Влияние хлорида лития на эндотелиоциты при синдроме системной воспалительной реакции у пациентов с тяжелой сочетанной травмой

А.Н. Кузовлев, О.А. Гребенчиков, М.А. Мешков, В.Т. Долгих, М.Д. Прокофьев, Н.П. Шпичко, А.В. Ершов

ФГБНУ «Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии», Москва, Россия

Реферат

Цель исследования. Изучить влияние хлорида лития на эндотелиоциты в монослое *in vitro* под действием сывороток крови пациентов с синдромом системной воспалительной реакции (СВР) на фоне тяжелой сочетанной травмы.

Материалы и методы. При проведении исследования использовали токсичную сыворотку крови 5 больных с тяжелой сочетанной травмой. В контроле использовали сыворотку крови 5 практически здоровых доноров. В разных сериях эксперимента эндотелиальные клетки линии EA.hy926 инкубировали с сывороткой крови здорового человека (контроль) и пациентов с СВР на фоне тяжелой сочетанной травмы. К образцам клеток добавляли хлорид лития в конечных концентрациях 0,01; 0,1; 1; 10 ммоль/л. После инкубации клетки снимали раствором трипсина-версена, фиксировали 70 % этанолом и окрашивали йодистым пропидием. Клетки, содержавшие фрагментированную геномную дезоксирибонуклеиновую кислоту, анализировали с помощью проточной цитофлуориметрии.

Результаты. Установлено, что токсичная сыворотка подавляла фосфорилирование киназы гликогенсинтазы 3β (GSK-3β) в эндотелиоцитах, а также вызывала расщепление *Vascular endothelial* (VE)-кадгерина, уменьшение количества клаудина и актина, инициируя разрушение межклеточных контактов эндотелиального монослоя и апоптоз эндотелиоцитов. Инкубация монослоя эндотелиоцитов с хлоридом лития в концентрации от 1 ммоль/л и выше практически полностью предотвращала разборку клаудина, актина и VE-кадгерина, а также более чем в

Influence of lithium chloride on the apoptosis of endotheliocytes in systemic inflammatory response syndrome in patients with severe multiple injury. A retrospective study

A.N. Kuzovlev, O.A. Grebenchikov, M.A. Meshkov, V.T. Dolgikh, M.D. Prokofiev, N.P. Shpichko, A.V. Ershov

Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology, Moscow, Russia

Abstract

Objectives. The goal is to study the effect of lithium chloride on the intensity of endotheliocytes apoptosis in a monolayer *in vitro* under the action of blood serum of patients with the syndrome of systemic inflammatory response in severe multiple trauma.

Materials and methods. We used toxic blood serum of 5 patients with severe multiple trauma. As controls we used blood serum of 5 healthy donors. In different series of the experiment EA.hy926 endothelial cells were incubated with blood serum of a healthy person (control), with blood serum of patients with systemic inflammatory response syndrome in severe multiple trauma. Lithium chloride was added to the cell samples at final concentrations of 0.01, 0.1, 1, 10 mmol/L. After incubation the cells were removed with trypsin-versen solution fixed with 70 % ethanol and stained with propidium iodide. Cells containing fragmented genomic DNA were analyzed by flow cytometry.

Results. It was revealed that toxic serum suppressed GSK-3β phosphorylation in endotheliocytes and also caused the splitting of VE-cadherin, a decrease in the amount of claudine and actin, initiating the destruction of intercellular contacts of the endothelial monolayer and apoptosis of endotheliocytes. Incubation of a monolayer of endotheliocytes with lithium chloride at a concentration of 1.0 mmol/l and higher almost completely prevented the dismantling of claudine, actin and VE-cadherin, and also reduced the intensity of apoptosis of endotheliocytes by more than 2 times. It was found that preincubation with lithium chloride at a concentration of

ВИТ_3_2020_job.indd 115 14.10.2020 11:07:30

2 раза снижала интенсивность апоптоза эндотелиоцитов. Было обнаружено, что прединкубация с хлоридом лития в концентрации 1 ммоль/л не только предотвращала инактивацию GSK-3β, но и, наоборот, стимулировала ее фосфорилирование.

Заключение. Хлорид лития предотвращает разборку клаудина и VE-кадгерина в межклеточных контактах, уменьшает количество апоптотических клеток в монослое эндотелиальных клеток линии EA.hy926 под действием сыворотки крови пациентов с СВР на фоне тяжелой сочетанной травмы, что может свидетельствовать о протекторном эффекте препарата на эндотелиальный барьер. Результаты настоящей работы позволяют высказать предположение о том, что защитный эффект хлорида лития на эндотелий реализуется через фосфорилирование GSK-3β.

Ключевые слова: хлорида лития, синдром системной воспалительной реакции, апоптоз, гликогенсинтаза киназа 3β

✉ *Для корреспонденции:* Кузовлев Артем Николаевич — д-р мед. наук, заместитель директора — руководитель НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского ФНКЦ РР, Москва, Россия; e-mail: artem_kuzovlev@mail.ru

Для цитирования: А.Н. Кузовлев, О.А. Гребенчиков, М.А. Мешков, В.Т. Долгих, М.Д. Прокофьев, Н.П. Шпичко, А.В. Ершов. Влияние хлорида лития на эндотелиоциты при синдроме системной воспалительной реакции у пациентов с тяжелой сочетанной травмой. Вестник интенсивной терапии им. А.И. Салтанова. 2020;3:115–121. DOI: 10.21320/1818-474X-2020-3-115-121

Поступила: 29.03.2020
Принята к печати: 02.09.2020

1 mmol/L not only prevented the inactivation of GSK-3β, but even stimulated its phosphorylation.

Conclusion. Lithium chloride prevents the dismantling of claudine and VE-cadherin in the intercellular contacts, reduces the number of apoptotic cells in the monolayer of the endothelial cells of the EA.hy926 line under the action of the blood serum of patients with a systemic inflammatory response syndrome in severe multiple trauma, which may indicate a protective effect of the drug on endothelial barrier. The results of this investigation suggest that the protective effect of lithium chloride on endothelium is realized via GSK-3β phosphorylation.

Keywords: lithium chloride, systemic inflammatory response syndrome, apoptosis, glycogen synthase kinase 3β

✉ *For correspondence:* Artem N. Kuzovlev, MD, PhD, head of the V. Negovsky research institute of general reanimatology Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology, Moscow, Russia; e-mail: artem_kuzovlev@mail.ru

For citation: A.N. Kuzovlev, O.A. Grebenchikov, M.A. Meshkov, V.T. Dolgikh, M.D. Prokofiev, N.P. Shpichko, A.V. Ershov. Influence of lithium chloride on the apoptosis of endotheliocytes in systemic inflammatory response syndrome in patients with severe multiple injury. A retrospective study. Annals of Critical Care. 2020;3:115–121. DOI: 10.21320/1818-474X-2020-3-115-121

Received: 29.03.2020
Accepted: 02.09.2020

DOI: 10.21320/1818-474X-2020-3-115-121

Введение

Внутренняя поверхность сосудистой стенки представлена однослойным образованием специализированных клеток — эндотелиоцитов. Согласно последним данным, эти клетки выполняют более ста физиологических функций (барьерную, сохранение онкотического и осмотического давления и др.) и участвуют в трофике сосудистой стенки, свертывании крови, иммунном ответе, ангиогенезе и т. д. В случае возникновения и прогрессирования ряда патологических реакций и процессов дисфункция эндотелиоцитов является одним из важных компонентов и часто определяет или задает единолично ключевой вектор развития атеросклероза, сепсиса, шока, реперфузионных и ишемических повреждений, генерализованных осложнений интоксикации, а также синдрома системной воспалительной реакции (СВР) вне зависимости от его этиологии (вследствие чрезмерной альтерации тканей и/или действия инфекционного агента) [1, 2]. Экстравазация жидкости в периферическом русле сердечно-сосудистой системы, генерализованная вазодилатация, а также тотальная потеря белков и осмотически активных веществ, возникающие вследствие дисфункции эндотелиоцитов или их гибели, последовательно и необратимо приводят к скоплению жидкости в интерстициальном пространстве, что на уровне целостного организма соответствует началу полиорганной недостаточности [3].

Таким образом, с одной стороны, эндотелиальная дисфункция способствует возникновению и прогрессированию критических состояний, с другой стороны, дисфункция эндотелиоцитов дополнительно утяжеляет течение СВР, способствуя распространению провоспалительных цитокинов за пределами гистоге-

ВИТ_3_2020_job.indd 116 14.10.2020 11:07:30

матических барьеров (что является дополнительным самостоятельным фактором их разрушения) и выходу активированных лейкоцитов за пределы сосудистой стенки с последующей инфильтрацией тканей [4]. Более того, нарушение барьерной функции эндотелия, которое отмечается при сепсисе, ухудшает прогноз основного заболевания [5]. Профилактика, коррекция и минимизация возможных последствий возникновения и прогрессирования СВР являются в настоящий момент одной из ключевых задач анестезиологии-реаниматологии.

Логично предположить, что наличие и выраженность противовоспалительных эффектов, т. е. способности предотвращать прогрессирование СВР и эндотелиальной дисфункции, безусловно, являются желаемым эффектом большого числа известных и исследуемых препаратов [6].

На сегодняшний день механизмы действия хлорида лития на эндотелиальные клетки при синдроме СВР остаются неизученными как в клинике, так и в эксперименте. До настоящего времени действие хлорида лития изучалось в основном лишь на таких органах, как головной мозг, миокард, почечный эпителий [7, 8]. В недавнем исследовании было показано, что хроническое введение хлорида лития в постреанимационном периоде после 10-минутной остановки сердца у крыс приводит к выраженной защите в нейрональных популяциях гиппокампа [9]. Другое исследование показало защитное действие хлорида лития при моделировании инфаркта миокарда у крыс, которое заключалось в уменьшении зоны инфаркта при его введении во время реперфузии в сравнении с контрольными животными и было опосредовано практически двукратным ростом содержания фосфорилированной формы киназы гликогенсинтазы 3β (GSK-3β) в миокарде [10].

С учетом важной роли эндотелиальной дисфункции при критических состояниях представляется актуальным изучение влияния хлорида лития на эндотелиоциты в эксперименте.

Цель исследования — изучить влияние хлорида лития на интенсивность апоптоза эндотелиоцитов в монослое *in vitro* под действием сывороток крови пациентов с СВР на фоне тяжелой сочетанной травмы.

Материалы и методы

Кровь больных с СВР на фоне тяжелой сочетанной травмы (n = 5; средний возраст 38,4 (29,8–42,4) года; средний балл тяжести повреждений по шкале ISS (Injury severity score) 34 (30–36)) для исследований забирали на вторые или третьи сутки после поступления при развитии СВР, которое определялось наличием 2 критериев и более, предложенных American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference [10]: температура > 38 или < 36 °C; частота сердечных сокращений > 90 уд./мин; частота дыхательных движений > 20/мин или парциальное давление углекислого газа (PCO_2) < 32 мм рт. ст.; лейкоцитоз > 12×10^9/л или лейкопения < 4×10^9/л. В качестве контроля использовали биоматериал, полученный от 5 практически здоровых доноров, средний возраст 35,6 (28,7–45,0) года. В каждой из групп было 3 мужчины и 2 женщины.

Эндотелиальные клетки линии EA.hy926 до эксперимента выращивали с использованием среды Dulbecco's Modified Eagle Medium (Gibco, USA), содержащей 10 % эмбриональной телячьей сыворотки — Fetal Bovine Serum, FBS (HyClone, USA). В эксперименте в качестве контроля клетки инкубировали на протяжении 3 ч при 37 °C с 5% сывороткой того же качественного содержания. В качестве группы сравнения проводили эксперименты, где эндотелиоциты инкубировали с сывороткой крови здорового человека. Основная серия экспериментов была представлена опытами с инкубацией эндотелиальных клеток с сывороткой крови пациента с СВР без добавления хлорида лития и в его присутствии в конечных концентрациях 0,01; 0,1; 1 и 10 ммоль/л. Хлорид лития добавляли за 1 ч до смены сывороток. После окончания инкубации эндотелиоциты при 37 °C промывали исходной средой Dulbecco's Modified Eagle Medium, фиксировали с помощью 2% раствора параформа и пермеабилизовывали 1% раствором Triton X-100. Окраску клеток проводили с помощью последовательного добавления первичных антител к VE-кадгерину (BD Biosciences, США), вторичных антител с флуоресцентным красителем Oregon Green 488 (Life Technologies, USA), с фаллоидином красным (Invitrogen, США) и красителем Hoechst 33342 (Life Technologies, США). Анализ полученных изображений осуществляли с помощью программ ImageJ 1.44p и MetaVue 4.6.

Для проведения вестерн-блоттинга эндотелиальные клетки линии EA.hy926 получали тем же способом, что описано выше. Затем клетки лизировали горячим буфером (62,5 мМ Трис-HCl, pH 6,8; 2% SDS; 10% глицерин; 50 мМ ДТТ (дитиотреитол), 0,01% бромфенолового синего) на протяжении 4 мин при +94 °C. Белки разделяли в 12% полиакриламидном геле и переносили на мембраны из поливинилиденфторида. Были использованы антитела к VE-кадгерину и клаудину (BD Biosciences, США), а также вторичные антитела, конъюгированные с пероксидазой хрена (BD Biosciences, США). Визуализацию проводили набором SuperSignal West Pico (Thermo Scientific, США). Для денситометрического анализа использовали программу Image Lab (BioRad, США).

Для определения выраженности апоптоза после инкубации все эндотелиальные клетки смывали раствором трипсина-версена, затем фиксировали 70% этанолом, после чего окрашивали йодистым пропидием. Клетки с фрагментированной дезоксирибонуклеиновой кислотой исследовали на проточном цитофлуориметре [12].

ВИТ_3_2020_job.indd 117 14.10.2020 11:07:30

В процессе статистического анализа полученные данные представляли в виде среднего со стандартными отклонениями. Статистическая значимость различий количественных показателей рассчитывалась с помощью теста Манна—Уитни, а качественных — с помощью критерия χ^2.

Результаты и их обсуждение

В норме *in vivo* эндотелий практически не подвергается апоптозу, но есть данные о том, что при СВР увеличивается количество апоптотических эндотелиальных клеток [13]. В моделях *in vitro* многие провоспалительные агенты, такие как липополисахарид, фактор некроза опухоли-α, интерлейкин-1, увеличивают апоптоз различных линий эндотелиальных клеток [14, 15]. В нашем исследовании инкубация с 5% сыворотками крови пациентов с СВР приводила к значительному увеличению количества апоптотических клеток (рис. 1).

Хлорид лития в концентрации 0,01 ммоль/л не обладал протективным действием на эндотелий. Преинкубация с хлоридом лития в концентрации 0,1 ммоль/л не оказывала статистически достоверного эффекта. В то же время хлорид лития в концентрациях 1 или 10 ммоль/л обладал выраженным протективным действием на эндотелий, снижая интенсивность апоптоза практически в 2 раза.

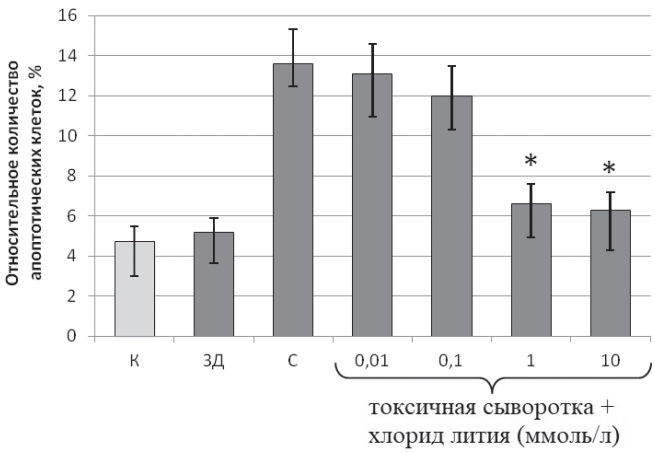

Рис. 1. Влияние различных концентраций хлорида лития на уровень апоптоза эндотелиальных клеток, обработанных 5% сывороткой крови пациентов с СВР на фоне тяжелой сочетанной травмы
ЗД — сыворотка крови здоровых доноров; К — контрольная сыворотка крови FBS; С — токсичная сыворотка крови; С + литий — сочетание хлорида лития в указанных концентрациях с токсичной сывороткой.
Результаты представлены в виде среднего значения со стандартным отклонением.
* $p < 0,05$ по отношению к С.

Fig. 1. The effect of different concentrations of lithium chloride on the level of apoptosis of endothelial cells treated with 5 % serum of patients with systemic inflammatory response syndrome against the background of severe concomitant injury

Согласно результатам иммунофлюоресцентной микроскопии, предварительная инкубация монослоя эндотелиоцитов с хлоридом лития в концентрациях 0,01 и 0,1 ммоль/л не оказывала достоверного влияния на разборку клаудина, актина и VE-кадгерина (рис. 2). В концентрациях 1 и 10 ммоль/л хлорид лития практически на 80 % ($p < 0,01$) снижал разрушение межклеточных контактов эндотелиального монослоя под действием токсичной сыворотки крови пациентов с СВР на фоне тяжелой сочетанной травмы.

Результатом повышенного разбора белков адгезивных межклеточных контактов эндотелиоцитов под воздействием токсичной сыворотки крови от пациентов с СВР на фоне тяжелой сочетанной травмы явилось увеличение образования межклеточных промежутков монослоя эндотелиальных клеток (рис. 3), чему однозначно способствовали и эндотелиоциты, ушедшие в апоптоз.

Предшествующая инкубация клеток с хлоридом лития в конечной концентрации более 1 ммоль/л, защищая от расщепления адгезивные белки под действием токсичной сыворотки крови в дозозависимой манере, достоверно профилактировала образование межклеточных промежутков монослоя эндотелиоцитов.
Добавление токсичной сыворотки крови к монослою эндотелиоцитов вызывало снижение содержания в них

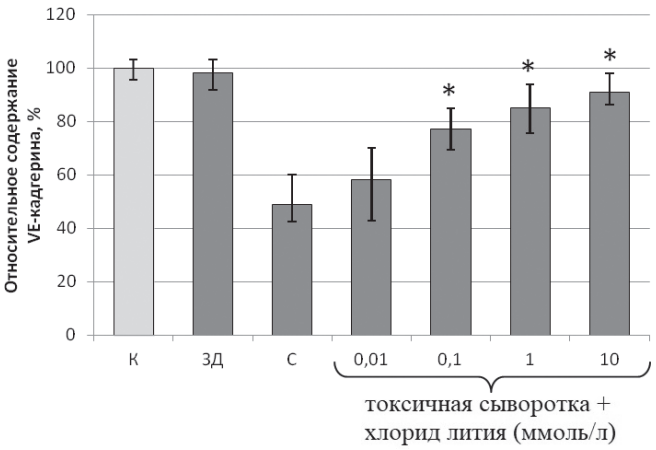

Рис. 2. Влияние различных концентраций хлорида лития на относительное количество белка адгезивных межклеточных контактов VE-кадгерина в монослое эндотелиальных клеток, обработанных 5% сывороткой крови пациентов с СВР на фоне тяжелой сочетанной травмы

Fig. 2. Influence of various concentrations of lithium chloride on the relative amount of VE-cadherin adhesive intercellular contact protein in a monolayer of endothelial cells treated with 5 % serum of patients with systemic inflammatory response syndrome against the background of severe concomitant trauma

ВИТ_3_2020_job.indd 118 14.10.2020 11:07:30

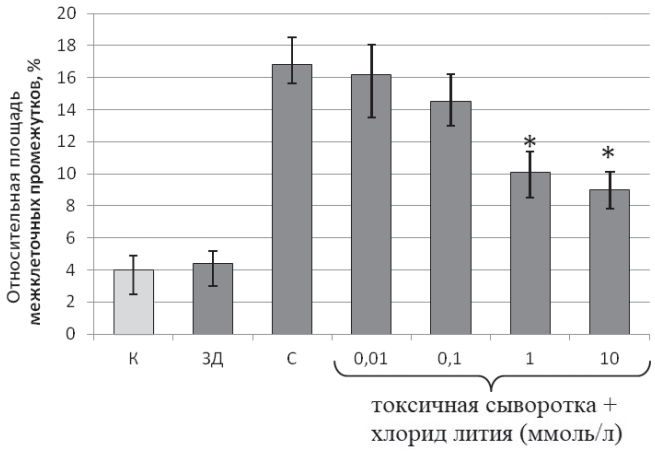

Рис. 3. Влияние различных концентраций хлорида лития на образование межклеточных промежутков монослоя эндотелиальных клеток под действием 5% сывороток крови пациентов с СВР на фоне тяжелой сочетанной травмы

К — контрольная сыворотка крови FBS; С — токсичная сыворотка крови; С + литий — сочетание хлорида лития в указанных концентрациях с токсичной сывороткой. Результаты представлены в виде среднего значения со стандартным отклонением.

* $p < 0,05$ по отношению к С.

Fig. 3. Influence of different concentrations of lithium chloride on the formation of intercellular spaces of a monolayer of endothelial cells under the influence of 5 % blood serum of patients with systemic inflammatory response syndrome against the background of severe concomitant trauma

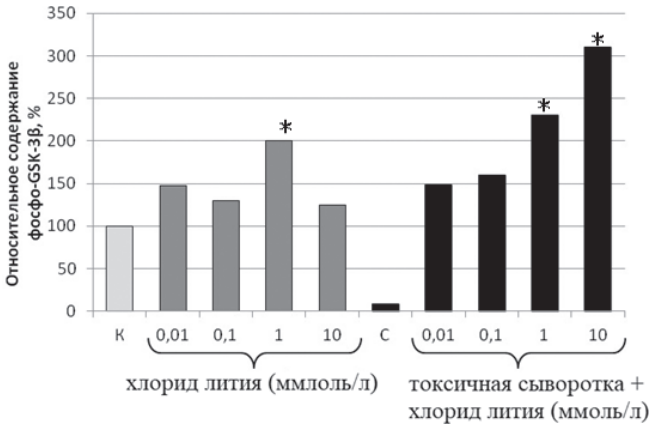

Рис. 4. Совместное действие токсичной сыворотки и разных концентраций хлорида лития на фосфорилирование киназы GSK-3β в клетках эндотелия. Приведены данные иммуноблот-анализа после двухчасовой инкубации с токсичной сывороткой

К — контрольная сыворотка крови FBS; С — токсичная сыворотка крови.

* $p < 0,05$ по отношению к К в случае использования донорской сыворотки крови и к С в случае использования токсичной сыворотки.

Fig. 4. The combined effect of toxic serum and different concentrations of lithium chloride on the phosphorylation of GSK-3β in endothelial cells. The data of immunoblot analysis after two-hour incubation with toxic serum are presented

фосфорилированной формы GSK-3β до 15 % от общего количества данного фермента (рис. 4). Защита эндотелиальных клеток хлоридом лития от токсичной сыворотки крови с помощью прединкубации длительностью 1 ч в концентрации 1 ммоль/л и выше предотвращало инактивацию GSK-3β. Более того, подобно эффекту в группе сравнения, хлорид лития на фоне воздействия токсичной сыворотки крови вызывал существенный рост концентрации фосфо-GSK-3β.

Заключение

В настоящем исследовании установлено, что хлорид лития способен предотвращать апоптоз и разборку клаудина, актина и VE-кадгерина в межклеточных контактах эндотелиальных клеток линии EA.hy926, вызванные действием токсичных сывороток больных с СВР на фоне тяжелой сочетанной травмы.

Механизмы воздействия хлорида лития на эндотелиоциты комплексны, но среди ведущих выделяется ингибирование (фосфорилирование) фермента GSK-3β. В ряде работ [16, 17] было показано, что фосфорилирование фермента GSK-3β приводит к увеличению времени жизни белков плотных межклеточных контактов (в результате увеличения времени полураспада на 38 и 43 % соответственно), обеспечивающих целостность эндотелиального барьера [18]. Доказано, что GSK-3β регулирует активность транскрипционного фактора NF-kB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) [19], который, в свою очередь, является мастер-регулятором транскрипции генов, контролирующих синтез иммунных и воспалительных белков [20]. Ингибирование GSK-3β хлоридом лития снижает продукцию фактора некроза опухоли альфа и интерлейкина-6 и увеличивает синтез интерлейкина-10 в моноцитах [21], а также подавляет активность циклооксигеназы-2 и индуцибельной синтазы оксида азота [22]. Кроме того, известно, что хлорид лития, ингибируя фермент GSK-3β, снижает активацию транскрипционного фактора STAT (сигнальный трансдьюсер и активатор транскрипции; signal transducer and activator of transcription) [23, 24].

Таким образом, согласно нашим результатам, появляются серьезные основания считать, что фосфорилирование GSK-3β — один из путей, регулирующих сосудистую проницаемость. Полученные ранее данные о фосфорилировании GSK-3β в ткани почек хлоридом

ВИТ_3_2020_job.indd 119 14.10.2020 11:07:30

лития в дозе 30 мг/кг [8] позволяют предположить наличие дозозависимого эффекта у данного препарата, оказывающего прежде всего воздействие не только и не столько на сохранение активной формы GSK-3β, сколько на синтез фосфо-GSK-3β.

Возможно, хлорид лития также индуцирует в эндотелии защитные антиоксидантные механизмы, противостоящие неблагоприятным прооксидантным воздействиям, которые практически всегда сопутствуют различной патологии. Известно, что антиоксиданты способны предотвращать апоптоз эндотелиальных клеток [19, 24] и препятствовать развитию эндотелиальной дисфункции.

В результате выполнения настоящей работы гипотеза о реализации защитных эффектов хлорида лития на эндотелий через GSK-3β получила свое предварительное подтверждение: было обнаружено, что токсичная сыворотка крови подавляет фосфорилирование GSK-3β и переводит фермент в активную форму, а хлорид лития, наоборот, увеличивает фосфорилирование (инактивацию) GSK-3β и, что более важно, предотвращает вызванное токсичной сывороткой крови уменьшение фосфорилирования GSK-3β. Важно отметить, что даже в минимальных концентрациях (0,01 ммоль/л) хлорид лития предотвращал ингибирование фосфорилирование GSK-3β во всех исследованных концентрациях, а в концентрациях от 0,1 до 10 ммоль/л данный эффект имел выраженный дозозависимый характер. Тем не менее остается неясным, реализуется ли такой механизм *in vivo*.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов: Кузовлев А.Н., Гребенчиков О.А., Мешков М.А., Долгих В.Т., Прокофьев М.Д., Шпичко Н.П., Ершов А.В. — разработка концепции статьи, получение и анализ фактических данных, написание и редактирование текста статьи, проверка и утверждение текста статьи.

ORCID авторов
Кузовлев А.Н. — 0000-0002-5930-0118
Гребенчиков О.А. — 0000-0001-9045-6017
Мешков М.А. — 0000-0002-3707-4922
Долгих В.Т. — 0000-0001-9034-4912
Прокофьев М.Д. — 0000-0002-4185-3953
Шпичко Н.П. — 0000-0002-4652-3259
Ершов А.В. — 0000-0001-5758-8552

Литература/References

[1] *Félétou M., Vanhoutte P.* Endothelial dysfunction: a multifaceted disorder. Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2006; 291(3): H985т–H1002. DOI: 10.1152/ajpheart.00292.2006

[2] *Ильина Я.Ю., Фот Е.В., Кузьков В.В., Киров М.Ю.* Сепсис-индуцированное повреждение эндотелиального гликокаликса (обзор литературы). Вестник интенсивной терапии им. А.И. Салтанова. 2019; 2: 32–39. DOI: 10.21320/1818-474X-2019-2-32-39 [*Ilyina Y.Y., Fot E.V, Kuzkov V.V., Kirov M.Y.* Sepsis-induced damage to endothelial glycocalyx (literature review). Annals of Critical Care. 2019; 2: 32–9. (In Russ)]

[3] *Hirase T., Node K.* Endothelial dysfunction as a cellular mechanism for vascular failure. Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2012; 302(3): H499–H505. DOI: 10.1152/ajpheart.00325.2011

[4] *Hughes C.G., Patel M.B., Pandharipande P.P.* Pathophysiology of acute brain dysfunction: what's the cause of all this confusion? Curr. Opin. Crit. Care. 2012; 18(5): 518–526. DOI: 10.1097/MCC.0b013e328357effa

[5] *Opal S., van der Poll T.* Endothelial barrier dysfunction in septic shock. J. Intern. Med. 2014; 277(3): 277–293. DOI: 10.1111/joim.12331

[6] *Pearson T.A., Mensah G.A., Alexander R.W.* Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the centers for disease control and prevention and the American Heart Association. Circulation. 2003; 107(3): 499–511. DOI: 10.1161/01.CIR.0000052939.59093.45

[7] *Juhaszova M., Zorov D.B, Yaniv Y., et al.* Role of glycogen synthase kinase-3β in cardioprotection. Circ. Res. 2009; 104(11): 1240–1252. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.109.197996

[8] *Мороз В.В., Силачев Д.Н., Плотников Е.Ю. и др.* Механизмы повреждения и защиты клетки при ишемии/реперфузии и экспериментальное обоснование применения препаратов на основе лития в анестезиологии. Общая реаниматология. 2013; 9(1): 63. DOI: 10.15360/1813-9779-2013-1-63 [*Moroz V.V., Silachev D.N., Plotnikov E.Yu., et al.* Mechanisms of Cell Damage and Protection in Ischemia/Reperfusion and Experimental Rationale for the Use of Lithium-Based Preparations in Anesthesiology. General Reanimatology. 2013; 9(1): 63. (In Russ)]

[9] *Острова И.В., Гребенчиков О.А., Голубева Н.В.* Нейропротективное действие хлорида лития на модели остановки сердца у крыс (экспериментальное исследование). Общая реаниматология. 2019; 15(3): 73–82. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-3-73-82 [*Ostrova I.V., Grebenchikov O.A., Golubeva N.V.* Neuroprotective E- ect of Lithium Chloride in Rat Model of Cardiac Arrest. General Reanimatology. 2019; 15(3): 73–82. (In Russ)]

[10] *Гребенчиков О.А., Лобанов А.В., Шайхутдинова Э.Р. и др.* Кардиопротекторные свойства хлорида лития на модели инфаркта миокарда у крыс. Патология кровообращения и кардиохирургия. 2019; 23(2): 43–49.

ВИТ_3_2020_job.indd 120 14.10.2020 11:07:31

DOI: 10.21688/1681-3472-2019-2-43-49 [*Grebenchikov O.A., Lobanov A.V., Shaikhutdinova E.R., et al.* Cardioprotective properties of lithium chloride in a rat model of myocardial infarction. Circulatory pathology and cardiac surgery. 2019; 23(2): 43–49. (In Russ)]

[11] American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit. Care Med. 1992; 20: 864–874.

[12] *Romaschenko V.P., Zinovkin R.A., Galkin I.I., et al.* Low Concentrations of Uncouplers of Oxidative Phosphorylation Prevent Inflammatory Activation of Endothelial Cells by Tumor Necrosis Factor. Biochemistry (Mosc). 2015; 80(5): 610–619. DOI: 10.1134/S0006297915050144

[13] *Winn R.K., Harlan J.M.* The role of endothelial cell apoptosis in inflammatory and immune diseases. J. Thrombosis and Haemostasis. 2005; 3(8): 1815–1824. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2005.01378.x

[14] *Bannerman D.D., Sathyamoorthy M., Goldblum S.E.* Bacterial lipopolysaccharide disrupts endothelial monolayer integrity and survival signaling events through caspase cleavage of adherens junction proteins. J. Biol. Chem. 1998; 273: 35371–35380. DOI: 10.1074/jbc.273.52.35371

[15] *Galkin I.I., Pletjushkina O.Y., Zinovkin R.A., et al.* Mitochondria-targeted antioxidants prevent TNFα-induced endothelial cell damage. Biochemistry (Mosc). 2014: 79: 124–130. DOI: 10.1134/S0006297914020059

[16] *Ramirez S.H., Fan S., Dykstra H., et al.* Inhibition of Glycogen Synthase Kinase 3β Promotes Tight Junction Stability in Brain Endothelial Cells by Half-Life Extension of Occludin and Claudin-5. PLoS One. 2013; 8(2): e55972. DOI: 10.1371/journal.pone.0055972

[17] *Plotnikov E.Y., Babenko V.A., Pevzner I.B., et al.* Nephroprotective effect of GSK-3beta inhibition by lithium ions and mu-opioid receptor agonist dalargin on gentamicin-induced nephrotoxicity. Toxicology Letters J. 2013; 220: 303–308. DOI: 10.1016/j.toxlet.2013.04.023

[18] *Abello P.A., Fidler S.A., Bulkley G.B., Buchman T.G.* Antioxidants modulate induction of programmed endothelial cell death (apoptosis) by endotoxin. Arch. Surg. 1994; 129(2): 134–140. DOI: 10.1001/archsurg.1994.01420260030003

[19] *Hoeflich K.P., Luo J., Rubie E.A., et al.* Requirement for glycogen synthase kinase-3beta in cell survival and NF-kappaB activation. Nature. 2000; 406: 86–90. DOI: 10.1038/35017574

[20] *Ghosh S., Hayden M.S.* New regulators of NFkappaB in inflammation. Nat. Rev. Immunol. 2008; 8: 837–848. DOI: 10.1038/nri2423

[21] *Martin M., Rehani K., Jope R.S., Michalek S.M.* Toll-like receptor-mediated cytokine production is differentially regulated by glycogen synthase kinase 3. Nat. Immunol. 2005; 6: 777–784. DOI: 10.1038/ni1221

[22] *Wang H.M., Zhang T., Li Q., et al.* Inhibition of glycogen synthase kinase-3β by lithium chloride suppresses 6-hydroxydopamine-induced inflammatory response in primary cultured astrocytes. Neurochem. Int. 2013; 63: 345–353. DOI: 10.1016/j.neuint.2013.07.003

[23] *Beurel E., Jope R.S.* Glycogen synthase kinase-3 promotes the synergistic action of interferon-gamma on lipopolysaccharide-induced IL-6 production in RAW264.7 cells. Cell. Signalling. 2009; 21: 978–985. DOI: 10.1016/j.cellsig.2009.02.019

[24] *Yang H.W., Hong H.L., Luo W.W., et al.* mTORC2 facilitates endothelial cell senescence by suppressing Nrf2 expression via the Akt/GSK-3β/C/EBPα signaling pathway. Acta Pharmacol Sin. 2018; 39(12): 1837–1846. DOI: 10.1038/s41401-018-0079-6

ВИТ_3_2020_job.indd 121 14.10.2020 11:07:31