

Нейрональная NO-синтаза в патогенезе метаболического синдрома

Л.А. Кузнецова, Н.Е. Басова, А.О. Шпаков

*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223, г. Санкт-Петербург, пр. Тореца, 44*

Резюме

Метаболический синдром (МС), который характеризуется ожирением, гипертонией, дислипидемией, резистентностью к инсулину, приобрел в последние годы характер эпидемии. Вследствие этого изучение молекулярных механизмов, лежащих в основе развития МС и его осложнений, а также поиск новых терапевтических средств для их лечения являются одними из острейших проблем современной эндокринологии. В последние годы получены убедительные свидетельства того, что ключевую роль среди молекулярных причин МС играют функциональные изменения экспрессии, активности и регуляторных свойств нейрональной NO-синтазы (nNOS), катализирующей образование важнейшего вторичного посредника – оксида азота (NO), и зависимых от нее NO/цГМФ-сигнальных путей в мозге, миокарде и скелетных мышцах. В мозге nNOS ассоциирована с NMDA-рецепторами, гиперактивация которых при МС сопровождается избыточной стимуляцией nNOS и гиперпродукцией NO, что приводит к NO-индуцированному повреждению нейронов и нарушению центральной регуляции физиологических процессов и нейродегенерации. В миокарде при МС отмечаются изменения экспрессии и локализации nNOS, а также ее функционального взаимодействия с белками цитоскелета, что ведет к нарушениям сокращения миокарда и гипертрофии. В скелетных мышцах nNOS контролирует их сокращение, окислительный метаболизм, вовлечена в регуляцию расслабления сосудов, а также участвует в регуляции глюкозного транспорта. Снижение экспрессии и активности nNOS, а также дизрегуляция ее активности при МС вызывают нарушения этих процессов, вносят существенный вклад в развитие инсулиновой резистентности и ухудшение глюкозного гомеостаза. Таким образом, nNOS может рассматриваться как важная терапевтическая мишень при лечении МС и других метаболических расстройств, а также для предотвращения их осложнений со стороны нервной и сердечно-сосудистой систем и опорно-двигательного аппарата.

Ключевые слова: метаболический синдром, нейрональная NO-синтаза, оксид азота, мозг, миокард, скелетные мышцы.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа поддержана Госзаданием № 120022600170-5.

Благодарности. Авторы благодарят А.С. Маслова за помощь в оформлении рисунков.

Автор для переписки: Кузнецова Л.А., e-mail: praskovia1231@mail.ru

Для цитирования: Кузнецова Л.А., Басова Н.Е., Шпаков А.О. Нейрональная NO-синтаза в патогенезе метаболического синдрома. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2022;42(4):33–48. doi: 10.18699/SSMJ20220403

Neuronal nitric oxide synthases in the pathogenesis of metabolic syndrome

L.A. Kuznetsova, N.E. Basova, A.O. Shpakov

*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences
194223 Saint-Petersburg, Thorez ave., 44*

Abstract

The study of the molecular mechanisms of metabolic syndrome (MS) and its complications are among the most acute problems of modern endocrinology. Functional changes in the expression, activity, and regulatory properties of neuronal NO synthase (nNOS), which catalyzes the formation of the most important secondary mediator, nitric oxide (NO), and its dependent NO/cGMP signaling pathways in the brain, myocardium, and skeletal muscles, play a key role among the molecular causes of MS. In the brain, nNOS is associated with NMDA receptors, the hyperactivation of which in MS leads to excessive stimulation of nNOS and hyperproduction of NO, which leads to NO-induced damage to neurons and disruption of the central regulation of physiological processes and neurodegeneration. In the myocardium with MS, there are changes in the expression and localization of nNOS, as well as its functional interaction with cytoskeletal proteins, which leads to disorders of myocardial contraction and hypertrophy. In skeletal muscles, nNOS controls their contraction, oxidative metabolism, is involved in the regulation of vascular relaxation, and also participates in the regulation of glucose transport. A decrease in the expression and activity of nNOS, as well as dysregulation of its activity in MS, cause disturbances of these processes and make a significant contribution to the development of insulin resistance and deterioration of glucose homeostasis. Thus, nNOS can be considered an important therapeutic target in the treatment of MS and other metabolic disorders, as well as to prevent their complications from the nervous and cardiovascular systems and the musculoskeletal system.

Key words: metabolic syndrome, neuronal NO-synthase, nitric oxide, brain, myocardium, skeletal muscles.

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

Financing. The work was supported by State Assignment No. 120022600170-5.

Acknowledgments. The authors are grateful to A.S. Maslov for his help in preparing the drawings.

Corresponding author: Kuznetsova L.A., e-mail: praskovia1231@mail.ru

Citation: Kuznetsova L.A., Basova N.E., Shpakov A.O. Neuronal nitric oxide synthases in the pathogenesis of metabolic syndrome. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2022;42(4):33–48. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20220403

Введение

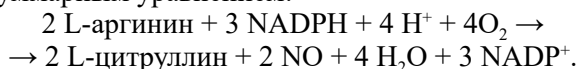
Метаболический синдром (МС) – широко распространенное социально значимое заболевание, для которого характерны висцеральное ожирение, артериальная гипертензия, дислипидемия, нарушенная толерантность к глюкозе и инсулинорезистентность (ИР). У значительной части пациентов с МС развиваются сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) и сахарный диабет 2-го типа (СД2). Одним из ключевых факторов возникновения МС является потребление избыточного количества пищи, что приводит к ожирению. В этих условиях снижается катаболизм аминокислот, что меняет продукцию монооксида азота (NO), важнейшего вазодилататора, тем самым вызывая изменения регуляции кровотока [1]. МС также сопровождается усилением продукции воспалительных факторов, что приводит как к системному воспалению, так и к активации воспалительных процессов в абдоминальном жире. В развитии системного воспаления при МС участвуют С-реактивный белок и воспалительные адипоцитокины [1–4], а также NO и опосредованный NO сигнальный путь [1–4]. Все это позволяет рассматривать NO, синтезирующие его ферменты и NO-зависимые сигнальные каскады, как исключительно важные компоненты патогенеза МС и его осложнений, в первую очередь со стороны сердечно-сосудистой системы.

Как хорошо известно, NO синтезируется NO-синтазами, катализирующими превращение L-аргинина в L-цитруллин и NO в реакции, требующей кислорода и кофакторов [5, 6]. У млекопитающих имеются три основные изоформы NO-синтаз, которые кодируются различными генами. Две изоформы, нейрональная (nNOS) и эндотелиальная (eNOS), экспрессируются конституционно и синтезируют NO при участии активатора – Ca^{2+} -связанного кальмодулина (CaM), в то время как третья изоформа, индуцибельная NO-синтаза (iNOS), экспрессируется под влиянием различных эндогенных и экзогенных факторов. Значительная часть исследований, посвященных роли NO-синтазных путей в развитии МС и его осложнений, относятся к eNOS, в то время как функционально родственная ей nNOS в этом отношении долгое время оставалась менее исследованной. Однако в последние годы появилось немало сведений о значительном вкладе этой изоформы в этиологию и патогенез ожирения, МС и СД2. Современному состоянию этой проблемы и будет посвящен настоящий обзор.

Структура, механизмы действия и регуляторные свойства nNOS

Активная форма фермента представляет собой гомодимер, состоящий из двух субъединиц, каждая из которых имеет N-концевой оксигеназный домен и C-концевой редуктазный домен

[5, 6]. Оксигеназный домен содержит сайты для связывания субстрата (L-аргинина) и кофактора (тетрагидрибиоптерина, BH_4), а также гема, типичного для цитохрома P-450. Редуктазный домен осуществляет связывание FMN, FAD и NADPH. При активации NO-синтазы флавины в редуктазном домене обеспечивают перенос электронов от NADPH к содержащему ион железа гему, локализованному в оксигеназном домене другой субъединицы, что приводит к генерации высокоактивного молекулярного иона кислорода и обеспечивает синтез NO. Генерация NO из L-аргинина реализуется в два этапа: сначала осуществляется его окисление в N^{ω} -гидрокси-L-аргинин, требующее участия кислорода и NADPH, затем – дальнейшее окисление с образованием NO и L-цитруллин [5, 6]. Связывание CaM с димерным комплексом NO-синтазы позволяет выполнить перенос электронов с редуктазного домена одной субъединицы к оксигеназному домену, содержащему гем другой субъединицы, что является ключевым этапом синтеза NO [5, 6]. Мономеры nNOS способны переносить электроны от NADPH к FAD и FMN, но обладают низкой способностью восстанавливать молекулярный кислород до супероксид-аниона. В присутствии гема nNOS образует функционально активный гомодимер. Гем необходим для междоменного переноса электронов от флавин-связывающего редуктазного домена одной субъединицы фермента к гему оксигеназного домена другой субъединицы. Для каталитической активности nNOS требуется Ca^{2+} -связанная форма CaM. Для эффективного синтеза NO необходимы достаточные количества субстрата L-аргинина и кофактора BH_4 . Катализируемая nNOS реакция, приводящая к образованию NO, описывается следующим суммарным уравнением:



У человека ген nNOS расположен на хромосоме 12 (12q24.2), имеет 29 экзонов и кодирует белок, включающий 1434 аминокислотных остатка (молекулярная масса ≈ 160 кДа). Транскрипты мРНК этого гена характеризуются тканевой специфичностью и, например, в нейронах и мышцах структурно различаются, что приводит к существованию изоформ nNOS, которые имеют различную каталитическую активность и регуляторные свойства. В настоящее время описано пять вариантов nNOS (α , β , γ , μ и nNOS-2), которые генерируются в результате альтернативного сплайсинга. Изоформы α , μ и nNOS-2 отличаются наличием PDZ-домена на их N-конце [5, 6]. Укороченная с N-конца изоформа β сохраняет ферментативную активность, но не име-

ет PDZ-домена, ответственного за ассоциацию nNOS с мембранами, в то время как изоформа γ вовсе лишена ферментативной активности. Изоформы фермента, не связанные с мембранами, локализованы в цитозоле. Дополнительная вставка длиной 34 аминокислотных остатка в молекуле изоформы μ между редуктазным и оксигеназным доменами влияет на скорость переноса электронов между ними.

Имеется ряд белков, взаимодействующих с nNOS: белок постсинаптической плотности 95 (PSD95), CaM-зависимая протеинкиназа IIa (CaMKIIa), дистрофин, синтрофин и другие. PSD95 является важным адаптерным белком для nNOS в нейронах. Его взаимодействие с ферментом играет важную роль в контроле функционирования синапсов и регуляции гибели нейронов, индуцированной N-метил-D-аспарагиновой кислотой. Следует подчеркнуть, что NO, образуемый при активации nNOS, представляет собой сигнальную молекулу, имеющую решающее значение для функционирования мозга. Так, в центральной нервной системе NO участвует в регуляции синаптической пластичности, выживаемости нейронов, вазодилатации, состояния стенок сосудов, воспаления, иммунных процессов. Избыток NO, в том числе из-за гиперактивации nNOS, влечет за собой такие патологические процессы, как нейротоксичность, септический шок, нейропатическая боль [5–11].

Активность nNOS в норме и при патологии может регулироваться на нескольких уровнях: 1) доступностью субстрата L-аргинина, который может конкурировать с асимметричным диметиларгинином; 2) экспрессией мРНК или количеством белка nNOS; 3) взаимодействием с CaM; 4) присутствием и устойчивостью кофакторов фермента, включая BH_4 ; 5) взаимодействием с такими регуляторными и адапторными белками, как PSD95, дистрофин, синтрофин; 6) посттрансляционными модификациями, такими как фосфорилирование и дефосфорилирование по остаткам Ser847 и Ser1412, которые осуществляются с участием CaMKII, Akt-киназы, протеинкиназы A, фосфатазы PP1 и приводят к активации или, напротив, к ингибированию фермента; 7) взаимодействием с белковым ингибитором nNOS (PIN, protein inhibitor of nNOS) [7, 10–14].

Нейрональная NO-синтаза в мозге при MC

В мозге nNOS является преобладающей изоформой NO-синтаз – ее наличие показано в префронтальной коре, гиппокампе, гипоталамусе и ряде других областей [8, 9]. Она интенсивно экспрессируется в нейронах и, в меньшей степени, в астроцитах и нейрональных стволовых

клетках. В нейронах nNOS локализуется преимущественно на постсинаптической мембране и ассоциирована с глутаматными рецепторами N-метил-D-аспаратного типа (NMDAR) и белками, обеспечивающими «заякоривание» рецепторов в синапсе, в том числе с белком PSD95 [8]. В физиологических условиях умеренная стимуляция NMDAR глутаматом обеспечивает приток ионов кальция и связывание их с CaM, что приводит к стабилизации комплекса NMDAR/PSD95/nNOS, активации фермента и образованию NO [11, 12]. Наряду с этим NO способен по принципу обратной связи регулировать функции nNOS путем посттрансляционной модификации фермента, такой как обратимое S-нитрозилирование, представляющее собой присоединение NO к тиоловой группе цистеина в молекуле белка, или модификация тирозина, ведущая к образованию 3-нитротирозина.

В норме синтезируются невысокие, эффективно контролируемые количества NO, которые, взаимодействуя с растворимой формой гуанилатциклазы (sGC), приводят к повышению синтеза вторичного посредника цГМФ, регулирующего активность большого числа ферментов, ионных каналов и транскрипционных факторов. Эти события запускают сигнальные каскады, обеспечивающие нормальную синаптическую пластичность, дифференцировку и выживаемость нейронов [12, 15]. В синапсах NO также активирует зависимый от цАМФ транскрипционный фактор CREB, регулирующий долгосрочную потенциацию и ответственный за обучение и память [12]. Однако в том случае, когда продуцируется недостаточное или, напротив, избыточное количество NO, это может приводить к патологическим изменениям, в том числе к когнитивному дефициту и нарушению функций сердечно-сосудистой системы. Имеются неоспоримые доказательства, что нарушения сигнального пути L-аргинин-nNOS-NO могут быть ассоциированы с MC, ССЗ, когнитивными дисфункциями [15]. Длительное ингибирование nNOS и снижение образования NO оказывает зависимое от возраста отрицательное влияние на сон и приводит к эндотелиальной дисфункции, а также способствует развитию гипертонии.

Использование препаратов L-аргинина, субстрата nNOS, позволяет устранить некоторые из этих нарушений. Даже кратковременное повышение содержания L-аргинина или нитратов в пище существенно увеличивает активность nNOS, а также продукцию и доступность NO при сердечной недостаточности, снижает атеросклероз сонных артерий и частоту ССЗ у пожилых женщин, в том числе страдающих MC. Таким образом, NO

не только играет важную роль в норме, но и имеет решающее значение для таких заболеваний, как MC, ССЗ, СД2, гипертония, а также при таких нарушениях функций мозга, как инсульт и нейродегенеративные заболевания.

В условиях патологии фермент nNOS способен образовывать не только NO, но и супероксид-анион, что является следствием нарушения протекания реакции сопряжения при синтезе NO. Молекула NO взаимодействует с супероксид-анионом, образуя пероксинитрит, который является мощным окислителем и наделен свойствами как сигнальной молекулы, так и токсичного соединения [9]. Установлено, что NO также модулирует активность ряда протеинкиназ, в частности митогенактивируемых киназ ERK1/2, Akt-киназы и Src-киназы, которые вовлечены в процессы пролиферации и дифференцировки нервных клеток [8, 12]. В нейронах NO отвечает за независимое от эндотелия расширение сосудов, вызывая нейрон-опосредуемую стимуляцию гладкомышечных клеток. Этот путь необходим для регулирования просвета артерий в мозге. Все эти процессы могут претерпевать негативные изменения в условиях изменения активности nNOS при MC [2, 9, 11, 12].

Комплекс «NMDAR/PSD95/nNOS» в мозге и его роль в патогенезе MC

Обнаружен естественный механизм ингибирования активности nNOS в мозге, который опосредуется при взаимодействии фермента с PIN – небольшим высококонсервативным белком, состоящим из 89 аминокислотных остатков [13]. Важно отметить, что PIN-связывающий домен имеется в nNOS (последовательность 161-245), но отсутствует в других изоформах NOS – eNOS и iNOS. Механизм PIN-индуцированного ингибирования nNOS включает связывание с ферментом, приводящее к дестабилизации его димерной структуры. Изучение распределения PIN в различных отделах мозга у крыс показало значительную его экспрессию в коре головного мозга, среднем мозге, гиппокампе и продолговатом мозге, показана определенная корреляция между экспрессией PIN и nNOS [14].

Мозг использует большое количество кислорода и АТФ для нормального функционирования и очень восприимчив к окислительному стрессу. Усиление окислительного стресса в гипоталамусе приводит к увеличению артериального давления в условиях ожирения и MC [16]. При MC отмечается повышение уровня PIN в различных отделах мозга, что приводит к ингибированию nNOS [16]. PIN препятствует димеризации и тем самым отменяет сопряжение редуктазного и оксигеназ-

ного доменов, образующих димер субъединиц фермента, что приводит к генерации супероксид-аниона и других активных форм кислорода и усилению окислительного стресса в микрососудах головного мозга, в том числе при МС и ожирении. Соответственно, нокаут гена *PIN* вызывает стабилизацию образования nNOS-димера и нормализацию продукции активных форм кислорода у крыс с МС, индуцированным диетой с высоким содержанием фруктозы [14, 16].

При МС происходит длительная, чрезмерная активация NMDAR, что ведет к избыточной стимуляции nNOS и повышенной продукции NO и, в результате, к прогрессированию как МС, так и нейродегенеративных изменений в мозге. Гиперпродукция NO вызывает интенсивное нитрозирование и нитрозилирование белков, что становится причиной нитрозирующего и окислительного стресса. Наряду с избыточным образованием пероксинитрит-ионов нарушается метаболизм нейронов, усиливается нейротоксичность, активируется апоптоз и нейропатические боли [11, 12]. Для предотвращения этого могут быть использованы биоактивные молекулы, нацеленные на модуляцию активности nNOS. Предлагаются два механизма такой модуляции: 1) прямое ингибирование фермента с помощью малых органических молекул; 2) подавление избыточной активации nNOS с помощью молекул, способных образовывать четвертичные комплексы с NMDAR, постсинаптическим белком PSD95 и nNOS и тем самым препятствующих образованию комплексов между ними [12].

Одним из тяжелых осложнений при МС и СД2 является нейропатическая боль. Все три изоформы NO-синтаз и их конечный продукт NO способны ее модулировать. В наибольшей степени важна гиперактивация NMDAR, приводящая к гиперактивации nNOS, что позволяет считать этот фермент решающим фактором, определяющим развитие гиперчувствительности к боли [9]. Действительно, накапливающиеся данные свидетельствуют о том, что гиперактивация синаптических NMDAR может привести к аномальному притоку Ca^{2+} в постсинаптический нейрон с последующей чрезмерной стимуляцией активности nNOS посредством образования тройного комплекса NMDAR/PSD95/nNOS, перепроизводством NO, усилению нитроирования или нитрозилирования некоторых белков и, в итоге, нитрозирующему стрессу. Наряду с этим избыток NO в результате реакции с супероксидным анион-радикалом (O_2^-) образует высокореактивный и цитотоксичный окислитель – пероксинитрит ($ONOO^-$), что усиливает перекисное окисление липидов [11, 17]. Вследствие этих событий нару-

шается нейротрансмиссия из-за митохондриальной дисфункции и синаптического повреждения [11]. При этом NO активирует MAPK p38 и другие нижестоящие сигнальные белки, ответственные за гибель нейронов, индуцируя апоптоз [18]. Следовательно, блокирование чрезмерно стимулированной nNOS можно рассматривать как мишень для ингибирования нейродегенерации и восстановления неврологических функций. На самом деле существует два различных способа ингибирования избытка NO, синтезированного с участием nNOS: блокирование этого фермента ингибиторами и ингибирование комплекса NMDAR/PSD95/nNOS [11].

Следует отметить, что в процессе старения мозг претерпевает морфологические и функциональные изменения в результате окислительного стресса. Это во многом обусловлено ослаблением системы антиоксидантной защиты, что приводит к образованию активных форм кислорода, включая супероксид-анион и перекись водорода, и активных форм азота, в том числе пероксинитрита ($ONOO^-$), который может индуцировать гибель нейронов [19]. Поскольку многие функции мозга зависят от активности nNOS и интрацеребрального уровня NO, включая высвобождение нейротрансмиттеров, синаптическую пластичность и регуляцию электрической активности нейронов, то функциональные изменения nNOS-зависимых путей в мозге при старении неизбежно приводят к нарушению этих функций и способствуют развитию нейродегенерации, как и в случае МС [20, 21]. Однако данные об изменениях активности nNOS в мозге при МС и старении до сих пор немногочисленны и неоднозначны. Одни авторы указывают на значительное увеличение активности фермента [22], другие – на снижение его активности и экспрессии [23]. Как отмечалось выше, глутамат в мозге активирует NMDAR, вызывая приток Ca^{2+} в клетку, стимулируя nNOS и повышая уровень NO. В то же время одной из причин развития деменции является агрегация β -амилоидных пептидов, которые препятствуют CaM -зависимому синтезу NO с участием nNOS. Таким образом, ослабление стимуляции nNOS, опосредованное β -амилоидными пептидами, может быть одной из причин амилоид-индуцированного когнитивного дефицита и уменьшения синаптической пластичности в гиппокампе [24, 25]. Поскольку компенсаторно при снижении активности может возрастать экспрессия гена nNOS, ряд противоречий, связанных с разнонаправленными изменениями активности и экспрессии фермента, может быть обусловлен подобными ингибирующими влияниями β -амилоидных пептидов и других факторов,

чье содержание и активность повышаются при МС и старении [22, 24, 25].

Фосфорилирование и дефосфорилирование pNOS в мозге и их роль в изменении активности фермента при МС

Наиболее распространенными и функционально важными ковалентными модификациями pNOS являются фосфорилирование и дефосфорилирование. Фосфорилирование осуществляется CaM-зависимой киназой II (CaMKII), Akt-киназой, протеинкиназами A и C, АМФ-активируемой протеинкиназой, а дефосфорилирование – протеинфосфатазой 1-го типа (PP1). Фосфорилирование pNOS разнонаправленно влияет на активность фермента. В настоящее время выявлены два основных сайта фосфорилирования pNOS по серину.

Фосфорилирование по остатку Ser847 осуществляется с помощью CaMKII и снижает активность pNOS [26–28]. Известно, что Ser847 находится в аутоингибирующей петле, изменение конформации которой даже при высоких концентрациях CaM приводит к ослаблению стимуляции pNOS. Показано, что фосфорилирование pNOS по Ser847 очень существенно для функционирования мозга, о чем косвенно свидетельствует то, что CaMKII в значительных количествах представлена в различных отделах мозга (от 1 до 2 % от общего количества белка) [27]. Активация нейронов индуцирует транслокацию этой киназы из цитоплазмы в пресинаптическую зону и постсинаптическую мембрану, где преимущественно локализуется pNOS. Фосфорилирование по Ser847 с участием CaMKII снижает образование NO и увеличивает генерацию супероксид-аниона [26]. Необходимо также отметить, что имеется взаимосвязь между ко-локализацией NMDAR, белка PSD95, CaMKII и pNOS и тем фактом, что в нейронах гиппокампа обнаружена разнонаправленная регуляция фосфорилирования pNOS по Ser847 в зависимости от концентрации глутамата: в низких концентрациях (5 мкМ) он стимулирует фосфорилирование pNOS по Ser847 с участием CaMKII, тогда как в высоких (более 100 мкМ) вызывает дефосфорилирование Ser847 с участием фосфатазы PP1. Таким образом, обратимость фосфорилирования pNOS по Ser847 при воздействии разных концентраций глутамата предполагает два механизма с противоположными эффектами: 1) зависящая от времени отрицательная обратная связь, индуцируемая физиологическими концентрациями глутамата, которая ограничивает активацию pNOS и исключает образование избытка NO; 2) патологическая стиму-

ляция высокими концентрациями глутамата, что приводит к избыточной активации pNOS и образованию токсичных концентраций NO. Эти механизмы могут иметь определяющее влияние на NMDAR-индуцированные формы синаптической пластичности и определять токсичные эффекты высоких доз глутамата на нейроны [25].

Другой сайт фосфорилирования pNOS, Ser1412, является мишенью для Akt-киназы и АМФ-активируемой протеинкиназы, повышая активность pNOS. При этом вызываемое PP1 дефосфорилирование фермента по Ser1412 приводит к снижению, а не к повышению, как в случае Ser847, активности фермента [26–28]. Имеются основания полагать, что при МС и ожирении также возникают существенные изменения экспрессии или активности pNOS, в том числе обусловленные воздействием глутамата и нарушением баланса фосфорилирования-дефосфорилирования фермента [27]. При этом меняется спектр регуляторных влияний различных киназ и фосфатаз на pNOS. Так, при МС фосфорилирование с участием протеинкиназы A приводит к ингибированию pNOS, в то время как протеинкиназа C и Akt-киназа не влияют на активность фермента [28, 29].

Участие pNOS в функционировании миокарда и сосудов при МС

pNOS, главный источник NO в миокарде, участвует в расслаблении сердечной мышцы, модулирует сокращение стенок сосудов. В кардиомиоцитах фермент преимущественно локализован в саркоплазматическом ретикулуме и сарколеммальной мембране и, в меньшей степени, в митохондриях и аппарате Гольджи. Несмотря на то что ген *nNOS* в сердце в процессе альтернативного сплайсинга дает пять различных мРНК-транскриптов, информация о роли кодируемых ими изоформ pNOS и их субклеточной локализации в кардиомиоцитах очень скудная [7, 30]. Так, изоформы α и μ содержат N-концевой домен, способный взаимодействовать с такими специфическими белками миокарда, как дистрофин и синтрофин.

При МС и ССЗ некоторые белки-мишени, регулируемые через pNOS-зависимый путь, подвергаются посттранскрипционным модификациям, что влияет на активность всего pNOS-опосредованного сигналинга. Так, в условиях МС при действии ангиотензина II наблюдается вызываемое протеинкиназой A Ca²⁺-зависимое фосфорилирование по остатку Ser16 белка фосфоламбана, одного из участников pNOS-зависимых путей. В здоровом сердце NO контролирует эти Ca²⁺-зависимые пути и фос-

форилирование фосфоламбана через посредство цГМФ-зависимых протеинкиназ [30, 31]. nNOS играет ведущую роль в защите миокарда от окислительного стресса, в том числе при аритмии и сердечной недостаточности [1, 7, 30]. На ранней стадии гипертонии NO, продуцируемый в основном nNOS, регулирует фосфорилирование тропонина I и сердечного миозин-связывающего белка C (сМБВ) [29–32]. nNOS, локализованная в саркоплазматическом ретикулуме кардиомиоцитов, функционирует как основной модулятор сердечной функции и внутриклеточных потоков ионов кальция [33]. Ряд исследователей продемонстрировали положительный инотропный эффект при нокауте гена *nNOS* [33, 34], однако другие его не обнаружили [35–37]. NO, синтезируемый nNOS, ускоряет расслабление кардиомиоцитов левого желудочка за счет увеличения фосфорилирования фосфоламбана с участием цГМФ-независимого ингибирования серин/треониновых белковых фосфатаз [37].

Активность nNOS модулируется потоком ионов кальция через плазмалемму с участием мембранно-связанной кальций-зависимой изоформы АТФазы, избыточная экспрессия которой приводит к снижению активности nNOS и ослаблению β -адренергической сократимости в кардиомиоцитах [38]. Наряду с этим показано, что NO ингибирует приток ионов Ca^{2+} через кальциевый канал L-типа, увеличивает их обратный захват в саркоплазматическом ретикулуме за счет увеличения фосфорилирования фосфоламбана и регулирует высвобождение из внутриклеточных депо, меняя степень S-нитрозилирования рианодинового рецептора [39]. Еще одним механизмом, с помощью которого nNOS может контролировать сокращение и расслабление миокарда, является взаимодействие фермента с ксантиноксидоредуктазой, ко-локализованной вместе с nNOS в саркоплазматическом ретикулуме. В отсутствие совместной локализации ксантиноксидоредуктаза активируется и индуцирует образование супероксида, что снижает чувствительность миофиламентов к ионам кальция [40].

Увеличение или снижение активности nNOS в регуляции сердечной мышцы определяет соответственно положительный или отрицательный инотропный и дромотропный эффекты. Поскольку nNOS присутствует в саркоплазматическом ретикулуме кардиомиоцитов, это позволяет большему количеству ионов Ca^{2+} выходить из внутриклеточных депо и приводит к положительным инотропным и дромотропным эффектам. Кроме того, nNOS увеличивает уровень фосфоламбана, который ингибирует АТФазу и снижает концентрацию ионов кальция в саркоплазматическом

ретикулуме [38]. Ингибирование АТФазы и одновременное повышение содержания фосфоламбана оказывают отрицательное инотропное и дромотропное действие на сердечные миоциты [36–38]. Имеются основания полагать, что при МС и ожирении эти механизмы нарушаются [1–4, 41–42].

NO играет важную роль в регуляции функций сосудов миокарда, регулируя кровяное давление, агрегацию тромбоцитов и адгезию лейкоцитов. В сосудистой стенке большая часть биодоступного NO, как полагают, синтезируется с участием eNOS. Однако nNOS также присутствует в них и является источником NO, причем в непосредственной близости от микрососудов. Таким образом, NO может быть образован и перенесен в гладкомышечные клетки сосудов из эндотелиальных и периваскулярных нервных волокон, а также из тучных клеток, экспрессирующих nNOS [43]. Показано, что NO, образованный nNOS в периваскулярной области, может вносить значительный вклад в общий пул NO в гладких мышцах [43].

nNOS в миокарде, как и в мозге, способна образовывать комплексы с мышечными белками, локализованными на внутренней стороне мембраны. Как известно, белки, взаимодействующие с nNOS, такие как дистрофин, синтрофин и дистробревин, ассоциированы с ССЗ [44]. Так, дистрофин, значительный по размеру (427 кДа) мембранный белок, связывает цитоскелет актина с внеклеточным матриксом через сложный комплекс, состоящий из саркоспана, саркогликанового (включающего в себя α -, β -, γ - и δ -субъединицы) и дистрогликанового (включающего в себя α - и β -дистрогликан) комплексов. В миокарде этот комплекс играет как структурную роль, сохраняя целостность мембраны, так и сигнальную роль путем взаимодействия с синтрофинами и дистробревинами (рис. 1). Мутации в дистрофине приводят к дистрофинопатиям и кардиомиопатии, что является причиной сердечной недостаточности [44, 45].

Поскольку одним из ключевых физиологических эффектов NO, в том числе продуцируемого nNOS, является вазодилатация, реализуемая при воздействии этого вторичного посредника на гладкомышечные клетки сосудов, то изменения активности nNOS самым непосредственным образом должны влиять на состояние сосудов при МС. В настоящее время получены данные о значимой роли функционального состояния nNOS в регуляции тонуса микрососудов человека при МС и ССЗ [45]. Среди возможных механизмов, влияющих на активность nNOS при МС, необходимо выделить изменение активности и экспрессии ряда белков. Среди них белок теплового шока

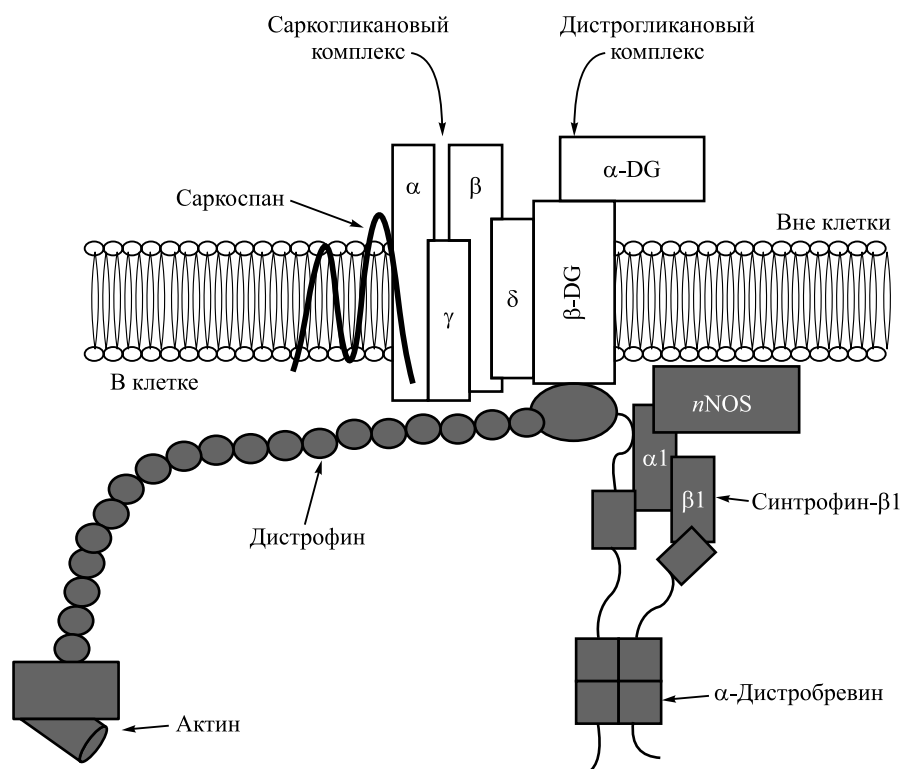


Рис. 1. Сопряжение nNOS с мембранными белками кардиомиоцитов.

Саркогликановый комплекс: α -, β -, γ - и δ -субъединицы, дистрогликановый комплекс: α -дистрогликан (α -DG) и β -дистрогликан (β -DG) [44]

Fig. 1. Coupling of nNOS with membrane proteins of cardiomyocytes.

Sarcoglycan complex: α -, β -, γ - and δ -subunits, dystroglycan complex: α -dystroglycan (α -DG) and β -dystroglycan (β -DG) [44]

90 (HSP90), который стимулирует активность nNOS, увеличивая связывание фермента с CaM [15, 46]. Важную роль играют структурные белки кавеолин-1 (Cav-1) и кавеолин-3 (Cav-3), которые взаимодействуют с nNOS и повышают ее экспрессию [47, 48]. У животных с нокаутом генов, кодирующих эти кавеолы, развивается тяжелая кардиомиопатия, значительно сокращающая продолжительность их жизни [48].

nNOS и фосфорилирующая ее CaMKII являются важными медиаторами в процессах механической и химической трансдукции, которые происходят во время сердечного сокращения, и мишенями для лечения аритмий и кардиомиопатии [49, 50]. Это исключительно важно для лечения гипертонии при MC, в том числе у пожилых пациентов [51]. Нормализация активности nNOS при MC и гипертонии важна еще и потому, что при этих патологиях отмечается nNOS-опосредованное нарушение вазодилатации, которое напрямую коррелирует с повышенной симпатической активностью [52]. Имеются данные об участии nNOS в регуляции системного сопротивления сосудов и кровяного давления у

здоровых людей [53, 54]. При MC и гипертонии в сердце увеличивается экспрессия и активность nNOS, но снижается экспрессия eNOS [30, 55–57]. Суммируя, можно сказать, что nNOS играет защитную роль в сердце, предотвращая нарушение систолической и диастолической регуляции, окислительный стресс, аритмию и воспалительное ремоделирование тканей [58]. Активность nNOS в неэндотелиальных клетках миокарда опосредует расширение сосудов в ответ на повышенную метаболическую нагрузку. Этот механизм обеспечивает физиологическую адаптацию за счет усиления кровотока и вовлечен в процесс ремоделирования сосудов в ответ на повышение активности eNOS [58].

Участие nNOS в эффектах, опосредуемых β 3-адренергическими агонистами

В последнее время накапливаются данные о роли β 3-адренорецепторов (AP) в развитии сердечной недостаточности при MC [57, 59]. Устойчивая симпатическая активация β 1/ β 2-AP миокарда связана с чрезмерной активацией симпатической нервной системы, которая первона-

чально играет компенсаторную роль в снижении сократительной способности сердца, но со временем ухудшает функционирование миокарда, приводя к его поражению. Положительный инотропный ответ на стимуляцию β -агонистами уменьшается при сердечной недостаточности из-за избирательной регуляции и десенсибилизации $\beta 1/\beta 2$ -АР. Показано снижение синтеза NO в ответ на стимуляцию β -агонистами. Однако имеются свидетельства о существовании «физиологического тормоза», направленного на уменьшение чрезмерной симпатической стимуляции. Так, в нормальном сердце экспрессия $\beta 3$ -АР очень низка, но увеличивается при патофизиологических состояниях (МС, СД2, гипертрофия, сердечная недостаточность), в то время как экспрессия $\beta 1/\beta 2$ -АР меняется в небольшой степени [59]. Показано, что стимуляция $\beta 3$ -АР защищает сердце как от гипертрофии, так и от сердечной недостаточности. Отрицательный инотропный эффект стимуляции $\beta 3$ -АР-агонистами включает запуск NO-сигнальных путей с участием pNOS, хотя первоначально считалось, что это обусловлено участием только eNOS. Так, показано увеличение в травмированном сердце человека образования NO, стимулированного агонистами $\beta 3$ -АР, которое не зависело от eNOS [60, 61].

Активность pNOS стимулируется в результате ее фосфорилирования по остатку Ser1412 с помощью АМФ-активируемой киназы. Реакции, опосредованные $\beta 3$ -АР, сохраняются, несмотря на устойчивую гиперсимпатическую активность, поскольку сам $\beta 3$ -АР не имеет сайтов фосфорилирования для протеинкиназы А и протеинкиназы, специфичной к β -АР, что могло бы приводить к десенсибилизации рецепторов [59]. При сердечной недостаточности сигнализация $\beta 3$ -АР подавляет сократительную способность и частоту сердечных сокращений, что делает ее перспективной фармакологической мишенью для защиты сердца. Авторы ряда работ [56, 62] показали, что агонист $\beta 3$ -АР BRL-37344 может уменьшить ремоделирование сердца, вызванное перегрузкой при повышении давления, и сохранить сердечную функцию за счет продукции NO, что связано с активацией pNOS. Более того, экспрессия pNOS была повышена в сердце, имеющем повреждения после ишемии миокарда, т.е. этот фермент вовлечен в защитную реакцию в ответ на ишемию. Фосфорилирование pNOS по остатку Ser1412 активирует фермент и усиливает образование NO. Использование BRL-37344 увеличивало не только экспрессию pNOS, но и уровень фосфорилированной pNOS, т.е. агонист $\beta 3$ -АР может служить в качестве активатора pNOS [59, 61]. В то же время стимуляция агонистом $\beta 3$ -АР не оказывала замет-

ного влияния на экспрессию iNOS. Эти результаты демонстрируют, что кардиопротекторные эффекты агонистов $\beta 3$ -АР *in vivo* при гипертрофии, перегрузке сердца давлением или сердечной недостаточности реализуются в основном через активацию pNOS, хотя этот вопрос и требует дальнейшего изучения [56–62].

Участие pNOS в метаболизме скелетных мышц в норме и при МС

Скелетная мышца является одним из крупнейших органов в организме человека и наиболее важной тканью, участвующей в поддержании гомеостаза глюкозы [63–65]. В скелетных мышцах млекопитающих обнаруживается самое большое содержание pNOS, и экспрессируются две ее изоформы – μ и β , причем наиболее активной из них является изоформа μ [10, 63–65]. У человека скелетные мышцы имеют более высокую активность pNOS по сравнению с мозгом, в то время как у крыс активность этого фермента в мозге выше, чем в мышцах. У грызунов экспрессия и активность pNOS- μ преобладают в переднебольшеберцовой и икроножной мышцах, содержащих богатые миозином фибриллы быстрого типа Па и Пв, но существенно снижена в камбаловидной мышце, имеющей фибриллы типа I [10, 66]. У человека pNOS в различных типах мышечных волокон экспрессируется сходным образом. Показано, что pNOS сопряжена преимущественно с сарколеммой и саркоплазматическим ретикулулом. Взаимодействия, ответственные за локализацию pNOS в сарколемме, а также определяющие экспрессию и активность фермента, очень важны для функционирования скелетных мышц. Локализация pNOS в сарколемме с внутренней стороны мембраны обусловлена ее взаимодействием с сарколеммальным дистрофиновым комплексом (дистрофин-гликопротеиновый комплекс, ДГК). С молекулой pNOS взаимодействуют спектринные повторы 16 и 17 дистрофина, что удерживает фермент вблизи мембраны. Наряду с этим с pNOS связана молекула $\alpha 1$ -синтрофина, находящегося в комплексе с α -дистробревином (рис. 2) [10, 66, 67].

При МС и особенно при нейромышечных болезнях в скелетных мышцах выявлены дефекты локализации pNOS- μ [66]. Обнаружены некоторые отличия во взаимодействии между дистрофином и pNOS в скелетных мышцах по сравнению с миокардом. Недостаток дистрофина показан у пациентов с мышечной дистрофией Дюшенна, он приводит к нарушению взаимодействия в комплексе ДГК/pNOS и вызывает дистрофию скелетных мышц. В настоящее время вопрос о точных механизмах локализации и регуляции pNOS при

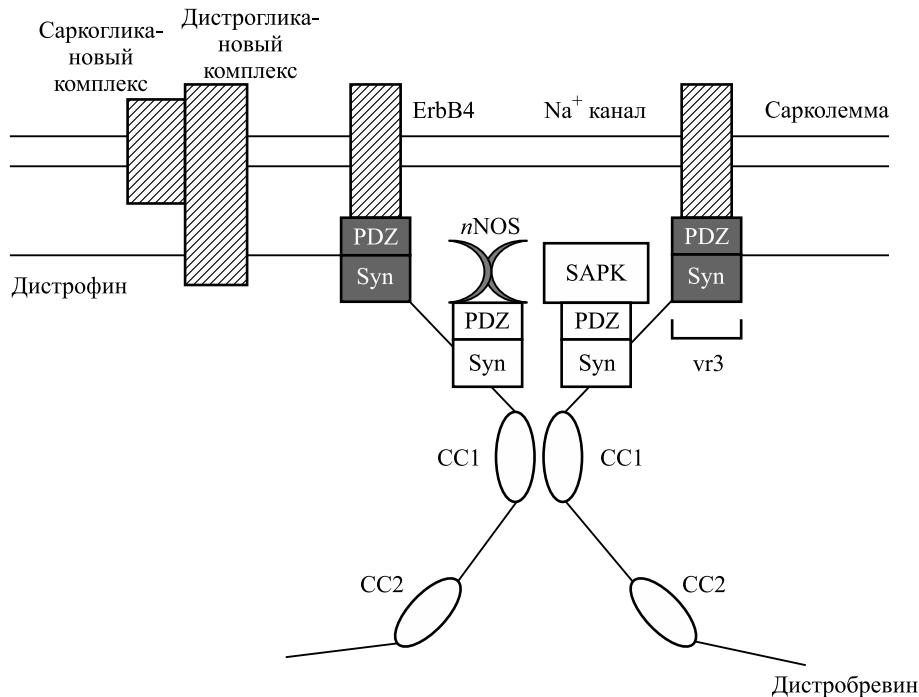


Рис. 2. Комплекс дистрофина с nNOS-μ в скелетных мышцах.

Имеются два тандемных синтрофин-связывающих мотива, которые взаимодействуют с дистрофином, nNOS-μ и дистробревином. Сайты связывания синтрофина (Syn) обозначены серым цветом. Показаны четыре синтрофин-связывающих белка: тирозинкиназный рецептор (ErbB4), натриевый канал, nNOS и SAPK, которые взаимодействуют с PDZ-доменом синтрофина. CC – структурные мотивы типа спиральной катушки

Fig. 2. The complex of dystrophin with nNOS-μ in skeletal muscles.

There are two tandem syntrophin-binding motifs that interact with dystrophin, nNOS-μ and dystrobrevin. Binding sites for syntrophin (Syn) are shown in grey. Four syntrophin-binding proteins are shown: tyrosine kinase receptor (ErbB4), sodium channel, nNOS, and SAPK, which interact with the PDZ domain of syntrophin. CC - helical coil type structural motifs

дистрофии мышц не выяснен. Снижение уровня дистрофина ведет к нарушению его взаимодействия с nNOS-μ. Однако имеются данные о том, что nNOS может ослаблять симптомы дистрофии скелетных мышц, даже когда она не локализована в сарколемме [67–69]. Активная nNOS уменьшает специфическую для дистрофии патологию, выраженную в повышении фиброза в мышцах сердца, диафрагмы и задних конечностей.

Следует отметить, что не только дистрофия скелетных мышц, но и другая мышечная патология – миастения – сильно зависит от локализации фермента на внутренней поверхности сарколеммы. У пациентов, страдающих миастенией, обнаруживаются симптомы хронической усталости мышц. Показано, что синтрофин-α1 и nNOS в этом случае не связаны с сарколеммой и накапливаются в саркоплазме. На основании этих наблюдений авторы пришли к выводу, что патологическая транслокация nNOS из сарколеммы в саркоплазму отражает важный механизм в разви-

тии различных заболеваний скелетных мышц, в том числе при МС [68, 70].

Как уже отмечалось, основные механизмы действия NO реализуются через sGC и цГМФ-зависимые пути, но имеются данные о механизмах действия NO, не связанных с sGC [10, 68]. Так, показана вовлеченность NO в модуляцию сокращения скелетных мышц, дыхание митохондрий, углеводный обмен и нервно-мышечную передачу без непосредственного участия цГМФ-зависимых механизмов [71]. Это также необходимо принимать во внимание, оценивая вклад nNOS в патологию мышц и нейропатические боли при МС.

При МС и старении нарушается кровоснабжение в скелетных мышцах, а соответственно, снижается биодоступность NO. Следствием этого является замедление кровотока, нарушение сократимости сосудов и перераспределение кровотока от окислительных мышц к гликолитическим [53]. Кроме того, старение вызывает атрофию и прогрессирующую утрату функции мышц. В ске-

летных мышцах пожилых людей клетки-сателлиты становятся невосприимчивыми к стимуляции, а именно они отвечают за поддержание и восстановление мышечных волокон. Оказалось, что в условиях *in vivo* NO, синтезируемый pNOS- μ , вызывает активацию сателлитных клеток, а старение и изменение активности фермента ведут к нарушению способности мышц к механическому растяжению. Эти дефекты можно в определенной степени устранить лечением препаратами – донорами NO [53].

Основной процесс, регулируемый pNOS в мышцах, – это поглощение глюкозы, которое, наряду с инсулином, может стимулироваться сокращением скелетных мышц. Поглощение глюкозы происходит вследствие инсулин-стимулированной транслокации переносчика глюкозы GLUT4 из цитозоля в плазматическую мембрану. В процесс транслокации GLUT4, опосредованный сокращением мышц, вовлечены кальциевые пути и АМФ-активируемая протеинкиназа, которая фосфорилирует и активирует pNOS. Для инсулина характерен механизм, в котором также косвенно задействована pNOS. Однако в отношении роли pNOS в регуляции поглощения глюкозы скелетными мышцами при сокращении и при тренировке единого мнения нет. Так, одни авторы отмечают, что у здоровых людей и у пациентов с МС и СД2 ингибирование pNOS снижает поглощение глюкозы во время тренировки, но при этом не влияет на кровоток [71], в то время как другие не обнаружили такого эффекта [72].

В пользу участия pNOS в глюкозном транспорте свидетельствуют данные, что стимуляцию поглощения глюкозы в камбаловидной мышце крыс можно полностью заблокировать ингибитором pNOS, но детальные механизмы этого до конца не установлены [70–75]. Предполагают, что ключевую роль здесь играет изоформа μ , которая присутствует в скелетных и сердечной мышцах [72]. При действии инсулина или при физической нагрузке pNOS подвергается фосфорилированию по остатку Ser1446, что приводит к повышению продукции NO и транслокации транспортера GLUT4 в плазматическую мембрану, при этом в первом случае фермент фосфорилируется Akt-киназой, во втором – с участием АМФ-активируемой протеинкиназы. Так, при действии инсулина предварительная обработка миофибрилл с помощью Akti-2, ингибитора Akt2-киназы, снижала фосфорилирование pNOS по Ser1446, в то время как дорсоморфин, ингибитор АМФ-активируемой протеинкиназы, в этом случае был не эффективен [15]. Поскольку в условиях МС отмечается нарушение толерантности к глюкозе, а также ослабление инсулино-

вого сигналинга в скелетных мышцах [76, 77], это должно приводить к ослаблению стимулирующего влияния инсулина на pNOS, что неизбежно сопровождается нарушением в этих клетках и ткани в целом NO/цГМФ-зависимого сигналинга. В свою очередь, физические нагрузки, которые нормализуют энергетический обмен в клетках, восстанавливая активность АМФ-активируемой протеинкиназы [76, 77], могут положительно влиять и на активность pNOS, и на зависимый от нее транспорт глюкозы, что требует дальнейших исследований [78, 79, 80].

Нитритредуктазы, iNOS и их потенциальная роль в NO-зависимых сосудистых нарушениях при МС

NO может синтезироваться не только с участием pNOS, но еще вследствие нитритредуктазной активности из нитрита. В настоящее время разрабатывается концепция цикла NO, включающего NO-синтазы и нитритредуктазы, активация которых может происходить одновременно, что позволяет рационально использовать как L-аргинин, так и нитриты и нитраты. Действительно, за последние годы было значительно пересмотрено понимание путей синтеза NO в организме с открытием этого неканонического пути образования NO, известного как цикл NO [81–85]. Так, в исследованиях ряда авторов [81–84] указывается на то, что образование NO возможно и без участия NO-синтаз, а нитратные и нитритные анионы можно рассматривать в качестве субстратов в нитритных и нитратредуктазных звеньях цикла NO. Кроме того, приводятся доказательства того, что нитрит может служить формой хранения NO, а высвобождение NO осуществляется преимущественно в кислых и/или гипоксических условиях, и эта реакция катализируется различными нитрат- и нитритредуктазами [85].

Доклинические исследования демонстрируют, что восстановление нитрита до NO с участием нитритредуктаз приводит к ряду полезных эффектов, включая расширение кровеносных сосудов и снижение артериального давления, а также цитопротекцию, ограничивающую степень повреждения, вызванного инсультом [81–85]. Выяснение роли значимых компонентов нитритной и нитритредуктазной систем в цикле NO, механизма их активации и дезактивации в различных условиях позволит детализировать принципы управления последним [81–84]. Действительно, работа цикла NO может обеспечить регуляцию NO до тех пор, пока NO₂, OH-радикалы и пероксинитрит не разрушат основные компоненты, входящие в цикл NO. Предполагается, что анализ механизмов циклического превращения NO и вы-

яснение роли всех продуктов его метаболизма в живых организмах позволят приблизиться к более глубокому пониманию проблемы NO в биологии и медицине [82–83]. Однако участию данного цикла в патогенезе МС практически не уделяется внимания, и, как нам представляется, это в значительной степени тормозит развитие новых подходов для коррекции сердечно-сосудистых и других нарушений, развивающихся при МС.

Еще одним игроком в патогенезе сосудистых поражений при МС может быть iNOS, которая является основным ферментом, участвующим в образовании NO во время воспаления. При этом iNOS синтезирует NO длительное время и с высокой эффективностью. Однако роль NO, синтезируемого с участием iNOS, в хроническом воспалении при МС до сих пор не выяснена, поскольку при высоких концентрациях, генерируемых iNOS, NO быстро окисляется до активных форм азота, которые вступают в реакцию нитрозилирования, опосредуя большинство эффектов NO на процессы воспаления. Активные формы азота могут модифицировать ключевые сигнальные молекулы, такие как фосфатидилинозитол-3-киназа, митоген-активируемые протеинкиназы, факторы транскрипции и компоненты цитокиновых путей [86, 87]. Исследования, сосредоточенные на роли NO в воспалении, которое сопутствует МС, включают изучение заболеваний суставов и нарушение функции эндотелия при усилении воспалительных реакций. Эндотелиальная дисфункция связана со снижением активности опосредуемых NO сигнальных путей при ревматоидном артрите. Показано, что iNOS экспрессируется в различных клетках в ответ на воспалительные сигналы и обладает наибольшей способностью продуцировать NO [7]. Соответственно, хроническое воспаление у пациентов с патологическим ожирением и МС может быть причиной увеличения стационарной концентрации NO, связанного с активностью именно iNOS, но это требует дальнейших исследований.

Заключение

Широкая распространенность МС и сопутствующих ему заболеваний заставляет более пристально изучать молекулярные механизмы, которые вовлечены в этиологию и патогенез МС. В последние годы установлено, что важное место среди них занимают нарушения функций nNOS и зависимых от нее NO/цГМФ-сигнальных путей. В мозге, миокарде и скелетных мышцах nNOS сопряжена с различными белками, регулируемыми ее активностью. В мозге nNOS ассоциирована с NMDAR, белком PSD95 и киназой CaM-

KII. При МС гиперактивация NMDAR приводит к избыточной стимуляции nNOS, что приводит к NO-индуцированному повреждению нейронов и нарушению центральной регуляции физиологических процессов и нейродегенерации [11, 78, 80]. В миокарде nNOS образует комплекс со структурным белком дистрофином, контролируя через него расслабление миокарда и модулируя его сокращение. При МС и СД2 отмечаются патологические изменения экспрессии и локализации nNOS, а также ее функционального сопряжения с белками цитоскелета, что сопровождается нарушением сократительной функции миокарда и гипертрофией. В скелетных мышцах nNOS локализована на внутренней поверхности сарколеммы, будучи ассоциирована с сарколеммальным дистрофиновым комплексом [10]. nNOS контролирует сокращение скелетных мышц, их окислительный метаболизм, вовлечена в регуляцию расслабления сосудов, а также участвует в регуляции глюкозного транспорта. Снижение экспрессии и активности nNOS, а также дизрегуляция активности фермента при МС и СД2 приводят к нарушению этих процессов, вносят существенный вклад в развитие инсулиновой резистентности и ухудшение глюкозного гомеостаза. Таким образом, nNOS может рассматриваться как важная терапевтическая мишень при лечении МС и других метаболических расстройств, а также для предотвращения их осложнений со стороны нервной и сердечно-сосудистой систем и опорно-двигательного аппарата. Понимание молекулярных основ функционирования значимых компонентов цикла NO, закономерности их изменений, взаимосвязи этого цикла с окислительным и нитрозирующим стрессом позволят в будущем разработать методы более эффективной диагностики, лечения и профилактики МС и сопутствующих ему заболеваний [81–87].

Список литературы / References

1. Assumpção C.R., Brunini T.M.C., Matsui C., Resende A.C., Mendes-Ribeiro A.C. Impact of the L-arginine-nitric oxide pathway and oxidative stress on the pathogenesis of the metabolic syndrome. *Open Biochem. J.* 2008;2:108–115. doi:10.2174/1874091X00802010108
2. Grundy S.M. Metabolic syndrome: a multiplex cardiovascular risk factor. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2007;92:399–404. doi: 10.1210/j.c.2006-0513
3. Mendrick D.L., Diehl A.M., Topor L.S., Diert R.R., Will Y., La Merrill M.A., Bouret S., Varma V., Hastings K.L., Schug T.T., Hart S.G.E., Burleson F.G. Metabolic syndrome and associated diseases: from the bench to the clinic. *Toxicol. Sci.* 2018;162(1):36–42. doi: 10.1093/toxsci/kfx233

4. Кузнецова Л.А. Метаболический синдром: влияние адипокинов на L-аргинин-NO-синтаза-NO сигнальный путь. *Acta Biomed. Sci.* 2021;6(2):22–40. doi: 10.2941/ABC.2021-.6.2.3
- Kuznetsova L.A. Metabolic syndrome: the influence of adipokines on the L-arginine-NO synthase-nitric oxide signaling pathway. *Acta Biomedica Scientifica.* 2018;162(1):36–42. [In Russian]. doi: 10.2941/ABC.2021-.6.2.3
5. Stuehr D.J., Haque M.M. Nitric oxide synthase enzymology in the 20 years after the Nobel Prize. *Br. J. Pharmacol.* 2019;176(2):177–188. doi: 10.1111/bph.14533
6. Alderton W.K., Cooper C.E., Knowles R.G. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem. J.* 2001;357:593–615. doi: 10.1042/0264-6021:3570593
7. Carnicer R., Crabtree M.J., Sivakumaran V., Casadei B., Kass D.A. Nitric oxide synthases in heart failure. *Antioxid. Redox. Signal.* 2013;18(9):1078–1099. doi: 10.1089/ars.2012.4824
8. Zhou L., Zhu D.Y. Neuronal nitric oxide synthase: structure, subcellular localization, regulation, and clinical implications. *Nitric Oxide.* 2009;20(4):223–230. doi: 10.1016/j.niox.2009.03.001
9. Ahlwat A., Rana A., Goyal N., Sharma S. Potential role of nitric oxide synthase isoforms in pathophysiology of neuropathic pain. *Inflammopharmacology.* 2014;22(5):269–278. doi: 10.1007/s10787-014-0213-0
10. Suhr F., Gehlert S., Grau M., Bloch W. Skeletal muscle function during exercise-fine-tuning of diverse subsystems by nitric oxide. *Int. J. Mol. Sci.* 2013;4(4):7109–7139. doi: 10.3390/ijms14047109
11. Maccallini C., Amoroso R. Targeting neuronal nitric oxide synthase as a valuable strategy for the therapy of neurological disorders. *Neural. Regen. Res.* 2016;11(11):1731–1734. doi: 10.4103/1673-5374.194707
12. Cossenza M., Socodato R., Portugal C.C., Domith I.C.L., Gladulich L.F.H., Encarnacao T.G., Calaza K.C., Mendoca H.R., Campello-Costa P., Paer-de-Carvalho R. Nitric oxide in the nervous system: biochemical, developmental, and neurobiological aspects. *Vitam. Horm.* 2014;96:79–125. doi: 10.1016/B978-0-12-800254-4.00005-2
13. Jaffrey S.R., Snyder S.H. PIN: an associated protein inhibitor of neuronal nitric oxide synthase. *Science.* 1996;274:774–777. doi: 10.1126/science.274.5288.774
14. Greenwood M.T., Guo Y., Kumar U., Beausejours S., Hussain S.N. Distribution of protein inhibitor of neuronal nitric oxide synthase in rat brain. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1997;238(2):617–621. doi: 10.1006/bbrc.1997.7361
15. Ally A., Powell I., Ally M.M., Chaitoff K., Nauli S. Role of neuronal nitric oxide synthase on cardiovascular functions in physiological and pathophysiological states. *Nitric Oxide.* 2020;102:52–73. doi: 10.1016/j.niox.2020.06.004
16. Wu K.L.H., Chao Y.M., Tsay S.J., Chen C.H., Chan S.H.H., Dovinova I., Chan J.Y. Role of nitric oxide synthase uncoupling at rostral ventrolateral medulla in redox-sensitive hypertension associated with metabolic syndrome. *Hypertension.* 2014;64:815–824. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.03777
17. Heinrich T.A., da Silva R.S., Miranda K.M., Switzer C.H., Wink D.A., Fukuto J.M. Biological nitric oxide signalling: chemistry and terminology. *Br. J. Pharmacol.* 2013;169:1417–1429. doi:10.1111/bph.12217
18. Cao J., Viholainen J.I., Dart C., Warwick H.K., Leyland M.L., Courtney M.J. The PSD95-nNOS interface: a target for inhibition of excitotoxic p38 stress-activated protein kinase activation and cell death. *J. Cell Biol.* 2005;168:117–126. doi:10.1083/jcb.200407024
19. Martínez M.C., Andriantsitohaina R. Reactive nitrogen species: molecular mechanisms and potential significance in health and disease. *Antioxid Redox Signal.* 2008;11:669–702. doi:10.1089/ars.2007.1993
20. Talebi M., İlgün S., Ebrahimi V., Talebi M., Farkhondeh T., Ebrahimi H., Samarghandian S. Zingiber officinale ameliorates Alzheimer's disease and Cognitive Impairments: Lessons from preclinical studies. *Biomed. Pharmacother.* 2021;133. doi: 10.1016/j.biopha.2020.111088
21. Collin F. Chemical basis of reactive oxygen species reactivity and involvement in neurodegenerative diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20:2407. doi: 10.3390/ijms20102407
22. Jung J., Na C., Huh Y. Alterations in nitric oxide synthase in the aged CNS. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2012;2012:718976. doi: 10.1155/2012/718976
23. Colas D., Gharib A., Bezin L., Morales A., Guidon G., Cespuglio R., Sarda N. Regional age-related changes in neuronal nitric oxide synthase (nNOS), messenger RNA levels and activity in SAMP8 brain. *BMC Neurosci.* 2006;7:81. doi: 10.1186/1471-2202-7-81
24. Zhao D., Watson J.B., Xie C.W. Amyloid beta prevents activation of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II and AMPA receptor phosphorylation during hippocampal long-term potentiation. *J. Neurophysiol.* 2004;92:2853–2858. doi: 10.1152/jn.00485.2004
25. Ghosh A., Giese K.P. Calcium/calmodulin-dependent kinase II and Alzheimer's disease. *Mol. Brain.* 2015;8:78. doi: 10.1186/s13041-015-0166-2
26. Rameau G.A., Chiu L.Y., Ziff E.B. Bidirectional regulation of neuronal nitric-oxide synthase phosphorylation at serine 847 by the N-methyl-D-aspartate receptor. *J. Biol. Chem.* 2004;279(14):14307–14314. doi: 10.1074/jbc.M311103200
27. Araki S., Osuka K., Takata T., Tsuchiya T., Watanabe Y. Coordination between calcium/calmodulin-dependent protein kinase ii and neuronal nitric oxide syn-

these in neurons. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(21):7997. doi: 10.3390/ijms21217997

28. Llevenes P., Rodrigues-Diez R., Cros-Brunso L., Prieto M.I., Casani L., Balfagon G., Blanco-Rivero J. Beneficial effect of a multistrain synbiotic prodefen plus on the systemic and vascular alterations associated with metabolic syndrome in rats: the role of the neuronal nitric oxide synthase and protein kinase A. *Nutrients.* 2020;12(1):117. doi: 10.3390/nu12010117

29. Forstermann U., Sessa W.C. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur. Heart J.* 2012;33(7):829–837. doi: 10.1093/eurheartj/ehr304

30. Zhang Y.H., Jang J.H., Wang Y. Molecular mechanisms of neuronal nitric oxide synthase in cardiac function and pathophysiology. *J. Physiol.* 2014;592(15):3189–3200. doi: 10.1113/jphysiol.2013.270306

31. Tang L., Wang H., Ziolo M.T. Targeting NOS as a therapeutic approach for heart failure. *Pharmacol. Ther.* 2014; 142(3):306–315. doi: 10.1016/j.pharmthera.2013.12.013

32. Zhang Y.H. Nitric oxide signaling and neuronal nitric oxide synthase in the heart under stress. *F1000Res.* 2017;6:742. doi: 10.12688/f1000research.10128.1

33. Ashley E.A., Sears C.E., Bryant S.M., Watkins H.C., Casadei B. Cardiac nitric oxide synthase 1 regulates basal and beta-adrenergic contractility in murine ventricular myocytes. *Circulation.* 2002;105:3011–3016. doi: 10.1161/01.cir.0000019516.31040.2d

34. Dawson D., Lygate C.A., Zhang M.H., Hulber K., Neubauer S., Casadei B. *nNOS* gene deletion exacerbates pathological left ventricular remodeling and functional deterioration after myocardial infarction. *Circulation.* 2005;112:3729–3737. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.539437

35. Sears C.E., Bryant S.M., Ashley E.A., Lygate C.A., Rakovic S., Wallis H.L., Neubauer S., Terrar D.A., Casadei B. Cardiac neuronal nitric oxide synthase isoform regulates myocardial contraction and calcium handling. *Circ. Res.* 2003;92:e52–e59. doi: 10.1161/01.RES.0000064585.95749.6D

36. Barouch L.A., Harrison R.W., Skaf M.W., Rosas G.O., Cappola T.P., Robeissi Z.A., Hobai I.A., Lemmon C.A., Burnett A.L., O'Rourke B., ... Hare J.M. Nitric oxide regulates the heart by spatial confinement of nitric oxide synthase isoforms. *Nature.* 2002;416:337–339. doi: 10.1038/416337a

37. Zhang Y.H., Zhang M.H., Sears C.E., Emanuel K., Redwood C., El-Armouche A., Kranias E.G., Casadei B. Reduced phospholamban phosphorylation is associated with impaired relaxation in left ventricular myocytes from neuronal NO synthase-deficient mice. *Circ. Res.* 2008; 102: 242–249. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.107.164798

38. Oceandy D., Cartwright E.J., Emerson M., Prehar S., Baudoin F.M., Zi M., Alawi N., Venetucci L., Schuh K., Williams J.C., Armesilla A.L., Neyses L. Neuronal nitric oxide synthase signaling in the heart is

regulated by the sarcolemmal calcium pump 4b. *Circulation.* 2007;115:483–492. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.643791

39. Gonzalez D.R., Beigi F., Treuer A.V., Hare J.M. Deficient ryanodine receptor S-nitrosylation increases sarcoplasmic reticulum calcium leak and arrhythmogenesis in cardiomyocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007; 104: 20612–20617. doi: 10.1073/pnas.0706796104

40. Khan S.A., Lee K., Minhas K.M., Gonzalez D.R., Raju S.V.Y., Tejani A.D., Li D., Berkowitz D.E., Hare J.M. Neuronal nitric oxide synthase negatively regulates xanthine oxidoreductase inhibition of cardiac excitation-contraction coupling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004;101:15944–15948. doi: 10.1073/pnas.0404136101

41. Lee Y., Chakraborty S., Muthuchamy M. Roles of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase pump in the impairments of lymphatic contractile activity in a metabolic syndrome rat model. *Sci. Rep.* 2020;10:12320. doi: 10.1038/s41598-020-69196-4

42. Dineen S.L., McKenney M.L., Bell L.N., Fullenkamp A.M., Schultz K.A., Allosch M., Chalasani N., Sturek M. Metabolic syndrome abolishes glucagon-like peptide 1 receptor agonist stimulation of SERCA in coronary smooth muscle. *Diabetes.* 2015;64:3321–3327. doi: 10.2337/db14-1790

43. Herring N., Paterson D.J. Neuromodulators of peripheral cardiac sympatho-vagal balance. *Exp. Physiol.* 2009;94:46–53. doi: 10.1113/expphysiol.2008.044776

44. Johnson E.K., Zhang L., Adams M.E., Phillips A., Freitas M.A., Froehner S.C., Green-Church K.B., Montanazo F. Proteomic analysis reveals new cardiac-specific dystrophin-associated proteins. *PLoS One.* 2012;7(8): e43515. doi: 10.1371/journal.pone.0043515

45. Melikian N., Seddon M.D., Casadei B., Chowieńczyk P.J., Shah A.M. Neuronal nitric oxide synthase and human vascular regulation. *Trends Cardiovasc. Med.* 2009;19:256–262. doi: 10.1016/j.tcm.2010.02.007

46. Li F.C., Chan J.Y., Chan S.H., Chang A.Y. In the rostral ventrolateral medulla, the 70-kDa heat shock protein (HSP70), but not HSP90, confers neuroprotection against fatal endotoxemia via augmentation of nitric-oxide synthase I (NOS I)/protein kinase G signaling pathway and inhibition of NOS II/peroxynitrite cascade. *Mol. Pharmacol.* 2005;68:179–192. doi: 10.1124/mol.105.011684

47. Piech A., Dessy C., Havaux X., Feron O., Balligand J.L. Differential regulation of nitric oxide synthases and their allosteric regulators in heart and vessels of hypertensive rats. *Cardiovasc. Res.* 2003;57:456–467. doi: 10.1016/s0008-6363(02)00676-4

48. Fridolfsson H.N., Patel H.H. Caveolin and caveolae in age associated cardiovascular disease. *J. Geriatr. Cardiol.* 2013;10:66–74. doi: 10.3969/j.issn.1671-5411.2013.01.011

49. Forstermann U., Xia N., Li H. Roles of vascular oxidative stress and nitric oxide in the pathogenesis of atherosclerosis. *Circ. Res.* 2017; 120: 713–735. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.309326
50. Jian Z., Han H., Zhang T., Puglisi J., Izu L.T., Onafioke E., Erickson J.R., Chen Y.-J., Horvath B., Shimkunas R., ... Chen-Izu Y. Mechanochemotransduction during cardiomyocyte contraction is mediated by localized nitric oxide signaling. *Sci. Signal.* 2014;7:27. doi: 10.1126/scisignal.2005046
51. Pourbagher-Shahri A.M., Farkhondeh T., Talebi M., Kopustinskiene D.M., Samarghandian S., Bernatoniene J. An overview of NO signaling pathways in aging. *Molecules.* 2021;26(15):4533. doi: 10.3390/molecules26154533
52. Yu Q., Gao F., Ma X.L. Insulin says NO to cardiovascular disease. *Cardiovasc. Res.* 2011;89:516–524. doi: 10.1093/cvr/cvq349
53. Shabeeh H., Khan S., Jiang B., Brett S., Melikyan N., Casadei B., Chowienczyk P.J., Shan A.M. Blood pressure in healthy humans is regulated by neuronal NO synthase. *Hypertension.* 2017;69:970–976. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.08792
54. Fadel P.J. Nitric oxide and cardiovascular regulation: beyond the endothelium. *Hypertension.* 2017;69:778–779. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.08999
55. Zhang Y.H. Neuronal nitric oxide synthase in hypertension - an update. *Clin. Hypertens.* 2016;22:20. doi: 10.1186/S40885-016-0055-8
56. Costa E.D., Rezende B.A., Cortes S.F., Lemos V.S. Neuronal nitric oxide synthase in vascular physiology and diseases. *Front. Physiol.* 2016;7:206. doi: 10.3389/FPHYS.2016.00206
57. Niu X., Watts V.L., Cingolani O.H., Sivakumaran V., Leyton-Mange J.S., Ellis C.L., Miller K.L., Vandegaer K., Bedja D., Gabrielson K.I., ... Barouch L.A. Cardioprotective effect of beta-3 adrenergic receptor agonism: role of neuronal nitric oxide synthase. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2012;59(22):1979–1987. doi: 10.1016/j.jacc.2011.12.046
58. Gantner B.N., LaFond K.M., Bonini M.G. Nitric oxide in cellular adaptation and disease. *Redox Biol.* 2020;34:101550. doi: 10.1016/j.redox.2020.101550
59. Watts V.L., Sepulveda F.M., Cingolani O.H., Ho A.S., Niu X., Kim R., Miller K.L., Vandegaer K., Bedja D., Gabrielson K.I., ... Barouch L.A. Anti-hypertrophic and anti-oxidant effect of beta3-adrenergic stimulation in myocytes requires differential neuronal NOS phosphorylation. *J. Mol. Cell Cardiol.* 2013;62:8–17. doi: 10.1016/j.yjmcc.2013.04.025
60. Lane P., Gross S.S. The autoinhibitory control element and calmodulin conspire to provide physiological modulation of endothelial and neuronal nitric oxide synthase activity. *Acta Physiol. Scand.* 2000;168:53–63. doi: 10.1046/j.1365-201x.2000.00654.x
61. Napp A., Brixius K., Pott C., Ziskoven C., Boelck B., Mehlhorn U., Schwinger R.H.G., Bloch W. Effects of the beta3-adrenergic agonist BRL 37344 on endothelial nitric oxide synthase phosphorylation and force of contraction in human failing myocardium. *J. Card. Fail.* 2009;15:57–67. doi: 10.1016/j.cardfail.2008.08.006
62. Niu X., Zhao L., Li X., Xue Y., Wang B., Lv Z., Chen J., Sun D., Zheng Q. β 3-Adrenoreceptor stimulation protects against myocardial infarction injury via eNOS and nNOS activation. *PLoS One.* 2014;9(6):e98713. doi: 10.1371/journal.pone.0098713
63. Hirai D.M., Copp S.W., Ferguson S.K., Holdsworth C.T., Hageman K.S., Poole D.C., Musch T.I. Neuronal nitric oxide synthase regulation of skeletal muscle functional hyperemia: exercise training and moderate compensated heart failure. *Nitric Oxide.* 2013;74:1–9. doi: 10.1016/j.niox.2017.12.008
64. Hincee-Rodriguez K., Garg N., Venkatakrisnan P., Roman M.G., Adamo M.L., Masters B.S., Romam L.J. Neuronal nitric oxide synthase is phosphorylated in response to insulin stimulation in skeletal muscle. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2013;435(3):501–505. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.05.020
65. Eghbalzadeh K., Brixius K., Bloch W., Brinkmann C. Skeletal muscle nitric oxide (NO) synthases and NO-signaling in “diabesity”—hat about the relevance of exercise training interventions? *Nitric Oxide.* 2014;37 :28–40. doi: 10.1016/j.niox.2013.12.009
66. Balke J.E., Zhang L., Percival J.M. Neuronal nitric oxide synthase (nNOS) splice variant function: Insights into nitric oxide signaling from skeletal muscle. *Nitric Oxide.* 2019;82:35–47. doi: 10.1016/j.niox.2018.11.004
67. Lai Y., Zhao J., Yue Y., Duan D. α 2 and α 3 helices of dystrophin R16 and R17 frame a microdomain in the α 1 helix of dystrophin R17 for neuronal NOS binding. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2013;110:525–530. doi: 10.1016/pnas.1211431109
68. Wehling-Henricks M., Tidball J.G. Neuronal nitric oxide synthase-rescue of dystrophin/utrophin double knockout mice does not require nNOS localization to the cell membrane. *PLoS One.* 2011;6:e25071. doi: 10.1371/journal.pone.0025071
69. Terradas A.L., Vitadello M., Traini L., Namuduri A.V., Gastaldello S., Gorza L. Sarcolemmal loss of active nNOS (Nos1) is an oxidative stress-dependent, early event driving disuse atrophy. *J. Pathol.* 2018;246(4):433–446. doi: 10.1002/path.5149
70. Meinen S., Lin S., Ruegg M.A., Punda A.R. Fatigue and muscle atrophy in a mouse model of myasthenia gravis is paralleled by loss of sarcolemmal nNOS. *PLoS One.* 2012;7:e44148. doi: 10.1371/journal.pone.0044148
71. Baldelli S., Barbato L.D., Tatulli G., Aquilano K., Ciriolo M.R. The role of nNOS and PGC-1 α in skeletal muscle cells. *J. Cell Sci.* 2014;127(Pt 22):4813–4820. doi: 10.1242/jcs.154229
72. Stephens T.J., Canny B.J., Snow R.J., McConnell G.K. 5'-Aminoimidazole-4-carboxamide-ribonu-

cleoside-activated glucose transport is not prevented by nitric oxide synthase in rat isolated skeletal muscle. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2004;31(7):419–423. doi: 10.1111/j.1440-1681.2004.04014.x

73. Samengo G., Avik A., Fedor B., Whittaker D., Myung K.H., Wehling-Henricks M., Tidball J.G. Age-related loss of nitric oxide synthase in skeletal muscle causes reductions in calpain S-nitrosylation that increase myofibril degradation and sarcopenia. *Aging Cell.* 2012;11:1036–1045. doi: 10.1111/accel.12003

74. Kellogg D.L., McCammon K.M., Hinchee-Rodriguez K.S., Adamo M.L., Roman L.J. Neuronal nitric oxide synthase mediates insulin- and oxidative stress-induced glucose uptake in skeletal muscle myotubes. *Free Radic. Biol. Med.* 2017;110:261–269. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.06.018

75. Matheny R.W., Adamo M.L. Current perspectives on Akt activation and Akt-ions. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*. 2009;234(11):1264–1270. doi: 10.3181/0904-MR-138

76. Kaur J. A comprehensive review on metabolic syndrome. *Cardiol. Res. Pract.* 2014; 2014: 943162. doi: 10.1155/2014/943162

77. Hashim K.N., Chin K.Y., Ahmad F. The mechanism of honey in reversing metabolic syndrome. *Molecules*. 2021;26(4):808. doi:10.3390/molecules26040808

78. Lemieux I., Despres J.P. Metabolic syndrome: past, present and future. *Nutrients*. 2020;12(11):3501. doi: 10.3390/nu12113501

79. Saklayen M.G. The global epidemic of the metabolic syndrome. *Curr. Hypertens. Rep.* 2018;20:12. doi: 10.1007/s11906-018-0812-z

80. Rochlani Y., Pothineni N.V., Kovelamudi S., Mehta J.L. Metabolic syndrome: pathophysiology, management, and modulation by natural compounds. *Ther. Adv. Cardiovasc.* 2017;11(8):215–225. doi: 10.1177/1753944717711379

81. Soodaeva S., Klimakov I., Kubysheva N., Popova N., Batyrshin I. The state of the nitric oxide cycle

in respiratory tract diseases. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2020;2020:4859260. doi: 10.1155/2020/4859260

82. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Реутов В.П. Оксид азота и NO-синтазы в организме млекопитающих при различных функциональных состояниях. *Биохимия*. 2000;65(4):485–503.

Menshchikova E.B., Zenkov N.K., Reutov V.P. Nitric oxide and NO-synthases in mammals in different states. *Biochemistry (Moscow)*. 2000;65(4):409–426. [In Russian].

83. Lundberg J.O., Gladwin M.T., Shiva S., Ahluwalia A., Webb A.J., Benjamin N., Bryan N.S., Butler A., Cabrales P., Fago A., ... Weitzberg E. Nitrate and nitrite in biology, nutrition and therapeutics. *Nature Chemical Biology*. 2009;5(12):865–869. doi: 10.1038/nchembio.260

84. Реутов В.П., Самосудова Н.В., Сорокина Е.Г. Модель глутаматной нейротоксичности и механизмы развития типового патологического процесса. *Биофизика*. 2019;64(2):316–336. doi: 10.1134/S000630291902011X

Reutov V.P., Samosudova N.V., Sorokina E.G. A model of glutamate neurotoxicity and mechanisms of development of the typical pathological process. *Biophysics*. 2019;64(2):233–250. [In Russian]. doi: 10.1134/S000630291902011X

85. Kapil V., Khambata R.S., Jones D.A., Rathod K., Primus C., Massimo G., Fukuto J.M., Ahluwalia A. The noncanonical pathway for *in vivo* nitric oxide generation: the nitrate-nitrite-nitric oxide pathway. *Pharmacol. Rev.* 2020;72(3):692–766. doi: 10.1124/pr.120.019240

86. Stefano G.B., Kream R.M. Alkaloids, nitric oxide, and nitrite reductases: evolutionary coupling as regulators of cellular bioenergetics with special relevance to the human microbiome. *Med. Sci. Monit.* 2018;24:3153–3158. doi: 10.12659/MSM.909409

87. Kayki-Mutlu G., Koch W.J. Nitric oxide and S-nitrosylation in cardiac regulation: G protein-coupled receptor kinase-2 and β -arrestins as targets. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(2):521. doi: 10.3390/ijms22020521

Сведения об авторах:

Людмила Александровна Кузнецова, д.б.н., ORCID: 0000-0001-9215-6018, e-mail: praskovia1231@mail.ru

Наталья Евгеньевна Басова, к.б.н., ORCID: 0000-0002-7316-2882, e-mail: basovnat@mail.ru

Александр Олегович Шпаков, д.б.н., ORCID: 0000-0002-4293-3162, e-mail: alex_shpakov@list.ru

Information about the authors:

Ludmila A. Kuznetsova, doctor of biological sciences, ORCID: 0000-0001-9215-6018,

e-mail: praskovia1231@mail.ru

Nataliya E. Basova, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0002-7316-2882, e-mail: basovnat@mail.ru

Alexander O. Shpakov, doctor of biological sciences, ORCID: 0000-0002-4293-3162, e-mail: alex_shpakov@list.ru

Поступила в редакцию 18.04.2022

После доработки 16.05.2022

Принята к публикации 10.06.2022

Received 18.04.2022

Revision received 16.05.2022

Accepted 10.06.2022