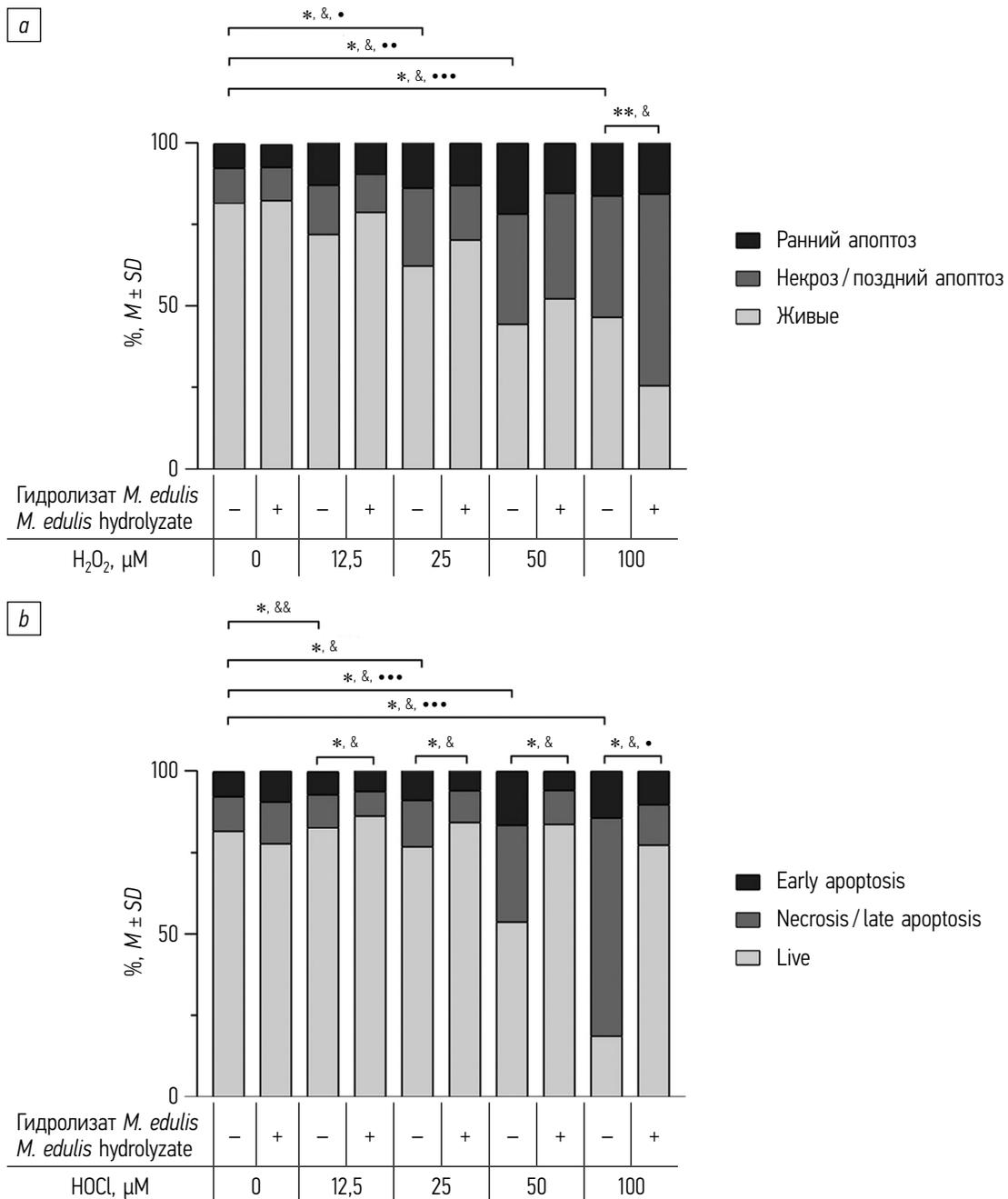


**Рис. 2.** Влияние гидролизата *M. edulis* на пролиферацию эндотелиальных клеток человека линии EA.hy926. Оценка пролиферативной активности эндотелиальных клеток с использованием красителя кристаллического фиолетового. Результаты выражали в процентах, принимая за 100 % оптическую плотность в контрольных лунках, содержащих культуральную среду без добавок. Различия достоверны по сравнению с контролем при: \* $p < 0,001$ ,  $n = 18$

**Fig. 2.** The effect of *M. edulis* hydrolysate on EA.hy926 cell proliferation. Endothelial cell proliferation was assessed using crystal violet dye. The results were expressed as a percentage, taking the optical density in control wells containing culture medium as 100%. The differences are significant compared to the control at: \* $p < 0.001$ ,  $n = 18$

эндотелиальных клеток (см. рис. 1). Более того, было выявлено положительное действие препарата на клетки, состоящее в усилении их пролиферативной активности (см. рис. 2). Ранее не было изучено действие препарата на пролиферацию эндотелия. Однако в целом полученные данные согласуются с результатами ранее проведенных исследований влияния гидролизата *M. edulis* на барьерную функцию эндотелия. Так, было установлено, что препарат достоверно снижал проницаемость сосудов у мышей, индуцированную веществом 48/80 [9]. Кроме того, исследования *in vitro* путем непрерывной регистрации изменений с использованием системы ECIS показали, что препарат достоверно снижал индуцированную под действием липополисахарида проницаемость монослоя эндотелия микрососудов мозга [9].

Ранее было установлено, что производные *M. edulis* содержат биологически активные вещества, которые могут эффективно регулировать воспаление [21, 22]. В частности, потребление в пищу *M. edulis* снижало проявление симптомов ревматоидного артрита у женщин и улучшало состояние их здоровья [22]. Жирные кислоты

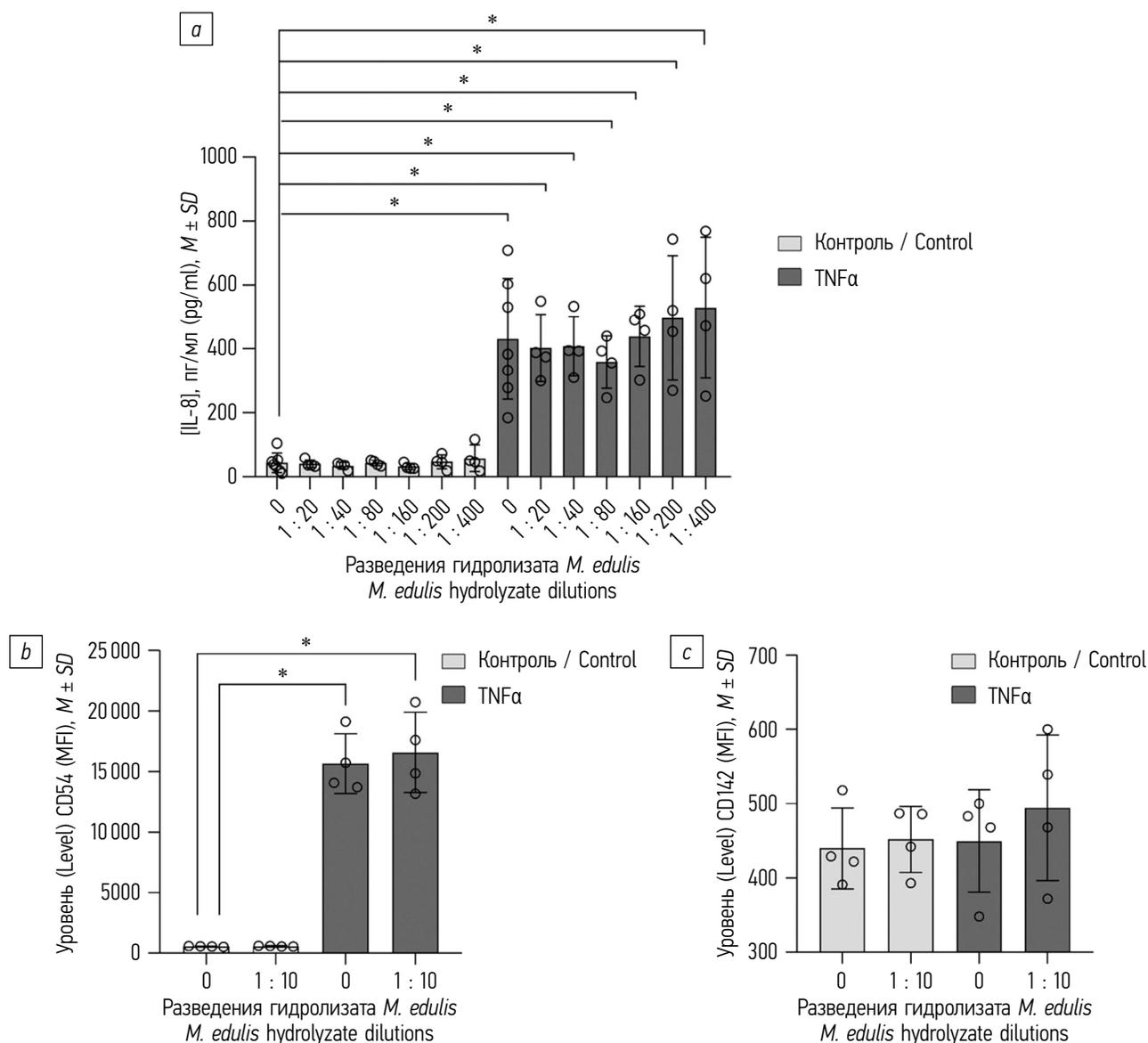


**Рис. 3.** Влияние гидролизата *M. edulis* на жизнеспособность эндотелиальных клеток EA.hy926 после инкубации в присутствии  $H_2O_2$  (a) и HOCl (b). Гидролизат *M. edulis* вносили в разведении 1 : 5 по объему. Жизнеспособность клеток оценивали путем окрашивания флуоресцентными красителями Yo-Pro и йодидом пропидия, которые свободно проникают в клетки, находящиеся в состоянии раннего апоптоза и некроза/позднего апоптоза соответственно. Образцы анализировали с помощью проточной цитометрии. Отличия достоверны для живых клеток: \* $p < 0,001$ , \*\* $p < 0,05$ ; для клеток в состоянии некроза: & $p < 0,001$ , && $p < 0,01$ ; для клеток в состоянии апоптоза: \*\*\* $p < 0,001$ , \*\* $p < 0,01$ , \* $p < 0,05$ ;  $n = 3$

**Fig. 3.** The effect of *M. edulis* hydrolyzate on the viability of EA.hy926 cells after incubation in the presence of  $H_2O_2$  (a) and HOCl (b). *M. edulis* hydrolyzate was added in dilution of 1:5 (v/v). Cell viability was assessed by cell staining with fluorescent dyes YO-PRO® and propidium iodide, which freely penetrate into cells in state of early apoptosis and necrosis/late apoptosis, respectively. The samples were analyzed using flow cytometry. The differences are significant for living cells: \* $p < 0.001$ , \*\* $p < 0.05$ ; for necrotic cells: & $p < 0.001$ , && $p < 0.01$ ; for apoptotic cells: \*\*\* $p < 0.001$ , \*\* $p < 0.01$ , \* $p < 0.05$ ;  $n = 3$

из *M. edulis* оказывали профилактический и терапевтический эффект в модели адьювант-индуцированного артрита у самцов крыс линии Wistar [23]. Пептидная фракция гидролизата

*M. edulis* с молекулярной массой более 5 кДа подавляла индуцированную липополисахаридами продукцию NO, простагландина E2 и провоспалительных цитокинов (TNF $\alpha$ , IL-6 и IL-1b)



**Рис. 4.** Влияние гидролизата *M. edulis* на секрецию IL-8 (a) и экспрессию активационных маркеров: адгезионной молекулы CD54 (ICAM-1) (b) и тканевого фактора CD142 (c) эндотелиальными клетками EA.hy926. Определение концентрации IL-8 в супернатантах клеточных культур проводили с помощью иммуноферментного анализа. Экспрессию поверхностных молекул CD54 и CD142 на эндотелиальных клетках оценивали с использованием моноклональных антител и проточной цитометрии. Различия достоверны по сравнению с контролем при: \* $p < 0,001$ ;  $n = 8$  (a), 4 (b, c)

**Fig. 4.** The effect of *M. edulis* hydrolysate on the IL-8 secretion (a) and level of activation markers: adhesion molecule CD54 (ICAM-1) (b) and tissue factor CD142 (c) on EA.hy926 cells. The concentration of IL-8 in cell culture supernatants was determined using ELISA. The expression of CD54 and CD142 molecules on endothelial cells was evaluated using monoclonal antibodies and flow cytometry. The differences are significant compared to the control at: \* $p < 0,001$ ;  $n = 8$  (a), 4 (b, c)

мышинными макрофагами линии RAW264.7. Эти эффекты были связаны с ингибированием NF- $\kappa$ B и MAPK сигнальных каскадов, экспрессией iNOS и циклооксигеназы-2 [21, 24]. Также были получены подтверждения противовоспалительного действия препарата в отношении эндотелиальных клеток вены пупочного канатика человека. Гидролизат *M. edulis* усиливал продукцию вазопротекторной молекулы NO и снижал индуцированную медиаторами воспаления

экспрессию VCAM-1 и секрецию IL-6 в эндотелиальных клетках [9].

Установленное ранее антиоксидантное действие гидролизата *M. edulis* [24] можно рассматривать как один из механизмов противовоспалительного действия препарата. В частности, в составе белков гидролизата *M. edulis* был выделен и идентифицирован один антиоксидантный пептид (Tyr-Pro-Pro-Ala-Lys), который показал высокую активность нейтрализации свободных

радикалов и способность ингибировать окислительный стресс в модельной системе с линолевой кислотой [25]. В гидролизатах *M. edulis* также были выявлены биоактивные пептиды, способные ингибировать ангиотензин-превращающий фермент, обладающие хелатирующими и антиоксидантными свойствами [26–28]. Результаты нашего исследования косвенно подтвердили антиоксидантные свойства препарата. Установлено, что препарат обладает способностью нейтрализовать токсичное действие НОС1 и повышать выживаемость эндотелиальных клеток в присутствии этого окислителя (см. рис. 3). В то же время противовоспалительного действия гидролизата *M. edulis* в отношении эндотелиальных клеток линии EA.hy926 выявлено не было, препарат не оказывал влияния на индуцированную TNF $\alpha$  продукцию IL-8 и экспрессию активационного маркера CD54 (см. рис. 4). Вероятно, это связано с фенотипическими особенностями клеток линии EA.hy, это трансформированные клетки, отличающиеся от первичных культур эндотелиальных клеток, на которых проводили предыдущие исследования гидролизата *M. edulis* [9].

## Выводы

В исследовании установлено, что гидролизат *M. edulis* оказывает положительное действие на эндотелиальные клетки линии EA.hy926, усиливает их пролиферацию и улучшает выживаемость в присутствии окислителя НОС1. Полученные данные подтверждают, что гидролизат *M. edulis* можно использовать для разработки новых препаратов с вазопротекторным действием.

## Дополнительная информация

**Источник финансирования.** Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-25-20020, <https://rscf.ru/project/22-25-20020/>, и гранта Санкт-Петербургского научного фонда в соответствии с соглашением от 14 апреля 2022 г. № 46/2022.

**Соблюдение этических норм.** Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объектов животных и людей.

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

**Вклад авторов.** Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией. Наибольший вклад распределен следующим образом: Э.А. Старикова —

разработка дизайна исследования, проведение экспериментов, написание текста статьи; Дж.Т. Маммедова — проведение экспериментов, статистический анализ данных и их графическое оформление, редактирование статьи; О.Я. Порембская — написание текста и редактирование статьи.

## Additional information

**Funding source.** The research was supported by the grant of the Russian Science Foundation No. 22-25-20020, <https://rscf.ru/en/project/22-25-20020/>, and grant of St. Petersburg Science Foundation in accordance with the agreement No. 46/2022 dated April 14, 2022.

**Ethical approval.** This article does not contain any studies using animals and humans as subjects.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Authors' contribution.** All authors made a significant contribution to the development of the concept and preparation of the article. The largest contribution is distributed as follows: E.A. Starikova — study design, data collection, data analysis and drafting of the manuscript; J.T. Mammedova — data collection, data analysis, graphical design, editing of first draft and final manuscript; O.Ya. Porembskaya — editing of first draft and final manuscript.

## Список литературы

- Castellon X., Bogdanova V. Chronic inflammatory diseases and endothelial dysfunction // *Aging Dis.* 2016. Vol. 20, No. 7(1). P. 81–89. DOI: 10.14336/AD.2015.0803
- Keller T.T., Mairuhu A.T.A., de Kruif M.D. et al. Infections and endothelial cells // *Cardiovasc. Res.* 2003. Vol. 60, No. 1. P. 40–48. DOI: 10.1016/S0008-6363(03)00354-7
- Prasad M., Leon M., Lerman L.O., Lerman A. Viral endothelial dysfunction: a unifying mechanism for COVID-19 // *Mayo Clin. Proc.* 2021. Vol. 96, No. 12. P. 3099–3108. DOI: 10.1016/j.mayocp.2021.06.027
- Joffe J., Hellman J., Ince C., Ait-Oufella H. Endothelial responses in sepsis // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2020. Vol. 202, No. 3. P. 361–370. DOI: 10.1164/rccm.201910-1911TR
- Glassman P.M., Myerson J.W., Ferguson L.T. et al. Targeting drug delivery in the vascular system: Focus on endothelium // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2020. Vol. 157. P. 96–117. DOI: 10.1016/j.addr.2020.06.013
- Порембская О.Я., Старикова Э.А., Лобастов К.В. и др. Таргетная терапия венозного тромбоза: экспериментальные изыски или осязаемое будущее? // *Хирург.* 2022. № 7–8. С. 41–50. DOI: 10.33920/med-15-2204-05
- Тюренок И.Н., Перфилова В.Н., Иванова Л.Б., Карамышева В.И. Влияние производных ГАМК на антитромботическую функцию эндотелия и состояние микроциркуляции у животных с экспериментальным гестозом // *Регионарное крово-*

- обращение и микроциркуляция. 2012. Т. 11, № 2. С. 61–65. DOI: 10.24884/1682-6655-2012-11-2-61-65
8. Lu W.Y., Li H.J., Li Q.Y., Wu Y.C. Application of marine natural products in drug research // *Bioorg. Med. Chem.* 2021. Vol. 35. P. 116058. DOI: 10.1016/j.bmc.2021.116058
  9. Starikova E., Mammedova J., Ozhiganova A. et al. Protective role of mytilus edulis hydrolysate in lipopolysaccharide-galactosamine acute liver injury // *Front. Pharmacol.* 2021. Vol. 12. P. 667572. DOI: 10.3389/fphar.2021.667572
  10. Charlet M., Chernysh S., Philippe H. et al. Innate immunity: Isolation of several cysteine-rich antimicrobial peptides from the blood of a mollusc, mytilus edulis // *J. Biol. Chem.* 1996. Vol. 271, No. 36. P. 21808–21813. DOI: 10.1074/jbc.271.36.21808
  11. Miita G., Hubert F., Dyrinda E.A. et al. Mytilin B and MGD2, two antimicrobial peptides of marine mussels: gene structure and expression analysis // *Dev. Comp. Immunol.* 2000. Vol. 24, No. 4. P. 381–393. DOI: 10.1016/S0145-305X(99)00084-1
  12. Miita G., Vandenbulcke F., Hubert F. et al. Involvement of Mytilins in mussel antimicrobial defense // *J. Biol. Chem.* 2000. Vol. 275, No. 17. P. 12954–12962. DOI: 10.1074/jbc.275.17.12954
  13. Roch P., Yang Y., Toubiana M., Aumelas A. NMR structure of mussel mytilin, and antiviral-antibacterial activities of derived synthetic peptides // *Dev. Comp. Immunol.* 2008. Vol. 32, No. 3. P. 227–238. DOI: 10.1016/j.dci.2007.05.006
  14. Romestand B., Molina F., Richard V. et al. Key role of the loop connecting the two beta strands of mussel defensin in its antimicrobial activity // *Eur. J. Biochem.* 2003. Vol. 270, No. 13. P. 2805–2813. DOI: 10.1046/j.1432-1033.2003.03657.x
  15. Jung W.K., Kim S.K. Isolation and characterisation of an anticoagulant oligopeptide from blue mussel, mytilus edulis // *Food Chem.* 2009. Vol. 117, No. 4. P. 687–692. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.04.077
  16. Leung M., Stefano G.B. Isolation of molluscan opioid peptides // *Life Sci.* 1983. Vol. 33 Suppl 1. P. 77–80. DOI: 10.1016/0024-3205(83)90448-4
  17. Feng L., Tu M., Qiao M. et al. Thrombin inhibitory peptides derived from mytilus edulis proteins: identification, molecular docking and in silico prediction of toxicity // *Eur. Food Res. Technol.* 2018. Vol. 244, No. 2. P. 207–217. DOI: 10.1007/s00217-017-2946-7
  18. Qiao M., Tu M., Wang Z. et al. Identification and antithrombotic activity of peptides from blue mussel (mytilus edulis) protein // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. Vol. 19, No. 1. P. 138. DOI: 10.3390/ijms19010138
  19. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays // *J. Immunol. Methods.* 1983. Vol. 65, No. 1–2. P. 55–63. DOI: 10.1016/0022-1759(83)90303-4
  20. Newman J.M.B., DiMaria C.A., Rattigan S. et al. Relationship of MTT reduction to stimulants of muscle metabolism // *Chem. Biol. Interact.* 2000. Vol. 128, No. 2. P. 127–140. DOI: 10.1016/S0009-2797(00)00192-7
  21. Kim Y.S., Ahn C.B., Je J.Y. Anti-inflammatory action of high molecular weight mytilus edulis hydrolysates fraction in LPS-induced RAW264.7 macrophage via NF- $\kappa$ B and MAPK pathways // *Food Chem.* 2016. Vol. 202. P. 9–14. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.01.114
  22. Lindqvist H.M., Gjertsson I., Eneljung T., Winkvist A. Influence of blue mussel (mytilus edulis) intake on disease activity in female patients with rheumatoid arthritis: The MIRA randomized cross-over dietary intervention // *Nutrients.* 2018. Vol. 10, No. 4. P. E481. DOI: 10.3390/nu10040481
  23. McPhee S., Hodges L.D., Wright P.F.A. et al. Prophylactic and therapeutic effects of Mytilus edulis fatty acids on adjuvant-induced arthritis in male Wistar rats // *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* 2010. Vol. 82, No. 2–3. P. 97–103. DOI: 10.1016/j.plefa.2009.12.003
  24. Park S.Y., Ahn C.B., Je J.Y. Antioxidant and anti-inflammatory activities of protein hydrolysates from mytilus edulis and ultra-filtration membrane fractions // *J. Food Biochem.* 2014. Vol. 38, No. 5. P. 460–468. DOI: 10.1111/jfbc.12070
  25. Wang B., Li L., Chi C.F. et al. Purification and characterization of a novel antioxidant peptide derived from blue mussel (mytilus edulis) protein hydrolysate // *Food Chem.* 2013. Vol. 138, No. 2–3. P. 1713–1719. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.12.002
  26. Je J.Y., Park P.J., Byun H.G. et al. Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory peptide derived from the sauce of fermented blue mussel, mytilus edulis // *Bioresour. Technol.* 2005. Vol. 96, No. 14. P. 1624–1629. DOI: 10.1016/j.biortech.2005.01.001
  27. Rajapakse N., Mendis E., Jung W.K. et al. Purification of a radical scavenging peptide from fermented mussel sauce and its antioxidant properties // *Food Res. Int.* 2005. Vol. 38, No. 2. P. 175–182. DOI: 10.1016/j.foodres.2004.10.002
  28. Neves A.C., Harnedy P.A., Fitzgerald R.J. Angiotensin converting enzyme and dipeptidyl peptidase-IV inhibitory, and antioxidant activities of a blue mussel (mytilus edulis) meat protein extract and its hydrolysate // *J. Aquat. Food Prod. Technol.* 2016. Vol. 25, No. 8. P. 1221–1233. DOI: 10.1080/10498850.2015.1051259

## References

1. Castellon X, Bogdanova V. Chronic inflammatory diseases and endothelial dysfunction. *Aging Dis.* 2016;20(7(11)):81–89. DOI: 10.14336/AD.2015.0803
2. Keller TT, Mairuhu ATA, de Kruif MD, et al. Infections and endothelial cells. *Cardiovasc Res.* 2003;60(1):40–48. DOI: 10.1016/S0008-6363(03)00354-7
3. Prasad M, Leon M, Lerman LO, Lerman A. Viral endothelial dysfunction: a unifying mechanism for COVID-19. *Mayo Clin Proc.* 2021;96(12):3099–3108. DOI: 10.1016/j.mayocp.2021.06.027
4. Joffre J, Hellman J, Ince C, Ait-Oufella H. Endothelial responses in sepsis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2020;202(3):361–370. DOI: 10.1164/rccm.201910-1911TR
5. Glassman PM, Myerson JW, Ferguson LT, et al. Targeting drug delivery in the vascular system: Focus on endothelium. *Adv Drug Deliv Rev.* 2020;157:96–117. DOI: 10.1016/j.addr.2020.06.013
6. Porembskaya OY, Starikova EA, Lobastov KV, et al. Target therapy for venous thrombosis: experimental extravagance or tangible future? *Khirurg.* 2022;(7–8):41–50. (In Russ.) DOI: 10.33920/med-15-2204-05
7. Tyurenkov IN, Perfilov VN, Ivanova LB, Karamysheva VI. Effect of GABA derivatives on endothelial function and antithrombotic state of the microcirculation in animals with experimental gestosis. *Regional blood circulation and microcirculation.* 2012;11(2):61–65. (In Russ.) DOI: 10.24884/1682-6655-2012-11-2-61-65
8. Lu WY, Li HJ, Li QY, Wu YC. Application of marine natural products in drug research. *Bioorg Med Chem.* 2021;35:116058. DOI: 10.1016/j.bmc.2021.116058

9. Starikova E, Mammedova J, Ozhiganova A, et al. Protective role of mytilus edulis hydrolysate in lipopolysaccharide-galactosamine acute liver injury. *Front Pharmacol.* 2021;12:667572. DOI: 10.3389/fphar.2021.667572
10. Charlet M, Chernysh S, Philippe H, et al. Innate immunity: Isolation of several cysteine-rich antimicrobial peptides from the blood of a mollusc, mytilus edulis. *J Biol Chem.* 1996;271(36):21808–21813. DOI: 10.1074/jbc.271.36.21808
11. Mitta G, Hubert F, Dyrzynda EA, et al. Mytilin B and MGD2, two antimicrobial peptides of marine mussels: gene structure and expression analysis. *Dev Comp Immunol.* 2000;24(4):381–393. DOI: 10.1016/S0145-305X(99)00084-1
12. Mitta G, Vandenbulcke F, Hubert F, et al. Involvement of Mytilins in mussel antimicrobial defense. *J Biol Chem.* 2000;275(17):12954–12962. DOI: 10.1074/jbc.275.17.1295
13. Roch P, Yang Y, Toubiana M, Aumelas A. NMR structure of mussel mytilin, and antiviral–antibacterial activities of derived synthetic peptides. *Dev Comp Immunol.* 2008;32(3):227–238. DOI: 10.1016/j.dci.2007.05.006
14. Romestand B, Molina F, Richard V, et al. Key role of the loop connecting the two beta strands of mussel defensin in its antimicrobial activity. *Eur J Biochem.* 2003;270(13):2805–2813. DOI: 10.1046/j.1432-1033.2003.03657.x
15. Jung WK, Kim SK. Isolation and characterisation of an anticoagulant oligopeptide from blue mussel, mytilus edulis. *Food Chem.* 2009;117(4):687–692. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.04.077
16. Leung M, Stefano GB. Isolation of molluscan opioid peptides. *Life Sci.* 1983;33 Suppl 1:77–80. DOI: 10.1016/0024-3205(83)90448-4
17. Feng L, Tu M, Qiao M, et al. Thrombin inhibitory peptides derived from mytilus edulis proteins: identification, molecular docking and in silico prediction of toxicity. *Eur Food Res Technol.* 2018;244(2):207–217. DOI: 10.1007/s00217-017-2946-7
18. Qiao M, Tu M, Wang Z, et al. Identification and antithrombotic activity of peptides from blue mussel (mytilus edulis) protein. *Int J Mol Sci.* 2018;19(1):138. DOI: 10.3390/ijms19010138
19. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods.* 1983;65(1–2):55–63. DOI: 10.1016/0022-1759(83)90303-4
20. Newman JMB, DiMaria CA, Rattigan S, et al. Relationship of MTT reduction to stimulants of muscle metabolism. *Chem Biol Interact.* 2000;128(2):127–140. DOI: 10.1016/S0009-2797(00)00192-7
21. Kim YS, Ahn CB, Je JY. Anti-inflammatory action of high molecular weight mytilus edulis hydrolysates fraction in LPS-induced RAW264.7 macrophage via NF- $\kappa$ B and MAPK pathways. *Food Chem.* 2016;202:9–14. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.01.114
22. Lindqvist HM, Gjerdtsson I, Eneljung T, Winkvist A. Influence of blue mussel (mytilus edulis) intake on disease activity in female patients with rheumatoid arthritis: The MIRA randomized cross-over dietary intervention. *Nutrients.* 2018;10(4):E481. DOI: 10.3390/nu10040481
23. McPhee S, Hodges L, Wright PFA, et al. Prophylactic and therapeutic effects of mytilus edulis fatty acids on adjuvant-induced arthritis in male wistar rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2010;82(2–3):97–103. DOI: 10.1016/j.plefa.2009.12.003
24. Park SY, Ahn CB, Je JY. Antioxidant and anti-inflammatory activities of protein hydrolysates from mytilus edulis and ultrafiltration membrane fractions. *J Food Biochem.* 2014;38(5):460–468. DOI: 10.1111/jfbc.12070
25. Wang B, Li L, Chi CF, et al. Purification and characterization of a novel antioxidant peptide derived from blue mussel (mytilus edulis) protein hydrolysate. *Food Chem.* 2013;138(2–3):1713–1719. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.12.002
26. Je JY, Park PJ, Byun HG, et al. Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory peptide derived from the sauce of fermented blue mussel, mytilus edulis. *Bioresour Technol.* 2005;96(14):1624–1629. DOI: 10.1016/j.biortech.2005.01.001
27. Rajapakse N, Mendis E, Jung WK, et al. Purification of a radical scavenging peptide from fermented mussel sauce and its antioxidant properties. *Food Res Int.* 2005;38(2):175–182. DOI: 10.1016/j.foodres.2004.10.002
28. Neves AC, Harnedy PA, Fitzgerald RJ. Angiotensin converting enzyme and dipeptidyl peptidase-IV inhibitory, and antioxidant activities of a blue mussel (mytilus edulis) meat protein extract and its hydrolysate. *J Aquat Food Prod Technol.* 2016;25(8):1221–1233. DOI: 10.1080/10498850.2015.1051259

## Информация об авторах / Information about the authors

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

*Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia*

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

*Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia*

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

*Academician I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia*

Элеонора Александровна Старикова — канд. биол. наук, старший научный сотрудник отдела иммунологии; доцент кафедры клеточной биологии и гистологии; доцент кафедры иммунологии.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9687-7434>;

Scopus Author ID: 25932312000;

e-mail: Starickova@yandex.ru

Eleonora A. Starikova — Cand. Sci. (Biol.), Senior Research Associate, Department of Immunology; Assistant Professor of Department of Cell Biology and Histology; Assistant Professor, Department of Immunology. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9687-7434>; Scopus Author ID: 25932312000; e-mail: Starickova@yandex.ru

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия  
*Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia*

Дженнет Тумаровна Маммедова — научный сотрудник  
отдела иммунологии.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4381-6993>;  
ResearcherID: H-5067-2017;  
e-mail: jennet\_m@mail.ru

*Jennet T. Mammedova* — Research Associate,  
Department of Immunology.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4381-6993>;  
ResearcherID: H-5067-2017;  
e-mail: jennet\_m@mail.ru

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия  
*Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia*

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова»,  
Санкт-Петербург, Россия  
*North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia*

Ольга Ярославна Порембская — канд. мед. наук,  
научный сотрудник;  
доцент кафедры сердечно-сосудистой хирургии.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3537-7409>;  
Scopus Author ID: 56743328700;  
e-mail: porembskaya@yandex.ru

*Olga Ya. Porembskaya* — MD, Cand. Sci. (Med.),  
Research Associate;  
Assistant Professor, Cardio-Vascular Department.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3537-7409>;  
Scopus Author ID: 56743328700;  
e-mail: porembskaya@yandex.ru

✉ **Контактное лицо / Corresponding author**

Элеонора Александровна Старикова / *Eleonora A. Starikova*  
Адрес: Россия, 197022, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12  
Address: 12 Academician Pavlov St., Saint Petersburg, 197022, Russia  
E-mail: Starickova@yandex.ru