

## ТРАНСКРИПЦИОННАЯ КИНАЗА CDK8, НО НЕ CDK19 СПОСОБСТВУЕТ РАЗВИТИЮ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЙ У МЫШЕЙ

А. Н. Незнамов<sup>1,2</sup>, Ю. П. Байкова<sup>1</sup>, Е. Н. Коршунов<sup>1</sup>, Е. М. Исаева<sup>1</sup>, А. В. Брутер<sup>1</sup>, М. В. Кубекина<sup>1</sup>✉

<sup>1</sup> Институт биологии гена Российской академии наук, Москва, Россия

<sup>2</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

Атеросклероз, являющийся основной причиной инфаркта миокарда и инсульта, остается глобальной медико-социальной проблемой. Несмотря на его признание в качестве хронического воспалительного заболевания, внутриклеточные молекулярные механизмы, управляющие прогрессированием болезни, изучены недостаточно. Циклин-зависимые киназы CDK8 и CDK19, являющиеся ключевыми регуляторами транскрипции и воспаления, потенциально могут играть значительную роль в патогенезе атеросклероза. Целью исследования было изучить влияние нокаута генов *Cdk8* и *Cdk19* на развитие атеросклеротических поражений у мышей с дефицитом аполипопротеина Е (ApoE<sup>-/-</sup>). Показано, что как эндотелиоспецифичный, так и системный нокаут *Cdk8* достоверно снижает площадь атеросклеротических поражений аорты, причем тотальный нокаут оказывает более выраженный антиатерогенный эффект. Это свидетельствует о плейотропной роли CDK8 в патогенезе атеросклероза, опосредованной его функцией не только в эндотелиальных клетках, но и, вероятно, в макрофагах. В отличие от *Cdk8*, системный нокаут *Cdk19* не оказал значимого влияния на развитие атеросклероза. Таким образом, CDK8, но не CDK19, идентифицирован в качестве проатерогенного регулятора, что делает его перспективной мишенью для разработки новых терапевтических стратегий.

**Ключевые слова:** атеросклероз, генетически модифицированные животные, транскрипционные киназы CDK8 и CDK19, атеросклеротические поражения, аполипопротеин Е

**Финансирование:** работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № (24-25-00384), <https://rscf.ru/project/24-25-00384/>.

**Вклад авторов:** А. Н. Незнамов — генотипирование животных, обработка изображений аорт, написание рукописи; Ю. П. Байкова — сепарация и окрашивание аорт, подготовка препаратов; Е. Н. Коршунов, Е. М. Исаева — работа с животными, подготовка экспериментальных групп; А. В. Брутер — предоставление антител для вестерн-блота, анализ литературы, анализ результатов; М. В. Кубекина — анализ литературы, планирование исследования, проведение вестерн-блота, анализ результатов, написание рукописи.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом ИБГ РАН (протокол № 25 от 15 мая 2024 г.) и проведено в строгом соответствии с положениями Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях.

✉ **Для корреспонденции:** Марина Владиславовна Кубекина  
ул. Вавилова, д. 34/5, г. Москва, 119334, Россия; [marykumy@gmail.com](mailto:marykumy@gmail.com)

**Статья получена:** 31.10.2025 **Статья принята к печати:** 01.12.2025 **Опубликована онлайн:** 16.12.2025

DOI: 10.24075/vrgmu.2025.078

**Авторские права:** © 2025 принадлежат авторам. **Лицензиат:** РНИМУ им. Н. И. Пирогова. Статья размещена в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## TRANSCRIPTIONAL KINASE CDK8, BUT NOT CDK19, PROMOTES THE DEVELOPMENT OF ATHEROSCLEROTIC LESIONS IN MICE

Neznamov AN<sup>1,2</sup>, Baykova YuP<sup>1</sup>, Korshunov EN<sup>1</sup>, Isaeva EM<sup>1</sup>, Bruter AV<sup>1</sup>, Kubekina MV<sup>1</sup>✉

<sup>1</sup> Institute of Gene Biology Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Atherosclerosis, being the main cause of myocardial infarction and stroke, remains a global medical and social problem. Despite the fact that it is recognized as a chronic inflammatory disorder, the intracellular molecular mechanisms that drive the disease progression are poorly understood. The CDK8 and CDK19 cyclin-dependent kinases being the key regulators of transcription and inflammation can potentially play an important role in the atherosclerosis pathogenesis. The study aimed to assess the impact of the *Cdk8* and *Cdk19* gene knockout on the development of atherosclerotic lesions in apolipoprotein E-deficient mice (ApoE<sup>-/-</sup>). It has been shown that both endothelium-specific and systemic *Cdk8* knockout significantly reduce the area of atherosclerotic aortic lesions, and the total knockout has a more prominent anti-atherogenic effect. This suggests a pleiotropic role of CDK8 in the atherosclerosis pathogenesis mediated by its function not only in endothelial cells, but probably also in macrophages. In contrast to *Cdk8*, the systemic *Cdk19* knockout had no significant effect on the development of atherosclerosis. Thus, CDK8, but not CDK19, has been identified as a pro-atherogenic regulator, which makes it a promising target for the development of novel therapeutic strategies.

**Keywords:** atherosclerosis, genetically modified animals, transcriptional kinases CDK8 and CDK19, atherosclerotic lesions, apolipoprotein E

**Funding:** the study was supported by the Russian Science Foundation grant No. (24-25-00384), <https://rscf.ru/project/24-25-00384/>.

**Author contribution:** Neznamov AN — genotyping of animals, aortic image processing, manuscript writing; Baykova YuP — aorta separation and staining, preparation of specimens; Korshunov EN, Isaeva EM — animal handling, preparation of experimental groups; Bruter AV — providing antibodies for the Western blot assay, literature review, analysis of the results; Kubekina MV — literature review, study planning, Western blot assay, analysis of the results, manuscript writing.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Institute of Gene Biology RAS (protocol No. 25 dated 15 may 2024), it was strictly compliant with the provisions of the Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes.

✉ **Correspondence should be addressed:** Marina V. Kubekina  
Vavilova, 34/5, Moscow, 119334, Russia; [marykumy@gmail.com](mailto:marykumy@gmail.com)

**Received:** 31.10.2025 **Accepted:** 01.12.2025 **Published online:** 16.12.2025

DOI: 10.24075/brsmu.2025.078

**Copyright:** © 2025 by the authors. **Licensee:** Pirogov University. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Инфаркт миокарда и инсульт, являющиеся основными осложнениями атеросклероза, по данным Всемирной организации здравоохранения, остаются ведущими причинами смертности в мире. В России на долю болезней системы кровообращения в 2019 г. пришлось 46,8% всех случаев смерти. Высокие показатели летальности во многом обусловлены длительным бессимптомным развитием атеросклероза, который на поздних, диагностируемых стадиях часто требует хирургического вмешательства и слабо поддается консервативной терапии [1]. Несмотря на существующие методы лечения, направленные на снижение уровня липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) и восстановление кровотока, атеросклероз продолжает оставаться глобальной медико-социальной проблемой. Общеизвестно, что атеросклероз является хроническим воспалительным заболеванием артерий [2], однако внутриклеточные молекулярные механизмы, управляющие этим воспалением и прогрессированием болезни, изучены недостаточно [3]. Ключевым событием в его патогенезе является формирование атеросклеротических бляшек, характеризующееся хроническим воспалением, дисфункцией эндотелия, накоплением липидов и пролиферацией гладкомышечных клеток в стенке [4, 5].

Циклин-зависимые киназы CDK8 и CDK19, входящие в состав медиаторного комплекса, являются ключевыми регуляторами транскрипции, опосредованной РНК-полимеразой II. Хотя их точные механизмы действия остаются не до конца изученными, известно, что CDK8/19 играют центральную роль в транскрипционном перепрограммировании, лежащем в основе клеточной дифференцировки и патогенеза различных заболеваний [6]. CDK8/19 выступают модуляторами сигнальных путей транскрипционных факторов STAT1 и NF- $\kappa$ B, играющих критическую роль в воспалительных процессах [7, 8].

В последнее время накапливаются данные, связывающие CDK8 с патологиями сердечно-сосудистой системы. В частности, CDK8 выступает корегулятором транскрипционного фактора HIF-1 $\alpha$  (индуцируемый гипоксией фактор-1 $\alpha$ ) — ключевого медиатора клеточного ответа на гипоксию, который вносит значительный вклад в развитие атеросклероза [9]. HIF-1 $\alpha$  запускает экспрессию широкого спектра генов, непосредственно способствующих развитию атеросклероза, таких как TNF, CD36, VEGF, ICAM-1, VCAM-1 [10–12]. Таким образом, HIF-1 $\alpha$  опосредует проатерогенные процессы, такие как нарушение метаболизма липидов в макрофагах, дисфункция эндотелия и усиление воспаления [13]. Кроме того, CDK8 является негативным регулятором биосинтеза липидов. CDK8 индуцирует повышенное убиквитинирование и деградацию SREBP посредством фосфорилирования этого белка. Семейство SREBP включает ключевые факторы транскрипции, регулирующие липидный обмен, в том числе транскрипцию генов синтеза холестерина и липогенеза [14]. Поскольку CDK8 регулирует экспрессию множества генов, ассоциированных с атерогенезом, выдвинута гипотеза о том, что делеция CDK8 и/или CDK19 может привести к снижению прогрессии атеросклероза в результате снижения липопротеиновой инфильтрации интимы аорты.

Несмотря на известное участие CDK8/19 в канцерогенезе и в иммунном ответе [15, 16], их роль в атерогенезе изучена недостаточно. В связи с этим представляется перспективным исследовать роль транскрипционных киназ CDK8/19 — известных регуляторов воспаления и участников кардиоваскулярных патологий — в развитии атеросклероза. Таким образом, цель данного исследования —

оценить влияние системного и эндотелиоспецифичного нокаута *Cdk8*, а также системного нокаута *Cdk19* на формирование атеросклеротических поражений в аорте мыши на фоне нокаута *ApoE* — известной модели атеросклероза у мышей [17].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Объект исследования

В работе использовали мышей активаторных линий Rosa26/Cre-ERT2 (B6.129-Gt(ROSA)26Sortm1(cre/ERT2)Tyj/J, Jackson Laboratory) и Tie2-Cre (B6.Cg-Tg(Tek-cre)1Ywa/J, Jackson Laboratory). Мыши данных линий были скрещены с *Cdk8*<sup>fl/fl</sup> (Jax:008463, Jackson Laboratory) с фланкированным loxP-сайтами экзоном 2 в гене *Cdk8* для получения Rosa26/Cre-ERT2/*Cdk8*<sup>fl/fl</sup> (системный нокаут) и Tie2-Cre/*Cdk8*<sup>fl/fl</sup> (эндотелиоспецифичный нокаут). Кроме того, использовали мышей линии C57BL/6N-*Cdk19* (RRID:MMRRC\_047035-UCD, MMRRC) с конститутивным нокаутом гена *Cdk19*. Генотипирование потомства линий *Cdk8*<sup>fl/fl</sup>, C57BL/6N-*Cdk19*, Rosa26/Cre-ERT2 проводили как описано ранее [18]. Эксперименты проводили на мышах перечисленных линий на фоне *ApoE*<sup>-/-</sup> (нокаута аполипопротеина E). Данные мыши были получены в дар от Юрия Котелевцева [19]. Для генотипирования мышей линий *ApoE*<sup>-/-</sup> и Tie2-Cre использовали олигонуклеотидные праймеры P1, P2 и P3 а также P4, P5 и P6 соответственно (таблица). Все праймеры были синтезированы в компании «Евроген» (Россия).

Мышей содержали в виварии ЦКП ИБГ РАН в условиях постоянного доступа к воде и корму. Световой цикл составлял 12/12 ч, температура воздуха — 23 ± 1 °C, влажность — 42 ± 5%. Животных выводили из эксперимента методом цервикальной дислокации шейных позвонков.

### Индукция нокаута гена *Cdk8*

Для индукции нокаута гена *Cdk8* у мышей линии Rosa26/Cre-ERT2/*Cdk8*<sup>fl/fl</sup> проводили внутрибрюшинные инъекции тамоксифена (Sigma-Aldrich, США), растворенного в кукурузном масле (Sigma-Aldrich, США), как описано ранее [20]: самцам в возрасте 2 месяца ежедневно вводили по 0,15 мл тамоксифена в концентрации 20 мг/мл в течение 7 дней подряд. Данных мышей переводили на атерогенную диету (Western type diet, WTD) через месяц после индукции нокаута.

### Экспериментальные группы

Из самцов мышей представленных линий возрастом 3 месяца сформировали следующие экспериментальные группы (рис. 1), всего 46 животных.

1. *ApoE* — мыши с дефицитом аполипопротеина E, содержащиеся на стандартном корме (отрицательный контроль),  $n = 4$ .

2. *ApoE* WTD — мыши *ApoE*<sup>-/-</sup>, содержащиеся на WTD (положительный контроль модели атеросклероза для мышей *Cdk19*<sup>-/-</sup>/*ApoE*<sup>-/-</sup> и Tie2-Cre/*Cdk8*<sup>fl/fl</sup>/*ApoE*<sup>-/-</sup>),  $n = 8$ .

3. *ApoE* + Oil WTD — мыши *ApoE*<sup>-/-</sup>, обработанные в течение 7 дней кукурузным маслом по 150 мкл, содержащиеся на WTD (положительный контроль модели атеросклероза для мышей, обработанных тамоксифеном Rosa26/Cre-ERT2/*Cdk8*<sup>fl/fl</sup>),  $n = 5$ .

4. Rosa WTD — мыши линии Rosa26/Cre-ERT2, содержащиеся на WTD (отрицательный контроль модели

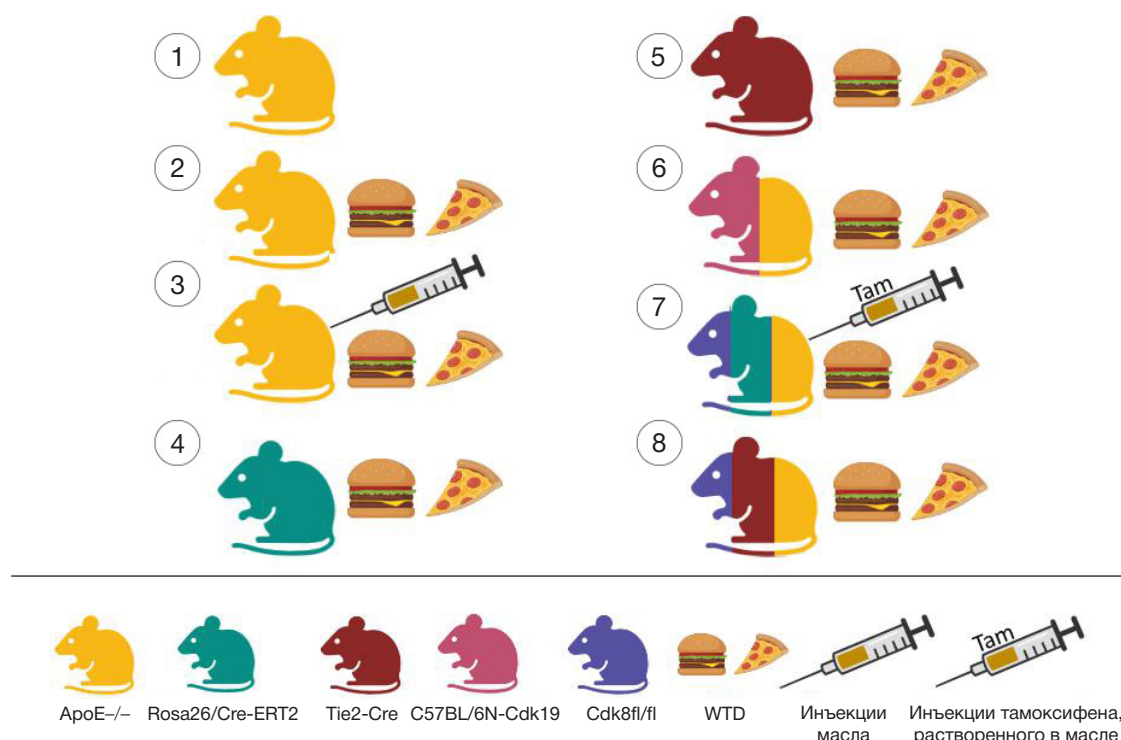


Рис. 1. Схематичное изображение групп мышей, участвующих в эксперименте. Создано с помощью BioRender.com

атеросклероза для мышей *Rosa26/Cre-ERT2/Cdk8fl/fl*),  $n = 4$ .

5. Tie WTD — мыши линии Tie2-Cre, содержавшиеся на WTD (отрицательный контроль модели атеросклероза для мышей и Tie2-Cre/Cdk8fl/fl/ApoE<sup>-/-</sup>),  $n = 4$ .

6. Cdk19/ApoE WTD — мыши с нокаутом гена *Cdk19* на фоне нокаута гена *ApoE*, содержавшиеся на WTD,  $n = 8$ .

7. Cdk8/Rosa/ApoE WTD — мыши *Rosa26/Cre-ERT2/Cdk8fl/fl* с индуцибельным нокаутом гена *Cdk8* на фоне нокаута гена *ApoE*, содержавшиеся на WTD,  $n = 6$ .

8. Cdk8/Tie/ApoE WTD — мыши с конститутивным эндотелиоспецифичным нокаутом гена *Cdk8* на фоне нокаута *ApoE*, содержавшиеся на WTD,  $n = 7$ .

### Критерии исключения

В эксперименте участвовали только самцы. Исключение животных из эксперимента проводили на основании ухудшения клинического статуса, проявляющегося вялостью, апатией, отказом от пищи, а также при спонтанной гибели животного до плановой эвтаназии. По последнему критерию из исследования было исключено пять животных: два из группы (1), по одному из групп (4), (5) и (7).

### Атерогенная диета

Взрослых мышей различных экспериментальных групп возрастом 3 месяца держали на атерогенной диете. Диета содержала 21,2% молочного жира («Пармалат», Россия), 34% сахарозы (Solarbio, Китай) и 0,2% холестерина (Macklin, Китай) [21]. Для индукции развития атерогенных поражений мыши содержали на атерогенной диете в течение 2 месяцев.

### Исследование аорт

Сепарацию, окрашивание аорт мышей и обработку изображений проводили, как описано ранее [22]. Мышей

наркозировали раствором 0,6 мл Золетила (Virbac, Франция) + 0,3 мл Ксилазина (Interchemie Werken "de Adelaar" BV, Нидерланды) + 9 мл физиологического раствора («Панэко», Россия) в дозе 100 мкл на 10 г массы животного, внутривенно, затем через пункцию верхушки левого желудочка перфузировали сердечно-сосудистую систему 10 мл PBS (BioinnLabs, Россия) для вымывания крови. Под стереомикроскопом Zeiss Stemi DV4 (Carl Zeiss, Германия) аккуратно выделяли всю аорту от дуги до подвздошных артерий, удаляли периваскулярную жировую и соединительную ткань вокруг аорты, избегая ее повреждения. Для фиксации тканей проводили перфузию 10 мл 4%-го раствора параформальдегида («Медикс», Россия). Далее аорту помещали в 1 мл свежеприготовленного 60%-го раствора Oil Red O (Sigma-Aldrich, США) и инкубировали в течение 60 мин при комнатной температуре. После окрашивания препарат промывали 60%-м изопропанолом (Panreac AppliChem, Германия) в течение 20 мин, а затем трижды дистиллированной водой по 5 мин. Под микроскопом окончательно очищали аорту от остатков окрашенной периваскулярной жировой ткани, переносили на предметное стекло и получали цифровые микрофотографии в высоком разрешении. Полученные изображения обрабатывали с использованием программного обеспечения ImageJ. Процент атеросклеротических поражений рассчитывали как отношение площади поражений к общей площади восходящей части и дуги аорты.

### Вестерн-блот

Был проведен анализ уровней CDK8 и CDK19 в аортах мышей всех исследуемых групп. Для детекции CDK8 и CDK19 использовали антитела CDK8 (D6M3J) Rabbit 17395 (Cell Signaling, США) и антитела для CDK19 из работы [18] соответственно, в разведении 1 : 1000. Уровень белка  $\beta$ -актина определяли в качестве контроля нагрузки. Для этого использовали моноклональные мышинные антитела

Таблица. Олигонуклеотиды, использованные в работе

	Последовательность 5'→3'
P1	GCC TAG CCG AGG GAG AGC CG
P2	TGT GAC TTG GGA GCT CTG CAG C
P3	GCC GCC CCG ACT GCA TCT
P4	CTG TGA CCT GAG TGC CCA GT
P5	GCG TTT AAG TAA TGG GAT GGT C
P6	CCA CAC ACG TGC ACA TAT AGA

$\beta$ -actin (A2228, Sigma-Aldrich, США) в рабочем разведении 1 : 1000. Детекцию проводили с использованием вторичных антител, конъюгированных с пероксидазой хрена (HRP): Anti-rabbit IgG (кат. № 7074, Cell Signaling, США) и Anti-mouse IgG (кат. № 7076, Cell Signaling, США) в разведении 1 : 2000. Визуализацию результатов вестерн-блоттинга выполняли на системе iBright FL1500 (Invitrogen, США).

### Статистическая обработка данных

Статистическую значимость различий оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) в программе GraphPad Prism 8.0.1 (GraphPad Software, США). Данные представлены как среднее значение  $\pm$  стандартная ошибка среднего.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В данной работе объектом исследования были генетически модифицированные мыши с системным и эндотелиоспецифичным нокаутом гена *Cdk8*, а также с системным нокаутом гена *Cdk19*. На первом этапе работы проводили валидацию уровня белков CDK8 и CDK19 в аорте мышей разных экспериментальных групп (рис. 2).

Оказалось, что у контрольных мышей линии ApoE, Tie и Rosa в аорте детектируются белки CDK8 и CDK19, в то время как у мышей с системным нокаутом *Cdk8* (группа *Cdk8/Rosa/ApoE*) отсутствует CDK8, а у мышей с системным нокаутом *Cdk19* (группа *Cdk19/ApoE*) отсутствует CDK19. При этом у мышей с эндотелиоспецифичным нокаутом *Cdk8* (группа *Cdk8/Tie/ApoE*) белок CDK8 детектируется. Наблюдаемое присутствие белка согласуется с гистологическим строением аорты, которая состоит из трех слоев: адвентиции, меди и интимы, основную часть которой и составляет эндотелий [23]. Таким образом, в данной группе нокаут *Cdk8* затрагивает преимущественно эндотелиальные клетки интимы, что и объясняет обнаружение белка CDK8 в гомогенате всей аорты.

Далее проводили исследование аорт у мышей всех экспериментальных групп после содержания на атерогенной диете в течение 2 месяцев. Значения, полученные от мышей из экспериментальных групп *Cdk19/ApoE* WTD и *Cdk8/Tie/ApoE* WTD, сравнивали со значениями группы ApoE WTD, являющейся положительным контролем в эксперименте; со значениями групп Tie WTD, а также ApoE на стандартном рационе, служившими отрицательным контролем (рис. 3).

Оказалось, что в группе мышей с эндотелиоспецифичным нокаутом *Cdk8* происходит достоверное ( $p = 0,0295$ ) снижение площади поражения аорты по сравнению с положительным контролем ApoE. При этом в группе с системным нокаутом *Cdk19* площадь поражения не отличается от контрольных групп.

В процессе индукции нокаута гена *Cdk8* в группе *Cdk8/Rosa/ApoE* мышей подвергали ежедневным инъекциям

тамоксифена, растворенного в кукурузном масле. Для создания положительного контроля для данной группы использовали мышей ApoE, обработанных кукурузным маслом по аналогичной схеме. После содержания на атерогенной диете было проведено исследование атеросклеротических поражений аорты у мышей *Cdk8/Rosa/ApoE* WTD, ApoE + Oil WTD в качестве положительного контроля; Rosa WTD, а также ApoE на стандартном рационе в качестве отрицательных контролей (рис. 4).

Оказалось, что значения, полученные от мышей с системным нокаутом *Cdk8*, достоверно ( $p = 0,0024$ ) ниже значений положительного контроля и не отличаются от значений отрицательного контроля.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Генетически модифицированные животные — широко распространенный инструмент для моделирования и последующего исследования патогенеза заболеваний человека, а также разработки методов терапии [24]. Это обуславливает их важную роль при исследованиях таких социально значимых патологий, как атеросклероз. Атеросклероз как хронический прогрессирующий патологический процесс лежит в основе большинства случаев сердечно-сосудистой патологии, что определяет высокие показатели летальности и инвалидизации населения [25].

Известно, что транскрипционная киназа CDK8 и ее паралог CDK19 модулируют сигнальные пути транскрипционных факторов STAT1 и NF- $\kappa$ B, тем самым регулируя воспалительный ответ. В ряде работ было показано, что низкомолекулярные ингибиторы CDK8/19, такие как SenexinA/B, Cmpd3/4, Cpd32, Cortistatin A эффективно подавляют активацию ключевых провоспалительных транскрипционных факторов STAT1 и NF- $\kappa$ B *in vitro* и *in vivo* [7, 8, 26, 27]. Кроме того, показана роль CDK8 в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний,

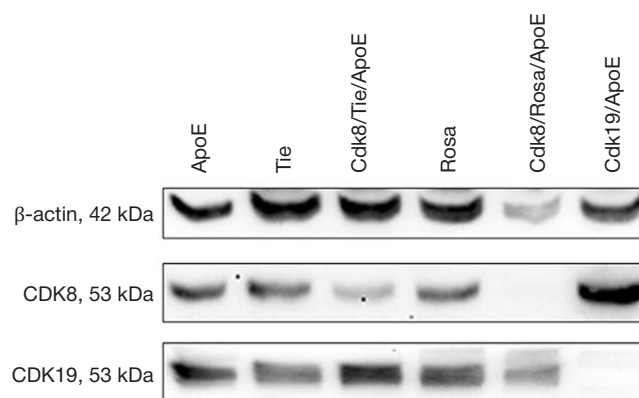


Рис. 2. Репрезентативное изображение вестерн-блота, иллюстрирующее содержание CDK8 и CDK19 в аорте мышей разных экспериментальных групп





**Рис. 3.** Исследование аорт у мышей из экспериментальных групп ApoE WTD, Cdk19/ApoE WTD, Cdk8/Tie/ApoE WTD, Tie WTD, а также ApoE на стандартном корме. Репрезентативное изображение исследуемых аорт (слева), а также диаграмма обсчета площадей поражения (справа). Области поражения аорты отмечены белыми пунктирными линиями (\* —  $p < 0,05$ )

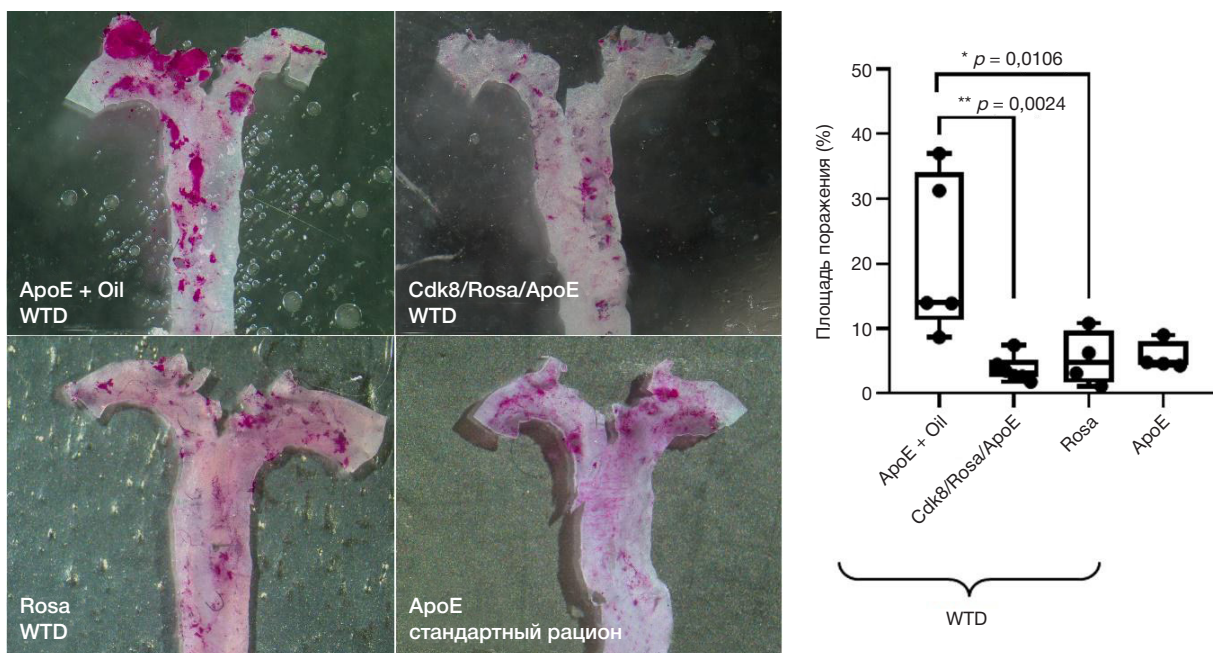
так как данная киназа является корегулятором HIF-1 $\alpha$ , участвующего в проатерогенных процессах [9, 10, 28].

В данной работе было проведено исследование роли транскрипционных киназ CDK8 и CDK19 при формировании атеросклеротических поражений с использованием генетически модифицированных мышей с системным и эндотелиоспецифичным нокаутом *Cdk8*, а также с системным нокаутом *Cdk19*. Для моделирования накопления липопротеинов в стенке аорты данные мыши были переведены на фон нокаута ApoE. Ген ApoE кодирует белок аполипопротеин E, который играет центральную роль в метаболизме липопротеинов. Одна из его основных функций — служить лигандом для рецепторов печени, которые удаляют из кровотока остатки хиломикронов и ЛПНП. У мышей ApoE-/- отсутствует ключевой механизм очистки плазмы от богатых холестерином липопротеинов, что приводит к резкому повышению уровня холестерина

в плазме, накоплению в крови ЛПНП и последующему развитию атеросклеротических поражений [17].

Нокаут *CDK8* и *CDK19* был подтвержден в аортах исследуемых мышей методом вестерн-блот (рис. 2). Показаны отсутствие CDK19 в группе мышей Cdk19/ApoE с системным нокаутом гена *Cdk19*, отсутствие CDK8 в группе мышей Cdk8/Rosa/ApoE с системным нокаутом гена *Cdk8*, а также неполное удаление CDK8 в группе Cdk8/Tie/ApoE с эндотелиоспецифичным нокаутом *Cdk8*. Таким образом, мы показали, что данные модели релевантны.

Исследование накопления липидных включений в аортах подопытных мышей показало, что как эндотелиоспецифичный (рис. 3), так и системный (рис. 4) нокаут *Cdk8* приводит к достоверному снижению площади поражения сосуда. При этом тотальный нокаут *Cdk8* оказывает более выраженный антиатерогенный эффект по сравнению с эндотелиоспецифичным. Полученные данные



**Рис. 4.** Исследование аорт у мышей из экспериментальных групп ApoE + Oil WTD, Cdk8/Rosa/ApoE WTD, Rosa WTD, а также ApoE на стандартном корме. Репрезентативное изображение исследуемых аорт (слева), а также диаграмма обсчета площадей поражения (справа). Область поражения аорты отмечена белой пунктирной линией (\* —  $p < 0,05$ , \*\* —  $p < 0,01$ )

позволяют предположить, что вклад CDK8 в патогенез атеросклероза не ограничивается эндотелиальными клетками, а также опосредован его функцией в других ключевых для данного заболевания типах клеток, таких как макрофаги и, возможно, гладкомышечные клетки сосудов. Эти результаты согласуются с данными литературы, которые демонстрируют снижение противовоспалительного ответа при ингибировании CDK8/19 в моноцитах/макрофагах [29]. Согласно полученным результатам, CDK8 принимает участие в усилении атеросклеротического фенотипа, вероятно, через регуляцию транскрипционных программ, связанных с воспалительным ответом и метаболизмом липидов.

В отличие от CDK8, системная инактивация гена *Cdk19* не оказала статистически значимого влияния на площадь атеросклеротических поражений аорты, что демонстрирует сопоставимые показатели с группами как отрицательного, так и положительного контроля (рис. 3). Стоит отметить, что в группе *Cdk19/ApoE* наблюдалась значительная межиндивидуальная вариабельность, включающая образцы как с обширной, так и с минимальной площадью поражений. Данное распределение, наряду с отсутствием общего эффекта, позволяет предположить, что CDK19, в отличие от своего паралога CDK8, не играет детерминирующей роли в прогрессии атеросклероза.

Хроническое воспаление является краеугольным камнем в патогенезе атеросклероза [2], а наши результаты прямо указывают на проатерогенную роль CDK8. Учитывая, что CDK8 является регулятором воспалительного ответа [6–8], можно предположить, что фармакологическое ингибирование данной киназы будет воспроизводить наблюдаемый нами антиатерогенный эффект за счет подавления провоспалительных сигнальных путей. Таким образом, применение известных ингибиторов CDK8 в экспериментальных моделях атеросклероза представляется перспективным направлением для разработки новых терапевтических подходов.

## ВЫВОДЫ

Проведенное исследование раскрывает фундаментальные аспекты регуляции атерогенеза, связанные с функцией транскрипционных киназ CDK8 и CDK19. Использование генетических моделей на мышах линии ApoE<sup>-/-</sup> с нокаутом указанных генов позволило установить, что CDK8 функционирует как проатерогенный регулятор — это подтверждается статистически значимым уменьшением площади атеросклеротических поражений при его нокауте. Более выраженный антиатерогенный эффект системного нокаута по сравнению с эндотелиоспецифичным свидетельствует о плейотропном характере влияния CDK8 на патогенез заболевания, включая его роль не только в эндотелиальных клетках, но и в других клеточных популяциях, в частности в макрофагах. Молекулярные механизмы проатерогенного действия CDK8, по-видимому, связаны с его способностью регулировать ключевые транскрипционные программы, включая пути HIF-1 $\alpha$ , STAT1 и NF- $\kappa$ B, что модулирует воспалительный ответ и метаболизм липидов в стенке сосуда. CDK19 не проявляет значимого влияния на развитие атеросклеротических поражений, что подчеркивает функциональную дивергенцию между структурно гомологичными киназами CDK8 и CDK19 в контексте патогенеза атеросклероза. Полученные результаты не только расширяют понимание молекулярных основ атеросклероза, но и открывают новые возможности для разработки таргетной терапии. Ингибирование CDK8 представляет собой перспективную стратегию для подавления прогрессирования атеросклеротических поражений. Дальнейшие исследования должны быть направлены на уточнение клеточно-специфичных механизмов действия CDK8 в различных популяциях клеток сосудистой стенки и оценку эффективности селективных ингибиторов CDK8 в доклинических испытаниях.

## Литература

1. Косолапов В. П., Ярмонова М. В.. Анализ высокой сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности взрослого населения как медико-социальной проблемы и поиск путей ее решения. Уральский медицинский журнал. 2021; 20 (1): 58–64.
2. Moriya J. Critical roles of inflammation in atherosclerosis. Journal of cardiology. 2019; 73 (1): 22–7.
3. Zhong J, Shi G. Regulation of inflammation in chronic disease. Frontiers in Immunology. 2019; 10: 737.
4. Hetherington I, Totary-Jain H. Anti-atherosclerotic therapies: milestones, challenges, and emerging innovations. Molecular Therapy. 2022; 30 (10): 3106–17.
5. Madaudo C, Coppola G, Parlati AL, Corrado E. Discovering inflammation in atherosclerosis: insights from pathogenic pathways to clinical practice. International journal of molecular sciences. 2024; 25 (11): 6016.
6. Yamamoto S, Hagihara T, Horiuchi Y, Okui A, Wani S, Yoshida T, et al. Mediator cyclin-dependent kinases upregulate transcription of inflammatory genes in cooperation with NF- $\kappa$ B and C/EBP  $\beta$  on stimulation of Toll-like receptor 9. Genes to Cells. 2017; 22 (3): 265–76.
7. Kokinos EK, Tsymbal SA, Galochkina AV, Bezlepina SA, Nikolaeva JV, Vershinina SO, et al. Inhibition of cyclin-dependent kinases 8/19 restricts bacterial and virus-induced inflammatory responses in monocytes. Viruses. 2023; 15 (6): 1292.
8. Dannappel MV, Sooraj D, Loh JJ, Firestein R. Molecular and in vivo functions of the CDK8 and CDK19 kinase modules. Frontiers in cell and developmental biology. 2019; 6: 171.
9. Galbraith MD, Allen MA, Bensard CL, Wang X, Schwinn MK, Qin B et al. HIF1A employs CDK8-mediator to stimulate RNAPII elongation in response to hypoxia. Cell. 2013; 153 (6): 1327–39.
10. Knutson AK, Williams AL, Boisvert WA, Shohet RV. HIF in the heart: development, metabolism, ischemia, and atherosclerosis. The Journal of Clinical Investigation. 2021; 131 (17).
11. Liang X, Arullampalam P, Yang Z, Ming XF. Hypoxia enhances endothelial intercellular adhesion molecule 1 protein level through upregulation of arginase type II and mitochondrial oxidative stress. Frontiers in physiology. 2019; 10: 1003.
12. Ortiz-Masia D, Díez I, Calatayud S, Hernandez C, Cosín-Roger J, Hinojosa J et al. Induction of CD36 and thrombospondin-1 in macrophages by hypoxia-inducible factor 1 and its relevance in the inflammatory process. PLoS One. 2012; 7 (10): e48535.
13. Thomas C, Leleu D, Masson D. Cholesterol and HIF-1 $\alpha$ : dangerous liaisons in atherosclerosis. Frontiers in immunology. 2022; 13: 868958.
14. Yin X, He Z, Chen K, Ouyang K, Yang C, Li J, et al. Unveiling the impact of CDK8 on tumor progression: mechanisms and therapeutic strategies. Frontiers in Pharmacology. 2024; 15: 1386929.
15. Roninson I, Györfy B, Mack ZT, Shtil AA, Shtutman MS, Chen M, et al. Identifying Cancers for CDK8/19 Inhibitor Therapy. Cells. 2019; 8 (8).
16. Arnett A, Moo KG, Flynn KJ, Sundberg TB, Johannessen L, Shamji AF, et al. The cyclin-dependent kinase 8 (CDK8) inhibitor DCA promotes a tolerogenic chemical immunophenotype in CD4+ T cells via



- a novel CDK8-GATA3-FOXP3 pathway. *Molecular and cellular biology*. 2021; 41 (9): e00085–21.
17. Lo Sasso G, Schlage WK, Boué S, Veljkovic E, Peitsch MC, Hoeng J. The Apoe<sup>-/-</sup> mouse model: a suitable model to study cardiovascular and respiratory diseases in the context of cigarette smoke exposure and harm reduction. *Journal of translational medicine*. 2016; 14 (1): 146.
  18. Bruter AV, Varlamova EA, Stavskaya NI, Antysheva ZG, Mansikh VN, Tvorogova AV, et al. Knockout of cyclin-dependent kinases 8 and 19 leads to depletion of cyclin C and suppresses spermatogenesis and male fertility in mice. *Elife*. 2025; 13: RP96465.
  19. Deuchar GA, McLean D, Hadoke PW, Brownstein DG, Webb DJ, Mullins JJ, et al. 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 deficiency accelerates atherogenesis and causes proinflammatory changes in the endothelium in apoe<sup>-/-</sup> mice. *Endocrinology*. 2011; 152 (1): 236–46.
  20. Ilchuk LA, Stavskaya NI, Varlamova EA, Khamidullina AI, Tatarskiy VV, Mogila VA, et al. Limitations of tamoxifen application for in vivo genome editing using Cre/ERT2 system. *International journal of molecular sciences*. 2022; 23 (22): 14077.
  21. Hasegawa Y, Chen SY, Sheng L, Jena PK, Kalanetra KM, Mills DA, et al. Long-term effects of western diet consumption in male and female mice. *Scientific reports*. 2020; 10 (1): 14686.
  22. Chen PY, Qin L, Simons M. Imaging and analysis of oil red o-stained whole aorta lesions in an aneurysm hyperlipidemia mouse model. *Journal of visualized experiments: JoVE*. 2022; (183): 10–3791.
  23. Milutinović A, Šuput D, Zorc-Plesković R. Pathogenesis of atherosclerosis in the tunica intima, media, and adventitia of coronary arteries: An updated review. *Bosnian journal of basic medical sciences*. 2020; 20 (1): 21.
  24. Bontzos G, Detorakis ET. Animal models of uveal melanoma for localized interventions. *Critical Reviews™ in Oncogenesis*. 2017; 22 (3–4).
  25. Chen W, Li Z, Zhao Y, Chen Y, Huang R. Global and national burden of atherosclerosis from 1990 to 2019: trend analysis based on the Global Burden of Disease Study 2019. *Chinese Medical Journal*. 2023; 136 (20): 2442–50.
  26. Guo Z, Wang G, Lv Y, Wan YY, Zheng J. Inhibition of Cdk8/Cdk19 Activity Promotes Treg Cell Differentiation and Suppresses Autoimmune Diseases. *Front Immunol*. 2018; 10: 1988.
  27. Chen M, Li J, Liang J, et al. Systemic Toxicity Reported for CDK8/19 Inhibitors CCT251921 and MSC2530818 Is Not Due to Target Inhibition. *Cells*. 2019; 8 (11): 1413.
  28. Hall DD, Ponce JM, Chen B, Spitler KM, Alexia A, Oudit GY, et al. Ectopic expression of Cdk8 induces eccentric hypertrophy and heart failure. *JCI insight*. 2017; 2 (15): e92476.
  29. Neznamov AN, Baykova YP, Kubekina MV. The Role of CDKs in the Regulation of the Monocyte/Macrophage Immune Response. *Curr Med Chem*. Published online May 29, 2025.

## References

1. Kosolapov VP, YArmonova MV. Analiz vysokoj serdechno-sosudistoj zabolevaemosti i smertnosti vzroslogo naseleniya kak mediko-social'noj problemy i poisk putej ee resheniya. *Ural'skij medicinskij zhurnal*. 2021; 20 (1): 58–64. Russian.
2. Moriya J. Critical roles of inflammation in atherosclerosis. *Journal of cardiology*. 2019; 73 (1): 22–7.
3. Zhong J, Shi G. Regulation of inflammation in chronic disease. *Frontiers in Immunology*. 2019; 10: 737.
4. Hetherington I, Totary-Jain H. Anti-atherosclerotic therapies: milestones, challenges, and emerging innovations. *Molecular Therapy*. 2022; 30 (10): 3106–17.
5. Madaudo C, Coppola G, Parlati AL, Corrado E. Discovering inflammation in atherosclerosis: insights from pathogenic pathways to clinical practice. *International journal of molecular sciences*. 2024; 25 (11): 6016.
6. Yamamoto S, Hagihara T, Horiuchi Y, Okui A, Wani S, Yoshida T, et al. Mediator cyclin-dependent kinases upregulate transcription of inflammatory genes in cooperation with NF- $\kappa$ B and C/EBP  $\beta$  on stimulation of Toll-like receptor 9. *Genes to Cells*. 2017; 22 (3): 265–76.
7. Kokinos EK, Tsymbal SA, Galochkina AV, Bezlepina SA, Nikolaeva JV, Vershinina SO, et al. Inhibition of cyclin-dependent kinases 8/19 restricts bacterial and virus-induced inflammatory responses in monocytes. *Viruses*. 2023; 15 (6): 1292.
8. Dannappel MV, Sooraj D, Loh JJ, Firestein R. Molecular and in vivo functions of the CDK8 and CDK19 kinase modules. *Frontiers in cell and developmental biology*. 2019; 6: 171.
9. Galbraith MD, Allen MA, Bensard CL, Wang X, Schwinn MK, Qin B et al. HIF1A employs CDK8-mediator to stimulate RNAPII elongation in response to hypoxia. *Cell*. 2013; 153 (6): 1327–39.
10. Knutson AK, Williams AL, Boisvert WA, Shohet RV. HIF in the heart: development, metabolism, ischemia, and atherosclerosis. *The Journal of Clinical Investigation*. 2021; 131 (17).
11. Liang X, Arullampalam P, Yang Z, Ming XF. Hypoxia enhances endothelial intercellular adhesion molecule 1 protein level through upregulation of arginase type II and mitochondrial oxidative stress. *Frontiers in physiology*. 2019; 10: 1003.
12. Ortiz-Masia D, Díez I, Calatayud S, Hernandez C, Cosín-Roger J, Hinojosa J et al. Induction of CD36 and thrombospondin-1 in macrophages by hypoxia-inducible factor 1 and its relevance in the inflammatory process. *PLoS One*. 2012; 7 (10): e48535.
13. Thomas C, Leleu D, Masson D. Cholesterol and HIF-1 $\alpha$ : dangerous liaisons in atherosclerosis. *Frontiers in immunology*. 2022; 13: 868958.
14. Yin X, He Z, Chen K, Ouyang K, Yang C, Li J, et al. Unveiling the impact of CDK8 on tumor progression: mechanisms and therapeutic strategies. *Frontiers in Pharmacology*. 2024; 15: 1386929.
15. Roninson I, Györfy B, Mack ZT, Shtil AA, Shtutman MS, Chen M, et al. Identifying Cancers for CDK8/19 Inhibitor Therapy. *Cells*. 2019; 8 (8).
16. Amett A, Moo KG, Flynn KJ, Sundberg TB, Johannessen L, Shamji AF, et al. The cyclin-dependent kinase 8 (CDK8) inhibitor DCA promotes a tolerogenic chemical immunophenotype in CD4<sup>+</sup> T cells via a novel CDK8-GATA3-FOXP3 pathway. *Molecular and cellular biology*. 2021; 41 (9): e00085–21.
17. Lo Sasso G, Schlage WK, Boué S, Veljkovic E, Peitsch MC, Hoeng J. The Apoe<sup>-/-</sup> mouse model: a suitable model to study cardiovascular and respiratory diseases in the context of cigarette smoke exposure and harm reduction. *Journal of translational medicine*. 2016; 14 (1): 146.
18. Bruter AV, Varlamova EA, Stavskaya NI, Antysheva ZG, Mansikh VN, Tvorogova AV, et al. Knockout of cyclin-dependent kinases 8 and 19 leads to depletion of cyclin C and suppresses spermatogenesis and male fertility in mice. *Elife*. 2025; 13: RP96465.
19. Deuchar GA, McLean D, Hadoke PW, Brownstein DG, Webb DJ, Mullins JJ, et al. 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 deficiency accelerates atherogenesis and causes proinflammatory changes in the endothelium in apoe<sup>-/-</sup> mice. *Endocrinology*. 2011; 152 (1): 236–46.
20. Ilchuk LA, Stavskaya NI, Varlamova EA, Khamidullina AI, Tatarskiy VV, Mogila VA, et al. Limitations of tamoxifen application for in vivo genome editing using Cre/ERT2 system. *International journal of molecular sciences*. 2022; 23 (22): 14077.
21. Hasegawa Y, Chen SY, Sheng L, Jena PK, Kalanetra KM, Mills DA, et al. Long-term effects of western diet consumption in male and female mice. *Scientific reports*. 2020; 10 (1): 14686.
22. Chen PY, Qin L, Simons M. Imaging and analysis of oil red o-stained whole aorta lesions in an aneurysm hyperlipidemia mouse model. *Journal of visualized experiments: JoVE*. 2022; (183): 10–3791.
23. Milutinović A, Šuput D, Zorc-Plesković R. Pathogenesis of atherosclerosis in the tunica intima, media, and adventitia of coronary arteries: An updated review. *Bosnian journal of basic medical sciences*. 2020; 20 (1): 21.
24. Bontzos G, Detorakis ET. Animal models of uveal melanoma for

- localized interventions. *Critical Reviews™ in Oncogenesis*. 2017; 22 (3–4).
25. Chen W, Li Z, Zhao Y, Chen Y, Huang R. Global and national burden of atherosclerosis from 1990 to 2019: trend analysis based on the Global Burden of Disease Study 2019. *Chinese Medical Journal*. 2023; 136 (20): 2442–50.
  26. Guo Z, Wang G, Lv Y, Wan YY, Zheng J. Inhibition of Cdk8/Cdk19 Activity Promotes Treg Cell Differentiation and Suppresses Autoimmune Diseases. *Front Immunol*. 2018; 10: 1988.
  27. Chen M, Li J, Liang J, et al. Systemic Toxicity Reported for CDK8/19 Inhibitors CCT251921 and MSC2530818 Is Not Due to Target Inhibition. *Cells*. 2019; 8 (11): 1413.
  28. Hall DD, Ponce JM, Chen B, Spitler KM, Alexia A, Oudit GY, et al. Ectopic expression of Cdk8 induces eccentric hypertrophy and heart failure. *JCI insight*. 2017; 2 (15): e92476.
  29. Neznamov AN, Baykova YP, Kubekina MV. The Role of CDKs in the Regulation of the Monocyte/Macrophage Immune Response. *Curr Med Chem*. Published online May 29, 2025.