

УДК 616-092.9

Гипергомоцистеинемия усиливает негативное влияние ЛПС *Salmonella Typhimurium* на сократимость сосудов и экспрессию генов рецепторных и регуляторных белков у крыс

Кожевникова Л.М., Суханова И.Ф., Иванов А.В., Александрин В.В.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».

125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

Наиболее тяжелым проявлением SARS-CoV-2 инфекции является развитие острого респираторного дистресс-синдрома. Высокий уровень гомоцистеина в крови пациентов – прогностически неблагоприятный фактор течения COVID-19 инфекции. Также развитие полиорганной недостаточности при COVID-19 инфекции часто утяжеляется эндотоксемией. **Цель исследования.** Изучение влияния гипергомоцистеинемии и липополисахарида (ЛПС) *Salmonella Typhimurium* на сократимость аорты и почечной артерии крыс и экспрессию генов рецепторных и регуляторных белков.

Методики. Моделирование гипергомоцистеинемии проводили путем добавления в воду L-метионина в концентрации 5 г/л (0,5%) в течение 14 дней. Эндотоксемию вызывали введением ЛПС *Salmonella Typhimurium* (Sigma, 5 мг/кг, в/б). Силу сокращения изолированных сосудов измеряли в изометрическом режиме. Экспрессию генов оценивали при помощи ПЦР-анализа.

Результаты. Установлено, что через 24 часа после однократного введения животным ЛПС сила сокращения аорты возрастает в ответ на воздействие ангиотензина II (АТII, в 1,6 раза), аргининвазопрессина (АВР, в 1,5 раза), и снижается после введения эндотелина-1 (ЕТ-1, в 1,6 раза), по сравнению с аналогичными показателями контрольных крыс. При повторном введении ЛПС сосуды теряют чувствительность к вазоконстрикторам. У крыс после метиониновой нагрузки в плазме крови более чем в 3 раза повышается уровень общего гомоцистеина. Гомоцистеинемия приводит к выраженным нарушениям нейроэндокринной регуляции сократимости сосудов: снижается чувствительность аорты и почечной артерии к вазоконстрикторному действию АТII (в 1,7 и 2,6 раза соответственно), АВР (в 1,5 и 1,7 раза), серотонина (5НТ, в 1,2 и 1,8 раза) и ЕТ1 (в 1,5 и 1,6 раза). Установлено, что введение ЛПС крысам на фоне высокого уровня гомоцистеина в плазме ещё в большей степени усиливает выявленные нарушения сократительной активности сосудов. У крыс после введения ЛПС выявлен низкий уровень экспрессии вазоконстрикторных адренорецепторов α_{1A} -AR, α_{1D} -AR и вазодилататорных β_1 - и β_2 -адренорецепторов и высокий – ЕТА и ЕТВ рецепторов. Как ЛПС, так и гипергомоцистеинемия приводят к значительному снижению содержания мРНК ангиотензинпревращающих ферментов ACE, ACE2 и рецепторов MasR, V1AR. У крыс после метиониновой нагрузки выявлено снижение экспрессии генов инозитолтрифосфатных рецепторов IP₂R2, IP₃R3, что свидетельствует о нарушении кальциевого гомеостаза в сосудах. Метиониновая нагрузка не приводила к летальным исходам. В группе животных после однократно-го введения ЛПС смертность составляла 7%, а в группе с введением ЛПС после метиониновой нагрузки – 50%.

Заключение. Таким образом, гипергомоцистеинемия усиливает ЛПС-индуцированные нарушения нейроэндокринной регуляции тонуса сосудов, отягощает течение и увеличивает смертность при эндотоксемии.

Ключевые слова: липополисахарид; *Salmonella Typhimurium*; сократимость; аорта; почечная артерия; экспрессия генов; мРНК; рецепторы.

Для цитирования: Кожевникова Л.М., Суханова И.Ф., Иванов А.В., Александрин В.В. Гипергомоцистеинемия усиливает негативное влияние ЛПС *Salmonella Typhimurium* на сократимость сосудов и экспрессию генов рецепторных и регуляторных белков у крыс. Патогенез. 2021; 19(2): 34-44

DOI: 10.25557/2310-0435.2021.02.34-44

Для корреспонденции: Кожевникова Любовь Михайловна, e-mail: lubovmih@yandex.ru

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 20-04-60251/20.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 15.04.2021

Hyperhomocysteinemia enhances the negative influence of *Salmonella typhimurium* LPS on vascular contractility and gene expression of receptor and regulatory proteins in rats

Kozhevnikova L.M. Sukhanova I.F., Ivanov A.V., Alexandrin V.V.

Institute of General Pathology and Pathophysiology,
Baltiyskaya St. 8, Moscow 125315, Russian Federation

The most severe manifestation of SARS-CoV-2 infection is the development of acute respiratory distress syndrome. A high blood level of homocysteine in patients is a prognostically unfavorable factor for the course of COVID-19 infection. The development of multiple organ failure in COVID-19 infection is aggravated by endotoxemia. **The aim** of the study was to investigate the effect of hyperhomocysteinemia and *Salmonella Typhimurium* lipopolysaccharide (LPS) on the rat aorta and renal artery contractility and the gene expression of receptor and regulatory proteins.

Methods. Hyperhomocysteinemia was modeled in rats by adding L-methionine to drinking water at a concentration of 5 g/L (0.5%) for 14 days. Endotoxemia was induced with a single injection of *Salmonella Typhimurium* LPS (Sigma, 5 mg/kg, intraperitoneally). The contractile force of isolated blood vessels was measured in the isometric mode. Gene expression was assessed with the PCR analysis.

Results. At 24 h after a single injection of LPS, the force of aortic contractile response to angiotensin II (ATII) increased 1.6 times and to arginine vasopressin (AVP) 1.5 times whereas the response to endothelin-1 (ET1) decreased by 37.5% compared to the respective values for control rats. Upon repeated administration of LPS, the blood vessels lost the sensitivity to vasoconstrictors. After methionine loading, the plasma level of total homocysteine increased more than three times. Homocysteinemia resulted in severe disorders in the neuroendocrine regulation of vascular contractility, including decreased sensitivity of the aorta and the renal artery to vasoconstrictor effects of ATII (41.2% and 61.5%, respectively), AVP (33.3% and 41.2%, respectively), serotonin (5HT, 16.7% and 44.4%, respectively) and ET1 (33.3% and 37.5%, respectively). The administration of LPS to rats on the background of a high plasma level of homocysteine further aggravated the disorders of vascular contractile activity. Administration of LPS was associated with lower expression of vasoconstrictor $\alpha 1A$ - and $\alpha 1D$ -adrenoceptors, and of vasodilator $\beta 1$ - and $\beta 2$ -adrenoceptors and with a higher expression of ETA and ETB receptors. Both LPS and hyperhomocysteinemia led to significant decreases in angiotensin-converting enzymes ACE and ACE2 mRNA, and in MasR and V1AR receptor mRNA. The methionine loading induced a decrease in the gene expression of inositol trisphosphate receptors IP3R2 and IP3R3, which indicated a disorder of calcium homeostasis in the blood vessels. The methionine loading was not fatal. In the group of animals after a single administration of LPS, the mortality rate was 7%, and in the group after the administration of LPS and methionine loading, the mortality rate was 50%.

Conclusion. Thus, hyperhomocysteinemia enhances LPS-induced disorders in the neuroendocrine regulation of vascular tone, aggravates the course of endotoxemia, and increases the mortality rate.

Keywords: lipopolysaccharide; *Salmonella Typhimurium*; contractility; aorta; renal artery; gene expression; mRNA; receptors.

For citation: Kozhevnikova L.M. Sukhanova I.F., Ivanov A.V., Alexandrin V.V. [Hyperhomocysteinemia enhances the negative influence of *Salmonella typhimurium* LPS on vascular contractility and gene expression of receptor and regulatory proteins in rats]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2020; 18(4): 34-44 (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2021.02.34-44

For correspondence: Kozhevnikova Lyubov Mikhailovna, e-mail: lubovmih@yandex.ru

Funding. The study was financially supported by the Russian Foundation for Basic Research, project #20-04-60251/20.

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

Received: 15.04.2021

Введение

Заболевание, вызванное вирусом SARS-CoV-2 (COVID-19), представляет глобальную угрозу человечеству [1]. Значительную долю пациентов с тяжелым течением инфекции COVID-19 и неблагоприятным исходом составляют лица с хронической сердечно-сосудистой и дыхательной патологией. Наиболее тяжелым проявлением SARS-CoV-2 инфекции является развитие острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) [2-4]. Для развития экспериментального ОРДС, изучения его патогенеза и принципов терапии используется моделирование септического шока [5]. Для индукции сепсиса широко применяют основной компонент стенки грамотрицательных бактерий — липополисахарид (ЛПС). ЛПС связывается с соответствующим белком на поверхности клеток и активирует эндотелий с участием рецепторов TLR4, CD14, MD2 и NF- κ B, что запускает каскады провоспалительных цитокинов [6]. Полиорганная недостаточность при сепсисе характеризуется высоким уровнем провоспалительных цитокинов, активных форм кислорода, дисфункцией иммунной системы, развитием диссеминированного внутрисосудистого свертывания [7, 8]. Несмотря на достижения в области интенсивной терапии, уровень смертности от сепсиса остается высоким [9].

Прогностически неблагоприятным фактором течения COVID-19 инфекции является высокий уровень гомоцистеина в крови пациентов [10]. Известно, что гипергомоцистеинемия возникает в результате наруше-

ния метаболизма метионина и приводит к развитию дисфункции эндотелия и изменению реологических свойств крови. Одним из механизмов негативного влияния гомоцистеина на клетку является его способность генерировать активные формы кислорода, что приводит к развитию окислительного стресса, нарушению фолдинга белков в эндоплазматическом ретикулуме, в результате чего белки теряют свою функциональную активность и образуют токсичные агрегаты с антигенной активностью [11]. Вместе с тем механизмы цитотоксических эффектов гомоцистеина при острозастраивающихся патологических состояниях остаются мало изученными.

Цель исследования — изучение влияния гипергомоцистеинемии и LPS на сократимость аорты и почечной артерии крыс и экспрессию генов рецепторных и регуляторных белков.

Материалы и методы исследования

Эксперименты выполнены на беспородных крысах самцах массой 250-300 г. Содержание лабораторных животных и эксперименты с ними проведены в соответствии с международными правилами «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals», правилами Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в эксперименте, и требованиями Директивы Совета ЕС «О сближении законов, постановлений и административных положений государств ЕС по вопросам защиты животных, используемых для экспериментов и других научных целей» (86/609/ЕЕС), национальным

стандартом РФ ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики». Данное исследование проводилось в соответствии рекомендаций Этического комитета института общей патологии и патофизиологии, и было утверждено Комитетом по этике (протокол № 1а от 02.10. 2020).

Включенные в исследование крысы были распределены в 4 группы:

1-я группа – контрольные крысы ($n = 12$);

2-я группа – через 24 часа после введения ЛПС *Salmonella Typhimurium* (Sigma, 5 мг/кг) ($n = 11$); через 48 часов после первой и 24 часа после второй инъекции ЛПС ($n = 10$);

3-я группа – метиониновая нагрузка ($n = 13$);

4-я группа – через 24 часа после введения ЛПС *Salmonella Typhimurium* крысам на фоне метиониновой нагрузки ($n = 18$).

Моделирование гипергомоцистеинемии проводили путем добавления в воду L-метионина (>99%, PanReac, Barcelona, Spain) в концентрации 5 г/л (0,5%) в течение 14 дней. Среднесуточный объем потребляемого раствора составлял 83 мл/кг массы тела, что соответствовало дозе 415 мг метионина/кг в сутки сверх стандартного потребления [12].

I. Физиологические методы исследования.

Эксперименты проводили на фрагментах грудного отдела аорты и почечной артерии крыс. В изометрическом режиме оценивали изменения сократимости изолированных колец сосудов в ответ на воздействие вазоактивных соединений.

Выделение фрагментов грудного отдела аорты и почечной артерии. В качестве наркоза использовали 25% раствор уретана (4 мл/кг). Крыс декапитировали и извлекали образцы сосудов для проведения дальнейших физиологических и молекулярно-биологических исследований. Фрагменты сосудов помещали в охлажденный до +4°C физиологический раствор Кребса-Хенселейта. Состав раствора Кребса-Хенселейта в мМ: NaCl – 121; KCl – 4,69; KH_2PO_4 – 1,1; NaHCO_3 – 23,8; MgSO_4 – 1,6; CaCl_2 – 1,6; ЭДТА – 0,032; D-глюкоза – 8. Сосуды очищали от жировой и соединительной тканей и нарезали на кольца шириной 1,5–2,2 мм, которые крепили на держателях, помещенных в раствор Кребса-Хенселейта, аэрируемый карбогеном (5% CO_2 в O_2), в проволочном четырехканальном миографе (Danish Myo Technology, модель Multi Myograph System – 620M). После достижения в камерах миографа температуры раствора $37,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ кольца сосудов растягивали радиально до оптимального диаметра просвета, соответствующего 90% пассивного диаметра сосуда при 100 мм рт. ст. После процедуры растяжения и последующего периода стабилизации в течение 60 мин жизнеспособность сосудов проверяли с помощью 1 мкМ фенилэфрина (Sigma, США). Сохранность эндотелия тестировали с помощью 10 мкМ карбахола (Sigma). В экспериментах на изолированных сосудах использовали агонисты рецепторов: фенилэфрин ($\alpha 1$ -AR), ангиотензин

II (AT1AR), аргининвазопрессин (V1AR), серотонин (5HT₂), эндотелин-1 (ETA, ETB-R) и карбахол (M- и N-холинорецепторы) (Sigma, США).

Обработка результатов физиологических экспериментов. Обработку результатов проводили в приложении Microsoft Excel, используя количественные данные силы сокращения сосудов (mN), экспортированные из программного обеспечения миографа LabChart 8. Результаты выражали в виде средних арифметических (M) и их стандартных ошибок (SE). Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 5. Для сравнения статистических различий между группами проводили однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с последующими апостериорными тестами Тьюки. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

II. Молекулярно-биологические методы исследования.

В тканях аорты оценивали экспрессию генов рецепторов вазоактивных соединений, расположенных на мембране клеток и эндоплазматического ретикула. Об экспрессии генов исследуемых белков судили по изменению уровня их мРНК.

Выделение тотальной РНК. Извлеченные фрагменты аорты помещали в охлажденный физиологический раствор (0–4°C), отмывали от крови, помещали в раствор RNeasy (США, Ambion) и хранили до выделения РНК при температуре –20°C. Ткани, извлеченные из раствора RNeasy, гомогенизировали в жидком азоте с помощью фарфоровой ступки. Выделение РНК из образцов проводили с помощью набора GeneJET™ («Thermo Fisher Scientific», США) согласно протоколу производителя. Концентрацию тотальной РНК в образцах определяли на спектрофотометре NanoDrop® ND-1000 («Thermo Fisher Scientific Inc.», США). Выделенную РНК для предотвращения контаминации геномной ДНК обрабатывали ДНКазой I (EN 0521 «Thermo Fisher Scientific Inc.», США) согласно протоколу производителя.

Синтез кДНК. Реакцию обратной транскрипции проводили с использованием гексамерных Random праймеров и обратной транскриптазы набора RevertAid™ H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit («Thermo Fisher Scientific Inc.», США) в соответствии с протоколом производителя. Синтезированную кДНК хранили при температуре –20°C.

Полимеразная цепная реакция в реальном времени. ПЦР-РВ проводили с помощью набора qPCRmix-HS («Евроген», Россия). Праймеры для ПЦР-РВ были предоставлены ООО «ДНК-Синтез» (Россия). В качестве гена «домашнего хозяйства» использовали β -актин. Уровень экспрессии мРНК β -актина между сравниваемыми группами в условиях наших экспериментов оставался неизменным. ПЦР-РВ проводили на амплификаторе CFX96™ Real-Time PCR Detection Systems («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США). Отрицательные контроли были поставлены согласно общепринятым стандартам при проведении количественной ПЦР: для исключе-

ния контаминации реагентов реакция была запущена без фрагментов кДНК; для исключения контаминации кДНК геномной ДНК реакция была запущена с образцом тотальной РНК.

Обработка результатов ПЦР-РВ. Обработку результатов проводили в приложении Microsoft Excel с использованием алгоритма $2^{-\Delta\Delta Ct}$. Результаты выражали в виде средних арифметических (М) и их стандартных ошибок (SE). Статистическую обработку результатов экспериментов проводили с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 5. Для сравнения статистических различий между группами проводили однофазный дисперсионный анализ (ANOVA) с последующими апостериорными тестами Тьюки. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение

Влияние LPS *Salmonella Typhimurium* на сократительную активность аорты крыс. В экспериментах на изолированных фрагментах грудного отдела аорты показано, что через сутки после однократного внутривенного введения ЛПС *Salmonella Typhimurium* значительно изменяется чувствительность сосудов к действию эндогенных вазоактивных соединений. Как показано на **рис. 1**, введение ЛПС (5 мг/кг) приводит к выраженному увеличению силы их сокращения в ответ на воздействие ангиотензина II (АТII, 10^{-7} М), аргининвазопрессина (АВР, 10^{-8} М) и, напротив, в 1,6 раза снижает чувствительность сосудов по отношению к вазоконстрикторному действию эндотелина-1 (ЕТ-1, 5×10^{-9} М). ЛПС не оказывает влияние на реакцию изолированных колец аорты в ответ на воздействие фенилэфрина (ФЕ, 10^{-6} М) и серотонина (5НТ, 10^{-5} М).

Известно, что ЛПС увеличивает уровень супероксида в кровеносных сосудах и нарушает их вазомоторную функцию. Большое значение в ЛПС-индуцированном окислительном стрессе и эндотелиальной дисфункции имеет активация ренин-ангиотензиновой системы (RAS) [13]. Показано, что основную роль в этих процессах играет ACE-АТII-АТ1R ось RAS. Так, предварительное введение ингибитора ACE эналаприла или блокатора АТ1R L-158809 обеспечивает нормализацию уровня супероксида, восстановление вазомоторной функции и NO-опосредованной релаксации аорты крыс, получавших ЛПС. Полученные нами данные о повышении вазоконстрикторного ответа изолированных колец аорты на воздействие АТII через 24 часа после введения ЛПС также свидетельствуют об активации RAS.

Однако уже через 24 часа после повторного введения ЛПС отмечается 10-кратное снижение сократительной реакции аорты на АТII, подавляется ее чувствительность к действию ФЕ, АВР, 5НТ и почти полностью исчезает реакция колец аорты на воздействие ЕТ-1 (**рис. 1**). Нарушение вазоконстрикторных ответов сосудов и развитие системной гипотензии после воздействия ЛПС свя-

зывают с ЛПС-индуцированной гиперэкспрессией гена iNOS и чрезмерной продукцией NO [14, 15].

Влияние гипергомоцистеинемии и ЛПС на функциональную активность аорты и почечной артерии. У крыс после метиониновой нагрузки в крови более чем в 3 раза повышается уровень общего гомоцистеина ($12,00 \pm 0,69$ мкМ вместо $3,44 \pm 0,24$ мкМ ($p < 0,001$) в контроле). У данной группы животных выявлены значительные изменения реактивности изолированных колец сосудов в ответ на воздействие вазоконстрикторных соединений. Длительный прием метионина приводит к снижению чувствительности аорты и почечной артерии к действию АТII, АВР, 5НТ и ЕТ-1 (**рис. 2**). В почечной артерии крысы метиониновая нагрузка вызывает уменьшение силы фенилэфрин-индуцированного сокращения, в то время как реакция аорты на воздействие агониста α -AR остается неизменной (**рис. 2, а, б**).

Установлено, что однократное введение ЛПС крысам на фоне высокого уровня гомоцистеина в крови усиливает негативные эффекты метиониновой нагрузки на функциональную активность аорты и почечной артерии крыс. Так, под влиянием ЛПС, ещё в большей степени падает реактивность аорты и почечной артерии крыс по отношению к вазоконстрикторным медиаторам, о чем свидетельствует более чем двукратное снижение силы их сокращения на воздействие агонистов α -AR, АТ1AR, 5НТ2AR и ETAR рецепторов (**рис. 2, а, б**).

В дальнейших исследованиях было оценено влияние воздействия однократного введения ЛПС интактным крысам и крысам с гипергомоцистеинемией на уровень мРНК рецепторных и регуляторных белков в аорте.

Влияние ЛПС *Salmonella Typhimurium* на экспрессию генов вазоактивных соединений. Через 24 часа после од-

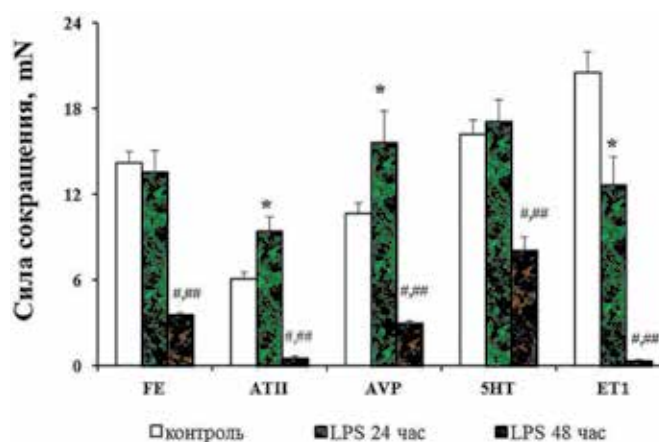


Рис. 1. Влияние одно- и двукратного введения ЛПС *Salmonella Typhimurium* (LPS) на силу сокращения изолированных колец аорты в ответ на воздействие фенилэфрина (ФЕ), ангиотензина II (АТII), аргининвазопрессина (АВР), серотонина (5НТ) и эндотелина-1 (ЕТ1). Статистическая значимость: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольными крысами; # – $p < 0,01$ по сравнению с контрольными крысами; ## – $p < 0,001$ по сравнению с группой животных через 24 часа после однократного введения ЛПС (5 мг/кг).

нократного введения ЛПС, при относительно высокой сократительной активности, в аорте крыс выявлены значительные изменения экспрессии генов рецепторов вазоактивных соединений. Так, ЛПС подавляет экспрессию вазоконстрикторных α_{1A} -AR, α_{1D} -AR и вазодилаторных β_1 - и β_2 -адренорецепторов (рис. 3, а), вазопрессиновых рецепторов V1A-типа (рис. 3, в), а также основных компонентов альтернативной оси ренин-ангиотензиновой системы (RAS) – MasR и ангиотензинпревращающего фермента ACE2 (рис. 3, б).

Обнаружено, что при ЛПС-индуцированном снижении сократительного ответа изолированных колец аорты на воздействие ET-1 в сосудах отмечается выраженный рост содержания мРНК эндотелиновых ETA и ETB рецепторов (рис. 1 и 3, в). Механизм, лежащий в основе выявленного несоответствия между высоким уровнем экспрессии генов ETR и вызванной ЛПС гипо- и ареактивностью сосудов по отношению к действию эндотелина-1, пока не ясен. Ранее показано, что при эндотоксемии, вызванной ЛПС *Escherichia coli*, введение селективных блокаторов ETAR и ETBR приводит к нормализации гемодинамики, снижению уровня перекисного окисления липидов и продукции TNF- α в плазме [16], что косвенно свидетельствует о повышении активности ETR при сепсисе/эндотоксемии. Возможно, под влиянием эндотоксина активируются факторы транскрипции генов эндотелиновых рецепторов. Показано, что ЛПС значительно снижает экспрессию ингибитора ядерного фактора каппа В (I κ B), который инактивирует фактор транскрипции NF- κ B, удерживая его в цитоплазме [15]. Это приводит к усилению транслокации NF- κ B в ядро клетки и последующей активации экспрессии множества генов, включая провоспалительные цитокины, хемокины и iNOS [17, 18].

Наиболее уязвимой к действию ЛПС оказалась ось ACE2/Ang-(1–7)/MasR. Активация данного сигнального каскада может ослаблять воспаление, продукцию

реактивных форм кислорода (ROS), апоптоз и развитие полиорганной недостаточности при патологических состояниях [19, 20]. В перитонеальных макрофагах мыши, стимулированных эндотоксином, Ang(1–7) минимизировал экспрессию фактора некроза опухоли альфа и интерлейкина (IL-6) [21]. В различных моделях заболеваний животных Ang(1–7) защищает от повреждения органов и снижает смертность при полимикробном сепсисе и остром повреждении легких [20, 22]. Однако основной механизм, посредством которого Ang(1–7) осуществляет свои защитные эффекты при сепсисе, остается не выясненным, как и не ясна роль MasR в реализации этих эффектов. Полагают, что противовоспалительный механизм Ang(1–7) может различаться в зависимости от типа клеток и патологического процесса [23]. В эндотелиальных клетках легочных микрососудов (PMVEC) ACE2/Ang(1–7)/MasR ось играет решающую роль в предотвращении LPS-индуцированного апоптоза и воспаления путем ингибирования JNK/NF- κ B пути [24]. Показано, что Ang(1–7) ослабляет вызванную эндотоксином гипотензию, снижает ЛПС-индуцированное увеличение уровня интерлейкина-6 (IL-6) и NO через I κ B/NF- κ B сигнальный путь [15].

Растущее количество доказательств как *in vitro*, так и *in vivo* указывает на то, что Ang(1–7) оказывает противовоспалительное действие через рецептор MasR [25, 26]. В то же время показано, что Ang(1–7) может взаимодействовать с AT1R и AT2R [27, 28]. Кроме того, MasR обладают высокой конститутивной активностью, способностью взаимодействовать с различными G-белками и образовывать гетеродимеры с ангиотензиновыми AT1R и AT2R, и брадикининовыми B2R рецепторами [29]. Образование гетеродимеров оказывает существенное влияние на десенситизацию, трафик, свойства и сигнализацию каждого из входящих в комплекс рецепторов. Несмотря на отсутствие четкого представления

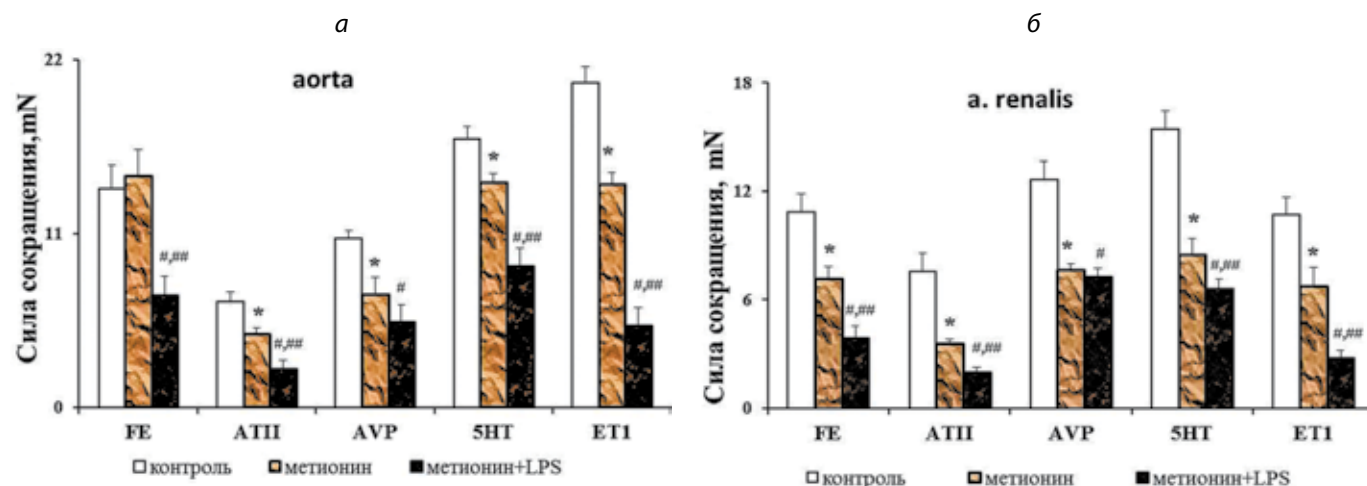


Рис. 2. Влияние метиониновой нагрузки и ЛПС *Salmonella Typhimurium* (LPS) на силу сокращения изолированных колец аорты (а) и почечной артерии (б) в ответ на воздействие фенилэфрина (FE), ангиотензина II (ATII), аргининвазопрессина (AVP), серотонина (5HT) и эндотелина-1 (ET1). Статистическая значимость: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольными крысами, # – $p < 0,01$ по сравнению с контрольными крысами, ## – $p < 0,01$ по сравнению с группой животных с метиониновой нагрузкой.

о механизмах действия MasR при эндотоксемии, есть все основания полагать, что уменьшение уровня мРНК этих рецепторов, а также ангиотензинпревращающих ферментов ACE2 и ACE является одной из причин развития гипореактивности аорты по отношению к АТФ через 24 часа после повторного введения ЛПС (рис. 1).

Влияние метиониновой нагрузки и ЛПС на экспрессию генов вазоактивных соединений.

Адренергическая система. Установлено, что в аорте крыс с высоким уровнем гомоцистеина в плазме крови не измеряется уровень экспрессии генов α_{1a} -AR, α_{1D} -AR и β_1 -AR, но на 25% уменьшается содержание мРНК β_2 -AR (рис. 4, а). Однако однократное введение таким крысам ЛПС приводит не только более чем к двукратному уменьшению силы FE-индуцированного сокращения (рис. 4, б), но и к значительному снижению содержания мРНК α_1 -AR и β -AR (рис. 4, а).

Подсемейство рецепторов α_1 -AR представлено тремя типами: α_{1a} -, α_{1b} - и α_{1d} -адренорецепторами. Все типы α_1 -AR экспрессируются в сосудах и опосредуют вазоконстрикцию. α_{1a} -AR представлены в большей мере в высоко иннервируемых артериях мелкого калибра, а α_{1d} -AR – в плохо иннервируемых артериях крупного калибра, в таких как аорта [30]. Норадrenalин обладает высокой аффинностью к α_{1d} -AR. Эти рецепторы опосредуют самый быстрый ответ и, по-видимому, являются мишенями для высвобождаемого нейронами норадrenalина, особенно при низкочастотной стимуляции. α_{1a} -AR более важны при высокочастотной стимуляции.

В сосудах экспрессируются три подтипа β -AR: β_1 -, β_2 - и β_3 -AR. β -AR в гладкомышечных клетках сосудов активируют АС-сАМР-РКА сигнальный путь и опосредуют вазорелаксацию. В гладкомышечных клетках подтип β_2 -AR является наиболее высокоэкспрессируемым. Установле-

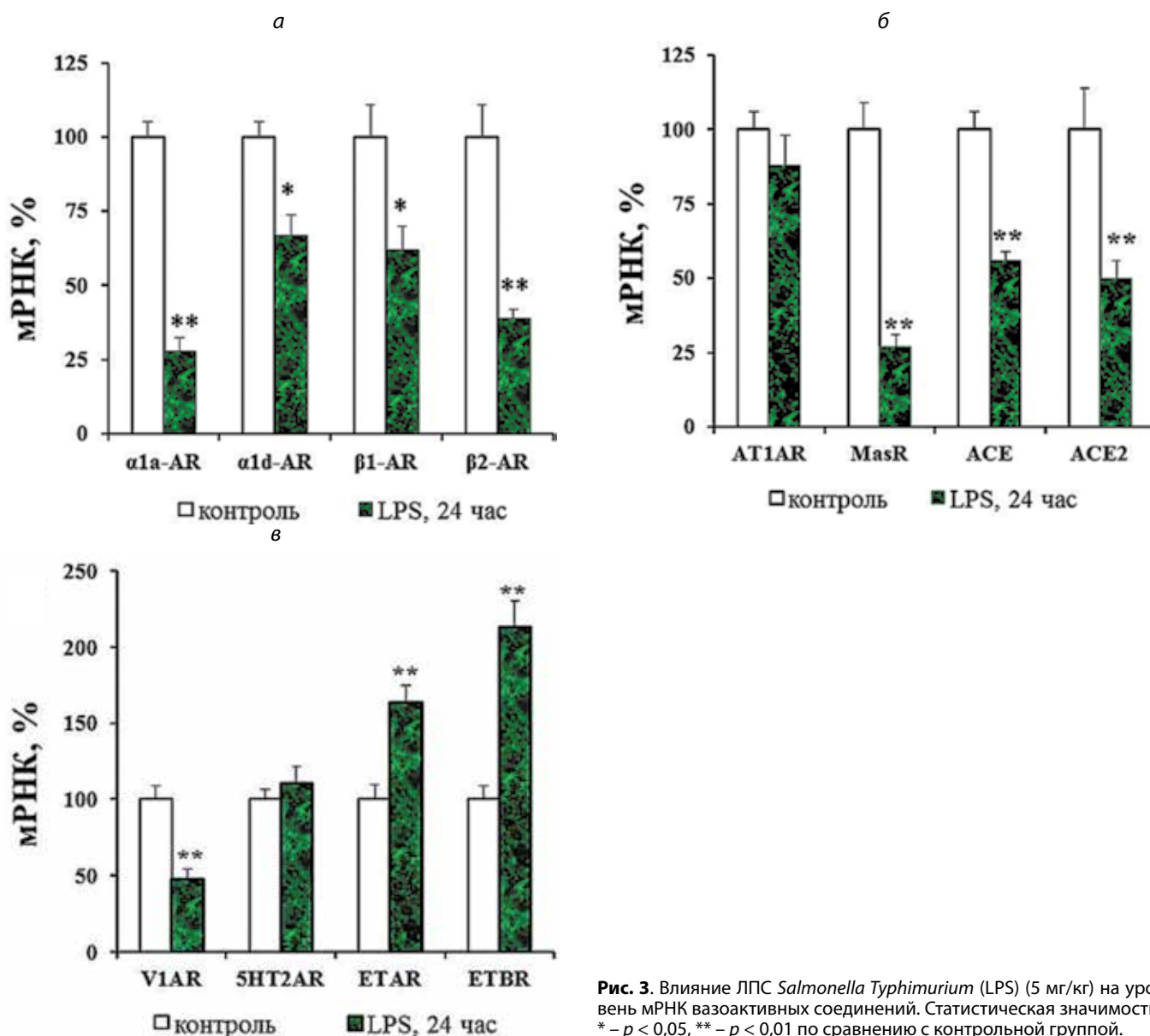


Рис. 3. Влияние ЛПС *Salmonella Typhimurium* (LPS) (5 мг/кг) на уровень мРНК вазоактивных соединений. Статистическая значимость: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой.

но, что снижение экспрессии β -AR является ранним признаком старения сосудов [31]. Ранее нами было также выявлено значительное снижение экспрессии β -AR в аорте старых крыс (24 мес). Снижение уровня экспрессии и/или функциональной активности β 2-AR считается неблагоприятным патогенетическим фактором развития патологических процессов, в том числе полиорганной недостаточности при сепсисе [32, 33]. При эндотоксемии β 1- и β 2-AR играют доминирующую защитную роль, подавляя воспалительные реакции, инициированные ЛПС. Стимуляция β 2-AR агонистами ослабляет вызванную ЛПС воспалительную реакцию и увеличивает выживаемость животных при эндотоксемии и сепсисе, а блокада β -AR, напротив, увеличивает смертность [33, 34].

Ренин-ангиотензиновая система. Гипергомоцистеинемия приводит к значительным изменениям на уровне экспрессии генов основных компонентов классической ACE/АТII/АТ1R и альтернативной ACE2/АТ(1-7)/MasR осей RAS в аорте крыс: снижается содержание мРНК ACE на 20%, MasR на 40% и ACE2 на 50% (рис. 5, а). При этом сила АТII-индуцированного сокращения изолированных колец аорты уменьшается на 42%, почечной артерии – на 60% по сравнению с аналогичными показателями в сосудах контрольных крыс (рис. 5, б).

Установлено, что через 24 часа после однократного введения ЛПС крысам с высоким уровнем гомоцистеина в плазме крови в тканях аорты еще в большей степени подавляется экспрессия генов ACE, ACE2 и MasR. Несмотря

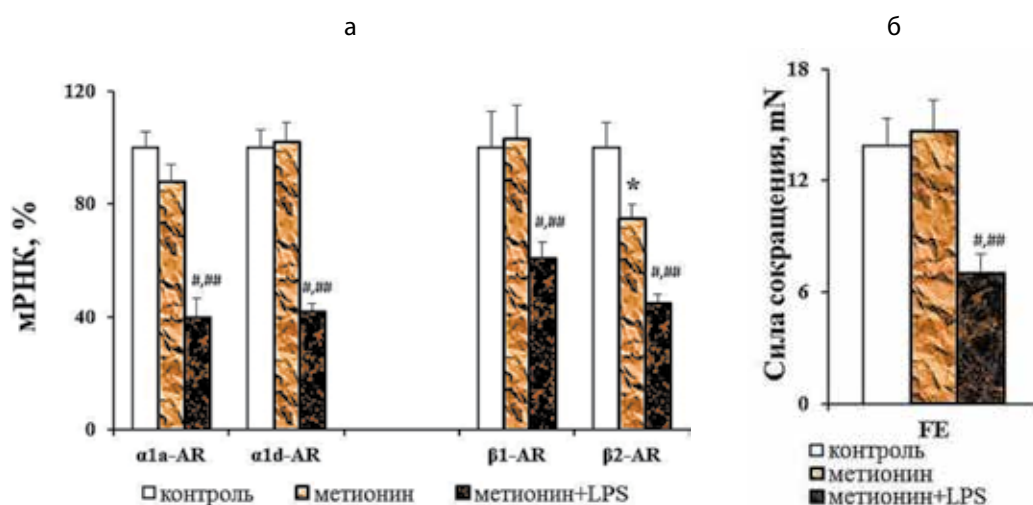


Рис. 4. Влияние метиониновой нагрузки и ЛПС *Salmonella Typhimurium* (LPS) на (а) уровень мРНК вазоконстрикторных (α 1a-AR, α 1d-AR) и вазодилаторных адренорецепторов (β 1-AR, β 2-AR) и (б) силу FE-индуцированного сокращения изолированных колец аорты. Статистическая значимость: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, и группой животных с метиониновой нагрузкой; # – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, ## – $p < 0,01$ по сравнению с группой животных с метиониновой нагрузкой.

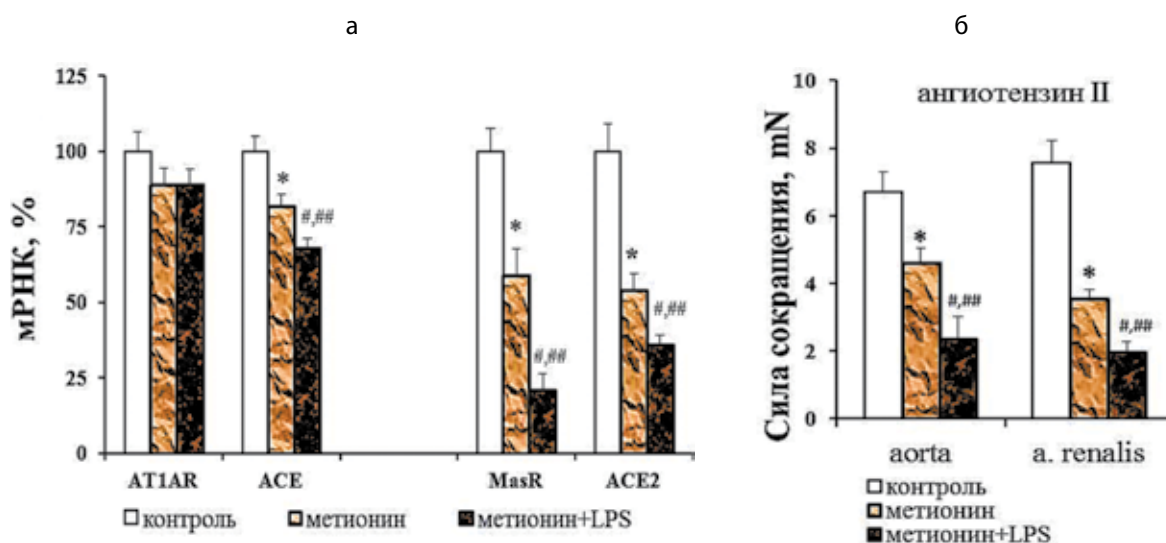


Рис. 5. Влияние метиониновой нагрузки и ЛПС *Salmonella Typhimurium* (LPS) на (а) уровень мРНК рецепторов AT1AR, MasR, ангиотензинпревращающих ферментов ACE и ACE2 в аорте и (б) силу АТII-индуцированного сокращения изолированных колец аорты и почечной артерии. Статистическая значимость: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольными крысами; # – $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой, ## – $p < 0,05$ по сравнению с группой животных с метиониновой нагрузкой.

на то, что введение ЛПС приводит к ещё более значимо снижению чувствительности сосудов к действию АП II, уровень экспрессии АТ1АР, опосредующих вазоконстрикторных эффект АП II, остается неизменным (рис. 5, б).

Таким образом, нами впервые показано, что ЛПС усиливает вызванный гипергомоцистеинемией дисбаланс активностей классической и альтернативной осей RAS, в результате чего сосуды малого и большого калибра (аорта и почечная артерия) теряют чувствительность к вазоконстрикторному действию АП II.

Серотониновая, вазопрессиновая и эндотелиновая системы. Установлено, что при гипергомоцистеинемии в аорте крыс в 2 раза снижается экспрессия генов V1АР и существенно не изменяется для 5HT2АР и ETR (рис. 6, а). При этом уменьшается сократительная реакция колец аорты на воздействие агонистов этих рецепторов (рис. 6, б). Показано, что под влиянием действия ЛПС в аорте значи-

тельно увеличивается экспрессия эндотелиновых рецепторов. ЛПС-индуцированное повышение уровня мРНК EТАR и EТВR рецепторов в аорте крыс не зависело от концентрации гомоцистеина в плазме крови (рис. 3, в и 6, а).

Инозитол-1,4,5-трифосфатные рецепторы (IP₃R). Установлено, что метиониновая нагрузка приводит к изменению транскрипционной активности генов IP₃Rs, которые играют центральную роль в генерации и поддержании миогенного тонуса сосудов. В аорте крыс снижается уровень мРНК рецепторов 2 и 3 типов и не изменяется IP₃R1 (рис. 7).

Ранее аналогичные изменения в экспрессии IP₃Rs были выявлены в сосудах старых крыс обоего пола [35]. В экспериментах на культуре ГМК аорты крысы показано, что пролиферирующие клетки экспрессируют преимущественно IP₃R2 и IP₃R3, но в процессе их развития экспрессия этих типов рецепторов уменьшает-

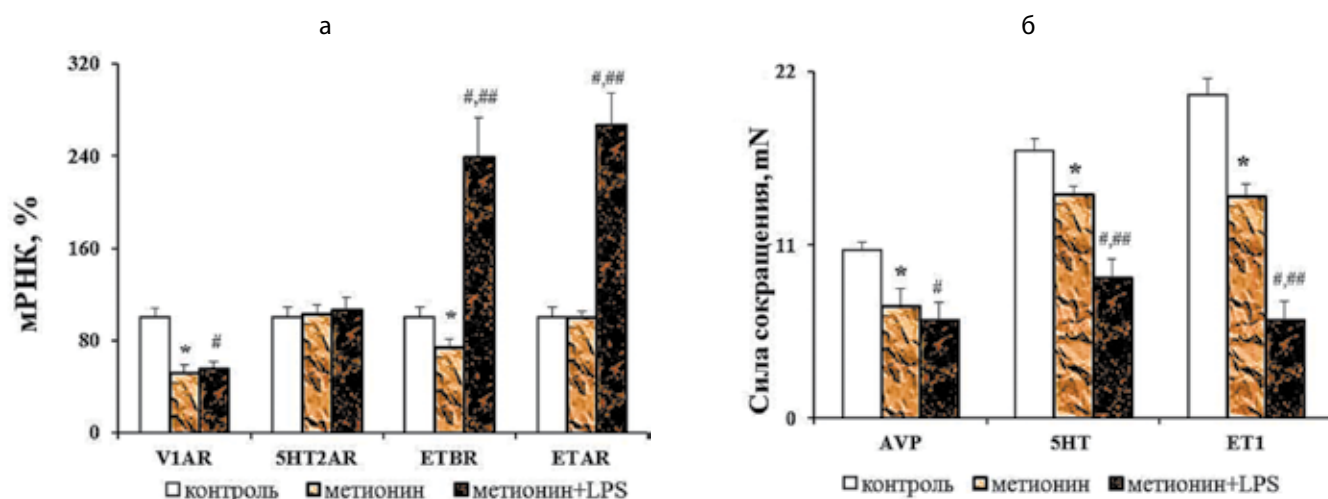


Рис. 6. Влияние метиониновой нагрузки и ЛПС *Salmonella Typhimurium* (LPS) на (а) уровень мРНК вазопрессиновых (V1АР), серотониновых (5HT2АР) и эндотелиновых (EТАR, EТВR) рецепторов и (б) силу агонист-индуцированного сокращения изолированных колец аорты. Статистическая значимость: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольными крысами; # – $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой, ## – $p < 0,01$ по сравнению с группой животных с метиониновой нагрузкой.

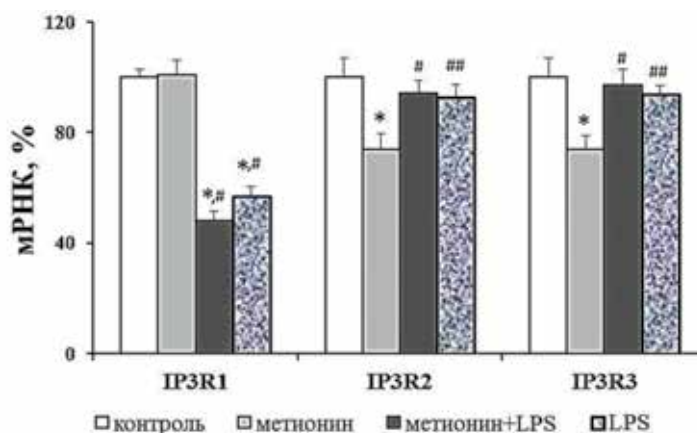


Рис. 7. Влияние метиониновой нагрузки и ЛПС *Salmonella Typhimurium* (LPS) на экспрессию генов инозитол-1,4,5-трифосфатных рецепторов (IP₃Rs) в аорте крыс с нормальным и высоким уровнем гомоцистеина в крови. Статистическая значимость: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольными крысами; # – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, ## – $p < 0,01$ по сравнению с группой животных с метиониновой нагрузкой.

ся, а IP_3R1 , напротив, возрастает [36, 37]. IP_3R3 играют особую роль в индукции апоптоза преимущественно путем передачи Ca^{2+} -сигналов в митохондрии. IP_3R3 могут не только активировать, но и ингибировать апоптоз, и этот процесс реализуется по Akt- IP_3R3 -зависимому механизму [38]. Нами высказано предположение, что снижение экспрессии генов IP_3R2 и IP_3R3 типов в аорте крыс с гипергомоцистеинемией негативно влияет не только на сократительные свойства сосудов, но и на пролиферативную и апоптотическую активность гладкомышечных и эндотелиальных клеток.

ЛПС независимо от уровня гомоцистеина в крови животных вызывает значительное снижение содержания мРНК для IP_3R1 и повышение — для IP_3R2 и IP_3R3 (рис. 7). Показано, что подавление экспрессии подтипа IP_3R1 методом РНК-интерференции приводит к значительному уменьшению суммарных Ca^{2+} -сигналов и прекращению осцилляций Ca^{2+} , а подавление экспрессии IP_3R3 вызывает более устойчивые и продолжительные колебания внутриклеточной концентрации Ca^{2+} , чем в контроле [39]. Эти результаты позволили авторам предположить, что в клетках IP_3R1 и IP_3R3 оказывают противоположные эффекты на генерацию внутриклеточных колебаний Ca^{2+} . Полученные нами данные об изменении экспрессии IP_3R в аорте крыс после метиониновой нагрузки и воздействия ЛПС свидетельствуют о нарушении внутриклеточного кальциевого обмена, что может быть одним из механизмов развития гипореактивности сосудов по отношению к vasoактивным соединениям, независимо от уровня экспрессии их рецепторов. В частности, при ЛПС-индуцированной гиперэкспрессии ETR мы наблюдали угнетение реакции сосудов в ответ на воздействие эндотелина-1.

Метиониновая нагрузка не приводила к летальным исходам. В группе животных после однократного введения ЛПС смертность составляла 7%, а в группе с введением ЛПС после метиониновой нагрузки — 50%, что свидетельствовало об утяжелении инфекционного процесса у животных с гипергомоцистеинемией.

Заключение

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о синергизме негативного влияния гипергомоцистеинемии и ЛПС на сократительную функцию аорты и почечной артерии крыс, а также на экспрессию генов рецепторных и регуляторных белков, участвующих в регуляции тонуса сосудов. Эти изменения могут приводить к выраженным нарушениям системного и органного кровотока и развитию полиорганной недостаточности, в том числе острого респираторного дистресс-синдрома, при эндотоксемии.

Список литературы

1. Wang C., Horby P.W., Hayden F.G., Gao G.F. A novel coronavirus outbreak of global health concern. *Lancet*. 2020; 395(10223): 470-473. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30185-9

2. Islam A., Ahmed A., Naqvi I.H., Parveen S. Emergence of deadly severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 during 2019–2020. *Virusdisease*. 2020; 31(2): 1-9. DOI: 10.1007/s13337-020-00575-1
3. Nicin L., Abplanalp W.T., Mellentin H., Kattih B., Tombor L., John D., Schmitto J.D., Heineke J., Emrich F., Arsalan M., Holubec T., Walther T., Zeiher A.M., Dimmeler S. Cell type-specific expression of the putative SARS-CoV-2 receptor ACE2 in human hearts. *Eur. Heart J*. 2020; 41(19): 1804-1806. DOI: 10.1093/eurheartj/ehaa311
4. Ahn J.Y., Sohn Y., Lee S.H., Cho Y., Hyun J.H., Baek Y.J., Jeong S.J., Kim J.H., Ku N.S., Yeom J.S., Roh J., Ahn M.Y., Chin B.S., Kim Y.S., Lee H., Yong D., Kim H.O., Kim S., Choi J.Y. Use of convalescent plasma therapy in two covid-19 patients with acute respiratory distress syndrome in Korea. *J. Korean Med. Sci*. 2020; 35(14): e149. DOI: 10.3346/JKMS.2020.35.E149.6
5. Semmler A., Smulders Y., Struys E., Smith D., Moskau S., Blom H., Linnebank M. Methionine metabolism in an animal model of sepsis. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2008; 46(10): 1398-1402. DOI: 10.1515/CCLM.2008.277
6. Dauphinee S.M., Karsan A. Lipopolysaccharide signaling in endothelial cells. *Lab. Invest*. 2006; 86(1): 9-22. DOI: 10.1038/labinvest.3700366
7. Abraham E., Singer M. Mechanisms of sepsis-induced organ dysfunction. *Crit. Care Med*. 2007; 35(10): 2408-16. DOI: 10.1097/01.ccm.0000282072.56245.91
8. Gots J.E., Matthay M.A. Sepsis: pathophysiology and clinical management. *BMJ*. 2016; 353: i1585. DOI: 10.1136/bmj.i1585
9. Fleischmann C., Scherag A., Adhikari N.K., Hartog C.S., Tsaganos T., Schlattmann P., Angus D.C., Reinhart K, International Forum of Acute Care Trialists. Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-treated Sepsis. Current Estimates and Limitations. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2016; 193(3): 259-272. DOI: 10.1164/rccm.201504-0781OC
10. Yang J., Zheng Y., Gou X., Pu K., Chen Z., Guo Q., Ji R., Wang H., Wang Y., Zhou Y. Prevalence of comorbidities and its effects in patients infected with SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis. *Int. J. Infect. Dis*. 2020; 94: 91-95. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.03.017
11. Cheng Z.J., Yang X., Wang H. Hyperhomocysteinemia and Endothelial Dysfunction. *Curr. Hypertens. Rev*. 2009; 5(2): 158-165. DOI: 10.2174/157340209788166940
12. Иванов А.В., Вирюс Э.Д., Логинов В.И., Бурденный А.М., Александрин В.В., Кубатиев А.А. Метаболизм гомоцистеина на экспериментальных моделях гипергомоцистеинемии у грызунов. Часть I: генетические модели. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2020; 4(64): 118-124. DOI: 10.25557/0031-2991.04.118-124
13. Lund D.D., Brooks R.M., Faraci F.M., Heistad D.D. Role of angiotensin II in endothelial dysfunction induced by lipopolysaccharide in mice. *Am. J. Physiol. — Hear. Circ. Physiol*. 2007; 293(6): H3726-H3731. DOI: 10.1152/ajpheart.01116.2007
14. Pulido E.J., Shames B.D., Fullerton D.A., Sheridan B.C., Selzman C.H., Gamboni-Robertson F., Bensard D.D., McIntyre R.C. Differential inducible nitric oxide synthase expression in systemic and pulmonary vessels after endotoxin. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol*. 2000; 278(5): R1232- R1239. DOI: 10.1152/ajpregu.2000.278.5.R1232
15. Tsai H.J., Shih C.C., Chang K.Y., Liao M.H., Liaw W.J., Wu C.C., Tsao C.M. Angiotensin-(1-7) treatment blocks lipopolysaccharide-induced organ damage, platelet dysfunction, and IL-6 and nitric oxide production in rats. *Sci. Rep*. 2021; 11(1): 610. DOI: 10.1038/s41598-020-79902-x
16. Piechota-Polańczyk A., Gorača A. Influence of specific endothelin-1 receptor blockers on hemodynamic parameters and antioxidant status of plasma in LPS-induced endotoxemia. *Pharmacol. Reports*. 2012; 64(6): 1434-1441. DOI: 10.1016/S1734-1140(12)70941-6
17. Lawrence T. The nuclear factor NF- κ B pathway in inflammation. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol*. 2009; 1(6): a001651. DOI: 10.1101/cshperspect.a001651
18. Pan W., Yu C., Hsueh H., Kastin A.J. The role of cerebral vascular NF κ B in LPS-induced inflammation: differential regulation of efflux transporter and transporting cytokine receptors. *Cell. Physiol. Biochem*. 2010; 25(6): 623-630. DOI: 10.1159/000315081
19. Santos R.A.S., Ferreira A.J., Verano-Braga T., Bader M. Angiotensin-converting enzyme 2, angiotensin-(1-7) and Mas: new players of the renin-angiotensin system. *J. Endocrinol*. 2013; 216(2): R1-R17. DOI: 10.1530/JOE-12-0341

20. Tsai H.J., Liao M.H., Shih C.C., Ka S.M., Tsao C.M., Wu C.C. Angiotensin-(1-7) attenuates organ injury and mortality in rats with polymicrobial sepsis. *Crit. Care*. 2018; 22(1): 269. DOI: 10.1186/s13054-018-2210-y
21. Souza L.L., Costa-Neto C.M. Angiotensin-(1-7) decreases LPS-induced inflammatory response in macrophages. *J. Cell. Physiol.* 2012; 227(5): 2117-2122. DOI: 10.1002/jcp.22940
22. Klein N., Gembardt F., Supé S., Kaestle S.M., Nickles H., Erfananda L., Lei X., Yin J., Wang L., Mertens M., Szaszi K., Walther T., Kuebler W.M. Angiotensin-(1-7) protects from experimental acute lung injury. *Crit. Care Med.* 2013; 41(11): e334-43. DOI: 10.1097/CCM.0b013e31828a6688
23. Jiang M., Huang W., Wang Z., Ren F., Luo L., Zhou J., Yan R., Xia N., Tang L. Anti-inflammatory effects of Ang-(1-7) via TLR4-mediated inhibition of the JNK/FoxO1 pathway in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 cells. *Dev. Comp. Immunol.* 2019; 92:2 91-298. DOI: 10.1016/j.dci.2018.11.009
24. Li L., Sapkota M., Kim S., Soh Y. Herbactin inhibits inducible nitric oxide synthase via JNK and nuclear factor- κ B in LPS-stimulated RAW264.7 cells. *Eur. J. Pharmacol.* 2015; 765: 115-123. DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.08.032
25. Souza L.L., Duchene J., Todiras M., Azevedo L.C.P., Costa-Neto C.M., Alenina N., Santos R.A., Bader M. Receptor MAS protects mice against hypothermia and mortality induced by endotoxemia. *Shock*. 2014; 41(4): 331-336. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000115
26. Lu W., Kang J., Hu K., Tang S., Zhou X., Yu S., Xu L. Angiotensin-(1-7) relieved renal injury induced by chronic intermittent hypoxia in rats by reducing inflammation, oxidative stress and fibrosis. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2017; 50(1): e5594. DOI: 10.1590/1414-431X20165594
27. Clark M.A., Tallant E.A., Diz D.I. Downregulation of the AT1A receptor by pharmacologic concentrations of Angiotensin-(1-7). *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2001; 37(4): 437-448. DOI: 10.1097/00005344-200104000-00011
28. Walters P.E., Gaspari T.A., Widdop R.E. Angiotensin-(1-7) acts as a vasodepressor agent via angiotensin II type 2 receptors in conscious rats. *Hypertension*. 2005; 45(5): 960-966. DOI: 10.1161/01.HYP.0000160325.59323.b8
29. Rukavina Mikusic N.L., Silva M.G., Pineda A.M., Gironacci M.M. Angiotensin Receptors Heterodimerization and Trafficking: How Much Do They Influence Their Biological Function? *Front. Pharmacol.* 2020; 11: 1179. DOI: 10.3389/fphar.2020.01179
30. Akinaga J., García-Sáinz J.A., S. Pupo A. Updates in the function and regulation of α 1-adrenoceptors. *Br. J. Pharmacol.* 2019; 176(14): 2343-2357. DOI: 10.1111/bph.14617
31. Schutzer W.E., Mader S.L. Biochemical and molecular aspects of vascular adrenergic regulation of blood pressure in the elderly. *Int. J. Hypertens.* 2012; 2012: 915057. DOI: 10.1155/2012/915057
32. Bernardin G., Strosberg A.D., Bernard A., Mattei M., Marullo S. B-Adrenergic Receptor-Dependent and -Independent Stimulation of Adenylate Cyclase Is Impaired During Severe Sepsis in Humans. *Intensive Care Med.* 1998; 24(12): 1315-1322. DOI: 10.1007/s001340050768
33. Schmitz D., Wilsenack K., Lendemanns S., Schedlowski M., Oberbeck R. β -Adrenergic blockade during systemic inflammation: Impact on cellular immune functions and survival in a murine model of sepsis. *Resuscitation*. 2007; 72(2): 286-294. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2006.07.001
34. Chang Y.T., Huang W.C., Cheng C.C., Ke M.W., Tsai J.S., Hung Y.M., Huang N.C., Huang M.S., Wann S.R. Effects of epinephrine on heart rate variability and cytokines in a rat sepsis model. *Bosn. J. Basic Med. Sci.* 2020; 20(1): 88-98. DOI: 10.17305/bjbm.2018.3565
35. Кожевникова Л.М., Суханова И.Ф., Семенова Н.П., Крыжановский С.А. Половые различия возрастных изменений экспрессии рианоидиновых RYR2 и инозитол-1,4,5-трифосфатных IP3R1,2,3 рецепторов и их модуляторов CaM и Ерас в аорте и миокарде крыс. *Биологические мембраны*. 2020; 37(6): 453-465. DOI: 10.31857/S0233475520050084
36. Developing R., Tasker P.N., Michelangeli F., Nixon G.F. Expression and distribution of the type 1 and type 3 inositol 1,4, 5-trisphosphate receptor in developing vascular smooth muscle. *Circ. Res.* 1999; 84(5): 536-542. DOI: 10.1161/01.res.84.5.536
37. Tasker P.N., Taylor C.W., Nixon G.F. Expression and distribution of InsP3 receptor subtypes in proliferating vascular smooth muscle cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000; 273(3): 907-912. DOI: 10.1006/bbrc.2000.3036
38. Marchi S., Marinello M., Bononi A., Bonora M., Giorgi C., Rimessi A., Pinton P. Selective modulation of subtype III IP3R by Akt regulates ER Ca²⁺ release and apoptosis. *Cell Death Dis.* 2012; 3(5): e304. DOI: 10.1038/cddis.2012.45
39. Hattori M., Suzuki A.Z., Higo T., Miyauchi H., Michikawa T., Nakamura T., Inoue T., Mikoshiba K. Distinct Roles of Inositol 1,4,5-Trisphosphate Receptor Types 1 and 3 in Ca²⁺ Signaling. *J. Biol. Chem.* 2004; 279(12): 11967-11975. DOI: 10.1074/jbc.M311456200

References

- Wang C., Horby P.W., Hayden F.G., Gao G.F. A novel coronavirus outbreak of global health concern. *Lancet*. 2020; 395(10223): 470-473. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30185-9
- Islam A., Ahmed A., Naqvi I.H., Parveen S. Emergence of deadly severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 during 2019–2020. *Virusdisease*. 2020; 31(2): 1-9. DOI: 10.1007/s13337-020-00575-1
- Nicin L., Abplanalp W.T., Mellentin H., Kattih B., Tombor L., John D., Schmitto J.D., Heineke J., Emrich F., Arsalan M., Holubec T., Walther T., Zeiher A.M., Dimmeler S. Cell type-specific expression of the putative SARS-CoV-2 receptor ACE2 in human hearts. *Eur. Heart J.* 2020; 41(19): 1804-1806. DOI: 10.1093/eurheartj/ehaa311
- Ahn J.Y., Sohn Y., Lee S.H., Cho Y., Hyun J.H., Baek Y.J., Jeong S.J., Kim J.H., Ku N.S., Yeom J.S., Roh J., Ahn M.Y., Chin B.S., Kim Y.S., Lee H., Yong D., Kim H.O., Kim S., Choi J.Y. Use of convalescent plasma therapy in two covid-19 patients with acute respiratory distress syndrome in Korea. *J. Korean Med. Sci.* 2020; 35(14): e149. DOI: 10.3346/JKMS.2020.35.E149.6
- Semmler A., Smulders Y., Struys E., Smith D., Moskau S., Blom H., Linnebank M. Methionine metabolism in an animal model of sepsis. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2008; 46(10): 1398-1402. DOI: 10.1515/CCLM.2008.277
- Dauphinee S.M., Karsan A. Lipopolysaccharide signaling in endothelial cells. *Lab. Invest.* 2006; 86(1): 9-22. DOI: 10.1038/labinvest.3700366
- Abraham E., Singer M. Mechanisms of sepsis-induced organ dysfunction. *Crit. Care Med.* 2007; 35(10): 2408-16. DOI: 10.1097/01.ccm.0000282072.56245.91
- Gotts J.E., Matthay M.A. Sepsis: pathophysiology and clinical management. *BMJ*. 2016; 353: i1585. DOI: 10.1136/bmj.i1585
- Fleischmann C., Scherag A., Adhikari N.K., Hartog C.S., Tsaganos T., Schlattmann P., Angus D.C., Reinhart K, International Forum of Acute Care Trialists. Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-treated Sepsis. Current Estimates and Limitations. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2016; 193(3): 259-272. DOI: 10.1164/rccm.201504-0781OC
- Yang J., Zheng Y., Gou X., Pu K., Chen Z., Guo Q., Ji R., Wang H., Wang Y., Zhou Y. Prevalence of comorbidities and its effects in patients infected with SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 94: 91-95. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.03.017
- Cheng Z.J., Yang X., Wang H. Hyperhomocysteinemia and Endothelial Dysfunction. *Curr. Hypertens. Rev.* 2009; 5(2): 158-165. DOI: 10.2174/157340209788166940
- Ivanov A.V., Virus E.D., Loginov V.I., Zimina I.S., Burdenny A.M., Alexandrin V.V., Kubatiev A.A. [Homocysteine metabolism in experimental models of hyperhomocysteinemia in rodents. Part 1: genetic models]. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya [Pathological Physiology and Experimental Therapy]*. 2020; 4 (64): 118-124. DOI: 10.25557/0031-2991.04.118-124 (in Russian)
- Lund D.D., Brooks R.M., Faraci F.M., Heistad D.D. Role of angiotensin II in endothelial dysfunction induced by lipopolysaccharide in mice. *Am. J. Physiol. – Hear. Circ. Physiol.* 2007; 293(6): H3726-H3731. DOI: 10.1152/ajpheart.01116.2007
- Pulido E.J., Shames B.D., Fullerton D.A., Sheridan B.C., Selzman C.H., Gamboni-Robertson F., Bensard D.D., McIntyre R.C. Differential inducible nitric oxide synthase expression in systemic and pulmonary vessels after endotoxin. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2000; 278(5): R1232- R1239. DOI: 10.1152/ajp-regu.2000.278.5.R1232
- Tsai H.J., Shih C.C., Chang K.Y., Liao M.H., Liaw W.J., Wu C.C., Tsao C.M. Angiotensin-(1-7) treatment blocks lipopolysaccharide-induced organ damage, platelet dysfunction, and IL-6 and nitric oxide production in rats. *Sci. Rep.* 2021; 11(1): 610. DOI: 10.1038/s41598-020-79902-x
- Piechota-Polańczyk A., Gorąca A. Influence of specific endothelin-1 receptor blockers on hemodynamic parameters and antioxidant status

- of plasma in LPS-induced endotoxemia. *Pharmacol. Reports.* 2012; 64(6): 1434-1341. DOI: 10.1016/S1734-1140(12)70941-6
17. Lawrence T. The nuclear factor NF-kappaB pathway in inflammation. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2009; 1(6): a001651. DOI: 10.1101/cshperspect.a001651
 18. Pan W., Yu C., Hsueh H., Kastin A.J. The role of cerebral vascular NFkappaB in LPS-induced inflammation: differential regulation of efflux transporter and transporting cytokine receptors. *Cell. Physiol. Biochem.* 2010; 25(6): 623-630. DOI: 10.1159/000315081
 19. Santos R.A.S., Ferreira A.J., Verano-Braga T., Bader M. Angiotensin-converting enzyme 2, angiotensin-(1-7) and Mas: new players of the renin-angiotensin system. *J. Endocrinol.* 2013; 216(2): R1-R17. DOI: 10.1530/JOE-12-0341
 20. Tsai H.J., Liao M.H., Shih C.C., Ka S.M., Tsao C.M., Wu C.C. Angiotensin-(1-7) attenuates organ injury and mortality in rats with polymicrobial sepsis. *Crit. Care.* 2018; 22(1): 269. DOI: 10.1186/s13054-018-2210-y
 21. Souza L.L., Costa-Neto C.M. Angiotensin-(1-7) decreases LPS-induced inflammatory response in macrophages. *J. Cell. Physiol.* 2012; 227(5): 2117-2122. DOI: 10.1002/jcp.22940
 22. Klein N., Gembardt F., Supé S., Kaestle S.M., Nickles H., Erfina-da L., Lei X., Yin J., Wang L., Mertens M., Szasz K., Walther T., Kuebler W.M. Angiotensin-(1-7) protects from experimental acute lung injury. *Crit. Care Med.* 2013; 41(11): e334-43. DOI: 10.1097/CCM.0b013e31828a6688
 23. Jiang M., Huang W., Wang Z., Ren F., Luo L., Zhou J., Yan R., Xia N., Tang L. Anti-inflammatory effects of Ang-(1-7) via TLR4-mediated inhibition of the JNK/FoxO1 pathway in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 cells. *Dev. Comp. Immunol.* 2019; 92:2 91-298. DOI: 10.1016/j.dci.2018.11.009
 24. Li L., Sapkota M., Kim S., Soh Y. Herbacetin inhibits inducible nitric oxide synthase via JNK and nuclear factor- κ B in LPS-stimulated RAW264.7 cells. *Eur. J. Pharmacol.* 2015; 765: 115-123. DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.08.032
 25. Souza L.L., Duchene J., Todiras M., Azevedo L.C.P., Costa-Neto C.M., Alenina N., Santos R.A., Bader M. Receptor MAS protects mice against hypothermia and mortality induced by endotoxemia. *Shock.* 2014; 41(4): 331-336. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000115
 26. Lu W., Kang J., Hu K., Tang S., Zhou X., Yu S., Xu L. Angiotensin-(1-7) relieved renal injury induced by chronic intermittent hypoxia in rats by reducing inflammation, oxidative stress and fibrosis. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2017; 50(1): e5594. DOI: 10.1590/1414-431X20165594
 27. Clark M.A., Tallant E.A., Diz D.I. Downregulation of the AT1A receptor by pharmacologic concentrations of Angiotensin-(1-7). *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2001; 37(4): 437-448. DOI: 10.1097/00005344-200104000-00011
 28. Walters P.E., Gaspari T.A., Widdop R.E. Angiotensin-(1-7) acts as a vasodepressor agent via angiotensin II type 2 receptors in conscious rats. *Hypertension.* 2005; 45(5): 960-966. DOI: 10.1161/01.HYP.0000160325.59323.b8
 29. Rukavina Mikusic N.L., Silva M.G., Pineda A.M., Gironacci M.M. Angiotensin Receptors Heterodimerization and Trafficking: How Much Do They Influence Their Biological Function? *Front. Pharmacol.* 2020; 11: 1179. DOI: 10.3389/fphar.2020.01179
 30. Akinaga J., García-Sáinz J.A., S. Pupo A. Updates in the function and regulation of α 1-adrenoceptors. *Br. J. Pharmacol.* 2019; 176(14): 2343-2357. DOI: 10.1111/bph.14617
 31. Schmitz D., Mader S.L. Biochemical and molecular aspects of vascular adrenergic regulation of blood pressure in the elderly. *Int. J. Hypertens.* 2012; 2012: 915057. DOI: 10.1155/2012/915057
 32. Bernardin G., Strosberg A.D., Bernard A., Mattei M., Marullo S. B-Adrenergic Receptor-Dependent and -Independent Stimulation of Adenylate Cyclase Is Impaired During Severe Sepsis in Humans. *Intensive Care Med.* 1998; 24(12): 1315-1322. DOI: 10.1007/s001340050768
 33. Schmitz D., Wilsenack K., Lendemanns S., Schedlowski M., Oberbeck R. β -Adrenergic blockade during systemic inflammation: Impact on cellular immune functions and survival in a murine model of sepsis. *Resuscitation.* 2007; 72(2): 286-294. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2006.07.001
 34. Kozhevnikova L.M., Sukhanova I.F., Semenova N.P., Kryzhanovsii S.A. [Sex differences in age-related changes in the expression of ryanodine receptors RYR2 and inositol-1,4,5-trisphosphate receptors IP₃R1,2,3 and of their modulators CAM and EPAC in rat aorta and myocardium]. *Biologicheskije membrany [Biological Membranes]*. 2020; 37(6): 453-465. DOI: 10.31857/S0233475520050084 (in Russian)
 35. Chang Y. T., Huang W.C., Cheng C.C., Ke M.W., Tsai J.S., Hung Y.M., Huang N.C., Huang M.S., Wann S.R. Effects of epinephrine on heart rate variability and cytokines in a rat sepsis model. *Bosn. J. Basic Med. Sci.* 2020; 20(1):88-98. doi:10.17305/bjbm.2018.3565.
 36. Developing R., Tasker P.N., Michelangeli F., Nixon G.F. Expression and distribution of the type 1 and type 3 inositol 1,4, 5-trisphosphate receptor in developing vascular smooth muscle. *Circ. Res.* 1999; 84(5): 536-542. DOI: 10.1161/01.res.84.5.536
 37. Tasker P.N., Taylor C.W., Nixon G.F. Expression and distribution of InsP₃ receptor subtypes in proliferating vascular smooth muscle cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000; 273(3): 907-912. DOI: 10.1006/bbrc.2000.3036
 38. Marchi S., Marinello M., Bononi A., Bonora M., Giorgi C., Rimessi A., Pinton P. Selective modulation of subtype III IP₃R by Akt regulates ER Ca²⁺ release and apoptosis. *Cell Death Dis.* 2012; 3(5): e304. DOI: 10.1038/cddis.2012.45
 39. Hattori M., Suzuki A.Z., Higo T., Miyauchi H., Michikawa T., Nakamura T., Inoue T., Mikoshiba K. Distinct Roles of Inositol 1,4,5-Trisphosphate Receptor Types 1 and 3 in Ca²⁺ Signaling. *J. Biol. Chem.* 2004; 279(12): 11967-11975. DOI: 10.1074/jbc.M311456200

Сведения об авторах:

Кожевникова Любовь Михайловна — доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории хронического воспаления и микроциркуляции Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; <https://orcid.org/0000-0002-1323-6472>

Суханова Ирина Федоровна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории хронического воспаления и микроциркуляции Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; <https://orcid.org/0000-0002-1220-2596>

Иванов Александр Владимирович — кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории регуляции агрегатного состояния крови Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; <https://orcid.org/0000-0002-2424-6115>

Александрин Валерий Васильевич — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории регуляции агрегатного состояния крови Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; <https://orcid.org/0000-0003-4625-6522>