

УДК 616.71-007.234:542.943-92'78



Изучение возможностей фармакологической коррекции легочной гипертензии, индуцированной гипоксией, с использованием соединения фенольной природы с лабораторным шифром КУД975

Л.В. Корокина

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Белгородский государственный национальный исследовательский университет»
308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, д. 85

E-mail: Korokina@mail.ru

Получена 30.05.2023

После рецензирования 15.09.2023

Принята к печати 30.10.2023

Цель. Изучение фармакологической активности селективного ингибитора аргиназы-2 и тромбина из группы соединений фенольной природы с лабораторным шифром КУД975 на модели артериальной легочной гипертензии, индуцированной гипоксией.

Материалы и методы. Для моделирования легочной гипертензии (ЛГ) животных помещали в нормобарическую гипоксическую камеру и подвергали 5 неделям гипоксии с содержанием кислорода в воздухе 10%. После 3-х недель гипоксии животным вводили исследуемое соединение КУД975 (внутрижелудочно в дозе 2 мг/кг 1 раз в сут в течение 2 недель). В качестве препарата сравнения использовали L-норвалин (внутрижелудочно 20 мг/кг). Для оценки развития ЛГ и ее коррекции проводили измерение показателей кардиогемодинамики, анализ газового состава крови, изучение количества циркулирующих предшественников эндотелиальных клеток (ПЭК), количественную ПЦР с оценкой экспрессии мРНК VEGF-R2, SDF-1 (стромальный фактор роста-1) и MCP-1 (моноцитарный хемоаттрактантный белок-1). Далее проводили гистологическое исследование легких и сердца, оценивали степень отека легких и концентрацию кардиотрофина-1 и предсердного натрийуретического пептида.

Результаты. Введение исследуемого соединения фенольной природы с лабораторным шифром КУД975, как и препарата сравнения L-норвалина, привело к уменьшению систолического давления в полости правого желудочка сердца на фоне моделирования ЛГ. В настоящем исследовании показано снижение количества циркулирующих ПЭК более чем в 2 раза в группе животных с моделированием циркуляторной легочной гипертензии, индуцированной ЛГ ($171,3 \pm 12,1$), в сравнении с группой интактных животных ($296,1 \pm 31,7$; $p=0,0018$). Восстановление ПЭК было отмечено в группе животных, получавших КУД975 и L-норвалин, до $247,5 \pm 34,2$ ($p=0,0009$ в сравнении с легочной артериальной гипертензией (ЛАГ) и $235,6 \pm 36,4$ ($p=0,008$ в сравнении с ЛАГ) соответственно. Исследуемые соединения оказывали протективное действие, статистически значимо повышая экспрессию мРНК VEGF-R2 и снижая экспрессию мРНК SDF-1, а также снижая коэффициент влажности легких и концентрации кардиотрофина-1 и предсердного натрийуретического пептида и предотвращая сосудистое ремоделирование, вызванное гипоксией.

Заключение. При изучении фармакологической активности показано, что соединение фенольной природы с лабораторным шифром КУД975 нормализует показатели гемодинамики, уменьшает признаки ремоделирования сердца и легочных сосудов и обладает выраженным эндотелиопротективным действием на модели ЛГ, индуцированной гипоксией, и превосходит активность препарата сравнения L-норвалин.

Ключевые слова: легочная гипертензия; эндотелиальная дисфункция; оксид азота; гетероциклические кислоты; эндотелий; аргиназа-2; тромбин

Список сокращений: ЛГ – легочная гипертензия; ЛАГ – легочная артериальная гипертензия; ХТЭЛГ – хроническая тромбоэмболическая легочная гипертензия; ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких; СДПЖ – систолическое давление в полости правого желудочка; СрДПЖ – среднее давление в полости правого желудочка; ДДПЖ – диастолическое давление в полости правого желудочка; ЧСС – частота сердечных сокращений; ПЭК – предшественники эндотелиальных клеток; SDF-1 – стромальный фактор роста-1; VEGF – фактор роста эндотелия сосудов; MCP-1 – моноцитарный хемоаттрактантный белок-1; ПЖ – правый желудочек; ЛЖ – левый желудочек; PaO_2 – парциальное давление кислорода; $PaCO_2$ – парциальное давление углекислого газа; ЭК – эндотелиальная клетка; МП – межжелудочковая перегородка; ЭД – эндотелиальная дисфункция.

Для цитирования: Л.В. Корокина. Изучение возможностей фармакологической коррекции легочной гипертензии, индуцированной гипоксией, с использованием соединения фенольной природы с лабораторным шифром КУД975. *Фармация и фармакология*. 2023;11(4):312-323. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-4-312-323

© Л.В. Корокина, 2023

For citation: L.V. Korokina. Studying the possibilities of pharmacological correction of hypoxia-induced pulmonary hypertension using a phenolic compound with a laboratory cypher KUD975. *Pharmacy & Pharmacology*. 2023;11(4):312-323. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-4-312-323

Studying the possibilities of pharmacological correction of hypoxia-induced pulmonary hypertension using a phenolic compound with a laboratory cypher KUD975

L.V. Korokina

Belgorod State National Research University
85, Pobeda Str., Belgorod, Russia, 308015

E-mail: Korokina@mail.ru

Received 30 May 2023

After peer review 15 Sep 2023

Accepted 30 Oct 2023

The aim of our work was to study a pharmacological activity of a selective arginase-2 and thrombin inhibitor from a phenolic compounds group with a laboratory cypher KUD975 on a model of arterial pulmonary hypertension induced by hypoxia.

Materials and methods. To simulate pulmonary hypertension (PH), animals were placed in a normobaric hypoxic chamber and subjected to 5 weeks of hypoxia with an oxygen content of 10% in the air. After 3 weeks of hypoxia, the animals were administered with the test compound KUD975 (intragastrically, at a dose of 2 mg/kg once a day for 2 weeks). L-norvaline (intragastrically, 20 mg/kg) was used as a reference drug. To assess the development and correction of PH, measurements of cardiohemodynamics, analysis of blood gas composition, study of the number of circulating endothelial precursor cells (EPCs), quantitative PCR assessing the expression of mRNA VEGF-R2, SGF-1 (stromal growth factor-1) and MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1). Next, a histological examination of the lungs and heart was performed, the degree of pulmonary edema and the concentration of cardiotrophin-1 and atrial natriuretic peptide were assessed.

Results. The administration of the studied phenolic compound with laboratory cypher KUD975, as well as the reference drug L-norvaline, led to a decrease in the right ventricular systolic pressure against the background of modeling PH. The present study shows a more than twice-fold decrease in the number of circulating (EPCs) in the animals group with modeling a hypoxia-induced circulatory PH (171.3 ± 12.1) in comparison with the group of intact animals (296.1 ± 31.7 ; $p=0.0018$). The recovery of EPCs was noted in the animals group administered with KUD-975 and L-norvaline, up to 247.5 ± 34.2 ($p=0.0009$ compared with a pulmonary arterial hypertension (PAH) and 235.6 ± 36.4 ($p=0.008$ compared to PAH), respectively. The studied compounds had a protective effect by statistically significantly increasing the expression of VEGF-R2 mRNA and decreasing the expression of SGF-1 mRNA, reducing the lung moisture coefficient and the concentrations of cardiotrophin-1 and atrial natriuretic peptide and preventing vascular remodeling caused by hypoxia.

Conclusion. When studying the pharmacological activity, it was shown that the phenolic compound with the laboratory cypher KUD975 normalizes hemodynamic parameters, reduces the signs of remodeling of the heart and pulmonary vessels and has a pronounced endothelial protective effect on the model of hypoxia-induced PH, and is superior to the activity of the reference drug L-norvaline.

Keywords: pulmonary hypertension; endothelial dysfunction; nitric oxide; heterocyclic acids; endothelium; arginase-2; thrombin

Abbreviations: PH – pulmonary hypertension; PAH – pulmonary arterial hypertension; CTPH – chronic thromboembolic pulmonary hypertension; COPD – chronic obstructive pulmonary disease; RVAP – right ventricular average pressure; RVSP – right ventricular systolic pressure; HR – heart rate; EPCs – endothelial precursor cells; SDF-1 – stroma-derived growth factor; VEGF – vascular endothelial growth factor; MCP-1 – monocyte chemoattractant protein-1; RV – right ventricle; LV – left ventricle; PaO_2 – oxygen partial pressure; PaCO_2 – carbon dioxide partial pressure; EC – endothelial cell; MP – interventricular septum; ED – endothelial dysfunction.

ВВЕДЕНИЕ

Легочная гипертензия (ЛГ) – прогрессирующее и часто смертельное сердечно-легочное заболевание, характеризующееся повышением давления в легочной артерии, структурными изменениями в малом круге кровообращения и формированием сосудистых осложнений [1].

ЛГ в целом состоит из смешанной группы нарушений, все из которых, в конечном итоге, приводят к повышению легочного артериального давления (АД). ЛГ клинически классифицирована 6-м Всемирным симпозиумом по легочной гипертензии (WSPH, 2018) как ЛГ 1-й группы в зависимости от основной этиологии. Другие клинические подгруппы включают ЛГ 2-й

группы, которая развивается из-за основной сердечной недостаточности (сниженная или сохраненная фракция выброса), порока клапанов сердца или врожденных пороков сердца [2]. ЛГ 3-й группы возникает из-за заболеваний легких или гипоксии. ЛГ 4-й группы развивается из-за обструкции легочной артерии, которая также включает хроническую тромбоэмболическую ЛГ (ХТЭЛГ) [3]. ХТЭЛГ характеризуется хронической организацией тромбов в легочных артериолах с последующим фиброзом и стенозом сосудов [4]. ЛГ 5-й группы представляет собой сложную когорту, часто обусловленную многофакторной этиологией [3].

Легочная артериальная гипертензия (ЛАГ)

является особенно сложной формой ЛГ, поскольку она включает прогрессирующий гиперпролиферативный процесс, при отсутствии лечения приводящий к правожелудочковой недостаточности и смерти [5, 6].

Патофизиология ЛАГ сложна и вариабельна, учитывая множество молекулярных механизмов и лежащих в основе нарушений, вовлеченных в патогенез. Однако наиболее распространенными патологическими признаками, независимо от первоначального этиологического фактора, являются дисфункция эндотелиальных клеток легочной артерии, пролиферация и миграция гладкомышечных клеток легочной артерии и нарушение регуляции активности фибробластов [5, 7].

Вызванная гипоксией ЛГ, является потенциально тяжелым и смертельным заболеванием легких. Известно, что хроническая гипоксия приводит к ремоделированию легочных сосудов, ЛГ и гипертрофии правого желудочка (ПЖ) сердца с последующим риском развития правожелудочковой недостаточности. Хронические заболевания легких, такие как хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), муковисцидоз и бронхолегочная дисплазия, могут привести к диффузной хронической альвеолярной гипоксии [8]. Развитие ЛГ связано со значительной заболеваемостью и смертностью у этих пациентов [9, 10].

Несмотря на это, в настоящее время существует несколько методов лечения ЛГ, а стратегии профилактики остаются в значительной степени неизвестными.

ЦЕЛЬ. Изучение фармакологической активности селективного ингибитора аргиназы-2 и тромбина из группы соединений фенольной природы с лабораторным шифром КУД975 на модели артериальной легочной гипертензии, индуцированной гипоксией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные животные

Все экспериментальные исследования проведены в соответствии с Правилами лабораторной практики, утвержденными приказом Минздрава России от 23.08.2010 № 708н, при строгом соблюдении Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или других научных целей (Директива 2010/63/ЕС). Экспериментальные исследования одобрены Биоэтической комиссией Белгородского государственного национального исследовательского университета (протокол № 11/9 от 12 февраля 2022 года). Вивисекцию проводили в соответствии с этическими принципами обращения с лабораторными животными, изложенными в Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (CETS № 123).

В качестве основной тест-системы были использованы мыши C57Bl/6J ($n=40$) полученные

из Экспериментально-биологической клиники НИУ «БелГУ». После прохождения 14-дневного карантинного режима, мыши были стратифицированы по массе и рассажены в отдельные конвенциональные клетки в соответствии с принадлежностью к экспериментальной группе. До и во время выполнения исследования животные содержались в помещениях с искусственным освещением (режим 12 ч/12 ч) при температуре 21–23°C, влажности 38–50% и имели свободный доступ к корму и воде.

Дизайн исследования

Для моделирования ЛГ животных помещали в нормобарическую гипоксическую камеру (авторская разработка) с контролем газового состава воздуха. Экспериментальных мышей подвергали 3 неделям гипоксии с содержанием кислорода в воздухе 10%. Нормобарическую гипоксическую камеру открывали на 1 ч один раз в 3 дня для замены подстилки, бутылок с водой и корма. Использовали мышей дикого типа (C57Bl/6) обоего пола (возраст 10–12 недель), животных равномерно рандомизировали по полу (самки и самцы в группе в соотношении 50/50) и весу (вес животных в группе в диапазоне 24±2 грамма). Животных контрольной группы содержали в нормобарической гипоксической камере в условиях нормоксии. После 3 недель нахождения животных в гипоксической камере, они получали различные лекарственные соединения еще в течение 2 недель в тех же условиях окружающей среды. Таким образом, животные экспериментальных групп находились в гипоксической камере в течении 5 недель [11].

Исследуемые соединения

В работе изучена фармакологическая активность соединения фенольной природы с лабораторным шифром КУД975 (метилловый эфир 2-((1-гидроксинафталин-2-ил)тио)ацетил)-D-пролина). Соединение синтезировано группой ученых под руководством доктора химических наук Кудрявцева Константина Викторовича (РНИМУ им. Н.И. Пирогова). На рисунке 1 представлена структурная формула исследуемого соединения.

В качестве препарата сравнения использовали ингибитор аргиназ L-норвалин ($C_5H_{11}NO_2$, Clearsynth, Индия).

КУД975 вводили внутривенно в дозе 2 мг/кг один раз в день в течении 2 недель. В качестве препарата сравнения использовали L-норвалин в дозе 20 мг/кг внутривенно.

Таким образом, были сформированы следующие экспериментальные группы:

1. Контроль (1% крахмальный раствор внутривенно);
2. ЛАГ, индуцированная гипоксией;
3. ЛАГ+КУД975 в дозе 2 мг/кг 14 дней;
4. ЛАГ+L-норвалин в дозе 20 мг/кг 14 дней.

Расчет дозирования и режимы введения исследуемых соединений и препаратов сравнения основаны на их эффективности в экспериментальных исследованиях, проведенных ранее в области фармакологической коррекции эндотелий ассоциированной патологии [12–15].

Перерасчет доз произведен с использованием межвидовых коэффициентов, а дизайн проведенных экспериментальных исследований осуществлен в соответствии с рекомендациями по доклиническим исследованиям^{1,2}.

Измерение давления в полости правого желудочка сердца, анализ газового состава крови

Давление в ПЖ сердца и газовый состав венозной крови измеряли у мышей, находящихся под наркозом (2–2,5% изофлурана в 100% кислороде), через 5 недель от начала эксперимента. Для этого на шее мышей был сделан небольшой кожный разрез и выделена правая наружная яремная вена, которая была катетризирована полиэтиленовым (PE 10) катетером. Далее катетер был проведен в полость ПЖ сердца. У каждого животного АД в полости ПЖ регистрировали непрерывно с частотой дискретизации 1 кГц в течение не менее 30 сек с помощью пьезоэлектрического датчика давления и полиграфа MP-150 (BIOPAC Systems, Inc. США). Правильное анатомическое положение наконечника катетера контролировали путем постоянного мониторинга кривой сигнала давления. Определяли систолическое давление в полости правого желудочка (СДПЖ), среднее давление в полости правого желудочка (СрДПЖ), диастолическое давление в полости правого желудочка (ДДПЖ), частоту сердечных сокращений (ЧСС), $dP/dt \max$, $dP/dt \min$. Показатели гемодинамики определяли с помощью аппаратного комплекса Биорас MP-150 (BIOPAC Systems, Inc. США) и компьютерной программы AcqKnowledge 3.8.1 (США). После измерения показателей гемодинамики животное выводили из эксперимента путем передозировки этилового эфира, производили забор крови для анализа газового состава (парциальное давление кислорода и углекислого газа) [11].

Изучение количества циркулирующих предшественников эндотелиальных клеток

Для измерения уровня циркулирующих предшественников эндотелиальных клеток (ПЭК) мы использовали метод культивирования клеток и окрашивания, который был описан в исследовании Pan Y. и соавт. [16]. Мононуклеарные клетки выделяли

из периферической крови центрифугированием (центрифуга Eppendorf 5430R, Германия) в растворе Histopaque-1083 (раствор, содержащий полисахарозу и диатризоат натрия, доведенный до плотности 1,083 г/мл) в соответствии с инструкциями производителя (Sigma Chemical, США). Выделенные мононуклеарные клетки высевали в трех повторениях на 96-луночные планшеты, покрытые 1%-ным желатином, в базальную среду для эндотелиальных клеток (Thermo Scientific, США), дополненную 2% фетальной бычьей сывороткой, пенициллином (100 Ед/мл) и стрептомицином (100 мкг/мл). После 2 дней культивирования прилипшие клетки тщательно промывали средой и совместно окрашивали Dil AcLDL (Thermo Scientific, США).

Количественная ПЦР

Для исследования влияния исследуемых препаратов на молекулярные механизмы развития ЛГ нами поставлена полимеразная цепная реакция в реальном времени с целью определения экспрессии мРНК VEGF-R2, SDF-1 (стромальный фактор роста-1) и MCP-1 (моноцитарный хемоаттрактантный белок-1). Для проведения количественной ПЦР в реальном времени часть легкого гомогенизировали и 10 мин инкубировали при 37°C в растворе «Extract RNA». После лизирования образца в реагенте его подвергали хлороформной чистке, надосадочную пробу собирали и промывали изопропиловым спиртом и 70%-ным этиловым спиртом. Концентрацию полученной РНК измеряли на спектрофотометре IMPLen NanoPhotometer® NP80 (IMPLEN, Германия) и доводили до концентрации 300 нг/мкл добавлением деионизированной воды (ЗАО Евроген, Россия). Обратную транскрипцию проводили с использованием набора MMLVRTSK021 в соответствии с протоколом фирмы-производителя (ЗАО Евроген, Россия). Уровень экспрессии гена оценивали относительно значений референсного гена Gapdh. Расчет экспрессии в конкретной точке проводили по формуле [8]:

Экспрессия гена = $[(Ct(Gapdh))/Ct(\text{Ген интереса})]$.

Методика гистологического исследования

Для гистологического исследования органы (сердце и легкие) извлекали и фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине. Затем материал заливали в стандартном режиме в парафин в автомате карусельного типа «STP-120» (Microm International GmbH, Германия). Исследование гистологических препаратов выполняли под микроскопом Axio Scope A1 (Carl Zeiss Microimaging GmbH, Германия), морфометрию выполняли с использованием программы Image J 1.54d. Определяли толщину стенки легочной артерии, были оценены легочные сосуды вблизи альвеол и определены диаметры 20 сосудов на предметном стекле. От каждого животного оценивали по 5 срезов. Одновременно проведена оценка количества затромбированных сосудов в поле зрения (увеличение микроскопа 400-кратное).

¹ Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ: учеб. пособие для системы послевуз. проф. образования врачей / Науч. центр экспертизы средств мед. применения; под общ. ред. Р.У. Хабриева. – 2-е изд., перераб. и доп. – Москва: Изд-во Медицина: Изд-во Шико, 2005. – 826 с.

² Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств: в 2 ч. / Науч. центр экспертизы средств мед. применения; редкол.: А.Н. Мионов (пред.) [и др.]. – Москва: «Гриф и К», 2012. – Ч. 1. – 940 с.

На каждом предметном стекле, окрашенном гематоксилином и эозином, оценивали приблизительно 20 сосудов перибронхиальной легочной артерии (увеличение микроскопа $\times 400$). Степень окклюзии определяли, как соотношение между внешней и внутренней (т.е. просветной) окружностями каждого сосуда. Степень гипертрофии миокарда ПЖ сердца определяли с помощью программного обеспечения для анализа изображений MCID 7.0 Image Research. С этой целью делали горизонтальный разрез через сердце мыши на уровне желудочков, полученные срезы сканировали с помощью инструмента рисования левый и правый желудочки были разделены вручную тонкой линией одинаковым образом для всех срезов. Затем проведенный попиксельный анализ площадей ПЖ и ЛЖ с межжелудочковой перегородкой (МП). Результаты представлены в виде соотношения ПЖ/(ЛЖ+МП).

Определение степени отека легких

При выведении животных из эксперимента был произведен забор легких и их разделение на отдельные доли. Затем определяли массу доли легкого до и после сушки в термостате при 70°C в течение 72 ч. Результаты выражали в виде отношения массы легких до и после сушки.

Биохимические маркеры

Кардиотрофин-1 (КТ-1) и предсердный натрийуретический пептид (ПНП) измеряли в сыворотке крови с помощью наборов для ИФА (ELM-Cardiotrophin-1/EIA-ANP-1, RayBiotech, Norcross, США) в соответствии с инструкциями производителя.

Статистический анализ

Данные были проверены на нормальность распределения с использованием критерия Шапиро–Уилка. Данные с нормальным распределением сравнивались с использованием обычного одностороннего дисперсионного анализа (ANOVA) с пост-тестом Тьюки. Данные с ненормальным распределением сравнивались с тестом Крускала–Уоллеса и тестом Данна post hoc. Различия были определены на уровне значимости $p < 0,05$. Экспериментальные данные представлены в виде значений $M \pm SD$. Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 9.2.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Моделирование ЛГ в гипоксической камере приводило к статистически значимому увеличению СДПЖ практически в 2 раза, ДДПЖ более чем в 2 раза, максимальной скорости сокращения ($dP/dt \max$) и минимальной скорости сокращения ($dP/dt \min$) и не приводило к статистически значимому изменению ЧСС (табл. 1). Введение исследуемого соединения с лабораторным шифром КУД975, как и препарата сравнения L-норвалина, привело к статистически значимому снижению всех

исследуемых показателей, причем показатель, $dP/dt \max$ в группах животных с введением исследуемых препаратов максимально приближался к таковым значениям в группе интактных животных (табл. 1).

Для характеристики состояния сосудистого эндотелия произведена оценка количества циркулирующих ПЭК, которое статистически значимо снижалось у животных с циркуляторной ЛГ, индуцированной гипоксией (Рис. 1).

В настоящем исследовании показано снижение количества циркулирующих ПЭК более чем в 2 раза в группе животных с моделированием циркуляторной ЛГ, индуцированной гипоксией ($171,3 \pm 12,1$) в сравнении с группой интактных животных ($296,1 \pm 31,7$; $p = 0,0018$). В группах животных, которым вводили исследуемые соединения, количество циркулирующих ПЭК статистически значимо повышалось (Рис. 2).

При анализе результатов исследования газового состава крови обнаружена схожая картина – статистически значимое снижение парциального давления кислорода (PaO_2) на фоне статистически значимого повышения парциального давления углекислого газа ($PaCO_2$) в группе животных с ЛГ. Соединения КУД975 и L-норвалин статистически значимо (в сравнении с группой ЛАГ) и сопоставимо восстанавливали значения показателей газового состава крови у животных экспериментальных групп (Рис. 3).

Установлено, что уровни экспрессии мРНК VEGF-R2 в легких были статистически значимо снижены, а уровни SDF-1 статистически значимо повышены при ЛАГ. При применении соединения КУД975 и L-норвалина обнаружено статистически значимое повышение экспрессии мРНК VEGF-R2 и снижение экспрессии мРНК SDF-1. При этом степень увеличения экспрессии мРНК VEGF-R2 в группе животных, получавших КУД975, была статистически значимо выше таковой в группе животных, получавших L-норвалин. В то же время, исследуемые соединения не влияли на экспрессию мРНК MCP-1 при моделировании ЛГ, индуцированной гипоксией (Рис. 4).

Степень отека легких в экспериментальных группах оценивали по соотношению массы влажных и сухих легких. Моделирование легочной гипертензии с помощью гипоксии увеличивало соотношение веса влажного легкого к сухому на 33%. Степень отека легкого была статистически значимо уменьшена при применении соединения КУД975 и L-норвалина. Значение данного показателя в экспериментальных группах было ниже, чем в группе животных с ЛГ. Значение коэффициента влажности в группе животных с применением КУД975, максимально приближалось к целевым значениям, установленным в группе интактных животных (Рис. 5).

При исследовании концентрации в плазме крови цитокинов КТ-1 и ПНП установлено, что уровень обоих факторов статистически значимо повышался при моделировании ЛГ с помощью гипоксии. Так, в группе животных с ЛГ без лечения (ЛАГ)

концентрации КТ-1 и ПНП увеличилась более чем в 5 раз (Рис. 6). Применение соединений КУД975 и L-норвалина привело к статистически значимому снижению концентраций КТ-1 и ПНП в плазме крови.

Гистологическая картина легких в группе животных с циркуляторной ЛГ, индуцированной гипоксией, представлена на рисунке 7.

При анализе толщины стенки легочной артерии (ЛА) установлено, что на фоне моделирования циркуляторной ЛГ с помощью гипоксии исследуемый показатель увеличивался более чем в 2 раза с $0,742 \pm 0,049$ до $1,728 \pm 0,24$ мкм. Введение КУД975 и L-норвалина приводило к статистически значимому (в сравнении с группой ЛАГ) уменьшению толщины стенки ЛА. Статистически значимым различий в эффективности снижения данного показателя между группами, получавшими КУД975 и L-норвалин, обнаружено не было. При оценке количества тромбированных сосудов в поле зрения обнаружено, что данный показатель в легких животных, получавших КУД975 и L-норвалин, был статистически значимо ниже, чем в группе животных с ЛГ без лечения (Рис. 7).

При оценке эффективности коррекции морфологических проявлений ЛГ в сердце показано, что КУД975 и L-норвалин в изученных дозах обладали выраженной фармакологической активностью, статистически значимо снижая площадь поперечного сечения кардиомиоцитов. Также уменьшение гипертрофии ПЖ было подтверждено гистологическим исследованием, продемонстрировавшим уменьшение вызванного гипоксией увеличения соотношения ПЖ/(ЛЖ+S) как при лечении КУД975, так и при лечении L-норвалином (Рис. 8). Соотношение площадей ЛЖ и ПЖ.

ОБСУЖДЕНИЕ

На сегодняшний день очевидно, что разработка новых ингибиторов аргиназ представляет собой многообещающую стратегию в отношении лечения заболеваний, связанных с нитроксидазической системой. Учитывая различную экспрессию аргиназы-1 и аргиназы-2 в тканях и их различное физиологическое действие, на сегодняшний день доступно достаточно большое количество специфических и селективных ингибиторов этих двух изоформ фермента. Например, эндотелиоциты экспрессируют обе изоформы аргиназ, однако точно неизвестно, какова роль каждой из этих изоформ в развитии эндотелиальной дисфункции (ЭД). Остаются значительные разногласия относительно роли экспрессии аргиназ при различных состояниях, таких как атеросклероз и другие формы воспаления сосудов. Например, гипергликемия при сахарном диабете вызывает ЭД посредством активации p38 митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК), который вызывает повышенную регуляцию Arg1 в коронарных артериях и повышенную экспрессию Arg2 в брыжеечных артериях [17, 18].

Исследования показали, что блокада аргиназ может предотвращать снижение ангиогенеза за

счет увеличения экспрессии VEGF, индуцированной оксидом азота (NO), инициировать восстановление сосудов при экспериментальной ишемической ретинопатии (нормализация функции NOS и снижение выработки супероксида) [19], и способствовать заживлению ран у мышей, и предотвращать морфофункциональные изменения сердечно-сосудистой системы на фоне преэклампсии [20].

Таким образом, имеются существенные доказательства терапевтического потенциала ингибирования аргиназ в отношении эндотелий ассоциированной патологии, связанной с низкой биодоступностью NO. Следовательно, этот фермент очень привлекателен с точки зрения исследований и разработки новых соединений – кандидатов в лекарственные средства для лечения эндотелий-ассоциированной патологии. С другой стороны, нам известна эффективность разнонаправленного подхода к фармакологической коррекции ЭД, когда для терапевтического воздействия применяются два и более соединения, различных по своему механизму действия и точке приложения [21, 22].

Сочетание воздействия одного соединения на 2 различные мишени, представляющие из себя два разных звена патогенеза ЭД, видится перспективным для разработки новых кандидатов в лекарственные средства. В качестве второй мишени, которая, в дополнение к аргиназе-2, интересна для ингибирования при состояниях, сопровождающихся ЭД, выбран тромбин. Взаимодействие тромбоцитов со стенками сосудов играет важную роль при острых сердечно-сосудистых заболеваниях [23].

Тромбин является мощным активатором тромбоцитов, оказывая выраженное воздействие на эндотелий. Эндотелиальные клетки (ЭК) обладают антитромботической активностью, высвобождая NO и простациклин, которые являются мощными сосудорасширяющими средствами и ингибиторами активности тромбоцитов. Фермент свертывания крови тромбин, вырабатываемый на поверхности поврежденного эндотелия, индуцирует свертывание крови и оказывает множество функциональных воздействий на сам эндотелий. Тромбин воздействует на ЭК, стимулируя синтез и высвобождение различных агентов, таких как медиаторы воспаления, вазоактивные вещества и факторы роста. Он вызывает адгезию лейкоцитов к эндотелию, запуская экспрессию молекул адгезии на поверхности клеток, и вызывает нарушение проницаемости эндотелия. Известно, что действие тромбина на ЭК опосредуются его рецептором. На сегодняшний день показана различная реакция ЭК на тромбин. В целом эндотелиальные клетки капилляров, по-видимому, особенно чувствительны к этому ферменту. Вызванная тромбином ЭД, в микроциркуляторном русле может иметь патологические последствия и способствовать поражению органов-мишеней при эндотелий-ассоциированной патологии [24, 25].

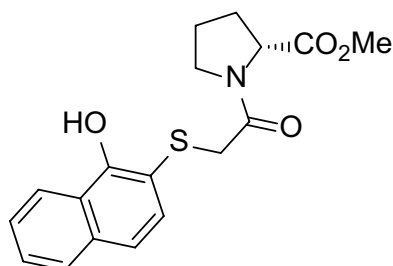


Рисунок 1 – Структурная формула исследуемого соединения с лабораторным шифром КУД975 – метиловый эфир 2-((1-гидроксиафталин-2-ил)тио)ацетил)-D-пролина

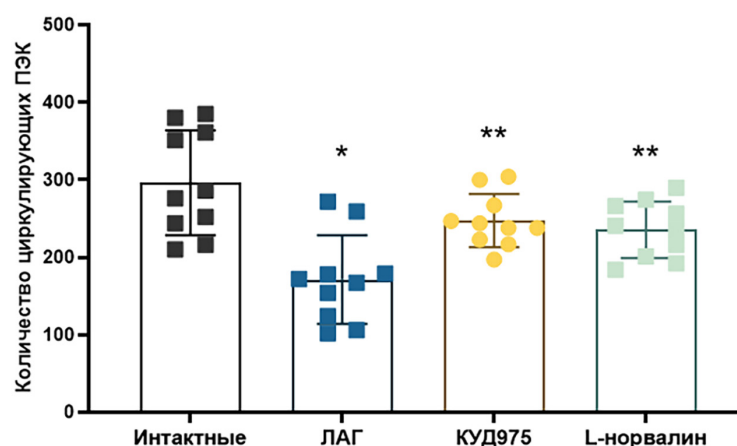


Рисунок 2 – Влияние исследуемых соединений на количество циркулирующих эндотелиальных клеток-предшественников (ПЭК) в крови животных в экспериментальных группах при легочной гипертензии на фоне гипоксии

Примечание (здесь и для Рис. 2–7): интактные – группа интактных животных; ЛАГ – легочная артериальная гипертензия, индуцированная гипоксией; КУД975 – введение соединения КУД975 в дозе 2 мг/кг на фоне моделирования ЛГ; L-норвалин – введение L-норвалина в дозе в дозе 20 мг/кг на фоне моделирования ЛГ; * – $p < 0,05$ по сравнению с интактными; ** – $p < 0,05$ по сравнению с ЛАГ.

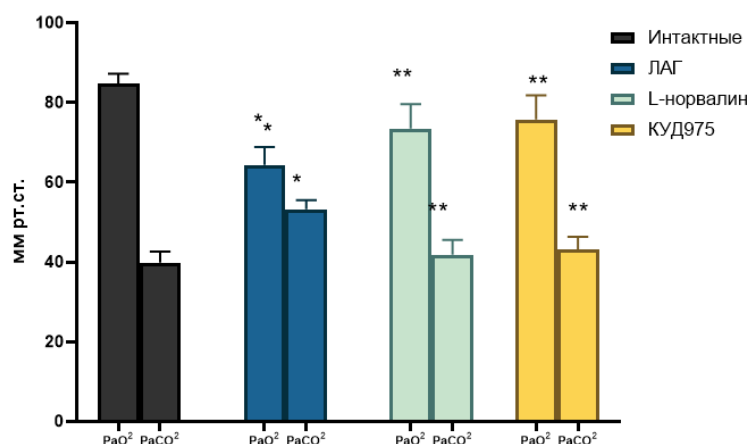


Рисунок 3 – Влияние КУД975 и L-норвалина на парциальное давление кислорода и углекислого газа в экспериментальных группах при легочной гипертензии на фоне гипоксии

Примечание: PaO₂ – парциальное давление кислорода; PaCO₂ – парциальное давление углекислого газа; * $p < 0,05$ по сравнению с интактными, ** – $p < 0,05$ по сравнению с ЛАГ.

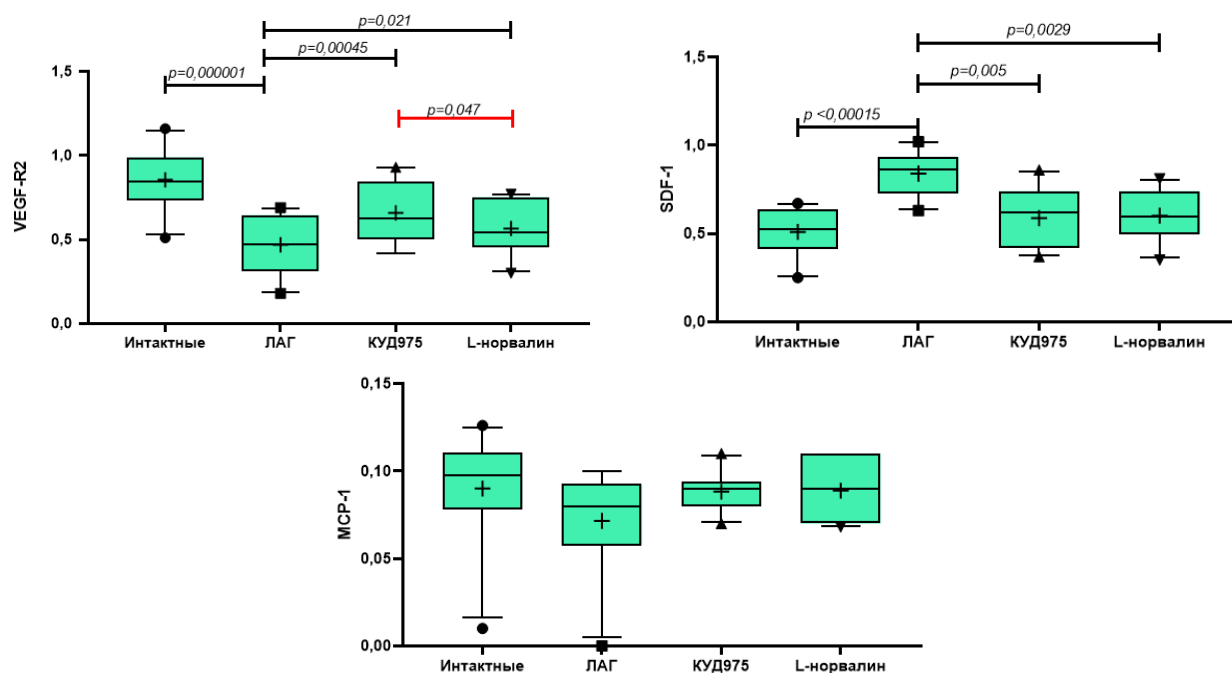


Рисунок 4 – Влияние КУД975 и L-норвалина на экспрессию мРНК молекулярных мишеней развития легочной гипертензии на фоне гипоксии

Примечание: VEGF-R2 – рецептор фактора роста эндотелия сосудов 2; SDF-1 – фактор стромальных клеток 1; MCP-1 – моноцитарный хемоаттрактантный белок-1.

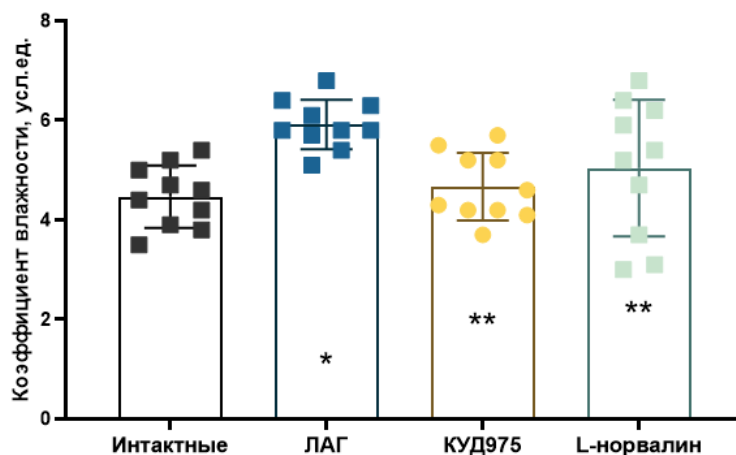


Рисунок 5 – Количественная оценка образования отека легких с помощью оценки соотношения массы влажных и сухих легких в группах животных, получавших КУД975 и L-норвалина на фоне моделирования легочной гипертензии гипоксией

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с интактными; ** – $p < 0,05$ по сравнению с ЛАГ.

Таблица 1 – Показатели кардиогемодинамики в группах животных с моделированием легочной гипертензии и ее коррекцией с помощью исследуемых соединения

Показатели	Контроль	ЛАГ	ЛАГ+КУД975	ЛАГ+L-норвалин
СДПЖ	28,8±4,84	51,8±19,23*	32,5±7,51**	33,1±4,9**
ДДПЖ	2,527±0,32	5,706±0,78*	3,918±0,5**	4,019±0,59**
dP/dt max	104,5±17,2	68,8±15,5*	88,4±10,9**	87,6±11,2**
dP/dt min	99,4±11,5	74,9±9,25*	86±7,53**	82,5±7,81**
ЧСС	365,6±19,4	336,8±24,37	344,2±31,6	350,7±26,5

Примечание: ЛАГ – группа животных с легочной гипертензией, индуцированной гипоксией; СДПЖ – систолическое давление в полости правого желудочка сердца; ДДПЖ – диастолическое давление в полости правого желудочка сердца; ЧСС – частота сердечных сокращений; dP/dt max – максимальная скорость нарастания внутрижелудочкового давления; dP/dt min – минимальная скорость нарастания внутрижелудочкового давления; * – $p < 0,05$ в сравнении с группой интактных животных; ** – $p < 0,05$ в сравнении с группой животных с экспериментальной легочной артериальной гипертензией без лечения (группа ЛАГ).

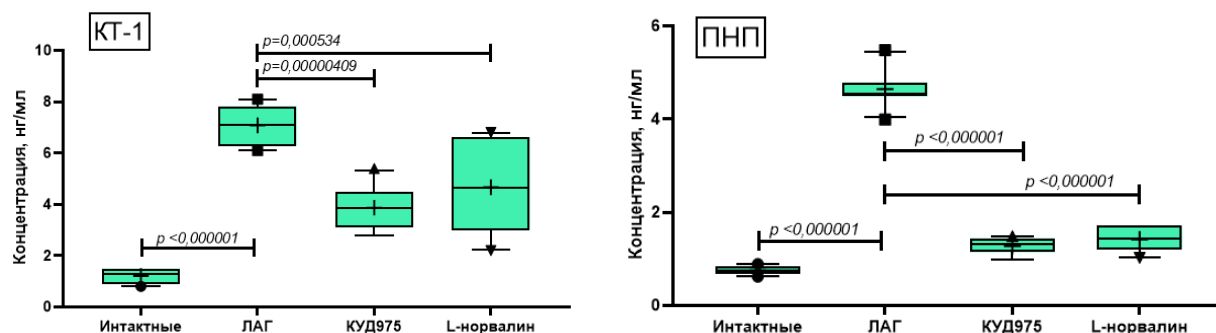


Рисунок 6 – Влияние КУД975 и Л-норвалина на концентрации в плазме крови цитокинов кардиотрофина-1 и предсердного натрийуретического пептида

Примечание: КТ-1 – кардиотрофин-1; ПНП – предсердный натрийуретический пептид.

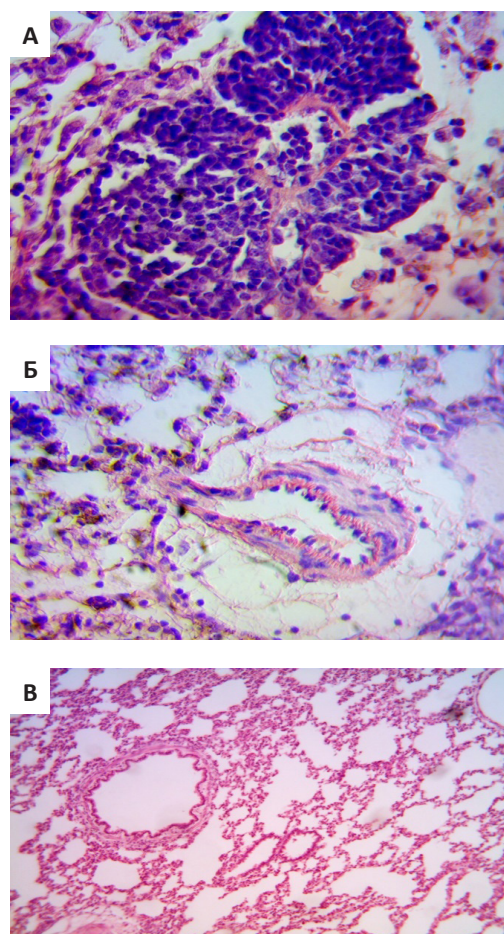
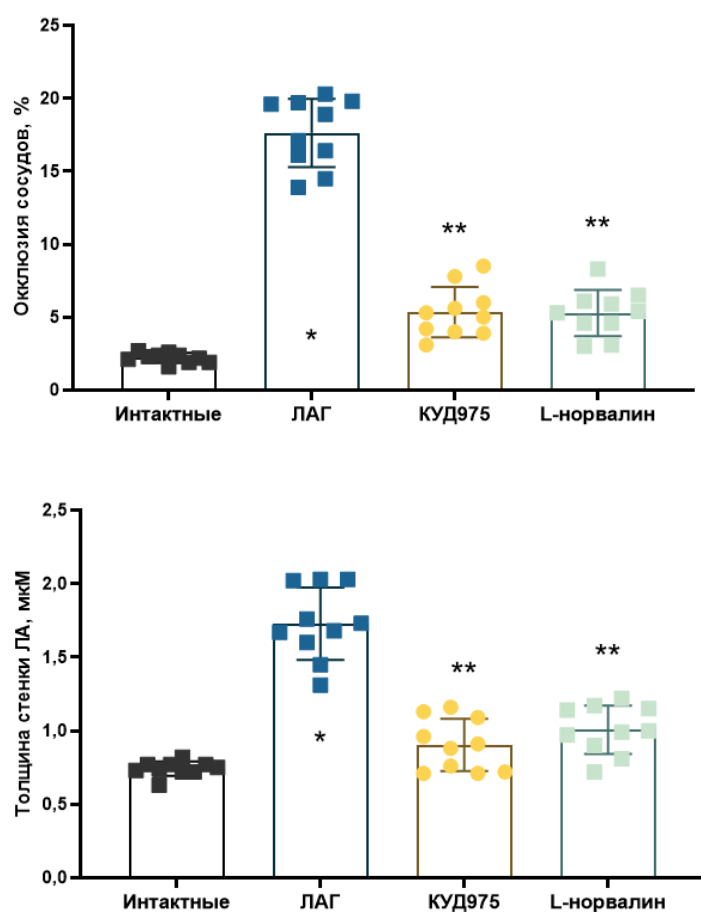


Рисунок 7 – Влияние КУД975 и Л-норвалина на гистологическое строение легких при моделировании циркуляторной легочной гипертензии гипоксией

Примечание: толщина стенки ЛА – толщина стенки легочной артерии; А – микрофотография стенки легочной артерии (x400); Б – микрофотография легкого, периваскулярный фиброз, окр. гематоксин+эозин (x400); * – при $p < 0,05$ по сравнению с интактными; ** – при $p < 0,05$ по сравнению с ЛАГ.

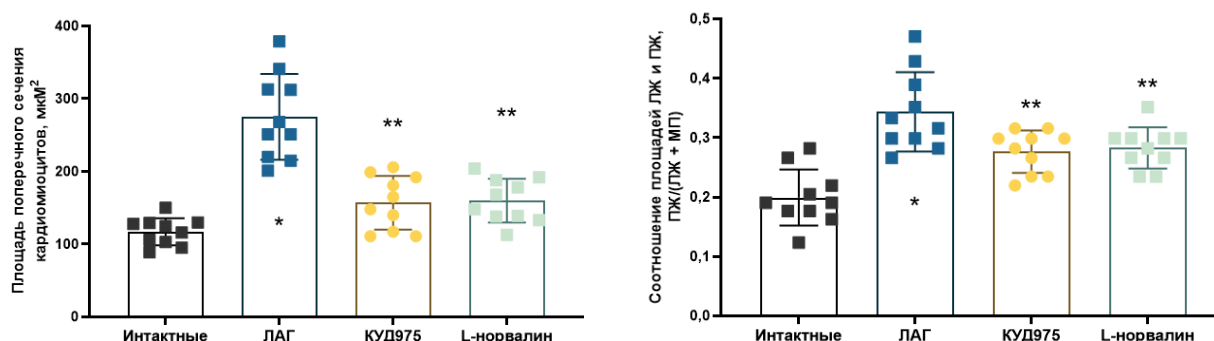


Рисунок 8 – Влияние КУД975 и L-норвалина на гистологическое строение правого желудочка сердца животных в экспериментальных группах

В рамках настоящего исследования для поиска соединений фенольной природы, обладающих эндотелиопротективным действием, использована концепция привилегированных структур. Для проведения виртуального поиска мишеней использовали несколько доступных на некоммерческой основе онлайн-сервисов. Физико-химические свойства исследуемых низкомолекулярных органических соединений были рассчитаны с использованием следующих вычислительных алгоритмов: OpenBabel; онлайн-сервис Molinspiration; онлайн-сервис «виртуальной лаборатории вычислительной химии» VCCL. Изучаемое в настоящем исследовании соединение фенольной природы с лабораторным шифром КУД975 является ингибитором аргиназы-2 и тромбина – участие этих ферментов в патогенезе нарушений функционирования сосудистого эндотелия на сегодняшний момент не вызывает сомнений. Ингибирование аргиназы-2, прежде всего, позволяет переключить звенья метаболического пути L-аргинин-eNOS-NO на эффективную генерацию NO и нормализацию эндотелийзависимых реакций в ответ на ацетилхолин и сосудистого гомеостаза в целом [26, 27]. В тоже время, ингибирование тромбина приводит к замедлению высвобождения тромбоцитами тромбоксана A2, вызывающего мощную вазоконстрикцию, которая превращается одновременным тромбин-индуцированным высвобождением простаглана и NO из ЭК. Следовательно, ингибирование выработки тромбина является эффективной терапевтической стратегией для коррекции индуцированной тромбином активации взаимодействия тромбоцитов со стенкой сосуда при ЭД [24].

Ранее было показано, что соединения фенольной природы предотвращают морфологические изменения в сердечно-сосудистой системе при моделировании преэклампсии [28]. В настоящем исследовании мы показали, что на модели циркуляторной ЛГ, вызванной гипоксией, введение исследуемого соединения-лидера с лабораторным шифром КУД975, как и препарата сравнения

L-норвалина, привело к статистически значимому снижению СДПЖ и скоростных показателей кардиогемодинамики. На фоне моделирования ЛГ мы изучили количество циркулирующих ПЭК в экспериментальных группах. Все больше и больше исследований демонстрируют, что циркулирующие ПЭК участвуют в сосудистом гомеостазе [29]. В настоящем исследовании показано снижение количества циркулирующих ПЭК более чем в 2 раза в группах животных с моделированием циркуляторной ЛГ и статистически значимое повышение количества ПЭК в группах животных, которым вводили исследуемые соединения, что свидетельствует о эндотелиопротективном действии КУД975.

Для изучения влияния исследуемых соединений на факторы, участвующие в доставке циркулирующих ПЭК к эндотелию пораженных сосудов, мы изучили экспрессию мРНК факторов, необходимых для доставки ПЭК к пораженным стенкам сосудов: фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), а именно первый подтип его рецепторов (VEGF-R1) и фактор стромальных клеток-1 (SDF-1). Поскольку в патофизиологию ЛАГ вовлечены воспалительные процессы, мы также измерили уровни моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 (MCP-1), основного маркера при воспалительных процессах на фоне ЛАГ [30]. Установлено, что уровни экспрессии мРНК VEGF-R2 в легких были статистически значимо снижены, а уровни SDF-1 наоборот статистически значимо повышены при ЛАГ. При применении соединений КУД975 и L-норвалина на модели ЛГ, индуцированной гипоксией, обнаружено статистически значимое повышение экспрессии мРНК VEGF-R2 и снижение экспрессии мРНК SDF-1. При этом степень увеличения экспрессии мРНК VEGF-R2 в группе животных, получавших КУД975, была статистически значимо выше таковой в группе животных, получавших L-норвалин.

Для дальнейшей оценки состояния сердечно-сосудистой системы на фоне моделирования ЛГ мы измерили содержание КТ-1 и ПНП в плазме крови. Первый цитокин ассоциирован с гипертрофией миокарда и сердечно-сосудистой патологией, авторой

является гормоном, выделяемым предсердиями в ответ на высокое АД – его действие заключается в уменьшении преднагрузки на сердце тем самым снижая АД [31]. Уменьшение концентраций КТ-1 и ПНП под влиянием исследуемых соединений свидетельствует о снижении проявлений сосудистого ремоделирования, вызванного ЛГ и согласуется с данными, полученными при гистологическом исследовании.

Развитие ЛАГ и ее коррекция исследуемыми соединениями подтверждена гистологическими исследованиями. Так, у животных с ЛА наблюдалось прогрессирующее ремоделирование легочных сосудов, включая значительное увеличение толщины стенки, показателей окклюзии и мускуляризации внутриацинарных сосудов, а также увеличение толщины стенки и соотношения стенки / просвет преацинарных легочных сосудов по сравнению с контролем. В сердце животных с ЛА обнаружена гипертрофия ПЖ, в том числе увеличение площади поперечного сечения кардиомиоцитов и

соотношения площадей ПЖ и ЛЖ сердца. Введение КУД975 и L-норвалина позволило добиться уменьшения признаков ремоделирования легочных сосудов путем уменьшения толщины стенки ЛА и степени окклюзии внутриацинарных легочных сосудов по сравнению с животными с ЛГ, индуцированной гипоксией.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при изучении фармакологической активности показано, что соединение фенольной природы с лабораторным шифром КУД975 нормализует показатели гемодинамики, уменьшает признаки ремоделирования сердца и легочных сосудов и обладает выраженным эндотелиопротективным действием на модели ЛА, индуцированной гипоксией, и превосходит активность препарата сравнения L-норвалина по эффективности повышения количества циркулирующих ПЭК, увеличения экспрессии мРНК VEGF-R2 и снижения концентрации КТ-1.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело финансовой поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРА

Автор подтверждает соответствие своего авторства международным критериям ICMJE.

Л.В. Корокина – разработка дизайна исследования, планирование и выполнение экспериментальной части исследования, оценка и интерпретация результатов, анализ литературы, подготовка графического материала, написание текста статьи.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Bousseau S., Sobrano Fais R., Gu S., Frump A., Lahm T. Pathophysiology and new advances in pulmonary hypertension // *BMJ Med.* – 2023. – Vol. 2, No. 1. – Art. ID: e000137. DOI: 10.1136/bmjmed-2022-000137
2. Shah A.J., Beckmann T., Vorla M., Kalra D.K. New drugs and therapies in pulmonary arterial hypertension // *Int J Mol Sci.* – 2023. – Vol. 24, No. 6. – Art. ID: 5850. DOI: 10.3390/ijms24065850
3. Humbert M., Kovacs G., Hoeper M.M., Badagliacca R., Berger R.M.F., Bida M., Carlsen J., Coats A.J.S., Escibano-Subias P., Ferrari P., Ferreira D.S., Ghofrani H.A., Giannakoulas G., Kiely D.G., Mayer E., Meszaros G., Nagavci B., Olsson K.M., Pepke-Zaba J., Quint J.K., Rådegran G., Simonneau G., Sitbon O., Tonia T., Toshner M., Vachiery J.L., Vonk Noordegraaf A., Delcroix M., Rosenkranz S.; ESC/ERS Scientific Document Group. 2022 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension // *Eur Heart J.* – 2022. – Vol. 43, No. 38. – P. 3618–3731. DOI: 10.1093/eurheartj/ehac237. Erratum in: *Eur Heart J.* – 2023. – Vol. 44, No. 15. – Art. ID: 1312.
4. Hoeper M.M., Mayer E., Simonneau G., Rubin L.J. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension // *Circulation.* – 2006. – Vol. 113, No. 16. – P. 2011–2020. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.602565
5. Swisher J.W., Weaver E. The evolving management and treatment options for patients with pulmonary hypertension: current evidence and challenges // *Vasc Health Risk Manag.* – 2023. – Vol. 19. – P. 103–126. DOI: 10.2147/VHRM.S321025
6. Simonneau G., Montani D., Celermajer D.S., Denton C.P., Gatzoulis M.A., Krowka M., Williams P.G., Souza R. Haemodynamic definitions and updated clinical classification of pulmonary hypertension // *Eur Respir J.* – 2019. – Vol. 53, No. 1. – Art. ID: 1801913. DOI: 10.1183/13993003.01913-2018
7. Zolty R. Novel experimental therapies for treatment of pulmonary arterial hypertension // *J Exp Pharmacol.* – 2021. – Vol. 13. – P. 817–857. DOI: 10.2147/JEP.S236743
8. Ball M.K., Waypa G.B., Mungai P.T., Nielsen J.M., Czech L., Dudley V.J., Beussink L., Dettman R.W., Berkelhamer S.K., Steinhorn R.H., Shah S.J., Schumacker P.T. Regulation of hypoxia-induced pulmonary hypertension by vascular smooth muscle hypoxia-inducible factor-1 α // *Am J Respir Crit Care Med.* – 2014. – Vol. 189, No. 3. – P. 314–324. DOI: 10.1164/rccm.201302-0302OC
9. Khemani E., McElhinney D.B., Rhein L., Andrade O., Lacro R.V., Thomas K.C., Mullen M.P. Pulmonary artery hypertension in formerly premature infants with bronchopulmonary dysplasia: clinical features and outcomes in the surfactant era // *Pediatrics.* – 2007. – Vol. 120, No. 6. – P. 1260–1269. DOI: 10.1542/peds.2007-0971
10. Kim G.B. Pulmonary hypertension in infants

- with bronchopulmonary dysplasia // *Korean J Pediatr.* – 2010. – Vol. 53, No. 6. – P. 688–693. DOI: 10.3345/kjp.2010.53.6.688
11. Samillan V., Haider T., Vogel J., Leuenberger C., Brock M., Schwarzwald C., Gassmann M., Ostergaard L. Combination of erythropoietin and sildenafil can effectively attenuate hypoxia-induced pulmonary hypertension in mice // *Pulm Circ.* – 2013. – Vol. 3, No. 4. – P. 898–907. DOI: 10.1086/674758
 12. Gilinsky M.A., Polityko Y.K., Markel A.L., Latysheva T.V., Samson A.O., Polis B., Naumenko S.E. Norvaline reduces blood pressure and induces diuresis in rats with inherited stress-induced arterial hypertension // *Biomed Res Int.* – 2020. – Vol. 2020. – Art. ID: 4935386. DOI: 10.1155/2020/4935386
 13. Pokrovskiy M.V., Korokin M.V., Tsepeleva S.A., Pokrovskaya T.G., Gureev V.V., Kononova E.A., Gudyrev O.S., Kochkarov V.I., Korokina L.V., Dudina E.N., Babko A.V., Terehova E.G. Arginase inhibitor in the pharmacological correction of endothelial dysfunction // *Int J Hypertens.* – 2011. – Vol. 2011. – Art. ID: 515047. DOI: 10.4061/2011/515047
 14. Гудырев О.С., Файтельсон А.В., Соболев М.С., Покровский М.В., Покровская Т.Г., Корокин М.В., Поветка Е.Е., Миллер Э.С., Солдатов В.О. Изучение остеопротективного действия L-аргинина, L-норвалина и розувастатина на модели гипостероидиндуцированного остеопороза у крыс // *Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова.* – 2019. – Т. 27, № 3. – С. 325–332. DOI: 10.23888/PAVLOVJ2019273325-332
 15. Кудрявцев К.В., Корокин М.В., Якушев В.И. Изучение влияния соединений фенольной природы на процессы тромбообразования с использованием прижизненной микроскопии и флуоресцентных меток // *Research Result: Pharmacology and Clinical Pharmacology.* – 2015. – Т. 1, № 4(6). – С. 4–8. DOI: 10.18413/2313-8971-2015-1-4-4-8
 16. YanYun P., Wang S., Yang J., Chen B., Sun Z., Ye L., Zhu J., Wang X. Interruption of CD40 pathway improves efficacy of transplanted endothelial progenitor cells in monocrotaline induced pulmonary arterial hypertension // *Cell Physiol Biochem.* – 2015. – Vol. 36, No. 2. – P. 683–696. DOI: 10.1159/000430130
 17. Caldwell R.B., Toque H.A., Narayanan S.P., Caldwell R.W. Arginase: an old enzyme with new tricks // *Trends Pharmacol Sci.* – 2015. – Vol. 36, No. 6. – P. 395–405. DOI: 10.1016/j.tips.2015.03.006
 18. Kossmann S., Schwenk M., Hausding M., Karbach S.H., Schmidgen M.I., Brandt M., Knorr M., Hu H., Kröller-Schön S., Schönfelder T., Grabbe S., Oelze M., Daiber A., Münzel T., Becker C., Wenzel P. Angiotensin II-induced vascular dysfunction depends on interferon- γ -driven immune cell recruitment and mutual activation of monocytes and NK-cells // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2013. – Vol. 33, No. 6. – P. 1313–1319. DOI: 10.1161/ATVBAHA.113.301437. Erratum in: *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2013. – Vol. 33, No. 8. – Art. ID: e126.
 19. Wang L., Bhatta A., Toque H.A., Rojas M., Yao L., Xu Z., Patel C., Caldwell R.B., Caldwell R.W. Arginase inhibition enhances angiogenesis in endothelial cells exposed to hypoxia // *Microvasc Res.* – 2015. – Vol. 98. – P. 1–8. DOI: 10.1016/j.mvr.2014.11.002
 20. Kavalukas S.L., Uzgar A.R., Bivalacqua T.J., Barbul A. Arginase inhibition promotes wound healing in mice. *Surgery.* – 2012. – Vol. 151, No. 2. – P. 287–295. DOI: 10.1016/j.surg.2011.07.012
 21. Стаценко М.Е., Деревянченко М.В. Коррекция дисфункции эндотелия у больных артериальной гипертензией с сахарным диабетом 2-го типа на фоне комбинированной антигипертензивной терапии // *Терапевтический архив.* – 2014. – Т. 86, № 8. – С. 90–93.
 22. Shcheblykin D.V., Bolgov A.A., Pokrovskii M.V., Stepenko J.V., Tsuverkalova J.M., Shcheblykina O.V., Golubinskaya P.A., Korokina L.V. Endothelial dysfunction: developmental mechanisms and therapeutic strategies // *Research Results in Pharmacology.* – 2022. – Vol. 8, No. 4. – P. 115–139. DOI: 10.3897/rrpharmacology.8.80376
 23. Dehghani T., Panitch A. Endothelial cells, neutrophils and platelets: getting to the bottom of an inflammatory triangle // *Open Biol.* – 2020. – Vol. 10, No. 10. – Art. ID: 200161. DOI: 10.1098/rsob.200161
 24. De Pablo-Moreno J.A., Serrano L.J., Revuelta L., Sánchez M.J., Liras A. The vascular endothelium and coagulation: homeostasis, disease, and treatment, with a focus on the von willebrand factor and factors VIII and V // *Int J Mol Sci.* – 2022. – Vol. 23, No. 15. – Art. ID: 8283. DOI: 10.3390/ijms23158283
 25. Rabet M.J., Plantier J.L., Dejana E. Thrombin-induced endothelial cell dysfunction // *Br Med Bull.* – 1994. – Vol. 50, No. 4. – P. 936–945. DOI: 10.1093/oxfordjournals.bmb.a072935
 26. Lundberg J.O., Weitzberg E. Nitric oxide signaling in health and disease // *Cell.* – 2022. – Vol. 185, No. 16. – P. 2853–2878. DOI: 10.1016/j.cell.2022.06.010
 27. Mahdi A., Kövamees O., Pernow J. Improvement in endothelial function in cardiovascular disease – Is arginase the target? // *Int J Cardiol.* – 2020. – Vol. 301. – P. 207–214. DOI: 10.1016/j.ijcard.2019.11.004
 28. Lokteva T.I., Rozhkov I.S., Gureev V.V., Gureeva A.V., Zatolokina M.A., Avdeeva E.V., Zhilinkova L.A., Prohoda E.E., Yarcova E.O. Correction of morphofunctional disorders of the cardiovascular system with asialized erythropoietin and arginase II selective inhibitors KUD 974 and KUD 259 in experimental preeclampsia // *Research Results in Pharmacology.* – 2020. – Vol. 6, No. 1. – P. 29–40. DOI: 10.3897/rrpharmacology.6.50851
 29. Naito H., Iba T., Takakura N. Mechanisms of new blood-vessel formation and proliferative heterogeneity of endothelial cells // *Int Immunol.* – 2020. – Vol. 32, No. 5. – P. 295–305. DOI: 10.1093/intimm/xxaa008
 30. Peng B., Kong G., Yang C., Ming Y. Erythropoietin and its derivatives: from tissue protection to immune regulation // *Cell Death Dis.* – 2020. – Vol. 11, No. 2. – Art. ID: 79. DOI: 10.1038/s41419-020-2276-8
 31. Guo H.J., Jiang F., Chen C., Shi J.Y., Zhao Y.W. Plasma brain natriuretic peptide, platelet parameters, and cardiopulmonary function in chronic obstructive pulmonary disease // *World J Clin Cases.* – 2021. – Vol. 9, No. 36. – P. 11165–11172. DOI: 10.12998/wjcc.v9.i36.11165

АВТОР

Корокина Лилия Викторовна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Белгородский

государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0002-4115-1564. E-mail: Korokina@mail.ru