

РОЛЬ АРГИНИНА И ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ СИНТАЗЫ ОКСИДА АЗОТА ПРИ ЗАБОЛЕВАНИИ МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ И COVID-19

Кузнецова Л.А.,
Басова Н.Е.

ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН (194223, г. Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Кузнецова Людмила Александровна,
e-mail: praskovia1231@mail.ru

РЕЗЮМЕ

В данном литературном обзоре представлена роль эндотелиальной синтазы оксида азота (eNO-синтазы) и оксида азота (NO), а также аргинина – субстрата фермента при заболевании метаболическим синдромом и COVID-19 (вирус SARS-CoV-2). Метаболический синдром представляет собой сочетание ожирения, инсулиновой резистентности, гипергликемии, дислипидемии и гипертонии. Показано, что у пожилых людей, пациентов с ожирением, метаболическим синдромом (МС), сахарным диабетом 2-го типа (СД2) и заболевших COVID-19 обнаруживается эндотелиальная дисфункция (ЭД) и активация эндотелия сосудов. ЭД является основной причиной ряда патологических состояний при развитии COVID-19 и ранее у больных МС, при этом выявляется резкое падение уровня оксида азота (NO) за счёт снижения экспрессии и активности eNO-синтазы и расслоения фермента, что приводит к нарушению целостности сосудов, то есть к суживающим, воспалительным и тромботическим состояниям с последующей ишемией органов и отёком тканей. Следует отметить, что МС, СД2, гипертония и ожирение, в частности, являются возрастными заболеваниями, и что с возрастом увеличивается уровень глюкозы крови, снижая биодоступность NO в эндотелиальных клетках. Дефекты метаболизма NO вызывают дисфункцию в лёгочных кровеносных сосудах и ткани лёгких, падает уровень NO, что приводит к нарушениям функции лёгких и коагулопатии. В обзоре приведены возможные механизмы этих нарушений, связанные с ЭД, расслоением eNO-синтазы, изменением фосфорилирования и регуляции активности фермента, а также при инсулиновой резистентности. Представлен современный взгляд на роль полиморфизма гена eNO-синтазы в развитии этих патологий. Для повышения уровня эндотелиального NO предлагаются препараты, которые регулируют биодоступность NO. К ним можно отнести аргинин, агонист NO – миноксидил, стероидные гормоны, статины, метформин. Однако необходимы дальнейшие исследования и клинические испытания при разработке стратегий лечения, повышающих уровни NO в эндотелии.

Ключевые слова: *коронавирусная болезнь 2019, эндотелиальная дисфункция, аргинин, оксид азота, эндотелиальная синтаза оксида азота, метаболический синдром*

Статья получена: 25.02.2022

Статья принята: 01.11.2022

Статья опубликована: 29.12.2022

Для цитирования: Кузнецова Л.А., Басова Н.Е. Роль аргинина и эндотелиальной синтазы оксида азота при заболевании метаболическим синдромом и COVID-19. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(6): 51-70. doi: 10.29413/ABS.2022-7.6.6

THE ROLE OF ARGININE AND ENDOTHELIAL NITRIC OXIDE SYNTHASE IN THE PATHOGENESIS OF COVID-19 COMPLICATED BY METABOLIC SYNDROME

**Kuznetsova L.A.,
Basova N.E.**

Sechenov Institute of Evolutionary
Physiology and Biochemistry,
Russian Academy of Sciences
(Toreza ave. 44, Saint Petersburg 194223,
Russian Federation)

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

ABSTRACT

This literature review presents the role of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and nitric oxide (NO), as well as arginine, the enzyme substrate, in the disease of metabolic syndrome and COVID-19 (SARS-CoV-2 virus). Metabolic syndrome is a combination of obesity, insulin resistance, hyperglycemia, dyslipidemia and hypertension. It has been shown that in elderly people, patients with obesity, metabolic syndrome, type 2 diabetes mellitus (DM2), and patients with COVID-19, endothelial dysfunction (ED) and vascular endothelial activation are detected. ED is the main cause of a number of pathological conditions during the development of COVID-19 and earlier in patients with metabolic syndrome, while a sharp drop in the level of nitric oxide (NO) is detected due to a decrease in the expression and activity of eNO synthase and enzyme depletion, which leads to a violation of the integrity of blood vessels, that is, to vasoconstrictive, inflammatory and thrombotic conditions, followed by ischemia of organs and edema of tissues. It should be noted that metabolic syndrome, DM2, hypertension and obesity, in particular, are age-related diseases, and it is known that blood glucose levels increase with age, which reduces the bioavailability of NO in endothelial cells. Defects in the metabolism of NO cause dysfunction in the pulmonary blood vessels, the level of NO decreases, which leads to impaired lung function and coagulopathy. The review presents possible mechanisms of these disorders associated with ED, the release of eNO synthase, changes in phosphorylation and regulation of enzyme activity, as well as insulin resistance. A modern view of the role of the polymorphism of the eNO synthase gene in the development of these pathologies is presented. To increase the level of endothelial NO, drugs are offered that regulate the bioavailability of NO. These include arginine, agonist NO – minoxidil, steroid hormones, statins, metformin. However, further research and clinical trials are needed to develop treatment strategies that increase NO levels in the endothelium.

Key words: coronavirus disease 2019, endothelial dysfunction, arginine, nitric oxide, endothelial nitric oxide synthase, metabolic syndrome

Received: 25.02.2022
Accepted: 01.11.2022
Published: 29.12.2022

For citation: Kuznetsova L.A., Basova N.E. The role of arginine and endothelial nitric oxide synthase in the pathogenesis of Covid-19 complicated by metabolic syndrome. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(6): 51-70. doi: 10.29413/ABS.2022-7.6.6

РАЗДЕЛ 1. ВВЕДЕНИЕ

По современным представлениям, метаболический синдром (МС) представляет собой хроническое неинфекционное патологическое заболевание, состоящее из комплекса метаболических и гормональных нарушений. Среди этих дисфункций можно обнаружить ожирение, гиперлипидемию, гипертензию, сахарный диабет 2-го типа (СД2) и сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) [1–4]. Были также идентифицированы ключевые биохимические компоненты этого синдрома: инсулиновая резистентность, нарушение обмена глюкозы, окислительный стресс, дислипидемия [1–5]. В настоящее время появляется всё больше доказательств, что L-аргинин-NO-синтазный сигнальный путь и его медиатор NO играют важную роль в патогенезе МС, ожирения, ССЗ и СД2. В ряде исследований было установлено, что NO оказывает сосудорасслабляющее, антитромботическое, антиоксидантное, антиадгезивное и антипролиферативное влияние [1–5]. Недостаточный синтез и освобождение NO, а также снижение концентрации L-аргинина может привести к развитию вазоконстрикции, увеличению давления, тенденции к образованию тромбов и выявлению атеросклероза при МС. При заболевании МС было обнаружено снижение активности eNO-синтазы, что ухудшает расслабление сосудов и снижает приток крови к скелетным мышцам [2–5]. В то же время при одновременном заболевании COVID-19 и МС наблюдаются увеличение смертности у больных МС, СД2 и важность контроля гликемии у этих больных. Известно, что COVID-19 является как респираторным, так и сосудистым заболеванием особенно у тяжёлых пациентов. Обнаружено повреждение эндотелиальной системы, что приводит к различным осложнениям, наблюдаемым у пациентов с COVID-19. Известно, что оксид азота (NO), который является внутриклеточной противовирусной защитой, подавляет широкий спектр вирусов, включая SARS-CoV [1, 2]. Кроме того, повышенный риск смерти при заболеваниях, лежащих в основе эндотелиальной дисфункции (ЭД), позволяет предположить, что NO, синтезируемый эндотелиальной синтазой оксида азота (eNO-синтазой), может быть одним из основных защитных механизмов. Уровень NO резко снижается у пожилых людей, страдающих гипергликемией, характерной для метаболического синдрома (МС). Следует отметить, что открытие биологической роли NO привело к революции в понимании регуляции сосудистого тонуса, адгезии тромбоцитов, агрегации и иммунной активации. В настоящее время появляется всё больше доказательств, что L-аргинин-NO-синтазный сигнальный путь и NO играют важную роль в патогенезе целого ряда заболеваний, к которым можно отнести МС, ожирение, сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) и сахарный диабет 2-го типа (СД2), а теперь ещё COVID-19 [1–5]. Следует отметить, что лёгкие и сосуды являются поражаемыми органами как при COVID-19, так и при МС и СД2, факт, который становится всё более очевидным после заражения SARS-CoV-2. Следует отметить, что как МС, так и СД2 являются возрастными заболеваниями, при которых наблюдается ЭД. Известно, что COVID-19 сильнее поража-

ет пожилых, так как у них имеются многочисленные сопутствующие заболевания, включая МС, СД2, гипертензию и ССЗ. В этой связи как при заболевании COVID-19, так и при МС и СД2 имеет решающее значение систематический контроль содержания глюкозы, так как обнаруживается её повышенный уровень. Некоторые авторы забили тревогу по поводу усиления симптомов МС, СД2 и гипертензии у больных COVID-19 [1, 6, 7]. Действительно, обнаружено, что повышенная заболеваемость и смертность связаны с пожилым возрастом, мужским полом, сердечно-сосудистыми заболеваниями и СД2. У пациентов с COVID-19 течение заболевания можно разделить на четыре фазы. При фазе 1 наиболее частыми проявлениями являются лихорадка и сухой кашель, потеря чувства вкуса и запаха, общее недомогание. Для большинства людей заболевание ограничивается этой фазой. Фаза 2 – это лёгочная стадия заболевания, характеризуется прогрессирующим воспалением лёгочной ткани и поражением альвеол. Фаза 3 – у пациентов развивается острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) и синдром внелёгочного системного гипервоспаления, шок, дыхательная недостаточность, сердечно-лёгочный коллапс, миокардит и острое повреждение почек, с плохим прогнозом и повышенной смертностью. И фаза 4 – это стадия восстановления и выживания [8].

NO является хорошо известным сосудорасширяющим средством, важным медиатором свёртывания крови, антимикробным эффектором и ингибитором репликации SARS-CoV. Выдыхаемый NO тесно связан с воспалительной реакцией, что защищает от инфекции COVID-19. В некоторых работах указывается, что использование вдыхаемого NO было эффективной терапией во время этой пандемии, поскольку соотношение вентиляции и перфузии у пациентов с COVID-19 впоследствии улучшалось, и им не требовалась искусственная вентиляция лёгких [6, 9–11]. Этот обзор концентрирует внимание на достижениях в области изучения метаболизма аргинина и функций eNO-синтазы в патогенезе COVID-19 при заболевании МС.

Цель этого обзора обобщить функции eNO-синтазы и NO, которые могут быть полезны при лечении COVID-19, протекающего при заболевании МС. Следует сразу подчеркнуть, что биодоступность аргинина, из которого синтезируется NO и цитруллин, может служить биомаркером развития COVID-19 [1, 6, 11]. В работе приведён систематический обзор доказательств, документирующих участие оси «L-аргинин – eNO-синтаза – NO» в патофизиологии COVID-19 на фоне развития МС.

РАЗДЕЛ 2. АРГИНИН И СИНТЕЗ NO В ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ. АРГИНИНОВЫЙ ПАРАДОКС

Аминокислота L-аргинин служит не только строительным блоком белка, но и важным субстратом для синтеза NO, креатина, полиаминов, гомоаргинина у млекопитающих и людей (рис. 1) [12].

NO в качестве основного сосудорасширяющего вещества увеличивает приток крови к тканям. Аргинин

и его метаболиты играют важную роль в обмене веществ, в частности он необходим для поддержания цикла мочевины в активном состоянии для детоксикации аммиака. Эта аминокислота также активирует сигнальные пути киназы фокальной адгезии у млекопитающих, тем самым стимулируя синтез белка, ингибируя аутофагию и протеолиз, усиливая миграцию клеток и заживление ран, способствуя сперматогенезу и качеству спермы, улучшая выживаемость и рост плода и увеличивая производствo молочных белков [11]. Несмотря на то, что L-аргинин образуется *de novo* из глутамина/глутамата и пролина у людей, эти синтетические пути не обеспечивают достаточного количества аргинина у младенцев или взрослых. Таким образом, у людей и животных есть диетические потребности в L-аргине для оптимального роста, развития, лактации и фертильности. Оказалось, что пероральное введение L-аргина в физиологическом диапазоне может принести пользу для здоровья как мужчинам, так и женщинам за счёт увеличения синтеза NO с участием eNO-синтазы и, следовательно, кровотока в тканях (например, скелетных мышцах и кавернозных телах полового члена) [11]. NO является сосудорасширяющим средством, нейротрансмиттером, регулятором обмена питательных веществ и «убийцей» бактерий, грибов, паразитов и вирусов, включая коронавирусы, такие как SARS-CoV-2 – вирус, вызывающий COVID-19.

Таким образом, добавки аргинина могут повышать иммунитет, противоинфекционные и антиоксидантные реакции, фертильность, заживление ран, детоксикацию аммиака, переваривание и усвоение питательных

веществ, увеличивать массу мышечной ткани и способствовать развитию коричневой жировой ткани. Эта добавка способна улучшать MC, включая дислипидемию, ожирение, диабет и гипертонию и лечить людей с эректильной дисфункцией и мышечной дистрофией. Следует отметить, что NO-синтазы не единственные ферменты, использующие в качестве субстрата аргинин, таковыми являются ещё аргиназы – металлоферменты марганца. Аргиназы существуют в двух различных изоформах – аргиназа I и II, которые имеют гомологию аминокислотной последовательности примерно 60 %. Аргиназы экспрессируются в эндотелии, печени, гладких мышцах и ответственны за превращение аргинина в мочевины и орнитин, а орнитин – далее в пролин с участием аминотрансферазы [11]. Аргиназа, конкурируя за аргинин, может считаться одним из модуляторов образования NO. Конкретно, повышение активности аргиназы может привести к снижению биодоступности аргинина для NO-синтаз, тем самым уменьшить образование NO. Этот механизм является, в какой-то мере, существенным фактором, лежащим в основе ЭД. Аргиназа может активироваться с участием факторов воспаления и медиаторов, включая окисленный липопротеин низкой плотности и тромбин, что приводит к подавлению NO-вызванного расслабления эндотелия. Активность аргиназы увеличивается при недостаточном количестве аргинина для NO-синтазного пути, что приводит к снижению биодоступности NO и развитию многих болезней, таких как ожирение, MC, СД2, воспаление и ССЗ, включая ЭД, гипертонию, атеросклероз и COVID-19 [1, 5, 11].

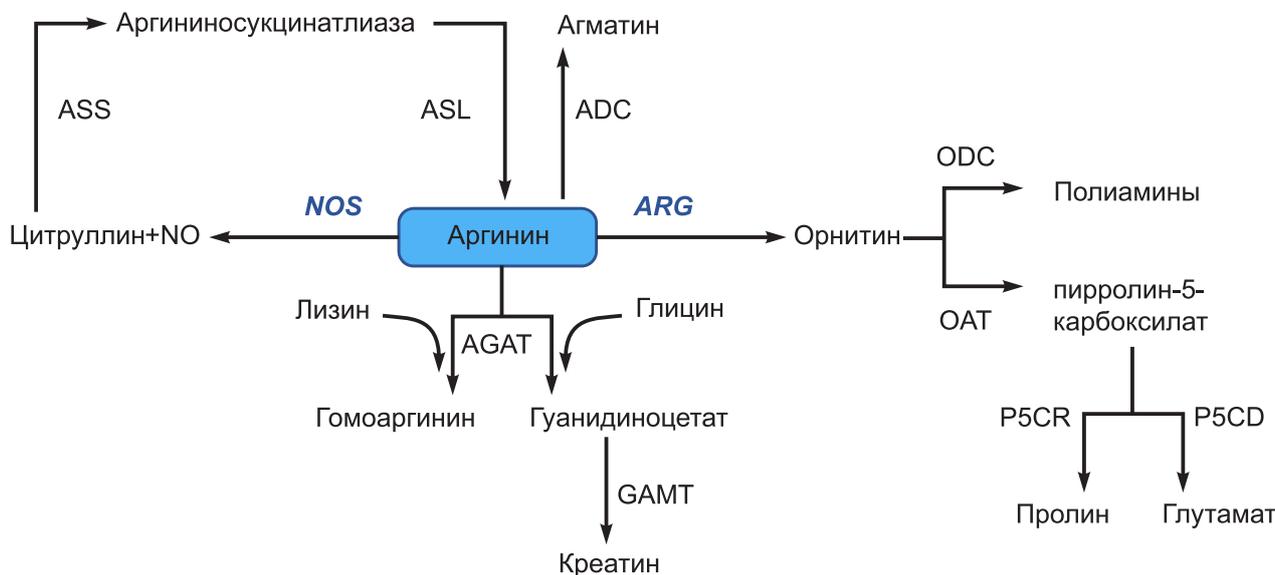


РИС. 1.
Катаболизм аргинина в сосудистых клетках [12]: NOS – синтазы оксида азота; ARG – аргиназы; ADC – аргининдекарбоксилаза; AGAT – аргинин-глицин аминотрансфераза; ASL – аргининосукцинатлиаза; ASS – аргининосукцинатсинтеттаза; GAMT – гуанидиноацетат N-метилтрансфераза; ODC – орнитиндекарбоксилаза; OAT – орнитинамино-трансфераза; P5CR – пирролин-5-карбоксилатредуктаза; P5CD – пирролин-5-карбоксилатдегидрогеназа

FIG. 1.
Arginine catabolism in vascular cells: NOS – nitric oxide synthase; ARG – arginase; ADC – arginine decarboxylate; AGAT – arginine-glycine amidinotransferase; ASL – argininosuccinate lyase; ASS – argininosuccinate synthetase; GAMT – guanidinoacetate N-methyltransferase; ODC – ornithine decarboxylase; OAT – ornithine aminotransferase; P5CR – pyrroline-5-carboxylate reductase; P5CD – pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase

Следует отметить, что впервые только в 2019–2020 гг. Хейден и Гамбарделла с соавторами [1, 11] показали, что системные проявления в виде ОРДС, наблюдаемые при действии коронавируса 2, можно, в частности, объяснить ЭД при нарушении функций eNO-синтазы. Действительно, ЭД, обнаруженная при МС, гипертонии, СД2, в разной степени наблюдались у пациентов, перенёвших COVID-19 [6]. Другие исследователи позже подтвердили подобную точку зрения [6–8, 12, 13]. Таким образом, основываясь на положительном влиянии аргинина на функцию эндотелия, можно считать, что применение аргинина может быть полезным при ЭД у пациентов с COVID-19, отягчённым МС. В последнее время возрос интерес к терапевтическим эффектам добавок аргинина, особенно при сердечно-сосудистых заболеваниях. Нарушение синтеза NO считается основной особенностью ЭД, но одни исследователи показывают, что добавление аргинина у здоровых людей не приводит к значительному увеличению синтеза NO, а другие наблюдали значительное увеличение концентрации аргинина в плазме [11–13]. Следует отметить, что одной из причин отсутствия существенных результатов в нормальных условиях может быть то, что eNO-синтаза насыщена эндогенным аргинином. Действительно, константа Михаэлиса – Ментен eNO-синтазы составляет 2,9 мкмоль/л [11]. Показано, что уровень аргинина в плазме, измеренный у здоровых людей, в 15–30 раз превышает эту константу, что делает уровень субстрата даже избыточным для ферментативной реакции, приводящей к образованию NO. Несмотря на такое соотношение, которое фактически делает фермент физиологически насыщенным, многие исследования показывают благотворное влияние добавок аргинина у больных и у спортсменов, демонстрируя значительное улучшение физических возможностей [8]. В какой-то мере можно считать, что возникает так называемый «парадокс аргинина». Это явление связано с тем фактом, что, несмотря на превышение константы Михаэлиса – Ментен для eNO-синтазы, всё же возникает нехватка экзогенного аргинина. Один из механизмов, который помогает объяснить этот «парадокс аргинина», связан с открытием эндогенного ингибитора NO-синтазы – асимметричного диметиларгинина (АДМА) [14]. Учитывая его структуру, аналогичную аргинину, АДМА является прямым конкурентом для связывания с NO-синтазой. Более того, и АДМА, и аргинин транспортируются в клетку с помощью высокоаффинного, Na⁺-независимого транспортера катионных аминокислот [14], и, следовательно, они также конкурируют друг с другом на этом уровне. Поскольку АДМА конкурирует с аргинином за eNO-синтазу и за клеточный транспорт, биодоступность NO зависит от баланса между ними [14]. Уровень АДМА в плазме крови повышается при гипертонии, гиперхолестеринемии, диабете и атеросклерозе [14]. Следовательно, несмотря на высокий уровень эндогенного аргинина, его всё же недостаточно, чтобы гарантировать насыщение eNO-синтазы, и это приводит к ингибированию синтеза NO. Отношение аргинин/АДМА считается важным показателем биодоступности NO, а также риска образования атероскле-

ротических бляшек [15]. Добавление аргинина может уравновесить отношение аргинин/АДМА, восстанавливая синтез NO. Другими словами, повышенная доступность аргинина в результате приёма добавок конкурирует с АДМА в связывании eNO-синтазой. Этот механизм проливает свет на эффективность увеличения доступности аргинина, что предполагает дополнительные терапевтические возможности действия аргинина. Кроме того, это явление может объяснить некоторые противоречивые результаты исследований при добавлении аргинина. В частности, пациентам с ССЗ, имеющим повышенный уровень АДМА в плазме, можно рекомендовать использование добавок аргинина. Другое объяснение «парадокса аргинина» может базироваться на локализации аргинина в клетке и его доступности в отношении eNO-синтазы, особенно у пожилых пациентов [16]. Имеется всё же два ограничения использования аргинина: 1) важно знание уровня АДМА, и пациенты с повышенным соотношением АДМА/аргинина являются наиболее подходящей группой; 2) при применении аргинина необходимо учитывать дозу аминокислоты, так как не все дозы приводят к эффективному синтезу NO. Было показано, что хроническое введение перорального аргинина (1,66 г/20 мл аргинина 2 раза) способствует использованию его для синтеза NO. Наиболее благоприятной дозой аргинина является пероральный аргинин дважды в день по 3 г, что улучшало функцию эндотелия у пациентов с МС, гипертонией, и эта доза эффективна для синтеза NO без токсических эффектов [16].

Эндотелиальная NO-синтаза

Функционирование пути «L-аргинин – eNO-синтаза – NO» приводит к синтезу NO, который является сигнальной молекулой межклеточного взаимодействия. NO – газ в клетках млекопитающих из аминокислоты L-аргинина с участием фермента NO-синтазы. Три основные NO-синтазы млекопитающих (EC 1.14.13.39) – это нейрональная (I) и эндотелиальная (III), которые являются конститутивными, и индуцибельная (II) NO-синтаза (nNO-синтаза, eNO-синтаза и iNO-синтаза) [17]. Ферменты экспрессируются тремя разными генами и для активности eNO-синтазы нужен комплекс Ca²⁺/кальмодулин при концентрации цитозольного Ca²⁺ > 100 нМ. Для L-аргинина ED50 составляет около 6 мкМ. Для реакции нужно несколько кофакторов: флавинадениндинуклеотид (ФАД); флавиномононуклеотид (ФМН); тетрагидробиоптерин, никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФН) и комплекс гема. Синтез NO из L-аргинина идёт в два этапа: 1-й этап – процесс монооксигенации требует кислорода и восстановления НАДФН и приводит к образованию O-N-гидроксиаргинина, 2-й этап – его окисление приводит к образованию NO и цитруллина [17].

Известно, что активная eNO-синтаза является гомодимером, на N-конце имеющая оксигеназный домен, а на C-конце – редуктазный домен, сопряжённый с кальцием и кальмодулином. Кроме того, два оксигеназных домена могут взаимодействовать друг с другом, образуя активный гомодимер. Обнаружено, что субъединицы NO-синтаз способны утилизировать уникальную ком-

бинацию из четырёх окислительно-восстановительных факторов, два из которых сопряжены с оксигеназным доменом (гем и 6R-тетрагидриобиптерин – BH₄), два других – с редуктазным доменом (ФАД и ФМН), а в ходе катализа поток электронов от НАДФН направляется сначала к ФАД и затем к ФМН. Кальций, связанный с кальмодулином, позволяет переносить электроны перекрёстно с субъединицы от ФМН к гему, и это существенная степень переноса электронов, дающая возможность переброски кислорода для связи с гемом на NO-синтазе, и таким образом начинается процесс биосинтеза NO [17]. Эндотелиальная NO-синтаза, кроме эндотелиоцитов, была обнаружена во многих органах и также в нейронах. Она активируется комплексом Ca²⁺/кальмодулин, который присоединяется к участку длиной 30 аминокислот, соединяющей оксигеназный и редуктазный домены субъединиц. Период активности eNO-синтазы после стимуляции длится минуты, и она также характеризуется меньшей по сравнению с другими изоформами максимальной скоростью катализа. Например, такие факторы как ацетилхолин и брадикинин активируют фосфоинозитидный сигнальный путь в клетках эндотелия, что приводит к повышению цитоплазматической концентрации Ca²⁺. Вследствие этого происходит активация eNO-синтазы, а образованный NO диффундирует в гладкие мышцы и вызывает их расслабление [3, 4].

NO оказывает важное сосудорасслабляющее, антитромбозное, антиоксидантное, антиадгезивное и антипролиферативное влияние. Недостаточный синтез и освобождение этого медиатора или снижение концентрации L-аргинина может привести к развитию вазоконстрикции, увеличению давления, тенденции к образованию тромбов и выявлению атеросклероза при этом синдроме. Одна из функций NO – он является важным эндогенным вазодилататором, который препятствует слипанию тромбоцитов (адгезии), агрегации и ингибирует пролиферацию гладких мышц сосудов. Эндотелиальная NO-синтаза в сосудах выполняет важные функции, включая регуляцию сосудистого тонуса, поток крови, подавление пролиферации гладких мышц сосудов, модуляцию взаимодействия «лейкоцит – эндотелий» и модуляцию тромбоза. Дефицит eNO-синтазы приводит к целому ряду поражений: гипертонии, увеличению пролиферации гладких мышц сосудов в ответ на повреждение сосудов, увеличению взаимодействия «лейкоцит – эндотелий», гиперкоагуляции и увеличению риска развития вызванного диетой атеросклероза и, как стало известным в настоящее время, к более тяжёлому течению COVID-19 [6–13, 18–20].

Следует напомнить строение сосуда и локализацию в нём eNO-синтазы. Основа наружной части кровеносного сосуда – соединительная ткань, которая стабильна благодаря жёстким коллагеновым волокнам. Затем идёт слой гладкой мускулатуры, стимулируемый симпатическими нервами. Функция этого слоя состоит в регуляции просвета сосуда за счёт сокращения/расслабления сосуда. Следующий слой внутренней оболочки сосуда – интима, которая разделена на гибкую ткань и эндотелий. Эндотелий представляет собой один слой плоских эпи-

телиальных клеток, которые выстилают внутреннюю поверхность всех кровеносных сосудов. В здоровом состоянии эндотелий представляет собой динамичную ткань, составные клетки которой синтезируют и выделяют вещества, влияющие на его собственную функцию и функции соседних структур. Он в основном участвует в регуляции кровотока, свёртывании крови, проницаемости сосудов. Эндотелий, состоящий из чешуйчатого эпителия, охватывает внутреннее пространство сосуда, называемое люменом. Объём и размер люмена, то есть внутреннее пространство сосуда, определяют особенности кровяного потока. Эндотелий формирует границу между кровью, протекающей в люмене, и другими слоями сосуда и играет критическую роль в регуляции кровяного потока, коагуляции, прилипании лейкоцитов и т. д. Рост эндотелия преимущественно стимулируется сосудистым фактором роста эндотелия. Ранее считалось, что основная функция эндотелия – механобарьерная, сейчас же эндотелий рассматривается как сенсор физиологических и патологических стимулов. Когда функция эндотелия нормальна, он защищён от нарушений. При поражении эндотелия возникает ЭД и может развиваться атеросклероз [18, 21]. В эндотелии продуцируются вещества для активации сосудов, включая эндотелин и NO. Кроме того, эндотелий модулирует пролиферацию и повреждение гладкой мускулатуры, что может привести к образованию склеротических бляшек. Эндотелий, согласно современным концепциям о патогенезе атерогенеза, участвует в нарушениях, связанных с окислительным стрессом, воспалением и тромбозом [18]. Следует подчеркнуть, что разные типы сосудов отличаются толщиной каждого из этих четырёх слоёв и размером люмена. Капилляры сформированы только из эндотелия, что облегчает транспорт кислорода и питательных веществ. Артерии имеют толстый слой гладкой мускулатуры, защищающий их от больших перепадов давления. Вены же, наоборот, содержат намного более тонкий слой мускулатуры, поскольку перепады давления в них много меньше. Кроме того, в венах слой соединительной ткани гораздо толще, чем слой гладкой мускулатуры. Так, в процессе вазодилатации гладкая мускулатура расслабляется, а в период вазоконстрикции гладкая мускулатура сосуда сокращается [19]. Слой гладкой мускулатуры присутствует в сосудах млекопитающих и внедрён в среднюю оболочку артерий и некоторых вен. Гомеостатические механизмы приводят к сосудорасширяющему эффекту с участием NO при повышении кровяного давления, что увеличивает люмен сосуда и снижает сопротивление сосуда в 4 раза. Субклеточная локализация eNO-синтазы детектируется при изменении активности фермента. eNO-синтаза в микрососудах локализована в области кавеол (для прямого синтеза NO) и аппарата Гольджи (для образования S-нитротриолов) [22]. Активация кавеолярного и Гольджи-пулов eNO-синтазы посредством фосфорилирования по Ser 1177 eNO-синтазы происходит с участием двух различных механизмов: 1) eNO-синтаза, ассоциированная с кавеолами, более чувствительна к потокам ионов кальция. Учитывая близость фермента к кальциевым потокам, синтезируется большее количество NO

с участием eNO-синтазы, связанной с микрочастицами, образованными тромбоцитами, в кавеолах в зависимости от диаметра сосуда, что оказывает сильное влияние на релаксацию гладких мышц сосуда. 2) eNO-синтаза, ассоциированная с аппаратом Гольджи, чувствительна к фосфорилированию Akt-киназой, что активирует фермент, а образованный оксид азота играет важную роль в S-нитрозилировании белков [22].

Известно, что здоровая сердечно-сосудистая система сильно зависит от нормальной функции эндотелия сосудов. Образование NO в эндотелии осуществляется активным димером eNO-синтазы, ферментом ответственным за кардиососудистый гомеостаз. NO, образованный с участием eNO-синтазы, рассматривался как основной вазодилататор эндотелия, вовлечённый в контроль сокращения сосудов и локальное кровообращение [23]. eNO-синтаза в дополнение к NO может также при определённых неблагоприятных условиях синтезировать супероксидный анион. Этот феномен обозначается как NO-синтазное расщепление, поскольку образование супероксида в основном происходит, когда eNO-синтаза недостаточно взаимодействует с субстратом и кофакторами. Расщепление впервые выявили для нейрональной NO-синтазы, когда содержание L-аргинина было очень низко, но это явление характерно и для эндотелиальной изоформы фермента. Было обнаружено, что при расщеплении eNO-синтазы синтезируется супероксид, что играет критическую роль при МС и ССЗ [21, 22].

РАЗДЕЛ 3. ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ И МЕХАНИЗМ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ ПРИ МС, НАРУШЕНИЕ СИНТЕЗА NO И УЧАСТИЕ АРГИНИНА

ЭД является играет неотъемлемую роль в патологическом механизме развития МС, атеросклероза и COVID-19. Системный характер ЭД приводит к поражению функций и артерий, и вен. При обнаружении ЭД наблюдается снижение способности эндотелиальных клеток выделять релаксирующие факторы, в частности NO, при сохранении или даже увеличении уровня сосудосуживающих факторов [21]. Возникновение и развитие МС и ССЗ включают дислипидемию, непереносимость глюкозы, гиперхолестеринемию, что оказывает непосредственное влияние на эндотелий. Воздействие на сосудистую сеть этих факторов вызывает дисфункцию и изменения эндотелия как раннее явление, способствующее развитию таких заболеваний, как гипертония, атеросклероз и СД2 [21–23]. Нарушение доступности эндотелиального NO в поражённой сосудистой сети может быть связано с уменьшением синтеза NO и с увеличением продукции активных форм кислорода (АФК), что инактивирует eNO-синтазу как источник оксида азота [24]. Стимуляция синтеза NO представляет собой альтернативный и потенциально эффективный подход в дополнение к противодействию окислительному стрессу, например, путём предоставления дополнительного количества аргинина для eNO-синтазы. Теоретически, до-

бавка аргинина удовлетворяет этим потребностям, и, таким образом, она была протестирована при МС и многих ССЗ в качестве потенциальной терапевтической стратегии. Показано, что эндокринные механизмы также могут способствовать расширению сосудов с участием аргинина. Действительно, аргинин стимулирует высвобождение инсулина [25] из островков Лангерганса поджелудочной железы. Было показано, что высокие внутривенные дозы аргинина (30 г) индуцируют гормоны роста и секрецию, вазодилатация, индуцируемая аргинином, также может быть опосредована гормонами роста через сигнальный путь, который включает инсулиноподобный фактор роста-1 [26]. Обнаружено, что ЭД очень часто встречается у пожилых людей. Это нарушение также связано с возрастным снижением когнитивных функций, физических функций, а также с патогенезом инсульта, эректильной дисфункции и почечной дисфункции [27, 28]. Тесно к проблеме старения, МС и COVID-19 примыкает и сопряжённое с МС ожирение. Многие авторы связывают ожирение и МС с осложнениями и смертью от COVID-19 [29]. Эту связь можно объяснить целым рядом особенностей. 1) Обнаружено, что риск инвазивной механической вентиляции у пациентов с COVID-19, МС ожирением или СД2 был более, чем в семь раз выше при индексе массы тела (ИМТ) выше 35 кг/м² по сравнению с пациентами при ИМТ менее 25 кг/м² [29, 30]. 2) МС, ожирение и СД2 в сочетании с COVID-19 являются тромботическими состояниями [31]. 3) Ожирение связано с нарушением иммунной регуляции и хроническим воспалением, которые могут опосредовать прогрессирование органной недостаточности у тяжелых пациентов с COVID-19 [30]. 4) При ожирении обнаруживается дисфункция кардиомиоцитов за счёт локальных биологических эффектов эпикардиальной жировой ткани, поскольку эта ткань – источник адипокинов и воспалительных медиаторов; увеличение объёма эпикардиальной жировой ткани приводит к интенсивной экспрессии ангиотензинпревращающего фермента 2 [31, 32]. Подобные события могут способствовать интернализации вируса в адипоциты и усилению высвобождения фактора некроза опухоли альфа (TNF-α) и интерлейкина-6 (IL-6) [33]. 5) У пациентов с абдоминальным ожирением и СД2 часто обнаруживается неалкогольная жировая болезнь печени и неалкогольный стеатогепатит [34]. Были выявлены повышенные концентрации аспаратаминотрансферазы при МС с ожирением и COVID-19 [34]. 6) Ожирение и диабет характеризуются хроническим воспалением низкой степени интенсивности с повышенными концентрациями лептина и снижением противовоспалительного адипокина – адипонектина. Кроме того, люди с ожирением часто физически мало активны, более устойчивы к инсулину и страдают дисбактериозом кишечника, что может усилить воспалительную реакцию на COVID-19. Более того, люди с ожирением имеют более низкие концентрации витамина D, что также может снизить иммунный ответ. Следует отметить, что обнаружено снижение активности eNO-синтазы в дыхательной и сосудистой системах, как при COVID-19, так и при МС [1, 5, 6, 12, 13]. При заболевании COVID-19 обнаружива-

ются симптомы от обычной простуды до тяжёлой дыхательной недостаточности, такой как ОРДС с полиорганной недостаточностью, как следствие чрезмерного воспалительного процесса. Диффузное воспаление вызывает повреждение ткани лёгких, а также ЭД и нарушения метаболизма NO, что приводит к усилению свёртывания крови и образованию тромбина, вызывая тромботическую микроангиопатию, наблюдаемую у тяжелых пациентов с COVID-19. Основываясь на вышеприведённых сведениях необходимо остановиться на признаках сходства симптомов при заболевании МС, ожирением, СД2 и COVID-19 [26].

Сходные признаки нарушений при COVID-19 и МС/ожирении/СД2

Известно, что МС и СД2 сопровождаются хроническим воспалением, а COVID-19 представляет собой гипервоспалительную реакцию. Может возникнуть синергия между этими воспалительными ситуациями, что приведёт к увеличению нарушений, вызванных воспалением. Кроме того, МС, СД2 и гипертония являются факторами риска развития заболеваний почек. COVID-19 также может привести к повреждению почек, и пациенты с МС, СД2 и гипертонией более восприимчивы к повреждению почек во время заболевания этой инфекцией [1, 5, 8, 26].

Следует подчеркнуть, что нарушения метаболизма NO проявляются в двух процессах: 1) в лёгочных крове-

носных сосудах резко падает активность eNO-синтазы, снижается образование NO, вызывая нарушения функции лёгких и коагулопатию; 2) в то же время повышается активность индуцибельной NO-синтазы, что может быть в начале заболеваний полезно для защиты хозяина, но позднее – вредно, в связи с тем, что избыток NO вызывает дополнительный воспалительный эффект [6, 35–38].

Показано, что снижение синтеза NO с участием eNO-синтазы является основной причиной ЭД, которая приводит к нарушению целостности сосудов [39, 40]. ЭД приводит к сосудосуживающим, воспалительным и тромботическим состояниям с последующей ишемией органов и отёком тканей. Действительно неудивительно, что пациенты с уже существующей ЭД подвергаются более высокому риску неблагоприятных исходов при COVID-19. Ещё важно, что пациенты с недавно диагностированным диабетом, у которых присутствует неконтролируемая гипергликемия, подвергаются гораздо более высокому риску смертности от COVID-19 по сравнению с диабетическими пациентами, которые принимали лекарства для контроля уровня глюкозы [40]. Это можно объяснить тем, что, как известно, высокий уровень глюкозы снижает биодоступность NO в эндотелиальных клетках [41].

Обнаружено, что регуляция уровня и биодоступности NO осуществляется с помощью четырёх сигнальных путей при заболевании COVID-19 (рис. 2).

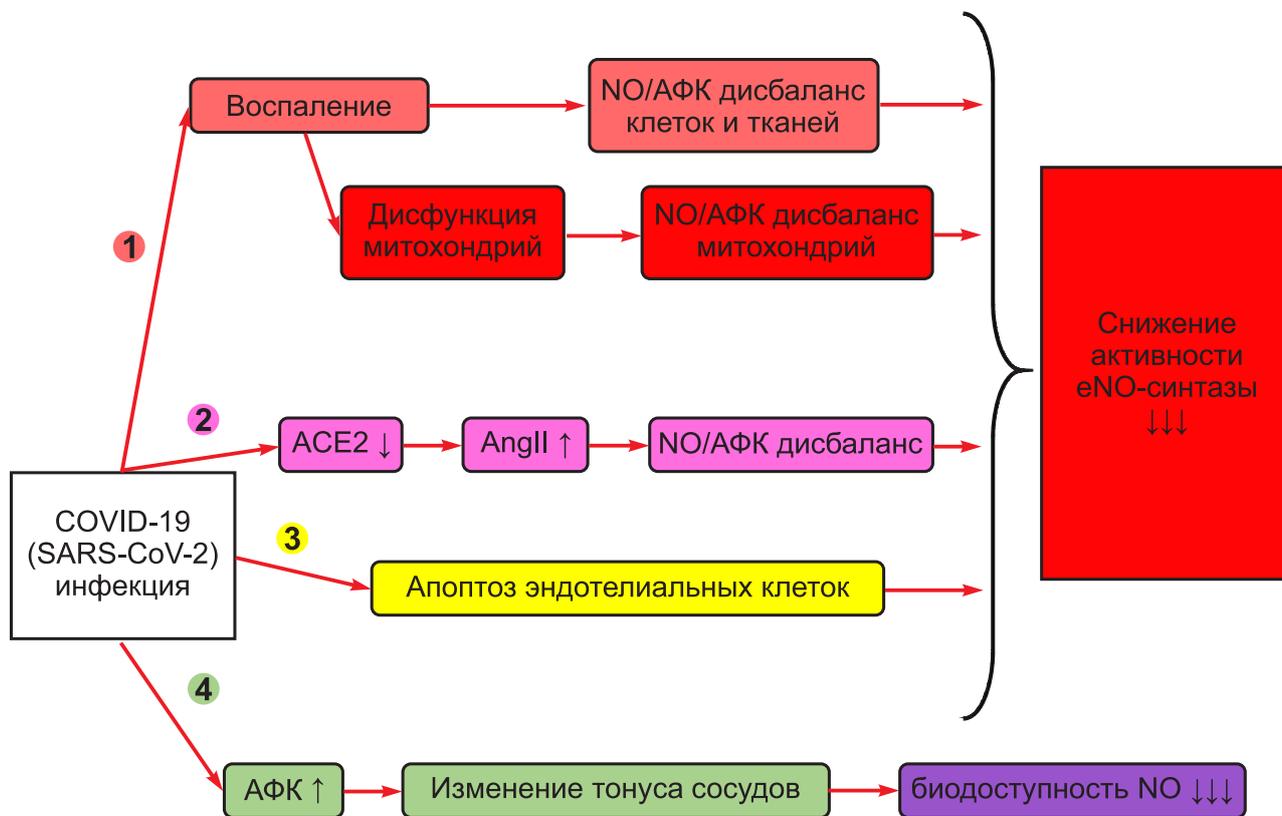


РИС. 2. Регуляция уровня и биодоступности NO с участием четырёх сигнальных путей в этиологии COVID-19 ([13] в модификации)

FIG. 2. Regulation of the level and bioavailability of NO with the participation of four signaling pathways in the etiology of COVID-19 (modified [13])

Первый путь. Воспаление – это реакция иммунной системы человека на вирус. Когда сильное воспаление сохраняется в течение длительного времени, оно вызывает повреждение тканей и приводит к сильному дисбалансу между NO/АФК в организме, что в свою очередь вызывает окислительный стресс. Кроме того, вирусная инфекция часто приводит к увеличению уровня провоспалительных цитокинов и хемокинов и перерастает в цитокиновый шторм. У пациентов с тяжёлой формой COVID-19 было обнаружено большое количество воспалительных цитокинов, включая IL-2, IL-6, IL-10, TNF- α . В то же время наблюдается блокада окислительного фосфорилирования митохондрий и синтеза аденозинтрифосфата. Провоспалительные цитокины способствуют образованию избыточных количеств АФК в митохондриях и приводят к повышению проницаемости мембран и изменению динамики, то есть к дисфункции митохондрий. Митохондрии являются основным источником АФК.

Второй путь. Вирус SARS-CoV-2 проникает в клетки-хозяева за счёт усиления связывания белка гликопротеина-S с ангиотензинпревращающим ферментом 2 (АПФ2), что подавляет его экспрессию. Известно, что АПФ2 участвует в превращении ангиотензина I в пептид ангиотензин II, при этом может наблюдаться дисбаланс NO/АФК, что приводит к снижению активности eNO-синтазы и уровня NO в ходе прогрессии вирусной инфекции.

Третий путь. COVID-19 приводит за счёт прямого инфицирования вирусом к апоптозу эндотелиальных клеток и снижению образования NO с участием eNO-синтазы и образованию избыточного уровня АФК. Апоптоз усугубляет повреждение эндотелия за счёт активации факторов транскрипции, избыточной экспрессии воспалительных цитокинов и молекул адгезии, которые значительно снижают синтез NO.

Четвёртый путь. увеличение АФК изменяет сосудистый тонус за счёт снижения биодоступности NO.

РАЗДЕЛ 4. РАССОПРЯЖЕНИЕ eNO-СИНТАЗЫ

Следует подчеркнуть, что eNO-синтаза синтезирует NO, используя разные пулы аргинина, в том числе и аминокислоту, полученную в результате рециркуляции L-цитруллина с помощью цикла «цитруллин – NO». В этом цикле скоростью-лимитирующим ферментом является аргиносуццинатсинтетазы, которая ограничивает скорость реакций в этом цикле и контролирует уровень NO, образованного eNO-синтазой. Таким образом, низкая доступность L-аргинина для eNO-синтазы, связанная с ОРДС, может также привести к рассопряжению фермента, что вызывает дальнейшее окислительное и клеточное повреждение лёгочного эпителия и эндотелия. Кроме того, рассопряжение eNO-синтазы из-за низкого уровня L-аргинина в местах локализации фермента ухудшает продукцию и биодоступность NO у пациентов с ОРДС, что вызывает сужение сосудов и может привести к артериальному и венозному тромбозу [1, 2, 6]. Следует подчеркнуть, что в физиологических условиях NO, выра-

батываемый eNO-синтазой в интактном эндотелии, высвобождается и участвует в продолжении сигнального пути «NO – растворимая гуанилатциклаза – циклический гуанозинмонофосфат (цГМФ) – цГМФ-зависимая протеинкиназа», что приводит к расширению сосудов, ингибирует адгезию и агрегацию тромбоцитов и предотвращает пролиферацию гладкомышечных клеток, препятствуя образованию тромбов (рис. 3) [1, 6, 42].

Учитывая, что eNO-синтаза практически не функционирует у пациентов с ЭД кровеносных сосудов при рассопряжении фермента, многие исследователи пытаются использовать вдыхаемый NO в качестве терапевтического средства для замены эндогенного аргинина у пациентов с лёгочными осложнениями, включая ОРДС. Поскольку вдыхаемый NO действует избирательно, вызывая расширение сосудов только в тех областях лёгких, где вентиляция не нарушена, он может временно улучшить состояние. Сочетание МС и COVID-19 резко усиливает ЭД [6–12, 42]. Следует учитывать, что, как при МС, так и при COVID-19, очень важен контроль гликемии. МС представляет собой совокупность метаболических нарушений, при которых лёгкие являются особо поражаемым органом после заражения COVID-19. При МС, как и при COVID-19, обнаруживается в первую очередь ЭД и рассопряжение eNO-синтазы. Это приводит к нарушению лёгочной вазоконстрикции, изменению паренхимы лёгких, коагулопатии. Наряду с ЭД и рассопряжением eNO-синтазы в тяжёлых случаях наблюдается увеличение активности индуцибельной NO-синтазы, что ведёт к генерации реактивных видов кислорода и сильному воспалению лёгких [6].

Следует отметить, что в нормальном состоянии образование NO – это жёстко регулируемый процесс, а при патологии процесс не регулируется, что приводит к образованию АФК. Избыточное количество АФК, вырабатываемых эндотелием, а также лейкоцитами, играет важную роль в прогрессировании ОРДС и повреждении лёгких. АФК положительно регулируют экспрессию воспалительных цитокинов и молекул адгезии, вызывая ЭД, наряду с увеличением окислительного стресса в тканях лёгких и дыхательных путях. На протяжении всего процесса ОРДС клетки лёгких выделяют большое количество воспалительных факторов, которые увеличивают синтез индуцибельной NO-синтазы альвеолярными макрофагами, нейтрофилами и бронхиальным эпителием, обеспечивая обильное количество NO, высвобождаемого в ткани лёгких. Более того, стресс дыхательных путей может вызвать бронхиальную обструкцию и усугубить воспаление у пациентов с ОРДС, дополнительно побуждая ткани лёгких вырабатывать NO [6, 39]. Избыток NO приводит к повреждению компонентов клеток при взаимодействии с супероксидом и способствует образованию пероксинитрита, который может нитрировать и окислять белки, липиды и нуклеотиды. В случае повышения уровня NO в плазме реакция между NO и супероксидом с образованием пероксинитрита становится очень быстрой, и скорость его образования примерно в три раза превышает скорость разложения супероксида супероксиддисмутазой. Избыточное образование пероксинитрита может привести к ингибированию митохондриального

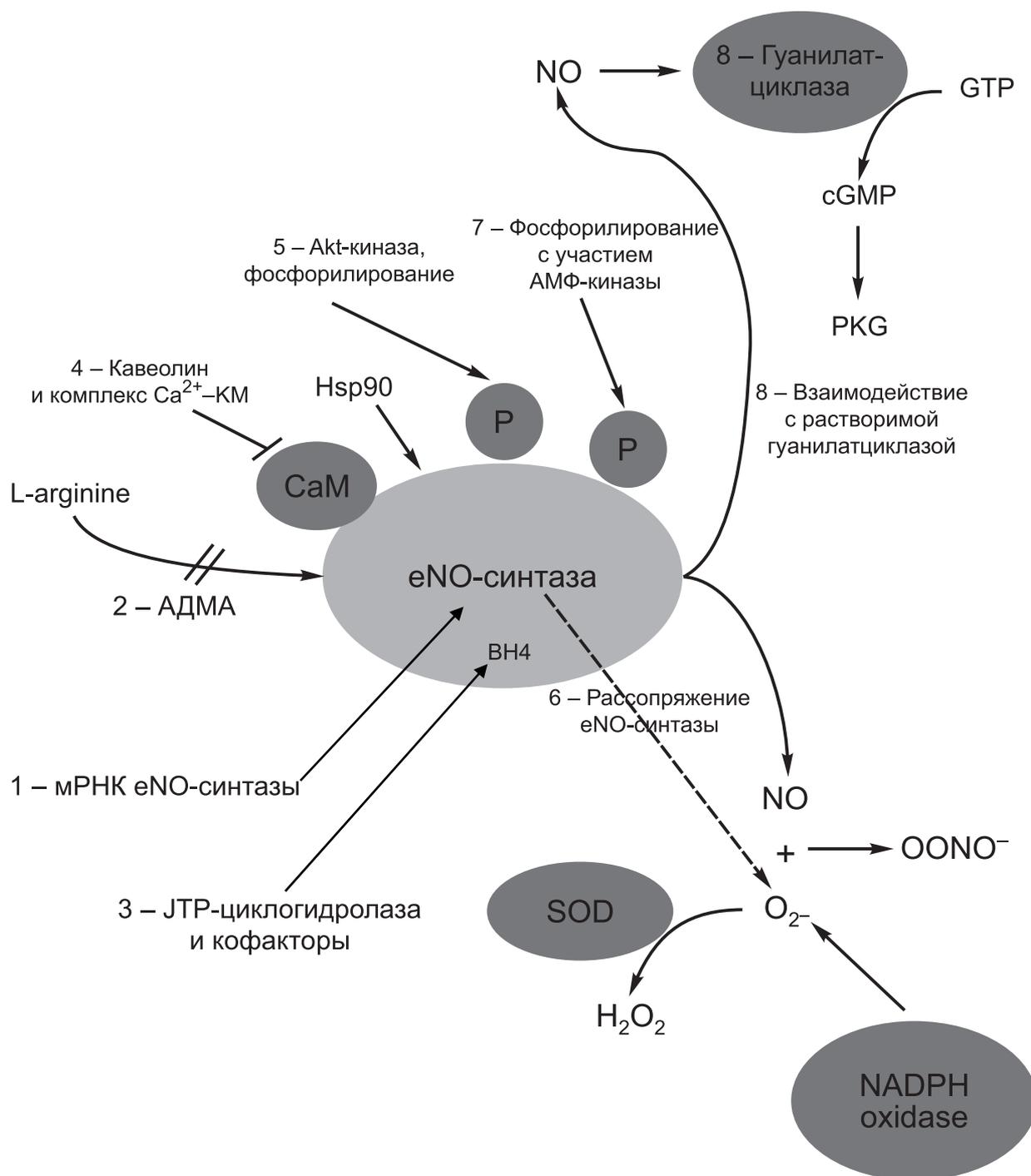


РИС. 3.

Пути регуляции сигнального каскада «L-аргинин – eNO-синтаза – NO», экспрессии и активности eNO-синтазы: 1 – экспрессия мРНК eNO-синтазы; 2 – влияние асимметричного диметиларгинина; 3 – синтез тетрагидробиоптерина; 4 – кавеолин, влияющий на комплекс «Ca²⁺/кальмодулин»; 5 – фосфорилирование Akt-киназой и стимуляция eNO-синтазы; 6 – рассопряжение eNO-синтазы; 7 – фосфорилирование eNO-синтазы с участием АМФ-киназы; 8 – влияние NO на цитозольную гуанилатциклазу, образование циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ) и его действие на цГМФ-зависимую протеинкиназу; АДМА – асимметричный диметиларгинин; BH₄ – тетрагидробиоптерин; SOD – супероксиддисмутаза; NADPH oxidase – никотинамид адениндинуклеотидфосфат оксидаза; NO – оксид азота; eNO-синтаза – эндотелиальная синтаза оксида азота

FIG. 3.

The regulation of the signal cascade of “L-arginine – eNO synthase – NO”, expression and activity of eNO synthase: 1 – eNO synthase mRNA expression; 2 – influence of asymmetric dimethylarginine; 3 – synthesis of tetrahydrobiopterin; 4 – caveolin, affecting the Ca²⁺/calmodulin complex; 5 – phosphorylation by Akt kinase and stimulation of eNO synthase; 6 – disjunction of eNO synthase; 7 – phosphorylation of eNO synthase with the participation of AMP kinase; 8 – effect of NO on cytosolic guanylate cyclase, formation of cyclic guanosine monophosphate (cGMP) and its effect on cGMP-dependent protein kinase; ADMA – asymmetric dimethylarginine; BH₄ – tetrahydrobiopterin; SOD – superoxide dismutase; NADPH oxidase – nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase; NO – nitric oxide; eNO synthase – endothelial nitric oxide synthase

дыхания, истощению клеточной энергии, повреждению клеточных мембран и ДНК. NO-опосредованный окислительный стресс является важным фактором в патогенезе повреждения лёгких. Высокие уровни NO, представленные увеличением его стабильных метаболитов, нитратов и нитритов, могут усиливать перекисное окисление липидов, вызывать некроз и усугублять воспаление [19, 20, 24, 27]. В клиническом исследовании сообщалось о высоких концентрациях метаболитов NO, нитратов и нитритов в бронхоальвеолярной жидкости не только у пациентов с ОРДС, но и у пациентов с риском развития ОРДС. Диффузное воспаление в лёгочной ткани стимулирует фенотипические изменения в эндотелиальных клетках кровеносных сосудов из-за повреждения и повышенной активности аргиназы, снижая доступность L-аргинина, что приводит к расслаблению eNO-синтазы и способствует ЭД. Нарушение метаболизма NO тесно связано с развитием ОРДС у пациентов с COVID-19. Образование NO с участием eNO-синтазы нарушается, вызывая изменения во всём организме, особенно в паренхиме лёгких и сосудов. С другой стороны, в борьбе с вирусом увеличивается образование NO с участием индуцибельной NO-синтазы, что может привести к повреждению лёгких. Вдыхаемый NO использовался у пациентов с ОРДС в попытке смягчить физиологические изменения лёгких, вызванные отключением eNO-синтазы, что даёт только временный эффект, а возможное окислительное токсическое повреждение может ослаблять применение этой терапии. Предлагается исследовать методы лечения, которые способствуют образованию NO метаболическим способом. Молекулы, которые положительно модулируют активность аргининсукцинат-синтазы, ключевого фермента в метаболизме аргинина, увеличили бы синтез аргинина, что привело бы к восстановлению активности eNO-синтазы и образованию NO [1, 6–11, 42].

Диффузное воспаление вызывает повреждение ткани лёгких, а также нарушения метаболизма NO и эндотелиальную дисфункцию, что приводит к усилению свёртывания крови и образованию тромбина, вызывая тромбоз и тромбоэмболию лёгочной артерии, наблюдаемой у тяжёлых пациентов с COVID-19. Избыточное образование пероксинитрита может привести к ингибированию митохондриального дыхания, истощению клеточной энергии, повреждению клеточных мембран и ДНК. NO-опосредованный окислительный стресс является важным фактором в патогенезе повреждения лёгких [39, 40].

РАЗДЕЛ 5. АКТИВНОСТЬ eNO-СИНТАЗЫ И ВЛИЯНИЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ ЕЁ РАЗНЫМИ КИНАЗАМИ

Важной мишенью в молекуле eNO-синтазы являются разные сериновые и треониновые аминокислотные остатки, которые могут фосфорилироваться и преимущественно активироваться [43, 44]. Важной интегрирующей точкой фосфорилирования является серин-1177 (Ser-1177), являющийся критическим регулятором ак-

тивности фермента [45]. Эксперименты показали, что активация eNO-синтазы путём фосфорилирования по Ser-1177 у человека чаще всего опосредуется путём ФИ-3-К/ Akt (ФИ-3-К – фосфоинозитид-3-киназа). Это фосфорилирование приводит к увеличению потока электронов на редуктазный домен фермента и снижает диссоциацию кальмодулина, в результате eNO-синтаза активируется, и образуется больше NO [45]. Имеется целый ряд доказательств важности фосфорилирования по Ser-1177 фермента и его критической связи между метаболизмом и дисфункцией сосудов. Это фосфорилирование eNO-синтазы, в основном, осуществляется двумя киназами – Akt-киназой или AMF-киназой, но этот остаток могут фосфорилировать и активировать и другие киназы (протеинкиназа А, протеинкиназа G, протеинкиназа С) [46, 47]. Наряду с Ser-1177, у этого фермента имеется ещё 6 точек фосфорилирования – Y81, S114, T495, S615, S633 и Y657. В результате их фосфорилирования может возникать либо стимуляция активности фермента или его ингибирование. Остатки Y81, S615, S633 и S1177 были определены как стимулирующие для активности eNO-синтазы, в то время как фосфорилированные остатки S114, T495 и Y657 считаются ингибирующими. Src-киназа преобладающе фосфорилирует Y81, увеличивая активность eNO-синтазы и уровень образования NO. Протеинкиназа А и AMF-киназа преимущественно фосфорилируют S615 и S633, стимулируя активность фермента. Фосфорилирование Ser-114 ингибирует активность фермента, оно увеличивается в условиях теплового стресса и осуществляется ERK, а в фосфорилировании Y495 участвуют AMF-киназа, ROCK и протеинкиназа С. Кроме того, фосфорилирование eNO-синтазы могут увеличивать такие медиаторы как эстрогены, инсулин, инсулиноподобный фактор роста 1, фактор роста эндотелия сосудов, лептин, активируя этот каскад с участием Akt [46–48], в то время как адипонектин и резистин модулируют фосфорилирование по Ser-1177 с участием AMF-киназы [49]. Следует отметить, что участие нескольких сигнальных путей в этом процессе за счёт фосфорилирования с участием разных протеинкиназ, определяемое как модуляция активности eNO-синтазы посредством влияния на Ser-1177, может быть примером точки интеграции, связанной с ЭД в различных вариантах (см. рис. 4). Фосфорилированная по Ser-1177 eNO-синтаза обеспечивает увеличение сосудистой реактивности, высокий уровень NO в сосудах и защитный эффект на пролиферацию гладких мышц сосудов, взаимодействие «лейкоцит – эндотелий» и агрегацию тромбоцитов. В то же время инсулиновая резистентность приводит к ЭД за счёт снижения активности Akt-киназы, ухудшения фосфорилирования ею eNO-синтазы и падения активности синтазы. Для фосфорилирования по серину-1177 eNO-синтазы требуется влияние инсулина, а недостаток фосфорилирования приводит к снижению потока крови в скелетные мышцы [50, 51]. В дополнение к вышесказанному инсулин при инсулиновой резистентности становится не способен влиять на экспрессию эндотелина-1 и митогенные эффекты. Следует подчеркнуть, что eNO-синтаза, фосфорилированная по Ser-

1177, является критической ступенью в регуляции активности фермента [46, 48, 50] (рис. 4).

Фосфорилирование треонина-495 eNO-синтазы в кальмодулин-связывающем домене фермента, по видимому, конститутивно присутствует в эндотелиальных клетках. Треонин-495 является отрицательным регуляторным сайтом, а его фосфорилирование, вероятно, осуществляется протеинкиназой С и связано со снижением активности eNO-синтазы, тогда как дефосфорилирование фосфатазой-1 стимулирует активность фермента [50]. В то же время было обнаружено снижение синтеза NO в ответ на стимуляцию β -адренорецепторов в связи с тем, что ангиотензин II специфически активирует миокардиальную eNO-синтазу при увеличении фосфорилирования Ser-1177 или Ser-663 [44]. Эндотелиальный NO, образованный eNO-синтазой, снижает чувствительность миофиламента к ионам кальция, что ингибирует потребление кислорода миокардом и регулирует внутриклеточный уровень циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) и, следовательно, β -адренергические реакции путём модуляции активности цАМФ-зависимой фосфодиэстеразы. Активность eNO-синтазы регулируется целым рядом протеинкиназ, а изменения в фосфорилировании фермента могут играть важную роль в регуляции дисфункции активности eNO-синтазы в больном сердце [50].

В физиологических условиях эндотелиальные клетки кровеносных сосудов синтезируют NO, который диффундирует в гладкомышечный слой и способствует расслаблению и расширению сосудов посредством физиологической активации NO-чувствительной гуанилилциклазы, образующей цГМФ из ГТФ. цГМФ играет ключевую роль в поддержании физиологического гомеостаза тканей, регулируя активность различных нижележащих мишеней, таких как цГМФ-регулируемые ионные каналы, цГМФ-зависимые фосфодиэстеразы и цГМФ-зависимая протеинкиназа (протеинкиназа G). Протеинкиназа, зависящая от цГМФ, фосфорилирует фосфатазу лёгкой цепи миозина, которая в свою очередь дефосфорилирует регуляторную лёгкую цепь миозина, способствуя расслаблению. цГМФ также снижает концентрацию Ca^{2+} в цитозоле, ингибируя активность Ca^{2+} /кальмодулин-зависимой протеинкиназы, киназы лёгкой цепи миозина, предотвращая, таким образом, фосфорилирование регуляторной лёгкой цепи миозина и способствуя расслаблению гладкой мускулатуры [51].

Интересны исследования на животных моделях со сниженным количеством и даже неспособностью синтезировать NO в эндотелии. Эти модели могут имитировать заболевание и тестировать терапевтические подходы, которые будут пополнять биоактивный NO и восстанавливать передачу сигналов, опосредованную NO. Было показано, что мыши, лишённые eNO-синтазы, страдали гипертонией, гиперлипидемией, инсулиновой резистентностью и обнаруживали возрастное увеличение ожирения и массы тела. Отсутствие eNO-синтазы при СД2 не ограничивается дисфункцией аорты, но также распространяется на почечную сосудистую сеть и энергетический профиль скелетных мышц. Мыши с мутацией

по Ser-1176A в eNO-синтазе не способны увеличивать биосинтез NO посредством АМФК-зависимого фосфорилирования. У этих мышей развивается инсулиновая резистентность и гипоплидемия, и они демонстрируют повышенную массу тела при диете с высоким содержанием жиров. В совокупности мыши с «уменьшенной способностью генерировать NO, полученный из eNO-синтазы», демонстрируют специфические для органов метаболические нарушения, включая несколько признаков МС. Таким образом, исследования на этих мышах имеют непосредственное отношение к заболеваниям человека и способствуют пониманию механизмов болезни [50]. В то же время было показано, что сверхэкспрессия гена eNO-синтазы у человека снижает чувствительность к ожирению, вызванному диетой, и гиперинсулинемию за счёт метаболических изменений, происходящих в жировой ткани [49–51].

РАЗДЕЛ 6. УЧАСТИЕ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ «L-АРГИНИН – eNO-СИНТАЗА – NO» В ПЕРЕДАЧЕ ИНСУЛИНОВОГО СИГНАЛА ПРИ COVID-19 И МС

Инсулиновый сигнал в норме приводит к поглощению глюкозы мышцами и жировой тканью, подавлению глюконеогенеза печенью и расслаблению сосудов при увеличении активности eNO-синтазы. Инсулин влияет в следующей последовательности: связывание инсулина с рецептором при активации тирозинкиназы этого рецептора; затем фосфорилирование по тирозину субстратов инсулинового рецептора-1 (ИРС-1) или Shc; и, наконец, фосфорилирование приводит к активации двух параллельных путей: каскада ФИ-3K/Akt и Ras/Raf/MAP-киназного пути (рис. 4) [48, 52–54]. Каскад ФИ-3K/Akt функционирует за счёт фосфорилирования с участием Akt-киназы по Ser-1177 eNO-синтазы, которая активируется и продуцирует дополнительное количество NO, что приводит к вазодилатации. В скелетных мышцах и жировой ткани Akt-киназа стимулирует экспрессию транспортёра глюкозы GLUT4 и усиливает поглощение глюкозы. Фосфорилирование Shc-киназой приводит к активации Ras/Raf/MAP-киназного пути, приводя к митогенным влияниям и увеличивая экспрессию эндотелина-1 [55, 56]. Описанные события сопровождаются инсулиновой резистентностью, определяемой как сниженная чувствительность периферических тканей к действию инсулина. Инсулиновая резистентность нарушает баланс между двумя путями инсулинового сигналинга. Особенно это проявляется на ФИ-3K-каскаде и приводит к снижению активности eNO-синтазы и падению уровня NO и ухудшению расслабления сосудов, вызванное инсулином [48]. В периферических тканях инсулиновая резистентность приводит к снижению поглощения глюкозы мышцами и жировой тканью и регуляции транслокации GLUT4 [55, 56]. В то же время функционирование Ras/Raf/MAP-киназного пути сохраняется при инсулиновой резистентности [48]. Таким образом, образование эндотелина-1 и выявление митогенных эффектов присутству-

ет и вносит дополнительный вклад в развитие инсулиновой резистентности. Действительно, обнаруживаются сложные отношения между ЭД и инсулиновой резистентностью. Метаболические нарушения, сопровождающие МС, ожирение и СД2, включают инсулиновую резистентность и висцеральное ожирение. Оба эти события вызывают ЭД и, как результат, приводят к развитию атеросклероза [48, 53, 57]. Кроме того, ЭД, и особенно дефицит NO в эндотелии, также ведёт к инсулиновой резистентности [56], а инсулиновая резистентность в свою очередь вызывает дислипидемию и висцеральное ожирение и МС. ЭД и инсулиновая резистентность, опосредуемая через ФИ-3К-путь, приводит к снижению потока крови и пополнения капилляров и, следовательно, к снижению поступления субстратов и инсулина, а при добавлении ещё висцерального ожирения ухудшается биогенез митохондрий (рис. 4) [50, 57, 58].

Каскад ФИ-3К/Акт функционирует за счёт фосфорилирования с участием Akt-киназы по Ser-1177 eNO-синтазы, которая активируется и продуцирует дополнительное количество NO, что приводит к вазодилатации

[26]. В скелетных мышцах и жировой ткани Akt-киназа стимулирует экспрессию транспортера глюкозы GLUT4 и усиливает поглощение глюкозы [53, 54].

Следует отметить, что ЭД и инсулиновая резистентность тесно связаны и в сочетании часто приводят к МС и кардиоваскулярной патологии. Однако связь между ними не чётко определена к настоящему времени. В литературе присутствуют две точки зрения. Одни авторы считают, что первична инсулиновая резистентность, поскольку её последствием является гипергликемия, артериальная гипертензия, дислипидемия, а ЭД вторична по отношению к инсулиновой резистентности и является следствием ЭД [21]. Другие авторы утверждают, что ЭД является причиной развития инсулиновой резистентности, а не следствием связанных с ней состояний, что мешает попаданию инсулина в межклеточное пространство. В этой связи выявлена существенная роль eNO-синтазы как в ЭД, так и при инсулиновой резистентности, что приводит к формированию МС [19, 21]. Основными факторами, участвующими в эндотелиальной дисфункции при МС, являются снижение биодоступ-

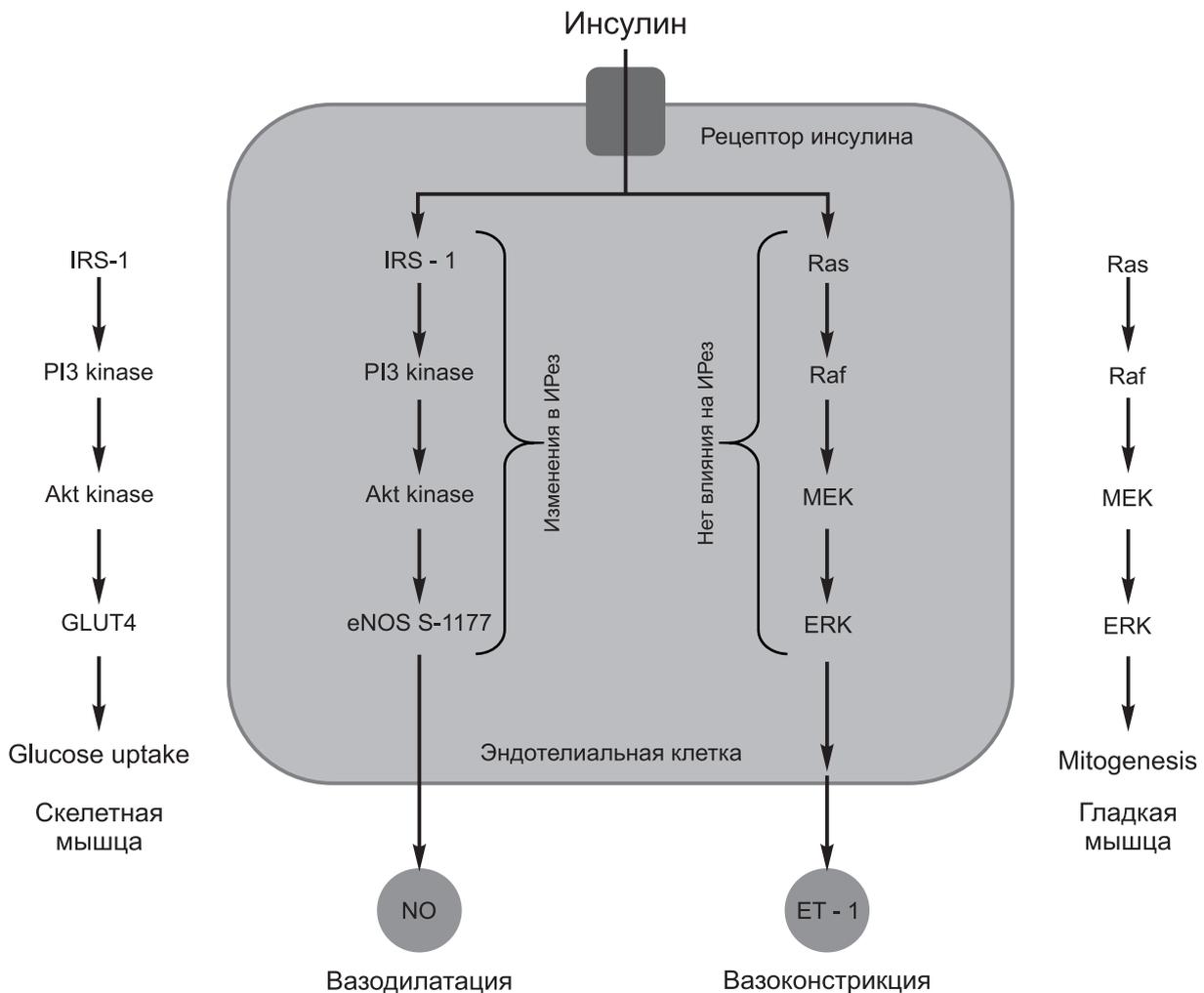


РИС. 4.
Влияние инсулина на изменение инсулиновой резистентности в эндотелиальной клетке и метаболизм скелетных и гладких мышц

FIG. 4.
The effect of insulin on changes in insulin resistance in the endothelial cell and the metabolism of skeletal and smooth muscles

ности NO и воспаление, связанное с жировой тканью. Другие факторы, способствующие ЭД, включают снижение биодоступности тетрагидробиоптерина (BH4) и повышенное расслабление eNO-синтазы, повышенную продукцию АФК и увеличение активности аргиназы, повышенное гликирование, увеличение асимметричного диметиларгинина, фенотипические изменения в периваскулярной жировой ткани, приводящие к умеренному воспалению и повышению уровня лептина с последующим снижением секреции адипонектина [49, 58–60]. Инсулиновая резистентность нарушает баланс между двумя регуляторными путями инсулинового сигналинга. Особенно это сказывается на ФИ-3К-каскаде и приводит к снижению активности eNO-синтазы и падению уровня NO и ухудшению расслабления сосудов, вызванного инсулином [53, 54, 56].

РАЗДЕЛ 7. ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА eNO-СИНТАЗЫ НА COVID-19 И МС

Следует подчеркнуть, что в ряде работ освещены современные взгляды на роль генетических факторов в развитии COVID-19 и МС и представлена роль гена eNO-синтазы в патогенезе этих патологий. В настоящее время накоплен солидный объём данных о связи полиморфизма гена eNO-синтазы с МС и ССЗ, и появились сведения о его влиянии на течение заболевания COVID-19 [61–64]. Учитывая, что при COVID-19 часто выявляется поражение сосудов и лёгких, в этом случае на первый план выходит eNO-синтаза и образованный ей NO, так как представляет собой важный механизм защиты эндотелия и для предотвращения лёгочной гипертензии [63]. Показано, что NO является важным ингибитором репликации ДНК и РНК-вирусов, входит в число факторов вирусной защиты [61–64]. Следует ещё отметить, что уровень NO уменьшается в организме с возрастом, что играет важную роль в поражении COVID-19 пожилых пациентов. Действительно, один из генов, обеспечивающих высокий генетический риск развития МС, это ген eNO-синтазы. В настоящее время известно более 100 полиморфных вариантов этой синтазы, и наиболее исследованными являются 4 полиморфизма: С774Т – в 6-м экзоне этой синтазы; Т-786С – в промоторе; переменное число tandemных повторов – в 4-м интроне; и Glu298Asp – в 7-м экзоне [61]. Подробнее всего изучены такие варианты полиморфизма eNO-синтазы: 4b/a, Glu298Asp и -786ТС. Наиболее изученный вариант аллельного полиморфизма eNO-синтазы – tandemные повторы в 4-м интроне (4b/a). Особенность аллеля 4b состоит в том, что он включает 5 повторов (по 27 пар оснований), а некоторые варианты имеют делецию одной из трёх первых пар оснований как 4a. Аллель 4b eNO-синтазы встречается значительно чаще, чем аллель 4a. В работе выявлен повышенный риск развития ИБС у пациентов гомозиготных по аллелю 4a 4-го интрона в сравнении с носителями аллеля 4b, в то же время в другом исследовании при анализе литературы не найдено связи полиморфизма eNO-синтазы с ИБС [61], следовательно, этот вопрос требует дальнейшего изучения.

В результате других исследований было показано, что у больных МС по сравнению со здоровыми выявлены достоверные отличия в отношении распределения генотипов С774Т. У пациентов с МС реже встречались гомозиготы по аллелю С, а частота генотипа СТ у больных МС была выше. Таким образом аллель Т и генотип СТ полиморфизма С774Т гена eNO-синтазы ассоциированы с повышенным риском развития МС в отличие от аллеля С и гомозиготного генотипа СС, сопряжённого со сниженным риском развития МС. Кроме того, у больных с генотипом СТ уровень белка eNO-синтазы и её активность в сыворотке крови были выше, чем у генотипа здоровых доноров. Наряду с вышеприведёнными сведениями в литературе часто встречаются сведения, свидетельствующие об ассоциативной связи некоторых факторов риска МС, именно таких его компонентов, как абдоминальное ожирение, артериальная гипертензия и дислипидемия. Предполагается, что патогенетический механизм обусловлен хроническим воспалением при МС, который вызывает жировая ткань [61]. Следует отметить, что две основные особенности МС – инсулиновая резистентность и висцеральное ожирение – способствуют снижению биодоступности NO. Эти данные свидетельствуют о том, что полиморфизм С774Т гена eNO-синтазы участвует в патогенезе ЭД при МС. Имеется ряд работ [62, 63], в которых с МС ассоциируют полиморфизмом гена eNO-синтазы в области ещё одного аллеля G894Т. Обнаруженный полиморфизм гена eNO-синтазы в положении G894Т выявляет генетическую чувствительность при развитии МС и эректильной дисфункции [61]. Полиморфизмы гена eNO-синтазы Glu298Asp – G894Т и G786Т>С – также были проанализированы. Полиморфизм Glu298Asp в 7-м экзоне одни учёные связывают с низким уровнем NO и уменьшением реактивности сосудов, а некоторые исследователи связывают со снижением ферментативной активности eNO-синтазы и снижением продукции NO. Установлено, что полиморфизм G894Т гена eNO-синтазы является фактором риска развития коронарного атеросклероза и артериальной гипертензии, который был выше у гомозигот СС по сравнению с гомозиготами ТТ [62].

Учитывая критическую роль eNO-синтазы в автономной защите клеток от SARS-CoV-2, полиморфизмы eNO-синтазы могут быть напрямую связаны с тяжестью развития COVID-19. Некоторые из полиморфизмов eNO-синтазы, такие как промоторный однонуклеотидный полиморфизм (SNPs) G786Т>С (rs2070744), полиморфизм Glu298Asp в 7-м экзоне (rs1799983) и переменное число tandemных повторов в 4-м интроне (4b/4a), считаются функциональными, потому что они влияют на экспрессию eNO-синтазы или на уровень синтеза NO [23]. Поскольку нарушение синтеза эндогенного NO в значительной степени связано с различными заболеваниями, во многих исследованиях оценивались клинические последствия полиморфизмов eNO-синтазы, как по отдельности, так и в сочетании [23, 64, 65]. Хотя была обнаружена связь отдельных полиморфизмов eNO-синтазы с различными заболеваниями, но результаты часто противоречивы [65, 66]. Эти расхождения могут быть связаны

с анализом отдельных генетических полиморфизмов, которые игнорируют взаимодействия между другими полиморфизмами в пределах этого фермента [67, 68]. С точки зрения анализа гаплотипов, гаплотип WT, который объединяет варианты дикого типа для всех трёх полиморфизмов (T-4b-Glu), является наиболее распространённым гаплотипом, обнаруженным во всех изученных популяциях и был наименее связан со всеми исследованными заболеваниями [67, 68]. На самом деле, это связано с защитным фенотипом. Тем не менее, существует заметное неравенство в распределении гаплотипов WT между различными этническими группами, причём частота гаплотипа WT у азиатов была намного выше, чем у всех других этнических групп. Эти результаты могут частично объяснить более низкую частоту сердечно-сосудистых заболеваний у азиатов [67, 68]. В то время как заболеваемость и смертность COVID-19 зависят от возраста, конкретных ранее существовавших состояний здоровья и давних дискриминационных социальных и исторических факторов, нельзя сбрасывать со счетов вклад основных биологических факторов во время пандемии, поскольку во многих странах наблюдаются различия в показателях здоровья в зависимости от этнической принадлежности. Недавнее исследование глобальных клинических характеристик и смертности от COVID-19 показало, что госпитальная смертность была значительно выше в Америке и Европе, чем в Азии [68, 69].

РАЗДЕЛ 8. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей статье показано, что нарушение функций eNO-синтазы и NO тесно связано с развитием ОРДС у пациентов с COVID-19 и особенно при наличии МС. Резкое снижение образования NO с участием eNO-синтазы вызывает нарушения в эпителии и эндотелии, что повышает риск развития тяжелых заболеваний в организме, особенно в паренхиме лёгких и сосудистом русле и приводит к развитию тяжёлых осложнений. Обнаружено, что при заболевании COVID-19, МС и СД2 наблюдаются сходные метаболические нарушения, которые поражают пожилых и старых пациентов, то есть это в большой степени возрастные заболевания. Кроме того, у больных МС, СД2 и гипертонией наблюдается ЭД, приводящая к повреждению поверхностного слоя эндотелия. Как при COVID-19, так и при МС, СД2 и ССЗ выявляется много факторов нарушения метаболизма. К ним можно отнести повышенное содержание глюкозы крови и гликированного гемоглобина, возрастание С-реактивного белка, избыток натрия и мочевой кислоты, фактора некроза опухоли альфа, интерлейкина-1 β , железа, гепаринидазы и гиалуронидазы [68]. Нарушения метаболизма NO вызывают ЭД в лёгочных кровеносных сосудах, где снижается экспрессия и активность eNO-синтазы, падает уровень образования NO, что приводит к нарушениям функции лёгких и коагулопатии [69].

Представленные данные убедительно свидетельствуют о том, что прогрессированию COVID-19 может препятствовать сильная система клеточной защиты эндотелия посредством индукции NO с участием eNO-синтазы.

Эти данные дают возможность предложить терапию повышения уровня эндотелиального NO в качестве средства для лечения пациентов средней и тяжёлой степени, особенно пожилых пациентов с низким уровнем NO в эндотелии, с помощью препаратов, которые регулируют биодоступность NO, таких как анионы нитрита, агонист оксида азота (миноксидил), стероидные гормоны (дегидроэпиандростерон и эстроген), ингибиторы редуктазы HMG-CoA (статины), ресвератрол, метформин и фолиевая кислота [70]. Однако необходимы дальнейшие исследования, чтобы укрепить мнение о том, что активность eNO-синтазы и уровень NO могут обеспечить защиту от COVID-19, и требуются клинические испытания при разработке стратегий лечения, повышающих уровни NO в эндотелии.

Пандемия COVID-19 привела к потребности в эффективных средствах, которые могут замедлить развитие болезни. В этой связи продолжается разработка как вакцин, так и целевых лекарств при изучении патофизиологии инфекции в поиске точек возможного вмешательства. Учитывая сильную иммунную реакцию и неконтролируемое воспаление, которые лежат в основе COVID-19 и МС, показано, что NO продемонстрировал обещающие результаты в модуляции воспаления при этих заболеваниях. Терапия NO, используемая на оптимальной стадии инфекции, может стать доступным и убедительным вариантом при лечении пациентов с COVID-19.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена в рамках государственного задания ИЭФБ РАН № 075-0152-22-00.

Выражение признательности

Авторы благодарят Маслова Андрея Сергеевича за помощь в оформлении рисунков.

Стратегия поиска и выбора

Данные для этого обзора были определены путём поиска в MEDLINE, PubMed, и ссылок на статьи с использованием поисковых терминов «оксид азота – NO», метаболический синдром (МС), ОРДС, и COVID-19. Были включены статьи, опубликованные на английском и русском языке в период с 2000 по 2021 г.

ЛИТЕРАТУРА

- Hayden MR. Endothelial activation and dysfunction in metabolic syndrome, type 2 diabetes and coronavirus disease 2019. *J Int Med Res.* 2020; 48(7): 0300060520939746. doi: 10.1177/0300060520939746
- Hedenstierna G, Chen L, Hedenstierna M, Lieberman R, Fine DH. Nitric oxide dosed in short bursts at high concentrations may protect against Covid 19. *Nitric Oxide.* 2020; 103: 1-3. doi: 10.1016/j.niox.2020.06.005

3. Assumpção CR, Brunini TM, Pereira NR, Godoy-Matos AF, Siqueira MA, Mann GE, et al. Insulin resistance in obesity and metabolic syndrome: Is there a connection with platelet L-arginine transport? *Blood Cells Mol Dis*. 2011; 45(4): 338-342. doi: 10.1016/j.bcmd.2010.10.003
4. Huang PL. eNOS, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Trends Endocrinol Metab*. 2009; 20(6): 295-302. doi: 10.1016/j.tem.2009.03.005
5. Mendrick DL, Diehl AM, Topor LS, Dietert RR, Will Y, La Merrill MA, et al. Metabolic syndrome and associated diseases: from the bench to the clinic. *Toxicol Sci*. 2018; 162(1): 36-42. doi: 10.1093/toxsci/kfx233
6. Guimarães LMF, Rossini CVT, Lameu C. Implications of SARS-Cov-2 infection on eNOS and iNOS activity: Consequences for the respiratory and vascular systems. *Nitric Oxide*. 2021; 111-112: 64-71. doi: 10.1016/j.niox.2021.04.003
7. Hill MA, Mantzoros C, Sowers JR. Commentary: COVID-19 in patients with diabetes. *Metabolism*. 2020; 107: 154217. doi: 10.1016/j.metabol.2020.154217
8. Siddiqi HK, Mehra MR. COVID-19 illness in native and immunosuppressed states: A clinical-therapeutic staging proposal. *J Heart Lung Transplant*. 2020; 39(5): 405-407. doi: 10.1016/j.healun.2020.03.012
9. Pieretti JC, Rubilar O, Weller RB, Tortella GR, Seabra AB. Nitric oxide (NO) and nanoparticles – Potential small tools for the war against COVID-19 and other human coronavirus infections. *Virus Res*. 2021; 291: 198202. doi: 10.1016/j.virusres.2020.198202
10. Zamanian RT, Pollack CV Jr, Gentile MA. Outpatient inhaled nitric oxide in a patient with vasoreactive IPAH and COVID-19 infection. *Am J Respir Crit Care Med*. 2020; 202(1): 130-132. doi: 10.1164/rccm.202004-0937LE
11. Gambardella J, Khondkar W, Morelli MB, Wang X, Santulli G, et al. Arginine and endothelial function. *Biomedicines*. 2020; 8(8): 277. doi: 10.3390/biomedicines8080277
12. Durante W. Targeting arginine in COVID-19-induced immunopathology and vasculopathy. *Metabolites*. 2022; 12(3): 240. doi: 10.3390/metabo12030240
13. Adusumilli NC, Zhang D, Friedman JM, Friedman AJ. Harnessing nitric oxide for preventing, limiting and treating the severe pulmonary consequences of COVID-19. *Nitric Oxide*. 2020; 103: 4-8. doi: 10.1016/j.niox.2020.07.003
14. Fang W, Jiang J, Su L, Shu T, Liu H, Lai S, et al. The role of NO in COVID-19 and potential therapeutic strategies. *Free Radic Biol Med*. 2021; 163: 153-162. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2020.12.008
15. Notsu Y, Yano S, Shibata H, Nagai A, Nabika T. Plasma arginine/ADMA ratio as a sensitive risk marker for atherosclerosis: Shimane CoHRE study. *Atherosclerosis*. 2015; 239(1): 61-66. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2014.12.030
16. Pizzarelli F, Maas R, Dattolo P, Tripepi G, Michelassi S, D'Arrigo G, et al. Asymmetric dimethylarginine predicts survival in the elderly. *Age (Dordr)*. 2013; 35(6): 2465-2475. doi: 10.1007/s11357-013-9523-1
17. Stuehr DJ, Haque MM. 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
18. Steinberg D. The pathogenesis of atherosclerosis. An interpretive history of the cholesterol controversy, part IV: the 1984 coronary primary prevention trial ends it – almost. *J Lipid Res*. 2006; 47(1): 1-14. doi: 10.1194/jlr.R500014-JLR200
19. Kwaifa IK, Bahari H, Yong YK, Noor SM. Endothelial dysfunction in obesity-induced inflammation: Molecular mechanisms and clinical implications. *Biomolecules*. 2020; 10(2): 291. doi: 10.3390/biom10020291
20. Sardu C, Gambardella J, Morelli MB, Wang X, Marfella R, Santulli G. Hypertension, thrombosis, kidney failure, and diabetes: Is COVID-19 an endothelial disease? A comprehensive evaluation of clinical and basic evidence. *J Clin Med*. 2020; 9(5): 1417. doi: 10.3390/jcm9051417
21. Alem MM. Endothelial dysfunction in chronic heart failure: Assessment, findings, significance, and potential therapeutic targets. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(13): 3198. doi: 10.3390/ijms20133198
22. Shu X, Keller TC 4th, Begandt D, Butcher J, Biwer L, Keller AS, et al. Endothelial nitric oxide synthase in the microcirculation. *Cell Mol Life Sci*. 2015; 72(23): 4561-4575. doi: 10.1007/s00018-015-2021-0
23. Oliveira-Paula GH, Lacchini R, Tanus-Santos JE. Endothelial nitric oxide synthase: From biochemistry and gene structure to clinical implications of /NOS3/ polymorphisms. *Gene*. 2016; 575 (2 Pt 3): 584-599. doi: 10.1016/j.gene.2015.09.061
24. Ogita H, Liao J. Endothelial function and oxidative stress. *Endothelium*. 2004; 11(2): 123-132. doi: 10.1080/10623320490482664
25. Sener A, Best LC, Yates AP, Kadiata MM, Olivares E, Louchami K, et al. Stimulus-secretion coupling of arginine-induced insulin release: Comparison between the cationic amino acid and its methyl ester. *Endocrine*. 2000; 13(3): 329-340. doi: 10.1385/ENDO:13:3:329
26. Santos A, Magro DO, Evangelista-Poderoso R, Saad MJA. Diabetes, obesity, and insulin resistance in COVID-19: Molecular interrelationship and therapeutic implications. *Diabetol Metab Syndr*. 2021; 13(1): 23. doi: 10.1186/s13098-021-00639-2
27. Little PJ, Askew CD, Xu S, Kamato D. Endothelial dysfunction and cardiovascular disease: History and analysis of the clinical utility of the relationship. *Biomedicines*. 2021; 9(6): 699. doi: 10.3390/biomedicines9060699
28. Maruhashi Y, Higashi Y. Pathophysiological association between diabetes mellitus and endothelial dysfunction. *Antioxidants (Basel)*. 2021; 10(8): 1306. doi: 10.3390/antiox10081306
29. Apicella M, Campopiano MC, Mantuano M, Mazoni L, Copelli A, Del Prato S. COVID-19 in people with diabetes: Understanding the reasons for worse outcomes. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2020; 8(9): 782-792. doi: 10.1016/S2213-8587(20)30238-2
30. Simonnet A, Chetboun M, Poissy J, Raverdy V, Noulette J, Duhamel A, et al. High prevalence of obesity in severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) requiring invasive mechanical ventilation. *Obesity (Silver Spring)*. 2020; 28(7): 1195-1199. doi: 10.1002/oby.22831
31. Wichmann D, Sperhake J-P, Lütgehetmann M, Steurer S, Edler C, Heinemann A, et al. Autopsy findings and venous thromboembolism in patients with COVID-19: A prospective cohort study. *Ann Intern Med*. 2020; 173(4): 268-277. doi: 10.7326/M20-2003
32. Zhao L. Obesity accompanying COVID-19: The role of epicardial fat. *Obesity (Silver Spring)*. 2020; 28(8): 1367. doi: 10.1002/oby.22867
33. Nagy E, Jermendy AL, Merkely B, Maurovich-Horvat P. Clinical importance of epicardial adipose tissue. *Arch Med Sci*. 2017; 13(4): 864-874. doi: 10.5114/aoms.2016.63259
34. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of non-alcoholic fatty liver dis-

- ease – meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*. 2016; 64(1): 73-84. doi: 10.1002/hep.28431
35. Donato AJ, Machin DR, Lesniewski LA. Mechanisms of dysfunction in the aging vasculature and role in age-related disease. *Circ Res*. 2018; 123(7): 825-848. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.118.312563
36. Nanda A, Vura NVRK, Gravenstein S. COVID-19 in older adults. *Aging Clin Exp Res*. 2020; 32(7): 1199-1202. doi: 10.1007/s40520-020-01581-5
37. Cuschieri S, Grech S. COVID-19 and diabetes: The why, the what and the how. *J Diabetes Complicat*. 2020; 34(9): 107637. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2020.107637
38. Nishiga M, Wang DW, Han Y, Lewis DB, Wu JC. COVID-19 and cardiovascular disease: From basic mechanisms to clinical perspectives. *Nat Rev Cardiol*. 2020; 17(9): 543-558. doi: 10.1038/s41569-020-0413-9
39. Incalza MA, D’Oria R, Natalicchio A, Perrini S, Laviola L, Giorgino F. Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases. *Vascul Pharmacol*. 2018; 100: 1-19. doi: 10.1016/j.vph.2017.05.005
40. Li H, Tian S, Chen T, Cui Z, Shi N, Zhong X, et al. Newly diagnosed diabetes is associated with a higher risk of mortality than known diabetes in hospitalized patients with COVID-19. *Diabetes Obes Metab*. 2020; 22(10): 1897-1906. doi: 10.1111/dom.14099
41. Hoshiyama M, Li B, Yao J, Harada T, Morioka T, Oite T. Effect of high glucose on nitric oxide production and endothelial nitric oxide synthase protein expression in human glomerular endothelial cells. *Nephron Exp Nephrol*. 2003; 95(2): e62-e68. doi: 10.1159/000073673
42. Guan SP, Seet RCS, Kennedy BK. Does eNOS derived nitric oxide protect the young from severe COVID-19 complications? *Ageing Res Rev*. 2020; 64: 101201. doi: 10.1016/j.arr.2020.101201
43. Cai H, Liu D, Garcia JGN. Cam kinase II-dependent pathophysiological signaling in endothelial cells. *Cardiovasc Res*. 2008; 77(1): 30-34. doi: 10.1093/cvr/cvm010
44. Carnicer R, Crabtree MJ, Sivakumaran V, Casadei B, Kass DA. Nitric oxide synthases in heart failure. *Antioxid Redox Signal*. 2013; 18(9): 1078-1099. doi: 10.1089/ars.2012.4824
45. McCabe TJ, Fulton D, Roman LJ, Sessa W. Enhanced electron flux and reduced calmodulin dissociation may explain ‘calcium-independent’ eNOS activation by phosphorylation. *J Biol Chem*. 2000; 275(9): 6123-6128. doi: 10.1074/jbc.275.9.6123
46. Hisamoto K, Ohmichi M, Kurachi H, Hayakawa J, Kauda Y, Nishio Y, et al. Estrogen induces the Akt-dependent activation of endothelial nitric-oxide synthase in vascular endothelial cells. *J Biol Chem*. 2001; 276(5): 3459-3467. doi: 10.1074/jbc.M005036200
47. Dragoni S, Caridi B, Karatsai E, Burgoyne T, Sarker MH, Turowski P. AMP-activated protein kinase is a key regulator of acute neurovascular permeability. *J Cell Sci*. 2021; 134(7): jcs253179. doi: 10.1242/jcs.253179
48. Scotland RS, Morales-Ruiz M, Chen Y, Yu J, Rudic RD, Fulton D, et al. Functional reconstitution of endothelial nitric oxide synthase reveals the importance of serine 1179 in endothelium-dependent vasomotion. *Circ Res*. 2002; 90(8): 904-910. doi: 10.1161/01.res.0000016506.04193.96
49. Кузнецова Л.А. Метаболический синдром: влияние адипокинов на L-аргинин – NO-синтаза – NO сигнальный путь. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 22-40. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.3
50. Tenopoulou M, Doulias PS. Endothelial nitric oxide synthase-derived nitric oxide in the regulation of metabolism. *F1000Res*. 2020; 9: F1000 Faculty Rev-1190. doi: 10.12688/f1000research.19998.1
51. Kim JA, Montagnani M, Koh KK, Oun MJ. Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction: Molecular and pathophysiological mechanisms. *Circulation*. 2006. 113(15): 1888-1904. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.563213
52. Boo YC, Jo H. Flow-dependent regulation of endothelial nitric oxide synthase: Role of protein kinases. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2003; 285(3): C499-C508. doi: 10.1152/ajpcell.00122.2003
53. Semenkovich CF. Insulin resistance and atherosclerosis. *J Clin Invest*. 2006; 116(7): 1813-1822. doi: 10.1172/JCI29024
54. Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*. 2001; 414(6865): 799-806. doi: 10.1038/414799a
55. Cusi K, Maezono K, Osman A, Pendergrass M, Patti ME, Pratipanawat T, et al. Insulin resistance differentially affects the PI3-kinase- and map kinase-mediated signaling in human muscle. *J Clin Invest*. 2000; 105(3): 311-320. doi: 10.1172/JCI7535
56. Berg AH, Scherer PE. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circ Res*. 2005; 96(9): 939-949. doi: 10.1161/01.RES.0000163635.62927.34
57. Serné EH, Jongh RT, Eringa EC, Jserman RGI, Stehouwer CDA. Microvascular dysfunction: A potential pathophysiological role in the metabolic syndrome. *Hypertension*. 2007; 50(1): 204-211. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.089680
58. Garcia V, Sessa WC. Endothelial NOS: Perspective and recent developments. *Br J Pharm*. 2019. 176(2): 189-196. doi: 10.1111/bph.14522
59. Gopallawa I, Lee RJ. Targeting the phosphoinositide-3-kinase B in airway innate immunity. *World J Biol Chem*. 2020; 11(2): 30-51. doi: 10.4331/wjbc.v11.i2.30
60. Fulton DJ. Transcriptional and posttranslational regulation of eNOS in the endothelium. *Adv Pharmacol*. 2016; 77: 29-64. doi: 10.1016/bs.apha.2016.04.001
61. Фаттахов Н.С., Василенко М.А., Скуратовская Д.А., Куликов Д.И., Кириенкова Е.В., Затолокин П.А. и др. Патогенетическое значение однонуклеотидного полиморфизма C774T гена эндотелиальной NO-синтазы в развитии метаболического синдрома. *Биомедицинская химия*. 2016; 62(4): 447-452. doi: 10.18097/PBMC20166204447
62. Lee YC, Huang SP, Liu CC, Yang YH, Yen HC, Li WM, et al. The association of eNOS G894T polymorphism with metabolic syndrome and erectile dysfunction. *J Sex Med*. 2012; 9(3): 837-843. doi: 10.1111/j.1743-6109.2011.02588.x
63. Pehlivan S, Köse M, Mese S, Serin J, Senkal N, Oyaci Y, et al. Investigation of MBL2 and NOS3 functional gene variants in suspected COVID-19 PCR (-) patients. *Pathog Glob Health*. 2022; 116(3): 178-184. doi: 10.1080/20477724.2021.1984726
64. Cooke GE, Doshi A, Binkley PF. Endothelial nitric oxide synthase gene: Prospects for treatment of heart disease. *Pharmacogenomics*. 2007; 8(12): 1723-1734. doi: 10.2217/14622416.8.12.1723
65. Pereira TV, Rudnicki M, Cheung BM, Baum L, Yamada Y, Oliveira PS, et al. Three endothelial nitric oxide (NOS3) gene polymorphisms in hypertensive and normotensive individuals: Meta-analysis of 53 studies reveals evidence of publica-

tion bias. *J Hypertens*. 2007; 25(9): 1763-1774. doi: 10.1097/HJH.0b013e3281de740d

66. Tanus-Santos JE, Casella-Filho A. Endothelial nitric oxide synthase polymorphisms and susceptibility to hypertension: Genotype versus haplotype analysis. *Hypertension*. 2007; 49(1): E1; author reply E2. doi: 10.1161/01.HYP0000251106.80955.38

67. Thomas BN, Thakur TJ, Yi L, Guindo A, Diallo DA, Ott J. Extensive ethnogenomic diversity of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) polymorphisms. *Gene Regul Syst Bio*. 2013; 7: 1-10. doi: 10.4137/GRSB.S10857

68. Kumar R, Nejatizadeh A, Arif E, Akhtar S, Gupta M, Tyagi S, et al. Multi-locus interactions of vascular homeostasis genes in essential hypertension: a gender-based study. *Clin Chim Acta*. 2009; 405(1-2): 87-93. doi: 10.1016/j.cca.2009.04.010

69. Goel S, Jain T, Hooda A, Malhotra R, Johal G, Masoomi R, et al. Clinical characteristics and in-hospital mortality for COVID-19 across the globe. *Cardiol Ther*. 2020; 9(2): 553-559. doi: 10.1007/S40119-020-00189-0

70. Wiltshire E, Peña AS, MacKenzie K, Shaw G, Couper J. High dose folic acid is a potential treatment for pulmonary hypertension, including when associated with COVID-19 pneumonia. *Med Hypotheses*. 2020; 143: 110142. doi: 10.1016/j.mehy.2020.110142

REFERENCES

1. Hayden MR. Endothelial activation and dysfunction in metabolic syndrome, type 2 diabetes and coronavirus disease 2019. *J Int Med Res*. 2020; 48(7): 0300060520939746. doi: 10.1177/0300060520939746

2. Hedenstierna G, Chen L, Hedenstierna M, Lieberman R, Fine DH. Nitric oxide dosed in short bursts at high concentrations may protect against Covid 19. *Nitric Oxide*. 2020; 103: 1-3. doi: 10.1016/j.niox.2020.06.005

3. Assumpção CR, Brunini TM, Pereira NR, Godoy-Matos AF, Siqueira MA, Mann GE, et al. Insulin resistance in obesity and metabolic syndrome: Is there a connection with platelet l-arginine transport? *Blood Cells Mol Dis*. 2011; 45(4): 338-342. doi: 10.1016/j.bcmd.2010.10.003

4. Huang PL. eNOS, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Trends Endocrinol Metab*. 2009; 20(6): 295-302. doi: 10.1016/j.tem.2009.03.005

5. Mendrick DL, Diehl AM, Topor LS, Dietert RR, Will Y, La Merrill MA, et al. Metabolic syndrome and associated diseases: from the bench to the clinic. *Toxicol Sci*. 2018; 162(1): 36-42. doi: 10.1093/toxsci/kfx233

6. Guimarães LMF, Rossini CVT, Lameu C. Implications of SARS-Cov-2 infection on eNOS and iNOS activity: Consequences for the respiratory and vascular systems. *Nitric Oxide*. 2021; 111-112: 64-71. doi: 10.1016/j.niox.2021.04.003

7. Hill MA, Mantzoros C, Sowers JR. Commentary: COVID-19 in patients with diabetes. *Metabolism*. 2020; 107: 154217. doi: 10.1016/j.metabol.2020.154217

8. Siddiqi HK, Mehra MR. COVID-19 illness in native and immunosuppressed states: A clinical-therapeutic staging proposal. *J Heart Lung Transplant*. 2020; 39(5): 405-407. doi: 10.1016/j.healun.2020.03.012

9. Pieretti JC, Rubilar O, Weller RB, Tortella GR, Seabra AB. Nitric oxide (NO) and nanoparticles – Potential small tools for the war

against COVID-19 and other human coronavirus infections. *Virus Res*. 2021; 291: 198202. doi: 10.1016/j.virusres.2020.198202

10. Zamanian RT, Pollack CV Jr, Gentile MA. Outpatient inhaled nitric oxide in a patient with vasoreactive IPAH and COVID-19 infection. *Am J Respir Crit Care Med*. 2020; 202(1): 130-132. doi: 10.1164/rccm.202004-0937LE

11. Gambardella J, Khondkar W, Morelli MB, Wang X, Santulli G, et al. Arginine and endothelial function. *Biomedicines*. 2020; 8(8): 277. doi: 10.3390/biomedicines8080277

12. Durante W. Targeting arginine in COVID-19-induced immunopathology and vasculopathy. *Metabolites*. 2022; 12(3): 240. doi: 10.3390/metabo12030240

13. Adusumilli NC, Zhang D, Friedman JM, Friedman AJ. Harnessing nitric oxide for preventing, limiting and treating the severe pulmonary consequences of COVID-19. *Nitric Oxide*. 2020; 103: 4-8. doi: 10.1016/j.niox.2020.07.003

14. Fang W, Jiang J, Su L, Shu T, Liu H, Lai S, et al. The role of NO in COVID-19 and potential therapeutic strategies. *Free Radic Biol Med*. 2021; 163: 153-162. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2020.12.008

15. Notsu Y, Yano S, Shibata H, Nagai A, Nabika T. Plasma arginine/ADMA ratio as a sensitive risk marker for atherosclerosis: Shimane CoHRE study. *Atherosclerosis*. 2015; 239(1): 61-66. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2014.12.030

16. Pizzarelli F, Maas R, Dattolo P, Tripepi G, Michelassi S, D'Arrigo G, et al. Asymmetric dimethylarginine predicts survival in the elderly. *Age (Dordr)*. 2013; 35(6): 2465-2475. doi: 10.1007/s11357-013-9523-1

17. Stuehr DJ, Haque MM. 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

18. Steinberg D. The pathogenesis of atherosclerosis. An interpretive history of the cholesterol controversy, part IV: the 1984 coronary primary prevention trial ends it – almost. *J Lipid Res*. 2006; 47(1): 1-14. doi: 10.1194/jlr.R500014-JLR200

19. Kwaifa IK, Bahari H, Yong YK, Noor SM. Endothelial dysfunction in obesity-induced inflammation: Molecular mechanisms and clinical implications. *Biomolecules*. 2020; 10(2): 291. doi: 10.3390/biom10020291

20. Sardu C, Gambardella J, Morelli MB, Wang X, Marfella R, Santulli G. Hypertension, thrombosis, kidney failure, and diabetes: Is COVID-19 an endothelial disease? A comprehensive evaluation of clinical and basic evidence. *J Clin Med*. 2020; 9(5): 1417. doi: 10.3390/jcm9051417

21. Alem MM. Endothelial dysfunction in chronic heart failure: Assessment, findings, significance, and potential therapeutic targets. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(13): 3198. doi: 10.3390/ijms20133198

22. Shu X, Keller TC 4th, Begandt D, Butcher J, Biwer L, Keller AS, et al. Endothelial nitric oxide synthase in the microcirculation. *Cell Mol Life Sci*. 2015; 72(23): 4561-4575. doi: 10.1007/s00018-015-2021-0

23. Oliveira-Paula GH, Lacchini R, Tanus-Santos JE. Endothelial nitric oxide synthase: From biochemistry and gene structure to clinical implications of /NOS3/ polymorphisms. *Gene*. 2016; 575 (2 Pt 3): 584-599. doi: 10.1016/j.gene.2015.09.061

24. Ogita H, Liao J. Endothelial function and oxidative stress. *Endothelium*. 2004; 11(2): 123-132. doi: 10.1080/10623320490482664

25. Sener A, Best LC, Yates AP, Kadiata MM, Olivares E, Louchami K, et al. Stimulus-secretion coupling of arginine-induced insulin

release: Comparison between the cationic amino acid and its methyl ester. *Endocrine*. 2000; 13(3): 329-340. doi: 10.1385/ENDO:13:3:329

26. Santos A, Magro DO, Evangelista-Poderoso R, Saad MJA. Diabetes, obesity, and insulin resistance in COVID-19: Molecular interrelationship and therapeutic implications. *Diabetol Metab Syndr*. 2021; 13(1): 23. doi: 10.1186/s13098-021-00639-2

27. Little PJ, Askew CD, Xu S, Kamato D. Endothelial dysfunction and cardiovascular disease: History and analysis of the clinical utility of the relationship. *Biomedicines*. 2021; 9(6): 699. doi: 10.3390/biomedicines9060699

28. Maruhashi Y, Higashi Y. Pathophysiological association between diabetes mellitus and endothelial dysfunction. *Antioxidants (Basel)*. 2021; 10(8): 1306. doi: 10.3390/antiox10081306

29. Apicella M, Campopiano MC, Mantuano M, Mazoni L, Copelli A, Del Prato S. COVID-19 in people with diabetes: Understanding the reasons for worse outcomes. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2020; 8(9): 782-792. doi: 10.1016/S2213-8587(20)30238-2

30. Simonnet A, Chetboun M, Poissy J, Raverdy V, Noulette J, Duhamel A, et al. High prevalence of obesity in severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) requiring invasive mechanical ventilation. *Obesity (Silver Spring)*. 2020; 28(7): 1195-1199. doi: 10.1002/oby.22831

31. Wichmann D, Sperhake J-P, Lütgehetmann M, Steurer S, Edler C, Heinemann A, et al. Autopsy findings and venous thromboembolism in patients with COVID-19: A prospective cohort study. *Ann Intern Med*. 2020; 173(4): 268-277. doi: 10.7326/M20-2003

32. Zhao L. Obesity accompanying COVID-19: The role of epicardial fat. *Obesity (Silver Spring)*. 2020; 28(8): 1367. doi: 10.1002/oby.22867

33. Nagy E, Jermendy AL, Merkely B, Maurovich-Horvat P. Clinical importance of epicardial adipose tissue. *Arch Med Sci*. 2017; 13(4): 864-874. doi: 10.5114/aoms.2016.63259

34. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease – meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*. 2016; 64(1): 73-84. doi: 10.1002/hep.28431

35. Donato AJ, Machin DR, Lesniewski LA. Mechanisms of dysfunction in the aging vasculature and role in age-related disease. *Circ Res*. 2018; 123(7): 825-848. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.118.312563

36. Nanda A, Vura NVRK, Gravenstein S. COVID-19 in older adults. *Aging Clin Exp Res*. 2020; 32(7): 1199-1202. doi: 10.1007/s40520-020-01581-5

37. Cuschieri S, Grech S. COVID-19 and diabetes: The why, the what and the how. *J Diabetes Complicat*. 2020; 34(9): 107637. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2020.107637

38. Nishiga M, Wang DW, Han Y, Lewis DB, Wu JC. COVID-19 and cardiovascular disease: From basic mechanisms to clinical perspectives. *Nat Rev Cardiol*. 2020; 17(9): 543-558. doi: 10.1038/s41569-020-0413-9

39. Incalza MA, D'Oria R, Natalicchio A, Perrini S, Laviola L, Giorgino F. Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases. *Vascul Pharmacol*. 2018; 100: 1-19. doi: 10.1016/j.vph.2017.05.005

40. Li H, Tian S, Chen T, Cui Z, Shi N, Zhong X, et al. Newly diagnosed diabetes is associated with a higher risk of mortality than known diabetes in hospitalized patients with COVID-19. *Diabetes Obes Metab*. 2020; 22(10): 1897-1906. doi: 10.1111/dom.14099

41. Hoshiyama M, Li B, Yao J, Harada T, Morioka T, Oite T. Effect of high glucose on nitric oxide production and endothelial nitric oxide synthase protein expression in human glomerular endothelial cells. *Nephron Exp Nephrol*. 2003; 95(2): e62-e68. doi: 10.1159/000073673

42. Guan SP, Seet RCS, Kennedy BK. Does eNOS derived nitric oxide protect the young from severe COVID-19 complications? *Ageing Res Rev*. 2020; 64: 101201. doi: 10.1016/j.arr.2020.101201

43. Cai H, Liu D, Garcia JGN. Cam kinase II-dependent pathophysiological signaling in endothelial cells. *Cardiovasc Res*. 2008; 77(1): 30-34. doi: 10.1093/cvr/cvm010

44. Carnicer R, Crabtree MJ, Sivakumaran V, Casadei B, Kass DA. Nitric oxide synthases in heart failure. *Antioxid Redox Signal*. 2013; 18(9): 1078-1099. doi: 10.1089/ars.2012.4824

45. McCabe TJ, Fulton D, Roman LJ, Sessa W. Enhanced electron flux and reduced calmodulin dissociation may explain 'calcium-independent' eNOS activation by phosphorylation. *J Biol Chem*. 2000; 275(9): 6123-6128. doi: 10.1074/jbc.275.9.6123

46. Hisamoto K, Ohmichi M, Kurachi H, Hayakawa J, Kauda Y, Nishio Y, et al. Estrogen induces the Akt-dependent activation of endothelial nitric-oxide synthase in vascular endothelial cells. *J Biol Chem*. 2001; 276(5): 3459-3467. doi: 10.1074/jbc.M005036200

47. Dragoni S, Caridi B, Karatsai E, Burgoyne T, Sarker MH, Turowski P. AMP-activated protein kinase is a key regulator of acute neurovascular permeability. *J Cell Sci*. 2021; 134(7): jcs253179. doi: 10.1242/jcs.253179

48. Scotland RS, Morales-Ruiz M, Chen Y, Yu J, Rudic RD, Fulton D, et al. Functional reconstitution of endothelial nitric oxide synthase reveals the importance of serine 1179 in endothelium-dependent vasomotion. *Circ Res*. 2002; 90(8): 904-910. doi: 10.1161/01.res.0000016506.04193.96

49. Kuznetsova LA. Metabolic syndrome: the influence of adipokines on the L-arginine – NO-synthase – nitric oxide signaling pathway. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 22-40. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2021.-6.2.3

50. Tenopoulou M, Doulias PS. Endothelial nitric oxide synthase-derived nitric oxide in the regulation of metabolism. *F1000Res*. 2020; 9: F1000 Faculty Rev-1190. doi: 10.12688/f1000research.19998.1

51. Kim JA, Montagnani M, Koh KK, Oun MJ. Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction: Molecular and pathophysiological mechanisms. *Circulation*. 2006; 113(15): 1888-1904. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.563213

52. Boo YC, Jo H. Flow-dependent regulation of endothelial nitric oxide synthase: Role of protein kinases. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2003; 285(3): C499-C508. doi: 10.1152/ajpcell.00122.2003

53. Semenkovich CF. Insulin resistance and atherosclerosis. *J Clin Invest*. 2006; 116(7): 1813-1822. doi: 10.1172/JCI29024

54. Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*. 2001; 414(6865): 799-806. doi: 10.1038/414799a

55. Cusi K, Maezono K, Osman A, Pendergrass M, Patti ME, Pratipanawat T, et al. Insulin resistance differentially affects the PI3-kinase- and map kinase-mediated signaling in human muscle. *J Clin Invest*. 2000; 105(3): 311-320. doi: 10.1172/JCI7535

56. Berg AH, Scherer PE. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circ Res*. 2005; 96(9): 939-949. doi: 10.1161/01.RES.0000163635.62927.34

57. Serné EH, Jongh RT, Eringa EC, Jserman RGI, Stehouwer CDA. Microvascular dysfunction: A potential pathophysiological role in the metabolic syndrome. *Hypertension*. 2007; 50(1): 204-211. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.089680
58. Garcia V, Sessa WC. Endothelial NOS: Perspective and recent developments. *Br J Pharm*. 2019. 176(2): 189-196. doi: 10.1111/bph.14522
59. Gopallawa I, Lee RJ. Targeting the phosphoinositide-3-kinase B in airway innate immunity. *World J Biol Chem*. 2020; 11(2): 30-51. doi: 10.4331/wjbc.v11.i2.30
60. Fulton DJ. Transcriptional and posttranslational regulation of eNOS in the endothelium. *Adv Pharmacol*. 2016; 77: 29-64. doi: 10.1016/bs.apha.2016.04.001
61. Fattakhov NS, Vasilenko MA, Skuratovskaia DA, Kulikov DI, Kirienkova EV, Zatulokin PA, et al. Pathogenetic significance of C774T single nucleotide polymorphism of endothelial NO synthase gene in the development of metabolic syndrome. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2016; 62(4): 447-452. (In Russ.). doi: 10.18097/PBMC20166204447
62. Lee YC, Huang SP, Liu CC, Yang YH, Yen HC, Li WM, et al. The association of eNOS G894T polymorphism with metabolic syndrome and erectile dysfunction. *J Sex Med*. 2012; 9(3): 837-843. doi: 10.1111/j.1743-6109.2011.02588.x
63. Pehlivan S, Köse M, Mese S, Serin J, Senkal N, Oyacı Y, et al. Investigation of *MBL2* and *NOS3* functional gene variants in suspected COVID-19 PCR (-) patients. *Pathog Glob Health*. 2022; 116(3): 178-184. doi: 10.1080/20477724.2021.1984726
64. Cooke GE, Doshi A, Binkley PF. Endothelial nitric oxide synthase gene: Prospects for treatment of heart disease. *Pharmacogenomics*. 2007; 8(12): 1723-1734. doi: 10.2217/14622416.8.12.1723
65. Pereira TV, Rudnicki M, Cheung BM, Baum L, Yamada Y, Oliveira PS, et al. Three endothelial nitric oxide (NOS3) gene polymorphisms in hypertensive and normotensive individuals: Meta-analysis of 53 studies reveals evidence of publication bias. *J Hypertens*. 2007; 25(9): 1763-1774. doi: 10.1097/HJH.0b013e3281de740d
66. Tanus-Santos JE, Casella-Filho A. Endothelial nitric oxide synthase polymorphisms and susceptibility to hypertension: Genotype versus haplotype analysis. *Hypertension*. 2007; 49(1): E1; author reply E2. doi: 10.1161/01.HYP0000251106.80955.38
67. Thomas BN, Thakur TJ, Yi L, Guindo A, Diallo DA, Ott J. Extensive ethnogenomic diversity of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) polymorphisms. *Gene Regul Syst Bio*. 2013; 7: 1-10. doi: 10.4137/GRSB.S10857
68. Kumar R, Nejatizadeh A, Arif E, Akhtar S, Gupta M, Tyagi S, et al. Multi-locus interactions of vascular homeostasis genes in essential hypertension: a gender-based study. *Clin Chim Acta*. 2009; 405(1-2): 87-93. doi: 10.1016/J.cca.2009.04.010
69. Goel S, Jain T, Hooda A, Malhotra R, Johal G, Masoomi R, et al. Clinical characteristics and in-hospital mortality for COVID-19 across the globe. *Cardiol Ther*. 2020; 9(2): 553-559. doi: 10.1007/S40119-020-00189-0
70. Wiltshire E, Peña AS, MacKenzie K, Shaw G, Couper J. High dose folic acid is a potential treatment for pulmonary hypertension, including when associated with COVID-19 pneumonia. *Med Hypotheses*. 2020; 143: 110142. doi: 10.1016/j.mehy.2020.110142

Сведения об авторах

Кузнецова Людмила Александровна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эндокринологии и нейрохимии, ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, e-mail: praskovia1231@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9215-6018>

Басова Наталия Евгеньевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной эндокринологии и нейрохимии, ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, e-mail: basovnat@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7316-2882>

Information about the authors

Lyudmila A. Kuznetsova – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Molecular Endocrinology and Neurochemistry, Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, e-mail: praskovia1231@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9215-6018>

Natalia E. Basova – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Molecular Endocrinology and Neurochemistry, Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, e-mail: basovnat@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7316-2882>