

УДК 576.523

Современные аспекты физиологии эндотелиального барьера и его нарушений при сепсисе

Кубатиев А.А.¹, Боровая Т.Г.², Жуховицкий В.Г.^{2,3},
Черкасова М.Н.², Андреевская С.Г.², Шевлягина Н.В.²

- ¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии». 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8
² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18
³ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

Обзор содержит данные литературы о структурно-функциональных особенностях гликокаликса и межклеточных соединений эндотелия в норме и при сепсисе. Рассматриваются роль альбумина плазмы и ферментов в поддержании физиологического статуса гликокаликса, механизмы разрушения гликокаликса и маркеры этого процесса при сепсисе, данные экспериментов по моделированию восстановления гликокаликса. Приводится новая информация о структурных компонентах межклеточных соединений эндотелия и их взаимодействиях в составе плотных соединений, соединений по типу зон слипания и щелевых соединений в норме. Рассматривается роль межклеточных соединений в физиологических барьерно-транспортных процессах эндотелия и в развитии нарушений проницаемости эндотелия при сепсисе.

Ключевые слова: эндотелий; гликокаликс; проницаемость; сепсис.

Для цитирования: Кубатиев А.А., Боровая Т.Г., Жуховицкий В.Г., Черкасова М.Н., Андреевская С.Г., Шевлягина Н.В. Современные аспекты физиологии эндотелиального барьера и его нарушений при сепсисе. Патогенез. 2018; 16(3): 5—13

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.03.5-13

Для корреспонденции: Боровая Татьяна Геннадьевна, e-mail: tbor27@yandex.ru

Финансирование. Исследование не имеет спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 01.06.2018

Modern aspects in the physiology of endothelial barrier and its disorders in sepsis

Kubatiev A.A.¹, Borovaya T.G.², Zhuhovickij V.G.^{2,3},
Cherkasova M.N.², Andreevskaya S.G.², Shevlyagina N.V.²

- ¹ Institute of General Pathology and Pathophysiology, Baltijskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation
² The Honorable Academician, N.F.Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Gamaleya Str. 18, Moscow 123098, Russian Federation
³ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Trubetskaya Str. 8, Bldg. 2, Moscow 119991, Russian Federation

The review focuses on structural and functional peculiarities of the glycocalyx and intercellular endothelium compounds in normal conditions and sepsis. The authors addressed the role of plasma albumin and enzymes in maintaining the physiological status of glycocalyx, mechanisms of destruction of the glycocalyx, and markers of this process in sepsis, including results obtained on experimental models of glycocalyx recovery. New information is provided on structural components of endothelial intercellular connections and their normal interactions as a part of tight junctions, adherence junctions, and gap junctions. Roles of intercellular compounds in physiological barrier-transport processes of the endothelium and in disorders of endothelial permeability in sepsis are discussed.

Key words: endothelium; glycocalix; permeability; sepsis.

For citation: Kubatiev A.A., Borovaya T.G., Zhuhovickij V.G., Cherkasova M.N., Andreevskaya S.G., Shevlyagina N.V. [Modern aspects in the physiology of endothelial barrier and its disorders in sepsis]. Patogenez [Pathogenesis]. 2018; 16(3): 5—13 (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.03.5-13

For correspondence: Borovaya Tatiana Gennadievna, e-mail: tbor27@yandex.ru

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 01.06.2018

Введение

Вирулентность патогенных бактерий зависит от их способности продуцировать токсины, атакующие эукариотические клетки-мишени. Микробные токсины являются либо структурными компонентами бактериальной клеточной стенки (эндотоксины), либо активно секретируемыми белками (экзотоксины). Сепсис и септический шок, представляющие частую причину смертности, являются следствием неадекватного воспалительного и иммунного ответов организма на бактериальную инфекцию. Имеются доказательства, что именно микробные токсины, а не бактерии как таковые, играют главную роль в патогенезе той драматической дисрегуляции функций органов, которая разыгрывается при сепсисе. Исследование эффектов бактериальных токсинов расширило понимание возможности микроорганизмов индуцировать нарушение функций органов даже в отсутствии жизнеспособных бактерий [1]. По мнению многих исследователей, в основе патогенетического механизма и «коллапса гомеостаза» органов при сепсисе лежит так называемое таргетирование эндотелия сосудов продуктами воспаления и метаболитами возбудителя [1], приводящее к развитию общеорганизменной эндотелиальной дисфункции. Вместе с тем, в исследованиях *in vitro* показано, что бактериальные токсины индуцируют не массивное разрушение эндотелия, а его «тонкую структурно-функциональную альтерацию». Многие грамположительные бактерии, такие, как *S. pneumoniae*, *S. aureus*, *B. cereus* воздействуют на эндотелиальные клетки, выделяя поробразующие токсины, а грамотрицательные бактерии, например, *P. aeruginosa*, нарушают барьерную функцию эндотелия, воздействуя своими токсинами на гликокаликс эндотелия, цитоскелет и межэндотелиальные соединения [2].

Эндотелий обменных сосудов, к числу которых принадлежат капилляры и вены, представляет собой биологический барьер и одновременно избирательный фильтр, обеспечивающий беспрепятственный обмен определенными молекулами между кровью и тканями и задерживающий молекулы, не подлежащие обмену. В сосудах разных органов эндотелий имеет свою структурную и функциональную специфику (особенно в сосудах микроциркуляторного русла), однако основные принципы его организации общие для всех типов сосудов. Подробное знание физиологических свойств эндотелия сосудов необходимо не только для понимания морфогенетических основ его дисфункции при патологии (в том числе — при септическом поражении), но и для разработки эффективных мер по профилактике и реабилитации сосудистых нарушений как важнейшего патогенетического звена многих заболеваний. В этом плане заслуживает внимания современная трактовка особенностей строения эндотелия, благодаря которым осуществляются избирательная барьерная функция и реактивные изменения, поддерживается физиологический режим циркуляции крови и реализуются репаративные возможности эндотелиальной ткани после повреждения.

Гликокаликс эндотелия и его изменения при сепсисе

Структурные составляющие сосудистого эндотелия — гликокаликс, пласт эндотелиоцитов и базальная мембра-

на (или экстрацеллюлярный матрикс), на которой расположены эндотелиоциты — являются единой биологической системой, выполняющей ряд важнейших физиологических функций: регуляция сосудистого тонуса и сосудистой проницаемости, поддержание интраваскулярно-паравазального онкотического градиента, регуляция адгезии и миграции лейкоцитов, ингибирование внутрисосудистой тромбоза и др. [3].

В 1966 году A. Rambourg, M. Neutra и C.P. Leblond представили бесспорное доказательство существования у эукариотических клеток гликопротеинового метаминимом-серебра и метод электронной микроскопии, они обнаружили на поверхности клеток разных тканей крысы тонкий слой окрашенного материала. В эпителии этот слой покрывал микроворсинки эпителиоцитов, располагался на боковых частях клеток, а также между базальной поверхностью эпителиоцитов и базальной мембраной. В области межклеточных соединений, где плазмолеммы соседних эпителиальных клеток практически сливались, подобный слой становился очень тонким или исчезал. В том же году J.H. Luft, применив окраску ультратонких срезов рутением красным и метод электронной микроскопии, обнаружил тонкий слой гликокаликса на люминальной поверхности капилляров слизистой оболочки кишки крысы, т.е. на эндотелии. Его толщина составляла около 20 нм. Вплоть до начала XXI столетия данный показатель считался показателем толщины гликокаликса. Позднее, когда в практику гистологического исследования вошли методы быстрого замораживания тканей и конфокальной микроскопии, не требовавшие обезвоживания, способного повлиять на гликокаликс, было установлено, что показатель толщины гликокаликса может колебаться в пределах от 20 до 3000 нм в зависимости от использованного красителя, метода исследования, типа сосуда и специфики ткани. Структурными компонентами гликокаликса являются: протеогликаны, боковые цепи гликозаминогликанов и сиалопротеины. Протеогликаны состоят из основных белков, с которыми связаны гликозаминогликаны. Основные белки включают синдеканы, глипиканы и перлеканы. Связь протеогликанов с гликозаминогликанами (гепарин/гепаран-, хондроитин-, дерматан- и кератансульфатами, а также с гиалуронатом, или гиалуроновой кислотой) ковалентная. Молекулы гликозаминогликанов несут отрицательный заряд, что придает гликокаликсу свойство отрицательно заряженной поверхности. В естественных условиях гликозаминогликаны высоко гидратированы, с чем связана гелеобразная структура гликокаликса [4]. В составе эндотелиального гликокаликса присутствует три семейства молекул клеточной адгезии: селектина, интегрина и иммуноглобулинов. Как биологическая единица, гликокаликс выглядит в виде сетчатой структуры или «волоконистой матрицы» с регулярным расстоянием между «волоконцами» [5]. Отрицательный заряд гликокаликса, как полагают [6], «отталкивает» эритроциты, с чем может быть связано участие гликокаликса в регуляции доставки кислорода тканям. Гликокаликс служит эндотелию своеобразным «плащом», который выравнивает внутреннюю поверхность сосудов, что важно для физиологической гемодинамики. С люминальной поверхностью гликокаликса связаны альбумин, молекулы гиалуроновой кислоты, тромбомодулин и дру-

гие белки сыворотки крови. В норме между этими белками и компонентами гликокаликса существует динамическое равновесие, и кровь постоянно влияет на состав и толщину гликокаликса. Отрицательный заряд гликокаликса неравномерен по площади люминальной поверхности эндотелия и связывание с ним макромолекул может изменять структуру гликокаликса и распределение заряда [7]. Не исключено, что именно таким образом осуществляется влияние и, соответственно, проникновение через гликокаликс белков плазмы, в первую очередь, самого распространенного анионного белка — альбумина. Альбумин с молекулярной массой 67 кДа проникает в гликокаликс эндотелия практически с той же скоростью, что и другой более крупный белок плазмы — фибриноген, несмотря на трехкратную разницу в их молекулярной массе [8]. Хотя считается, что гликокаликс в определенных областях своей поверхности может «пропускать» разнозаряженные макромолекулы, эндотелий капилляров брыжейки лягушки, например, пропускает положительно заряженные молекулы глобулярного белка рибонуклеазы в два раза более эффективно, чем молекулы отрицательно заряженного лактальбумина, имеющего, примерно, одинаковый с рибонуклеазой размер молекулы и близкую к рибонуклеазе молекулярную массу [9]. Существует мнение, что гликокаликс защищает эндотелий от адгезии лейкоцитов, предотвращая тем самым миграцию нейтрофилов в отсутствие воспаления [10], вместе с тем, роль гликокаликса как регулятора нейтрофил-эндотелиального взаимодействия продолжает обсуждаться. Дополнительные доказательства в поддержку ключевого вклада гликокаликса в функцию эндотелиального барьера происходят из результатов экспериментов по разрушению гликокаликса или нейтрализации его отрицательного заряда. Деградация гликокаликса проназой и/или гепариназой приводила к увеличению проницаемости эндотелия капилляров и артериол для макромолекул независимо от изменения размеров межклеточных щелей в области соединений клеток друг с другом [11, 12]. Разрушение гликокаликса фотолизисом [12] или протеолизис гиалуронана, вызванный фактором некроза опухоли-альфа (англ. tumor necrosis factor- α , TNF- α) также повышали проницаемость эндотелия для макромолекул [13]. В других исследованиях нейтрализация отрицательного заряда гликокаликса эндотелия с помощью катионного ферритина или протамина [14] увеличивала трансэндотелиальную проницаемость альбумина меченого I^{125} . Поскольку небольшие количества гликокаликса присутствуют даже в области межклеточных контактов, было доказано [15, 16], что именно материал гликокаликса (а не собственно молекулярные элементы межклеточных соединений) противостоит «сетевой фильтрации» в этих участках. Детальные исследования различных микрососудов методом электронной микроскопии с использованием электронноплотных макромолекулярных трассеров, таких, как золото или гаптенизированный альбумин, показали, что в норме альбумин достигает щелей межэндотелиальных соединений, но не проходит через них. Более того, в физиологических условиях гликокаликс в области межэндотелиальных соединений имеет выраженную способность «отражения» альбумина из-за высокой плотности отрицательных электрических зарядов боковых цепей гликозаминогликанов [17]. При септическом воспалении повреждение гликокаликса увеличивает порозность эндотелия, и альбумин проника-

ет через щели межэндотелиальных соединений в паравасальное пространство [18]. Этот путь транспорта альбумина в интерстициальное пространство не характерен для нормы: в здоровом организме переход альбумина из полости сосудов в ткань осуществляется трансцеллюлярно, в небольших количествах, и возникающая физиологическая убыль альбумина из состава крови постоянно компенсируется за счет синтеза и секреции этого белка клетками печени. При сепсисе пораженные клетки печени не справляются с восполнением «утечки альбумина». Вместе с тем, согласно «модели парацеллюлярной проницаемости» физиологический онкотический градиент между внутрисосудистым и интерстициальным пространствами (обусловленный в значительной степени альбумином) поддерживается благодаря гликокаликсу, находящемуся в области межэндотелиальных соединений. Отрицательные заряды боковых цепей гликозаминогликанов ингибируют эндотелиальную адгезию тромбоцитов и эритроцитов, что способствует сохранению антикоагулянтных свойств эндотелия и физиологической реологии крови, а молекулы гепарансульфата гликокаликса связывают антитромбин III, предотвращая образование тромбов и способствуя поддержанию проходимости микрососудов. Неповрежденный гликокаликс защищает эндотелиальные клетки от окислительного стресса [19]. На протяжении многих лет было принято считать, что стабильность гликокаликса зависит от электростатических взаимодействий между его компонентами. В дальнейшем оказалось, что свойство стабильности гликокаликсу эндотелия придают электростатические связи между отрицательно заряженными гликозаминогликанами и положительно заряженными остатками аргинина в молекулах альбумина, присутствующего в сыворотке крови. В отсутствие альбумина гликокаликс эндотелиоцитов подвергается коллапсу. Сравнительно недавно механизм взаимодействия между белками сыворотки крови и гликокаликсом эндотелия был существенно уточнен. Так, было показано, что альбумин, как и другие белоксодержащие молекулы сыворотки крови, (например, липопротеины высокой плотности) связываются со сфингозин-1-фосфатом гликокаликса [20, 21], и именно сфингозин-1-фосфат опосредует воздействие альбумина на гликокаликс. Если же сфингозин-1-фосфат удаляется из гликокаликса, активируются матриксные металлопротеиназы-9 и -13, которые расщепляют эктодомен синдекана-1, связанный с гликозаминогликанами гликокаликса, и синдекан-1 в больших количествах выделяется в кровотоки (таблица).

Доказательства в поддержку этого «механизма потери гликокаликса» были получены при исследовании пациентов с травмами: в их крови с низким коллоидно-осмотическим давлением плазмы (что обусловлено низким содержанием белка) значительно увеличивалось содержание синдекана-1 [22]. При сепсисе уровни циркулирующего синдекана-1 коррелируют с уровнями воспалительных цитокинов в сыворотке крови [23]. Гликокаликс эндотелия выполняет также важнейшую функцию «механотрансдуктора»: конформационные изменения его молекул в ответ на напряжение сдвига передаются эндотелиальным клеткам посредством внутриклеточных доменов белков гликокаликса, что приводит к высвобождению эндотелиоцитами оксида азота — регулятора вазомоторного тонуса и периферического распределения кровотока, а, соответственно, и кислорода в тканях [24]. Высвобо-

дение оксида азота — производного эндотелиальной NO-синтазы, стабилизирует эндотелиальный барьер посредством активации киназы фокальной адгезии и рекрутирования дополнительных белковых комплексов фокальной адгезии к базальной поверхности эндотелиальных клеток [25].

При сепсисе гликокаликс выступает в качестве первой мишени для медиаторов воспаления. Присутствие сосудов практически во всех типах тканей объясняет множественный характер поражения органов, расположенных даже вдали от первичного очага инфекции. В условиях септического процесса происходят повсеместная деградация гликокаликса, изменение эндотелиальной проницаемости, появление гиповолемии и гипоальбуминемии, сдвиг объема интерстициальной жидкости и формирование отеков, изменение микрогемодинамики, микротромбообразование [26]. Именно поражение гликокаликса эндотелия может быть ответственно за острое нарушение функции почек, отказ дыхательной функции и поражение печени, приводящих нередко к смертельному исходу [27]. В качестве прогностических критериев степени эндотелиальной дисфункции и, соответственно, тяжести сепсиса, могут быть использованы некоторые маркеры деградации гликокаликса, например, уровни синдекана или селективных в плазме крови [28]. Эндокан также может высвобождаться из состава гликокаликса в ответ на действие медиаторов воспаления и служить биомаркером сепсиса, причем его уровни в периферической циркуляции также коррелируют с тяжестью патологического процесса [29]. Повреждение гликокаликса, в первую очередь, связано с увеличением парацеллюлярной проницаемости и оттоком альбумина и жидкой части крови в интерстициальное пространство по межэндотелиальным соединениям [25]. Происходящая при сепсисе деградация гепарансульфатов приводит к сдвигу физиологического равновесия между факторами про- и антикоагуляции в сторону прокоагу-

лянтного состояния и к последующему микротромбозу, а также усилению экспрессии молекул адгезии, потере антиоксидантных свойств эндотелия и последующему прогрессирующему окислительному повреждению [23]. Воздействие провоспалительных медиаторов, таких, как интерлейкин-1, -2, -6, фактор некроза опухоли альфа и ряда других молекул, концентрация которых в условиях острого воспаления возрастает (тромбин, васкулярный фактор роста, брадикинин, гистамин) приводит к увеличению присутствия в гликокаликсе белков, способствующих свертыванию крови, а также к адгезии и миграции лейкоцитов [30]. Липополисахарид грамотрицательных бактерий повышает экспрессию мРНК васкулярного эндотелиального фактора роста в макрофагах и индуцирует высвобождение этого фактора лейкоцитами и тромбоцитами [31]. Под влиянием васкулярного эндотелиального фактора роста активируется продукция коллагеназы в эндотелии и происходит протеолитическое нарушение базальной мембраны, что приводит к повышению сосудистой проницаемости [32]. По всей видимости, гликокаликс не является статическим элементом эндотелия, его компоненты постоянно обновляются и в случае повреждения способны восстанавливаться. Процесс восстановления гликокаликса, как и всего эндотелиального покрытия, особенно важен, когда происходит септическое поражение сосудов. Поскольку гепарансульфаты являются важнейшим элементом гликокаликса, влияющим на сохранение его структуры и функции, в процессе репарации, в первую очередь, должна происходить индукция биосинтеза гепарансульфатов (таблица). В этом плане заслуживают внимания результаты опытов [33] по моделированию несептической (с помощью гепариназы-III) и септической (методом перевязки слепой кишки и нанесения перфораций) деградации гликокаликса легочных сосудов у мышей с последующим исследованием механизма восстановления гликокаликса. В этих экспериментах показа-

Таблица

Отдельные звенья развития эндотелиальной дисфункции при сепсисе

<p>Последовательность появления в крови синдекана-1 — биохимического маркера сепсиса</p> <ul style="list-style-type: none"> — "утечка" альбумина из сосудов при воспалении; — выход из состава гликокаликса эндотелия сфингозин-1-фосфата, биохимически связанного с альбумином; — активация матриксных металлопротеиназ эндотелия (-9 и -13), вызванная потерей сфингозин-1-фосфата; — расщепление матриксными металлопротеиназами эктодомена синдекана-1, фиксирующего его молекулы к гликозаминогликанам гликокаликса эндотелия; — выделение синдекана-1 в кровь. 	<p>Потенциальное звено механизма репарации гликокаликса эндотелия в норме и его нарушение при сепсисе</p> <p>В норме при физиологическом восстановлении гликокаликса фрагменты гепарансульфатов в крови инициируют:</p> <ul style="list-style-type: none"> — активацию синтеза фактора роста фибробластов и экспрессию рецептора фактора роста фибробластов-1 клетками эндотелия; — это стимулирует образование в эндотелии фермента экстолизин-1, который активирует синтез гепарансульфатов и восстановление гликокаликса. <p>При сепсисе отсутствует экспрессия рецептора фактора роста фибробластов-1 в эндотелии, что служит одной из причин нарушения восстановления гликокаликса.</p>
<p>Фосфорилирование Ve-кадгерина — ключевое звено в нарушении адгезивных межэндотелиальных соединений при сепсисе</p> <p style="text-align: center;">Медиаторы воспаления и продукты распада тканей</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p style="text-align: center;">Активация Rho-ГТФазы</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p style="text-align: center;">Инициация фосфорилирования Ve-кадгерина, нарушение транс-взаимодействия его молекул, интернализация Ve-кадгерина</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p style="text-align: center;">Нарушение структуры и функции адгезивных соединений эндотелиоцитов</p>	

но, что после несептической деградации восстановление гликокаликса происходит быстро, что связано с индукцией фермента экзостозина-1 (англ. exostosin, EXT-1), индуцирующего биосинтез гепарансульфатов. В модели сепсиса присутствует иная картина: восстановление гликокаликса задерживается из-за угнетения экспрессии EXT-1. Как показали результаты этих опытов, быстрое восстановление гликокаликса после несептической деструкции, связано с индукцией в клетках эндотелия экспрессии рецептора фактора роста фибробластов-1 (англ. fibroblast growth factor receptor-1, FGFR1). Активация экспрессии FGFR1 происходила под влиянием фактора роста фибробластов, образование которого эндотелиоцитами стимулировали циркулирующие в крови фрагменты гепарансульфатов, высвободившиеся в результате деградации гликокаликса. Таким образом, FGFR1 служит важнейшим посредником в репарации гликокаликса (и эндотелия в целом) путем регуляции EXT1-индукции. При сепсисе действие этого посредника подавляется и поэтому септическая дисфункция эндотелия может быть не только следствием деградации гликокаликса как таковой, но и нарушения его физиологического репаративного механизма.

Межэндотелиальные соединения и экстрацеллюлярный матрикс эндотелия; их изменения при сепсисе

Эндотелиальные клетки соединены между собой сложным набором связующих белков, которые формируют межклеточные соединения, или контакты. Это: соединения по типу зон слипания (англ. adherens junctions, AJs); плотные соединения (англ. tight junctions, TJs) и щелевые соединения (англ. gap junctions, GJs). Соединения типов AJs и TJs представляют собой подобия «застежек-молний» вдоль границ эндотелиальных клеток, построенных из различных белковых молекул адгезии, которые непосредственно связаны с цитоскелетом эндотелиоцитов и участвуют в барьерно-транспортных процессах [34]. GJs, напротив, представляют собой трансмембранные каналы между соседними клетками, обеспечивающие прямую электрохимическую связь между эндотелиоцитами посредством пассажа ионов и сигнальных молекул [35]. Структуры межклеточных соединений в эндотелии родственны таковым в клетках эпителиальных тканей. Однако их организация более вариабельна. Все типы межклеточных соединений в эндотелии, как правило, «перемешаны», различаются по протяженности и толщине цитозольных белковых слоев. Вблизи люминальной поверхности эндотелия располагаются в основном контакты типа GJs, в то время как «апикальными соединениями» служат TJs и AJs. Особенности межклеточных соединений, отличающие эндотелий от эпителиальных тканей, в определенной степени связаны с толщиной эндотелиоцитов. За некоторым исключением толщина тел эндотелиальных клеток в микрососудах менее 0,3 мкм, и для обеспечения надежной межклеточной фиксации перекрывающиеся отростки соседних эндотелиоцитов (так называемые контактные домены) имеют значительную протяженность — от 0,5 до 0,9 мкм. В отдельных сосудах (как артериолах, так и венах) протяженность контактных доменов может достигать 3—10 мкм [36].

AJs на ультраструктурном уровне идентифицируются как области тесного соприкосновения плазматических

мембран эндотелиальных клеток. В регуляции функции эндотелиального барьера этот тип межэндотелиальных клеточных соединений имеет важнейшее значение [37], опосредуя «прилипание» клеток друг к другу. Адгезия клеток в этом типе соединений осуществляется молекулами специфического эндотелиального белка — Ve-кадгерина (известного также как CDH5 и CD144), гомофильно взаимодействующими друг с другом по типу транс-взаимодействия [38] и образующими боковые цис-связи. Через цитоплазматический домен молекулы Ve-кадгерина связаны с так называемыми «белками-партнерами»: белком p120, бета-катенином и плакоглобином [39], которые обеспечивают связь межклеточного соединения с цитоскелетом и стабилизируют положение молекул Ve-кадгерина. AJs соединения динамичные, но жестко контролируются механизмами фосфорилирования белков (таблица) и реорганизации актомиозинового цитоскелета. Так, фосфорилирование Ve-кадгерина приводит к диссоциации Ve-кадгерин-катенинового комплекса и интернализации Ve-кадгерина, что завершается повышением проницаемости эндотелия. Разные факторы, включая фактор роста эндотелия сосудов (англ. vascular endothelial growth factor, VEGF) могут индуцировать тирозин-фосфорилирование Ve-кадгерина, приводя к увеличению сосудистой проницаемости и диапедезу лейкоцитов [40]. Фосфорилирование компонентов AJs предотвращается ферментами фосфатазами (англ. junction-associated phosphatases), в частности, сосудистой эндотелиальной белковой тирозин-фосфатазой. Медиаторы воспаления вызывают выраженную активацию RhoA ГТФазы, индуцируя фосфорилирование Ve-кадгерина и приводя к его расщеплению и резорбции. В опытах [41] было показано, что делеция гена Ve-кадгерина у мышей приводит к летальности животных еще в эмбриогенезе по причине нарушения развития сосудистой системы. Экспрессия гена мутантного кадгерина, лишённого внеклеточного домена, осуществляющего «межклеточную сцепку», результировалась в «протекании» барьера в области AJs [42]. Экспериментальное нарушение гомотипического связывания молекул Ve-кадгерина путем применения специфических антител существенно повышало проницаемость эндотелия для макромолекул [43]. Хелатирование внеклеточного Ca^{2+} с использованием этилендиаминтетрауксусной кислоты (англ. ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) также увеличивало проницаемость микрососудов в легких, однако последняя достаточно легко восстанавливалась после насыщения среды внеклеточным Ca^{2+} . Вместе с тем, аппликация антител, нейтрализующих Ve-кадгерин, усиливала увеличение проницаемости микрососудов, индуцированное хелатированием Ca^{2+} , и предотвращала восстановление нормальной реакции проницаемости после насыщения внеклеточным Ca^{2+} [44]. Важную роль в регулировании сборки AJs играют белки катенины. Экспрессия Ve-кадгерина, лишённого бета-катенин-связывающего сайта, снижала прочность межклеточной адгезии и препятствовала связыванию актинового цитоскелета с молекулами AJs [45]. Инактивация самого бета-катенина также заметно редуцировала способность эндотелиальных клеток поддерживать функционально полноценные межклеточные соединения [46]. Предполагается, что в AJs бета-катенин и плакоглобин связаны с актином цитоскелета через молекулу альфа-катенина. Связь p120-катенина с Ve-кадгерином также играет определенную роль в организации AJs и ре-

гуляции эндотелиальной проницаемости, однако в отличие от бета-катенина и плакоглобина, p120-катенин не взаимодействует с цитоскелетом эндотелиоцитов. Нарушение молекулярной Ve-кадгерин-композиции является ведущей причиной развития тканевого отека при разных патологических состояниях, в том числе при сепсисе. Важная роль в «разборке или сборке» AJs в норме и при патологии (и, соответственно, в увеличении или уменьшении парацеллюлярной проницаемости эндотелия) принадлежит цитоскелету эндотелиальных клеток. Такие посредники воспаления, как тромбин, фактор некроза опухоли-альфа, липополисахарид, связываясь со своими специфическими рецепторами на эндотелиальных клетках, вызывают увеличение цитозольной концентрации Ca^{2+} и активацию киназы легкой цепи миозина, а также мономерной RhoA-ГТФазы, что результируется в нарушении AJs. Барьер-стабилизирующими агентами AJs являются сфингозин-1-фосфат и циклический аденозина монофосфат (цАМФ) [47]. Демонтаж AJs является ведущей причиной возрастания проницаемости микрососудов и отека тканей при разнообразных патологических состояниях в значительной степени из-за нарушения целостности Ve-кадгеринового адгезионного комплекса [48]. Другим важным кадгерином эндотелиальных клеток является нейтральный (N-) кадгерин: он опосредует взаимодействие между эндотелиальными клетками и окружающими гладкими миоцитами, а также перицитами сосудистой стенки и необходим для созревания и стабилизации сосудистого эндотелия [49, 50]. Делеция гена N-кадгерина в эндотелиальных клетках вызывает гибель эмбрионов из-за тяжелых сосудистых дефектов [51].

TJs также вносят свой вклад в поддержание барьерной функции эндотелия и регулируют парацеллюлярный путь движения ионов и растворенных веществ. Они состоят из трансмембранных белков окклюдина и клаудина и цитоплазматических ZO-белков -1, -2 и -3, (от англ. zonula occludens), относящихся к семейству мембран-связанных гуанилат-киназ (англ. membrane-associated guanylate kinases, MAGUKs) и осуществляющих связь клаудина и окклюдина с актиновым цитоскелетом эндотелиоцитов [52]. Ведущим структурным белком TJs в кровеносных сосудах всех типов является клаудин-5, тогда как клаудины -1, -3, -12 специфичны, в основном, для сосудов микроциркуляторного русла мозга. Вместе с тем, результаты исследований на животных [53], показали, что делеция гена клаудина-5 представляет угрозу для новорожденных животных по причине увеличения проницаемости гематоэнцефалического барьера. В TJs сосудов сетчатки обнаруживаются клаудины-1, -2 и -5 [54]. Решающую роль в связывании клаудинов и окклюдина с актиновым цитоскелетом эндотелиоцитов играет белок ZO-1. Кроме функции крепления клаудинов и окклюдина к цитоскелету, ZO-1 может регулировать перекрестное взаимодействие между TJs и AJs через контроль внутриклеточного напряжения и сборку механосенсорного комплекса Ve-кадгерина [55]. Снижение экспрессии ZO-1 клетками эндотелия приводит к интенсивной утечке плазмы крови. Архитектура, состав и численность межэндотелиальных TJs, а также соотношение Ajs/TJs в эндотелии разных сосудов варьируют. Так, TJs более представлены в небольших артериолах, тогда как AJs преобладают в посткапиллярных венах. TJs локализованы на самых внешних (ближе к люминальной поверхности) участках эндотелия, но могут и чередо-

ваться здесь с AJs [56]. В высокоспециализированных микрососудистых бассейнах, например, в составе гематоэнцефалического и гематоретинального барьеров, где обменно-транспортные процессы в достаточной степени ограничены, TJs являются доминирующими межэндотелиальными соединениями [57]. При электронной микроскопии TJs идентифицируются как небольшие участки слияния плазмолемм соседних эндотелиоцитов. Исследования методом замораживания-скалывания показали, что организация этих соединений варьирует на протяжении эндотелия. Существуют данные, что уровень экспрессии окклюдина коррелирует с повышением барьерных свойств эндотелия, и эндотелий артерий, который значительно менее проницаем, чем эндотелиальный барьер венул, характеризуется значительно более высокой экспрессией этого белка [58]. Вместе с тем, опыты, проведенные на «окклюдин-минус» мышах, не выявили изменений в морфологии и функции TJs [50]. В составе TJs идентифицированы также три типа молекул межклеточной адгезии (англ. intercellular adhesion molecules, JAMs): JAM-1 (первоначально известный как JAM), JAM-2, и JAM-3 [60]. JAMs принадлежат к суперсемейству иммуноглобулинов, причем JAM-3 экспрессируется исключительно в эндотелиальных клетках и может служить их иммуногистохимическим маркером. Функции JAMs и основы их локализации в межэндотелиальных соединениях пока мало изучены.

Щелевые межэндотелиальные соединения (GJs) построены каждое из двух строго сопоставленных белковых полуканалов (коннексонов) в плазмолеммах соседних эндотелиальных клеток. Коннексон состоит из шести молекул белка коннексина. Полуканалы могут быть гомомерными — собранными из одной изоформы коннексина, или гетеромерными — из разных изоформ коннексина. Каналы, состоящие из разных изоформ, проявляют разную ионную селективность и проницаемость по сравнению с гомомерными каналами [61, 62]. Межклеточный канал коннексонов имеет около 2 нм в диаметре и может находиться в открытой или закрытой конфигурации. В эндотелиальных клетках систематически экспрессируются три изоформы коннексина — Cx37, Cx40, Cx43. GJs отвечают за взаимодействие между эндотелиальными, а также эндотелиальными и гладкомышечными клетками. В моделях на животных делеция Cx43 в эндотелиальных клетках вызывала гипотензию [63], в то время как делеция Cx40 приводила к гипертензии, связанной с нарушением регуляции системы ренина [64]. Исследования *in situ* эндотелия микрососудов легких крыс показали, что через GJs осуществляется продольное распространение «волн катионов кальция» [65] и таким способом GJs обеспечивают электротонические и метаболические пути для прямого межклеточного переноса сигнальных молекул и ионов. Пропускная способность каналов GJs подчиняется регулинге с помощью фосфорилирования коннексонов [66]. Интересные и важные факты относительно регуляции GJs эндотелия были получены S.A. Mensah и соавторами в 2017 году [67] при изучении восстановительной способности эндотелиоцитов эпидидимальных жировых подушечек крыс после экспериментальной дегградации гликокаликса гепариназой-III в условиях культуры. Эти клетки имеют толстый и жесткий гликокаликс и реагируют на сдвиговое напряжение аналогично другим эндотелиальным клеткам. Примененная авторами модель фер-

ментативной деструкции имитировала патологические состояния, при которых происходит отщепление гликозаминогликанов от гликокаликса и выделение в кровоток. Показано, что ферментативная деградация наиболее представленного в гликокаликсе гликозаминогликана — гепарансульфата снижает вдвое присутствие белка щелевых контактов Сх43 по периметру эндотелиальных клеток (т.е. в тех участках, где присутствуют и работают GJs). Предпринятая авторами обработка клеток экзогенным гепарансульфатом совместно с сфингозин-1-фосфатом приводила к 95% восстановлению белка Сх43 на границах эндотелиоцитов. Проведенный параллельно анализ переноса флуоресцирующей краски «люцифер желтый» выявил двукратное снижение ее передачи между клетками, подвергшимися ферментативной деградации гепарансульфатов, что по заключению авторов связано с уменьшением числа открытых каналов GJs. При попытке восстановления гликокаликса путем экзогенного введения гепарансульфата каналы GJs оставались закрытыми. В качестве наиболее вероятного объяснения этого авторы предположили возможную низкую стабильность восстановленного гликокаликса и нестабильность связи цитоскелета с элементами межклеточных соединений, что привело к неправильному сопоставлению коннексонов без формирования канала соединения. Результаты указанного эксперимента подчеркивают важное значение физиологического состояния гликокаликса для поддержания экспрессии белка Сх43 и формирования обменных щелевых контактов в эндотелии, необходимых для полноценного межклеточного обмена метаболитами, ионами и сигнальными молекулами и, таким образом, — существования эндотелиальной ткани как единой биологической системы. GJs, образованные Сх43, признаны важнейшими в регуляции сосудистого тонуса и распространении провоспалительных сигналов. Отмечена также важная роль коннексонов в регулировании производства оксида азота с возможным влиянием на эндотелиальную проницаемость. Существует предположение о связи Сх43 с ZO-1 и спектрином и, соответственно, о возможном взаимодействии между GJs, TJs и актиновым цитоскелетом, что важно для сохранения целостности эндотелиального барьера.

Экстрацеллюлярный матрикс, или базальная мембрана эндотелия (англ. extracellular matrix, ЕСМ) состоит из коллагена IV типа, фибронектина, энтактина, ламинина, хондроитинсульфата, гепарансульфата, перлекана и синдекана [68] и имеет толщину около 40-60 нм. Помимо этого, ЕСМ содержит матрикс-связанные белки: тромбоспондин и секреторный кислый белок богатый цистеином (англ. secreted protein acidic and rich in cysteine, SPARC). Эндотелиальные клетки сосудов сохраняют способность постоянно ремоделировать ЕСМ. Структурные элементы ЕСМ существенно влияют на проницаемость эндотелия: высвобождение фибронектина из состава ЕСМ в культивируемых монослоях эндотелия выражается в двух-трехкратном увеличении эндотелиальной проницаемости альбумина [69]. В некоторых случаях авторам этих экспериментов удавалось увеличить барьерные свойства монослоя эндотелия «возвращая фибронектин плазмы» в ЕСМ. Функцию барьера эндотелия поддерживают и другие белки ЕСМ. Деградация гиалурана гиалуронидазой повышает проницаемость монослоев эндотелия в результате увеличения гидравлической проводимости ЕСМ,

в связи с чем потеря гиалурана ЕСМ может нарушить эндотелиальный барьер по отношению к жидкости [70]. Ферментативная деградация коллагенов и фибронектина цинк-зависимыми металлопротеазами — желатиназой-А и желатиназой-В способствует активации проницаемости монослоев культивированных эндотелиальных клеток [71] и приводит к отеку легких у кролика.

Заключение

Несмотря на достаточно обширную научную информацию о структурно-функциональном статусе сосудистого эндотелия в норме и при патологии, многие важные аспекты тонкой организации и регуляции жизнедеятельности этой ткани, ее физиологических и репаративных свойств, остаются недостаточно изученными. Отсутствует целостное представление о закономерностях развития эндотелиальной дисфункции, составляющей важнейшее патогенетическое звено при целом ряде заболеваний (в том числе при сепсисе), не получено окончательного объяснения разной глубины поражения органов при сепсисе и септическом шоке с позиций эндотелиальной дисфункции. В то же время, ответы на эти и некоторые другие вопросы позволили бы уточнить патогенетические детали сепсиса, понять, насколько значима роль морфологических особенностей микроциркуляторного русла органа для реактивного ответа при сепсисе, существует ли очередность поражения функций органов при сепсисе, насколько обратимы повреждения сосудов и органов в целом в динамике развития сепсиса и многое другое. Продолжение научных исследований по изучению патогенеза сепсиса и септического шока в направлении углубленного изучения значения фактора эндотелиальной дисфункции необходимо для разработки эффективных мер борьбы с сепсисом и снижения уровня летальности при этой грозной патологии.

References

1. Grandel U, Grimminger F. Endothelial responses to bacterial toxins in Sepsis. *Crit. Rev. Immunol.* 2003; 23(4): 267-99.
2. Lubkin A., Torres V.J. Bacteria and Endothelial Cells: A Toxic Relationship. *Curr. Opin. Microbiol.* 2017; 35: 58-63. DOI: 10.1016/j.mib.2016.11.008
3. Frati-Munari A.C. Medical significance of endothelial glycocalyx. *Arch. Cardiol. Mex.* 2013; 83: 303-312. DOI: 10.1016/j.acmx.2013.04.015
4. Schmidt E.P., Kuebler W.M., Lee W.L., Downey G.P. Adhesion molecules: master controllers of the circulatory system. *Compr. Physiol.* 2016; 6: 945-973. DOI: 10.1002/cphy.c150020
5. Squire J.M., Chew M., Nneji G., Neal C., Barry J., Michel C. Quasi-periodic substructure in the microvessel endothelial glycocalyx: a possible explanation for molecular filtering? *J. Struct. Biol.* 2001; 136: 239-255. DOI:10.1006/jsbi.2002.4441
6. Damiano E.R. The effect of the endothelial-cell glycocalyx on the motion of red blood cells through capillaries. *Microvasc. Res.* 1998; 55: 77-91.
7. Pries A.R., Secomb T.W., Gaetgens P. The endothelial surface layer. *Pflugers Arch.* 2000; 440: 653-667.
8. Vink H., Duling B.R. Capillary endothelial surface layer selectively reduces plasma solute distribution volume. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2000; 278: 285-289. DOI:10.1152/ajpheart.2000.278.1.H285
9. Adamson R.H., Huxley V.H., Curry F.E. Single capillary permeability to proteins having similar size but different charge. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 1988; 254: 304-312.
10. Schmidt E.P., Yang Y., Janssen W.J., Gandjeva A., Perez M.J., Barthel L., Zemans R.L., Bowman J.C., Koyanagi D.E.,

- Yunt Z.X., Smith L.P., Cheng S.S., Overdier K.H., Thompson K.R., Geraci M.W., Douglas I.S., Pearse D.B., Tuder R.M. The pulmonary endothelial glycocalyx regulates neutrophil adhesion and lung injury during experimental sepsis. *Nat. Med.* 2012; 18: 1217-1223.
11. Huxley V.H., Williams D.A. Role of a glycocalyx on coronary arteriole permeability to proteins: evidence from enzyme treatments. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2000; 278: 1177-1185. DOI:10.1152/ajpheart.2000.278.4.H1177
12. Vink H., Duling B.R. Identification of distinct luminal domains for macromolecules, erythrocytes, and leukocytes within mammalian capillaries. *Circ. Res.* 1996; 79: 581-589.
13. Henry C.B., Duling B.R. TNF-alpha increases entry of macromolecules into luminal endothelial cell glycocalyx. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2000; 279: 2815-2823. DOI:10.1152/ajpheart.2000.279.6.H2815
14. Malik A., Siflinger-Birnboim A. *Vascular Endothelial Barrier Function and Its Regulation*. New York: Plenum, 1993.
15. Curry F.E., Michel C.C. A fiber matrix model of capillary permeability. *Microvasc. Res.* 1980; 20: 96-99.
16. Adamson R.H., Lenz J.F., Zhang X., Adamson G.N., Weinbaum S., Curry F.E. Oncotic pressures opposing filtration across non-fenestrated rat microvessels. *J. Physiol.* 2004; 557: 889-907. DOI: 10.1113/jphysiol.2003.058255
17. Yuan S., Rigor R. *Structure and function of exchange microvessels. In Regulation of Endothelial Barrier Function*. Edited by Granger D.N. and Granger J.P. San Rafael: Morgan & Claypool Life Sciences. 2010; 1-13.
18. Woodcock T.E., Woodcock T.M. Revised Starling equation and the glycocalyx model of transvascular fluid exchange: an improved paradigm for prescribing intravenous fluid therapy. *Br. J. Anaesth.* 2012; 108: 384-394. DOI: 10.1093/bja/aer515
19. Frati-Munari A.C. Medical significance of endothelial glycocalyx. *Arch. Cardiol. Mex.* 2013; 83: 303-312. DOI: 10.1016/j.acmx.2013.04.015
20. Curry F.R.E., Adamson R.H. Sphingosine-1-phosphate and the «albumin effect» on rat venular microvessels. *Faseb. J.* 2013; 27: 896.
21. Zeng Y., Adamson R.H., Curry F.R., Tarbell J.M. Sphingosine-1-phosphate protects endothelial glycocalyx by inhibiting syndecan-1 shedding. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2014; 306: 363-372. DOI:10.1152/ajpheart.00687.2013
22. Rahbar E., Ardenas J.C., Baimukanova G. Endothelial glycocalyx shedding and vascular permeability in severely injured trauma patients. *J. Transl. Med.* 2015; 13: 117. DOI: 10.1186/s12967-015-0481-5
23. Haywood-Watson R.J., Holcomb J.B., Gonzalez E.A., Peng Z., Pati S., Park P.W., Wang W., Zaske A.M., Menge T., Kozar R.A. Modulation of syndecan-1 shedding after hemorrhagic shock and resuscitation. *PLoS One.* 2011; 6: e23530. DOI: 10.1371/journal.pone.0023530
24. Kolarova H., Ambruzova B., Svihalkova Sindlerova L., Klinke A., Kubala L. Modulation of endothelial glycocalyx structure under inflammatory conditions. *Mediators Inflamm.* 2014; 2014: 694312 DOI: 10.1155/2014/694312
25. Yuan S.Y. Protein kinase signaling in the modulation of microvascular permeability. *Vasc Pharmacol.* 2002; 39: 213-223.
26. Salmon A.H., Satchell S.C. Endothelial glycocalyx dysfunction in disease: albuminuria and increased microvascular permeability. *J. Pathol.* 2012; 226: 562-574. DOI: 10.1002/path.3964
27. Chelazzi C., Villa G., Mancinelli P., De Gaudio A.R., Adembri Ch. Glycocalyx and sepsis-induced alterations in vascular permeability. *Crit. Care.* 2015; 19(1): 26. DOI: 10.1186/s13054-015-0741-z
28. Steppan J., Hofer S., Funke B., Brenner T., Henrich M., Martin E., Weitz J., Hofmann U., Weigand M.A. Sepsis and major abdominal surgery lead to flaking of the endothelial glycocalyx. *J. Surg. Res.* 2011; 165: 136-141. DOI: 10.1016/j.jss.2009.04.034
29. Paulus P., Jennewein C., Zacharowski K. Biomarkers of endothelial dysfunction: can they help us deciphering systemic inflammation and sepsis? *Biomarkers.* 2011; 16(Suppl 1): S11-21. DOI: 10.3109/1354750X.2011.587893
30. Karamysheva A.F. Mechanisms of angiogenesis. *Biochemistry (Mosc).* 2008; 73: 751-762.
31. Nakamura T., Ushiyama C., Suzuki Y., Shoji H., Shimada N., Koide H. Hemoperfusion with polymyxin B immobilized fibers for urinary albumin excretion in septic patients with trauma. *ASAIO J.* 2002; 48: 244-248.
32. Hippenstiel S., Krull M., Ikemann A., Risau W., Clauss M., Suttrop N. VEGF induces hyperpermeability by a direct action on endothelial cells. *Am. J. Physiol.* 1998; 274: 678-684.
33. Yang Y., Haeger S.M., Sufliya M.A., Zhang F., Dailey K.L. Fibroblast Growth Factor Signaling Mediates Pulmonary Endothelial Glycocalyx Reconstitution. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2017; 56: 727-737. DOI: 10.1165/rcmb.2016-0338OC
34. Huttner I., Boutet M., More R.H. Gap junctions in arterial endothelium. *J. Cell Biol.* 1973; 57: 247-252.
35. Qu Y., Dahl G. Accessibility of cx46 hemichannels for uncharged molecules and its modulation by voltage. *Biophysical Journal.* 2004; 86: 1502-1509. DOI: 10.1016/S0006-3495(04)74218-6
36. Franke W.W., Cowin P., Grund C., Kuhn C., Kapprell H.P. *The endothelial junction: the plaque and its component*. Edited by N. Simionescu, M. Simionescu. Endothelial Cell Biology in Health and Diseases, Plenum Publishing Corporation, New York. 1988; 147-166.
37. Bazzoni G., Dejana E. Endothelial cell-to-cell junctions: molecular organization and role in vascular homeostasis. *Physiol. Rev.* 2004; 84: 869-901. DOI:10.1152/physrev.00035.2003
38. Patel S.D., Ciatto C., Chen C.P., Bahna F., Rajebhosale M., Arkus N., Schieren I., Jessell T.M., Honig B., Price S.R., Shapiro L. Type II cadherin ectodomain structures: implications for classical cadherin specificity. *Cell.* 2006; 124: 1255-68. DOI:10.1016/j.cell.2005.12.046
39. Lampugnani M.G., Corada M., Caveda L., Breviario F., Ayalon O., Geiger B., Dejana E. The molecular organization of endothelial cell to cell junctions: Differential association of plakoglobin, beta-catenin, and alpha-catenin with vascular endothelial cadherin (ve-cadherin). *J. Cell Biol.* 1995; 129: 203-217.
40. Dejana E., Orsenigo F. Endothelial adherens junctions at a glance. *J. Cell Sci.* 2013; 126(12): 2545-2549. DOI: 10.1242/jcs.124529
41. Vittet D., Buchou T., Schweitzer A., Dejana E., Huber P. Targeted null-mutation in the vascular endothelial-cadherin gene impairs the organization of vascular-like structures in embryoid bodies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997; 94: 6273-6278.
42. Broman M., Kouklis P., Jho D., Gao X., Malik A. Expression of cytoplasmic domain of VE-cadherin in vivo induces Cdc42-dependent increase in endothelial permeability *FASEB J.* 2002; 16: A404.
43. Corada M., Liao F., Lindgren M., Lampugnani M.G., Breviario F., Frank R., Muller W.A., Hicklin D.J., Bohlen P., Dejana E. Monoclonal antibodies directed to different regions of vascular endothelial cadherin extracellular domain affect adhesion and clustering of the protein and modulate endothelial permeability. *Blood.* 2001; 97: 1679-1684.
44. Gao X., Kouklis P., Xu N., Minshall R.D., Sandoval R., Vogel S.M., Malik A.B. Reversibility of increased microvessel permeability in response to VE-cadherin disassembly. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2000; 279: 1218-1225.
45. Navarro P., Caveda L., Breviario F., Mandoteanu I., Lampugnani M.G., Dejana E. Catenin-dependent and -independent functions of vascular endothelial cadherin. *J. Biol. Chem.* 1995; 270: 30965-30972.
46. Cattelino A., Liebner S., Gallini R., Zanetti A., Balconi G., Corsi A., Bianco P., Wolburg H., Moore R., Oreda B., Kemler R., Dejana E. The conditional inactivation of the beta-catenin gene in endothelial cells causes a defective vascular pattern and increased vascular fragility. *J. Cell Biol.* 2003; 162: 1111-1122. DOI:10.1083/jcb.200212157
47. Vandenbroucke E., Mehta D., Minshall R., Malik A.B. Regulation of endothelial junctional permeability. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2008; 1123: 134-145. DOI: 10.1196/annals.1420.016
48. Frye M., Dierkes M., Kuppers V., Vockel M., Tomm J., Zeuschner D., Rossaint J, Zarbock A, Koh GY, Peters K, Nottebaum AF, Vestweber D. Interfering with ve-ptp stabilizes endothelial junctions in vivo via tie-2 in the absence of ve-cadherin. *J. Exp. Med.* 2015; 212: 2267-2287. DOI:10.1084/jem.20150718
49. Gerhardt H., Wolburg H., Redies C. N-cadherin mediates pericytic-endothelial interaction during brain angiogenesis in the chicken. *Dev. Dyn.* 2000; 218: 472-479.
50. Tillet E., Vittet D., Feraud O., Moore R., Kemler R., Huber P. N-cadherin deficiency impairs pericyte recruitment, and not endothelial differentiation or sprouting, in embryonic stem cell-derived angiogenesis. *Exp. Cell Res.* 2005; 310: 392-400. DOI: 10.1016/j.yexcr.2005.08.021
51. Luo Y., Radice G.L. N-cadherin acts upstream of ve-cadherin in controlling vascular morphogenesis. *J. Cell Biol.* 2005; 169: 29-34. DOI: 10.1083/jcb.200411127

52. Schneeberger E.E., Lynch R.D. The tight junction: A multifunctional complex. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2004; 286: 1213-1228. DOI: 10.1152/ajpcell.00558.2003
53. Nitta T., Hata M., Gotoh S., Seo Y., Sasaki H., Hashimoto N., Furuse M., Tsukita S. Size-selective loosening of the blood-brain barrier in claudin-5-deficient mice. *J. Cell Biol.* 2003; 161: 653-666. DOI:10.1083/jcb.200302070
54. Luo Y., Xiao W., Zhu X., Mao Y., Liu X., Chen X., Huang J., Tang S., Rizzolo L.J. Differential expression of claudins in retinas during normal development and the angiogenesis of oxygen-induced retinopathy. *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.* 2011; 52: 7556-7564. DOI: 10.1167/iovs.11-7185
55. Tornavaca O., Chia M., Dufton N., Almagro L.O., Conway D.E., Randi A.M., Schwartz M.A., Matter K., Balda M.S. Zo-1 controls endothelial adherens junctions, cell-cell tension, angiogenesis, and barrier formation. *J. Cell Biol.* 2015; 208: 821-838. DOI: 10.1083/jcb.201404140
56. Simionescu M., Simionescu N., Palade G.E. Segmental differentiations of cell junctions in the vascular endothelium. Arteries and veins. *J. Cell Biol.* 1976; 68: 705-723.
57. Wolburg H., Lippoldt A. Tight junctions of the blood-brain barrier: Development, composition and regulation. *Vascul. Pharmacol.* 2002; 38: 323-337.
58. Kevil C.G., Okayama N., Trocha S.D., Kalogeris T.J., Coe L.L., Specian R.D., Davis C.P., Alexander J.S. Expression of zonula occludens and adherens junctional proteins in human venous and arterial endothelial cells: role of occludin in endothelial solute barriers. *Microcirculation.* 1998; 5: 197-210.
59. Saitou M., Furuse M., Sasaki H., Schulzke J.D., Fromm M., Takano H., Noda T., Tsukita S. Complex phenotype of mice lacking occludin, a component of tight junction strands. *Mol. Biol. Cell.* 2000; 11: 4131-4142. DOI:10.1091/mbc.11.12.4131
60. Aurrand-Lions M., Duncan L., Ballestrem C., Imhof B.A. JAM-2, a novel immunoglobulin superfamily molecule, expressed by endothelial and lymphatic cells. *J. Biol. Chem.* 2001; 276: 2733-2741. DOI: 10.1074/jbc.M005458200
61. Beyer E.C., Gemel J., Martinez A., Berthoud V.M., Valiunas V., Moreno A.P., Brink P.R. Heteromeric mixing of connexins: Compatibility of partners and functional consequences. *Cell Commun. Adhes.* 2001; 8: 199-204.
62. Cottrell G.T., Burt J.M. Heterotypic gap junction channel formation between heteromeric and homomeric cx40 and cx43 connexons. *American journal of physiology. Cell physiology.* 2001; 281: 1559-1567. DOI:10.1152/ajpcell.2001.281.5.C1559
63. Liao Y., Day K.H., Damon D.N., Duling B.R. Endothelial cell-specific knockout of connexin 43 causes hypotension and bradycardia in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2001; 98: 9989-9994. DOI:10.1073/pnas.171305298
64. Krattinger N., Capponi A., Mazzolai L., Aubert J.F., Caille D., Nicod P., Waeber G., Meda P., Haefliger J.A. Connexin40 regulates renin production and blood pressure. *Kidney international.* 2007; 72: 814-822. DOI:10.1038/sj.ki.5002423
65. Ying X., Minamiya Y., Fu C., Bhattacharya J. Ca²⁺ waves in lung capillary endothelium. *Circ. Res.* 1996; 79: 898-908.
66. Xie H., Laird D.W., Chang T.H., Hu V.W. A mitosis-specific phosphorylation of the gap junction protein connexin43 in human vascular cells: biochemical characterization and localization. *J. Cell Biol.* 1997; 137: 203-210.
67. Mensah S.A., Cheng M.J., Homayoni H., Plouffe Br.D., Courry A.J., Ebong E.E. Regeneration of glycocalyx by heparan sulfate and sphingosine 1-phosphate restores inter-endothelial communication. *PLoS One.* 2017; 12(10): e0186116. DOI: 10.1371/journal.pone.0186116
68. Kalluri R. Basement membranes: structure, assembly and role in tumour angiogenesis. *Nat Rev. Cancer.* 2003; 3(6): 422-433. DOI:10.1038/nrc1094
69. Partridge C.A., Horvath C.J., Del Vecchio P.J., Phillips P.G., Malik A.B. Influence of extracellular matrix in tumor necrosis factor-induced increase in endothelial permeability. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 1992; 263: 627-633. DOI:10.1152/ajplung.1992.263.6.L627
70. Qiao R.L., Wang H.S., Yan W., Odekon L.E., Del Vecchio P.J., Smith T.J., Malik A.B. Extracellular matrix hyaluronan is a determinant of the endothelial barrier. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 1995; 269: 103-109.
71. Partridge C.A., Jeffrey J.J., Malik A.B. A 96-kDa gelatinase induced by TNF-alpha contributes to increased microvascular endothelial permeability. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 1993; 265: 438-447. DOI:10.1152/ajplung.1993.265.5.L438

Сведения об авторах:

Кубатиев Аслан Амирханович — доктор медицинских наук, академик РАН, научный руководитель Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

Боровая Татьяна Геннадьевна — доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник лаборатории индикации и ультраструктурного анализа микроорганизмов Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Жуховицкий Владимир Григорьевич — кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией индикации и ультраструктурного анализа микроорганизмов Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации; профессор кафедры инфектологии и вирусологии Института профессионального образования Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Черкасова Мария Николаевна — младший научный сотрудник лаборатории индикации и ультраструктурного анализа микроорганизмов Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Андреевская Светлана Георгиевна — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории индикации и ультраструктурного анализа микроорганизмов Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Шевлягина Наталья Владимировна — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории индикации и ультраструктурного анализа микроорганизмов Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации