БИОХИМИЯ, 2021, том 86, вып. 2, с. 175 – 185

УДК 616.1+577.2+576.3

МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА L-АРГИНИНА В ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ*

Обзор

© 2021 Дж.Т. Маммедова, А.В. Соколов, И.С. Фрейдлин, Э.А. Старикова**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины», 197376 Санкт-Петербург, Россия; электронная почта: starickova@yandex.ru

Поступила в редакцию 06.08.2020
После доработки 14.09.2020
Принята к публикации 14.09.2020

L-аргинин является ключевым метаболитом для продукции оксида азота эндотелиальными клетками, а также сигнальной молекулой внутриклеточного сигнального пути mTOR. Активность mTOR регулирует гомеостатические процессы в эндотелиальных клетках и связана с работой L-аргинин-метаболизирующих ферментов, эндотелиальной синтазы оксида азота и аргиназы. Нарушение метаболизма L-аргинина в эндотелиальных клетках приводит к развитию эндотелиальной дисфункции. Противоречивые результаты использования добавки L-аргинина для коррекции патологий, ассоциированных с эндотелиальной дисфункцией, указывают на неоднозначную роль аминокислоты в регуляции функций эндотелиальных клеток. Обзор посвящен анализу современных данных литературы о роли метаболизма L-аргинина в развитии эндотелиальной дисфункции.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: L-аргинин, эндотелий, оксид азота, eNOS, аргиназа, mTOR.

DOI: 10.31857/S0320972521020032

ВВЕДЕНИЕ

Эндотелиальная синтаза оксида азота (eNOS) – фермент, который катализирует реакцию синтеза оксида азота (NO) из L-аргинина. Оксид азота за счет активации гуанилилциклазы и повышения уровня циклического 3′,5′-гуанозинмонофосфата (цГМФ) в гладкомышечных клетках расширяет кровеносные сосуды и увеличивает их проницаемость [1]. NO ингибирует пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов, процессы перекисного окисления липидов в мембранах клеток и липопротеинов крови, регулирует газотранспортные свойства крови, является ингибитором агрегации тромбоцитов и адгезии лейкоцитов к сосудистой стенке [2]. Ключевая роль NO в поддержании гомеостаза сосудов была доказана при изучении нокаутных по eNOS мышей, у которых развивалась гипертония [3], наблюдалось усиление пролиферативной активности гладкомышечных клеток сосудов в ответ на повреждение [4], повышение адгезивности лейкоцитов к эндотелию [5], гиперкоагулопатия [6], обострение атеросклероза [7], а также нарушение регуляции процессов ангиогенеза [8].

Установлено, что введение L-аргинина повышает продукцию NO эндотелиальными клетками (ЭК) [9, 10], поэтому возможность применения L-аргинина в качестве пищевой добавки для коррекции функции эндотелия изучали при разных патологиях у человека и на животных моделях [11–14]. Однако в ряде исследований было показано, что добавка L-аргинина не оказывает никакого положительного действия [15], а в некоторых случаях даже усугубляет эндотелиальную дисфункцию [16]. Это указывает на неоднозначную роль L-аргинина в регуляции функции eNOS.

Принятые сокращения: АДМА – асимметричный диметиларгинин; АСЛ – аргининосукцинатлиаза; АСС – аргининосукцинатсинтаза; АФК – активные формы кислорода; ДДАГ – диметиларгинин диметиламиногидролаза; ЛНП – липопротеины низкой плотности; НАДФ – никотинамидадениндинуклеотидфосфат; ФАД – флавинадениндинуклеотид; ФМН – флавинмононуклеотид; цГМФ – циклический 3′,5′-гуанозинмонофосфат; ЭК – эндотелиальные клетки; Akt/PKB – протеинкиназа B; AMP – аденозинмонофосфат; AMPK – AMP-активируемая протеинкиназа; BH_4 – тетрагидробиоптерин; CaM – кальмодулин; eNOS – эндотелиальная синтаза оксида азота; Hsp90 – белок теплового шока 90; HUVECs – эндотелиальные клетки вены пупочного канатика человека; mTOR – механистическая мишень рапамицина; NO – оксид азота; PRMT – протеинаргининметилтрансфераза.

* Первоначально английский вариант рукописи опубликован на сайте «Biochemistry» (Moscow) http://protein.bio.msu.ru/biokhimiya, в рубрике «Papers in Press», BM20-252, 28.12.2020.

** Адресат для корреспонденции.

Тоническую продукцию NO обеспечивает множество процессов, напрямую зависящих от метаболизма L-аргинина. Последний не только является общим субстратом для eNOS и аргиназы, регулирующих активность друг друга [17], но и выполняет роль сигнальной молекулы в рамках внутриклеточного сигнального пути механистической мишени рапамицина mTOR [18], тесно связанного с метаболизмом L-аргинина [19, 20]. Все это делает L-аргинин одним из ключевых факторов в регуляции гомеостаза сосудов. В обзоре проводится анализ данных литературы, посвященной роли нарушения метаболизма L-аргинина в развитии эндотелиальной дисфункции.

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ eNOS

eNOS конститутивно экспрессируется в эндотелиальных клетках. Активность фермента изменяется в зависимости от скорости кровотока, коагуляции, вазоконстрикции и гипоксии и регулируется за счет фосфорилирования по аминокислотным остаткам тирозина (Y), серина (S) и треонина (T) его активирующих (S615, S633 и S1177) или ингибирующих (S114, T495 и Y656) сайтов [21].

Активация eNOS посредством Ca^{2+}-зависимого связывания кальмодулина (CaM) происходит под влиянием брадикинина, эстрадиола, фактора роста эндотелия (VEGF) [21]. Серотонин выступает активатором фермента при активации тромбоцитов и усилении процессов коагуляции [22]. Повышение концентрации внутриклеточного кальция приводит к активации CaM, который блокирует фосфорилирование ингибирующего сайта T495 eNOS, взаимодействуя с CaM-связывающим сайтом фермента. Одновременно CaM-опосредованное фосфорилирование кальций/кальмодулин-зависимой протеинкиназы II (CaMKII) приводит к фосфорилированию активирующего сайта S1177 eNOS [23]. При изменении скорости тока крови, повышенной продукции активных форм кислорода (АФК), под влиянием ростовых факторов происходит опосредованное протеинкиназой B (Akt1) фосфорилирование eNOS по двум сайтам S615 и S1177, что усиливает продукцию NO даже при низких концентрациях внутриклеточного кальция [24]. AMP-активируемая протеинкиназа (AMPK) осуществляет фосфорилирование eNOS по S1177 при повышении концентраций аденозинмонофосфата (AMP) и внутриклеточного кальция, а также в условиях дефицита нутриентов [25]. В исследованиях на животных и на культурах ЭК было показано, что активация cAMP-зависимой протеинкиназы A (cAMP – циклический аденозинмонофосфат) восстанавливает барьерную функцию эндотелия за счет фосфорилирования eNOS по S1177 [21, 26]. Согласно последним данным, метаболический регулятор mTOR, который интегрирует сигналы от Akt, AMPK, CAMKII, также напрямую активирует eNOS путем фосфорилирования фермента по S1177 [19]. Киназы pp60src и PYK2 регулируют активность eNOS в условиях изменения кровотока, осуществляя ее фосфорилирование по Y81 и Y657, соответственно [26–28].

При изменении скорости и направления кровотока, воздействии повреждающих факторов, таких как окислительный или тепловой стресс, в ЭК происходит повышение экспрессии белка теплового шока 90 (Hsp90), основная функция которого состоит в стабилизации структуры клеточных белков. В эндотелиальных клетках Hsp90 стабилизирует структуру и поддерживает функцию eNOS, связываясь с оксигеназным доменом этого фермента. В исследовании Förstermann et al. было показано, что Hsp90 повышает сродство eNOS к L-аргинину, CaM и НАДФН, что, в свою очередь, усиливает активность фермента [29].

Расположенный в Ca^{2+}/CaM-связывающем участке eNOS остаток T495 является основным сайтом, негативно регулирующим активность фермента [26]. Опосредованное протеинкиназой C (PKC), Rho-киназами [30] и AMPK [31] фосфорилирование по T495 препятствует формированию комплекса CaM–eNOS. Rho-киназы также подавляют активность eNOS опосредованно, через ингибирование CaM [32], сигнальных молекул Akt и AMPK [30, 33]. Локализация eNOS в кавеолах обусловливает возможность негативной регуляции активности фермента кавеолином-1 [33], который предотвращает связывание CaM с ферментом при низкой концентрации внутриклеточного кальция [21, 27].

Роль дефицита L-аргинина в регуляции функциональной активности eNOS. В функциональном состоянии eNOS представляет собой гомодимер, в каждом из мономеров которого выделяют два домена: оксигеназный, взаимодействующий с гемом, L-аргинином, тетрагидробиоптерином (BH_4), и редуктазный, взаимодействующий с НАДФН-синтазой и CaM (рис. 1).

eNOS осуществляет последовательный перенос электронов с НАДФН редуктазного домена одного мономера, через ФАД и ФМН, на гем оксигеназного домена другого мономера, где с участием BH_4 и кислорода осуществляется окисление L-аргинина с образованием L-цитруллина и NO [34, 35]. Под влиянием провоспалительных факторов, окислительного стресса и в условиях

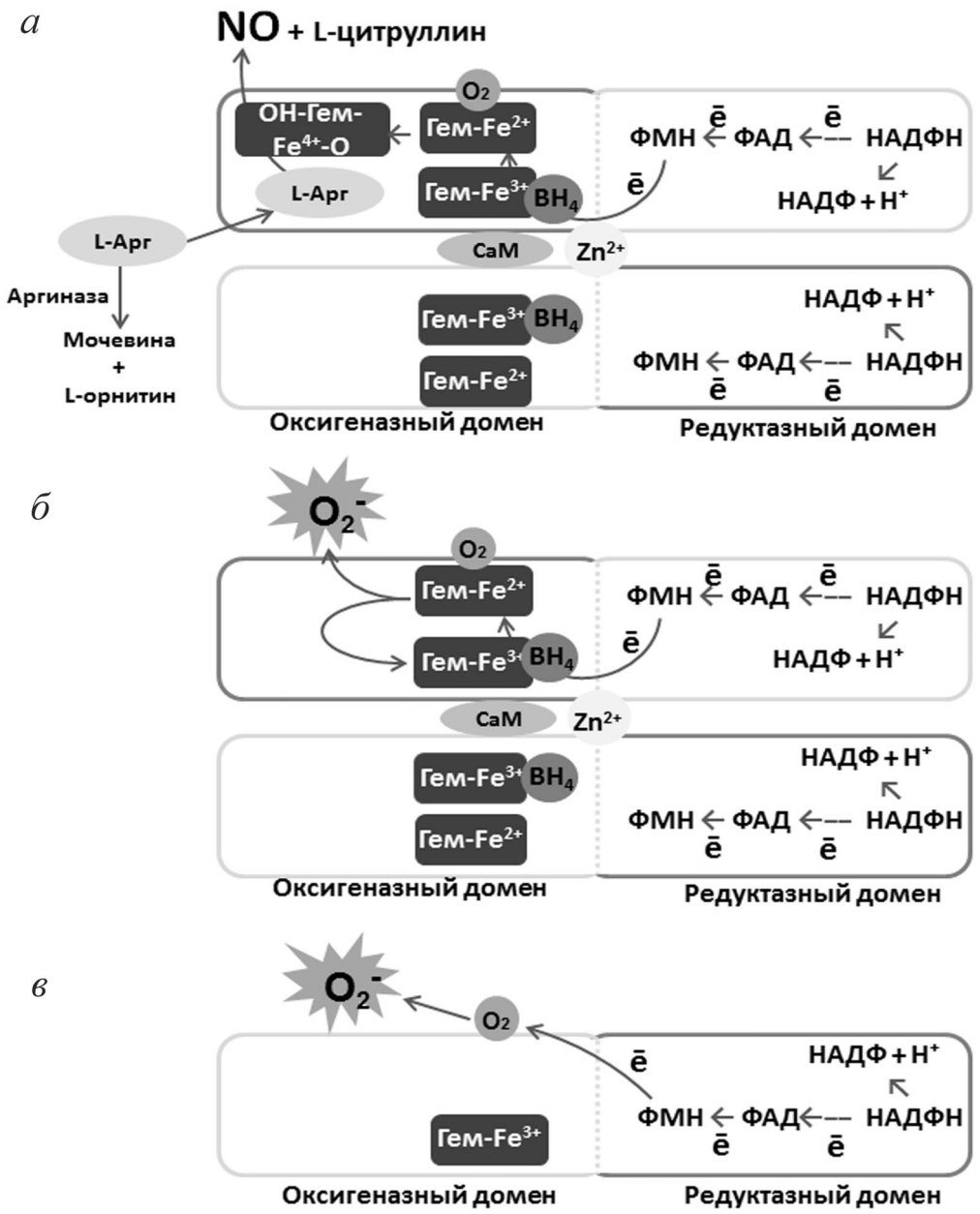

Рис. 1. Нарушение функциональной активности eNOS в условиях дефицита субстрата. *а* – Активность eNOS при достаточном количестве субстрата; *б* – активность eNOS при дефиците субстрата; *в* – активность eNOS при диссоциации фермента

снижения биодоступности L-аргинина происходит нарушение структуры eNOS [36]. Вследствие того, что транспорт электронов осуществляется в транс-положении, с редуктазного домена одной субъединицы eNOS на оксигеназный домен другой субъединицы этого фермента, разобщение субъединиц фермента приводит к разобщению процессов окисления НАДФН и снижению синтеза NO. Подавление тонической продукции NO само по себе приводит к усилению воспалительных и тромботических процессов в сосудах [37]. Эти процессы усиливаются в условиях дефицита субстрата, т.к. терминальным акцептором электронов вместо L-аргинина становится кислород, и eNOS синтезирует большие количества супероксидного анион-радикала – $^{\bullet}O_2^-$. Взаимодействие $^{\bullet}O_2^-$ с NO приводит к образованию пероксинитрита ($ONOO^-$), который окисляет BH_4 до BH_2, что, в свою очередь, становится причиной нарушения структуры eNOS и амплификации процесса. Гиперпродукция $^{\bullet}O_2^-$ и $ONOO^-$ приводит к активации ЭК,

индукции экспрессии адгезионных молекул и развитию воспаления [36]. Высокие концентрации АФК обладают цитотоксическим и мутагенным действием, вызывают старение и апоптоз ЭК, что увеличивает риски развития атеросклероза и гипертонии [38]. Таким образом, фосфорилирование диссоциированного фермента по активирующим сайтам может быть одним из факторов развития окислительного стресса, воспаления, коагуляции и нарушения регуляции тонуса сосудов – поэтому функциональная активность eNOS в условиях дефицита субстрата должна ингибироваться. Однако при патологиях, связанных с эндотелиальной дисфункцией, нередко снижение продукции NO наблюдается на фоне активации фермента [39].

Абсолютный дефицит субстрата eNOS. В ряде исследований на культурах клеток и лабораторных животных было показано, что активность eNOS зависит от концентрации внеклеточного L-аргинина [9, 10]. Синтез NO в культуре клеток вены пупочного канатика человека (HUVECs) зависел от концентрации L-аргинина в культуральной среде, т.к. в условиях дефицита L-аргинина индуцированная под влиянием основного фактора роста фибробластов bFGF продукция NO полностью ингибировалась, а при добавлении экзогенного L-аргинина происходило восстановление продукции этого метаболита [40]. В экспериментах на ЭК линии EA.hy926 было показано, что в случае частичного удаления транспортера L-аргинина CAT-1 происходило снижение продукции NO этими клетками [41]. В литературе описаны результаты исследования состояния сердечно-сосудистой системы человека с редким генетическим нарушением эндогенного метаболизма L-аргинина. В плазме данного пациента концентрация L-аргинина была снижена на 79% по сравнению с референсными значениями вследствие мутации гена *SLC7A7*, кодирующего аминокислотный транспортер y+LAT-1. Следствиями дефицита L-аргинина явились развитие ишемии миокарда, нарушение вазомоторной функции сосудов, снижение абсолютного количества тромбоцитов, повышение концентрации комплекса тромбин–антитромбин III и продуктов распада фибрина в плазме [42]. Полученные в данном исследовании результаты вызывают ряд вопросов. В частности, отсутствие аминокислотного транспортера y+LAT-1 может приводить к нарушению транспорта не только L-аргинина, но и ряда других аминокислот. Таким образом, выявленные у данного пациента изменения могли быть вызваны различными причинами. С другой стороны, ожидаемые при дефиците L-аргинина изменения у пациента не развивались [42]. Несмотря на невозможность однозначной трактовки, это единичное наблюдение свидетельствует о важной роли L-аргинина и NO в поддержании гомеостаза сосудов.

Учитывая, что эукариотические клетки в основном находятся в микроокружении с избыточным содержанием питательных веществ, кажется маловероятной ситуация, в которой эндотелий сосудов будет испытывать дефицит одной условно заменимой аминокислоты. Тем не менее снижение концентрации L-аргинина крови, вызванное действием аргинин-метаболизирующих ферментов (аргиназ и iNOS), описано при гемолизе [43], сепсисе [44], хирургических травмах [45], легочной артериальной гипертензии [46], а также в модели болезни Альцгеймера у мышей [47] и рассматривается как одна из возможных причин развития эндотелиальной дисфункции [48].

Относительный дефицит субстрата eNOS. Замечено, что при введении добавки L-аргинина усиление продукции NO происходит на фоне достаточно высокой для обеспечения потребностей eNOS концентрации внутриклеточного L-аргинина. Это показывает, что eNOS имеет ограниченный доступ к внутриклеточному L-аргинину и использует для синтеза NO преимущественно внеклеточный пул аминокислоты. Данное явление получило в литературе название «аргининовый парадокс» [41]. Для объяснения «аргининового парадокса» было выдвинуто две гипотезы, каждая из которых предполагает наличие в ЭК механизма, призванного регулировать биодоступность субстрата для eNOS [41].

Асимметричный диметиларгинин (АДМА) – эндогенный ингибитор eNOS, который ограничивает доступ фермента к L-аргинину и продукцию NO, даже при достаточной концентрации аргинина в клетке [49]. АДМА подавляет активность eNOS, конкурируя с L-аргинином за связывание с активным центром фермента [50] и с аминокислотным транспортером CAT, снижая поступление L-аргинина в клетку [51]. Ингибирующий эффект АДМА в отношении eNOS может преодолеваться только при относительном избытке L-аргинина [49]. Повышение концентрации АДМА наблюдается при разных патологиях (преэклампсия, диабет, гипертония), связанных с эндотелиальной дисфункцией [52, 53]. Продукция АДМА также усиливается в апоптотических и стареющих ЭК [54].

АДМА является эндогенным продуктом деградации метилированных белков. Метилирование остатков L-аргинина в белках катализирует семейство ферментов протеинаргининметилтрансфераз (PRMTs), которые используют S-аденозилметионин как источник метильных групп [55]. Повышение экспрессии генов PRMTs в ЭК

происходит под влиянием окисленных липопротеинов низкой плотности (ЛНП) [56]. Гиперпродукция NO при воспалении приводит к S-нитрозилированию цистеина в активном центре диметиларгинин диметиламиногидролазы (ДДАГ) – фермента, катализирующего деградацию АДМА до L-цитруллина и диметиламина [57]. Ингибирование ДДАГ не только тормозит катаболизм АДМА [58], но также снижает продукцию L-цитруллина, который может использоваться аргининосукцинатсинтазами (АСС) и аргининосукцинатлиазами (АСЛ) как предшественник для ресинтеза L-аргинина [59]. Колокализация eNOS в кавеолах с АСС и АСЛ облегчает доступ фермента к L-аргинину, ресинтезированному из L-цитруллина. Немаловажным является тот факт, что L-цитруллин действует как сильный аллостерический ингибитор аргиназы [59].

Аргиназа катализирует реакцию гидролиза L-аргинина до мочевины и L-орнитина. Сродство eNOS к субстрату характеризуется константой Михаэлиса K_m = 2 мкМ, т.е. в 1000 раз выше, чем у аргиназ, для которых K_m = 2 мМ. Однако скорость реакции (V_{max}) аргиназ в 1000 раз больше, чем у eNOS [60]. Поэтому при дефиците внутриклеточного L-аргинина благодаря большей скорости реакции (V_{max}), осуществляемой аргиназой II, равновесие смещается в сторону продукции полиаминов, а продукция NO снижается [17, 41]. Ингибирование eNOS дополнительно усиливается промежуточным продуктом метаболизма аргиназы – спермином, который препятствует выбросу кальция из митохондрий, а также CAMKII-опосредованной активации eNOS [61]. На этих данных основывается вторая, предложенная для объяснения «аргининового парадокса» гипотеза «разных внутриклеточных пулов аргинина». Предполагают, что внеклеточный пул L-аргинина в основном используется eNOS для продукции NO, в то время как внутриклеточный пул одинаково доступен и для eNOS, и для аргиназы. Поэтому при повышении активности аргиназ развивается относительный дефицит субстрата для eNOS и снижение продукции NO. Гипотеза «разных внутриклеточных пулов аргинина» объясняет и «аргининовый парадокс», и конкурентное подавление активности eNOS аргиназой [60].

Действительно, активность аргиназы и eNOS регулируется реципрокно [61]. На культуре стареющих ЭК человека и на эндотелии аорты пожилых мышей было показано, что повышение экспрессии гена, синтеза белка и активности аргиназы II приводит к диссоциации eNOS, способствует старению ЭК с усилением экспрессии адгезионных молекул. Напротив, shRNA-сайленсинг аргиназы II или разрушение гена аргиназы II восстанавливает функцию eNOS и снижает экспрессию маркеров старения эндотелия. Повышение экспрессии гена аргиназы II в культуре «молодых» ЭК индуцирует их старение и характерный для этого состояния фенотип клеток [62].

В ЭК человека экспрессируется две изоформы аргиназ с разной локализацией в клетке. Аргиназа I является цитозольной формой, аргиназа II локализована в митохондриях и является преобладающей изоформой в ЭК [60, 63]. Активацию аргиназ индуцируют повреждающие и провоспалительные факторы – окисленные липопротеины низкой плотности, пероксинитрит [64], липополисахариды, цитокины (TNF-α, IFN-γ), 8-бромо-цГМФ, тромбин [65] и гипоксия [66]. Часто развитие эндотелиальной дисфункции сопровождается одновременным усилением активности аргиназы и продукции АДМА [26, 67]. АДМА усиливает активность аргиназы, высвобождая L-аргинин внутриклеточного пула и снижая продукцию N-гидроксиL-аргинина – промежуточного продукта метаболизма eNOS, подавляющего активность аргиназы [61].

РОЛЬ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ СЕНСОРОВ L-АРГИНИНА В РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ eNOS

Аминокислоты являются структурными единицами белков, поэтому их биодоступность влияет на анаболические процессы в клетках. В настоящее время ведется активный поиск и изучение сенсоров аминокислот и внутриклеточных сигнальных путей, интегрирующих и конвертирующих сигналы от этих сенсоров. Наибольший интерес представляют сенсоры в рамках сигнального пути серин/треонин-протеинкиназы mTOR, который не только регулирует процессы анаболизма, клеточный рост и пролиферацию [68], но также контролирует активность ферментов, метаболизирующих L-аргинин [19, 20]. mTOR входит в состав двух сигнальных белковых комплексов mTORC1 и mTORC2, выполняющих в клетке разные, но частично пересекающиеся функции [68]. В литературе накапливается все больше данных, доказывающих зависимость активации сигнального комплекса mTORC1 от биодоступности аминокислот [69]. В рамках mTORC1 обнаружены сигнальные сенсоры аминокислот – SLC38A9 и CASTOR1 [18, 69].

Примечательно, что если CASTOR1 является сигнальной молекулой, то SLC38A9 относится к трансцепторам, т.е. является одновременно ли-

зосомальным транспортером и рецептором L-аргинина [70]. Недавние исследования показывают, что от биодоступности L-аргинина в клетке критически зависит активность mTORC1 внутриклеточного сигнального пути, по крайней мере, в недифференцированных стволовых клетках эмбрионов человека hESC и в клетках перевиваемых линий HeLa, MEF, HEK293T, U2OS, MRC5 [18]. Направленных исследований влияния дефицита L-аргинина на регуляцию mTOR в ЭК не проводилось. В литературе описаны только косвенные данные, указывающие на возможную роль L-аргинина в регуляции mTORC1 и функциональной активности ЭК. Было показано, что дефицит L-аргинина вызывает снижение пролиферации, адгезии [71, 72], миграции ЭК [73, 74], подавление формирования капилляроподобных структур на матригеле *in vitro* [75] и ангиогенеза *in vivo* [40, 75]. Возможность позитивной регуляции mTOR под влиянием L-аргинина указывает на важную роль аминокислоты в поддержании гомеостатических функций эндотелиальных клеток.

Вместе с тем, согласно многочисленным данным литературы, активация mTOR сопровождает множество патологических состояний, связанных с эндотелиальной дисфункцией (таблица) [76]. Как было показано *in vitro* на культуре HUVECs и *ex vivo* в аортах стареющих крыс, активация mTOR способствует старению ЭК, нарушению структуры eNOS, усилению продукции АФК и снижению продукции NO [77]. Ингибирование этого сигнального пути, напротив, оказывает вазопротекторное действие. Этот эффект был обнаружен у пациентов при трансплантации почки. Применение специфического ингибитора mTOR рапамицина с целью иммуносупрессии снижало случаи гипертонии при данной патологии [78, 79]. Ингибирование mTORC1 *in vivo* путем введения рапамицина усиливало вазодилятацию [80, 81] за счет усиления продукции NO. Было показано, что рапамицин обладает кардиопротекторными свойствами [76] и снижает экспрессию мРНК активационных маркеров эндотелия VCAM-1 и E-селектина на HUVECs [82]. На стареющей культуре ЭК и аорте старых крыс применение рапамицина и ресвератрола восстанавливало функцию eNOS [62]. Стареющий фенотип ЭК аорты мышей C56BL/6J с индуцированным ожирением был обусловлен активацией Akt/mTOR [77]. Ингибирование Akt/mTOR рапамицином восстанавливало пролиферацию ЭК, спрутинг, активность eNOS и вазорелаксацию. *In vivo* это коррелировало с усилением процесса ангиогенеза, восстановлением тока крови и увеличением плотности капилляров после ишемии нижних конечностей [77]. Ингибирование mTORC1 рапамицином при изменении кровотока дозозависимо повышало базальный уровень экспрессии eNOS сонной артерии у мышей [77].

Примечательно, что mTORC1 активирует как eNOS, так и аргиназу, несмотря на то что эти ферменты реципрокно регулируют активность друг друга (рис. 2). Активация mTOR приводит к фосфорилированию eNOS по S1177 [19]. Это усиливает взаимодействие eNOS с Ca^{2+}-связывающими белками и делает активность фермента менее зависимой от концентрации внутриклеточного Ca^{2+} [98]. Предполагают также, что комплекс Ca^{2+}–кальмодулин может служить структурой, которая стабилизирует взаимодействие eNOS с mTORC1 [98]. Важно подчеркнуть, что фосфорилирование по активирующему сайту eNOS не обязательно приводит к усилению продукции NO и восстановлению функции эндотелия, напротив, фосфорилирование eNOS по S1177 в случае диссоциации фермента может повышать образование АФК, усиливать окислительный стресс и индуцировать процессы воспаления, ассоциированные со старением клеток [40].

Дополнительным фактором, усугубляющим дисфункцию eNOS, может быть формирование петли обратной положительной связи между аргиназой II и mTORC1 [99]. Гиперактивация mTOR/S6K1 приводит к повышению синтеза и стабилизации мРНК аргиназы II [99]. В недав-

Изменение активности аргинин-зависимых ферментов и продукции их метаболитов при различных патологиях и старении

Патология	Уровень ADMA	Активность аргиназы	Диссоциация eNOS	mTOR	Продукция NO	Продукция АФК
Атеросклероз	↑ [83]	↑ [84]	↑ [85]	↑ [86]	↓ [87]	↑ [87]
Ожирение	↑ [26]	↑ [88]	↑ [20]	↑ [89]	↓ [90]	↑ [90]
Диабет II типа	↑ [26]	↑ [83]	↑ [91]	↑ [18, 91]	↓ [91]	↑ [91]
Гипертензия	↑ [92]	↑ [93]	↑ [94]	↑ [95]	↓ [96]	↑ [97]
Старение	↑ [26]	↑ [92]	↑ [26]	↑ [18]	↓ [96]	↑ [97]

Примечание. В квадратных скобках указаны ссылки на соответствующую литературу.

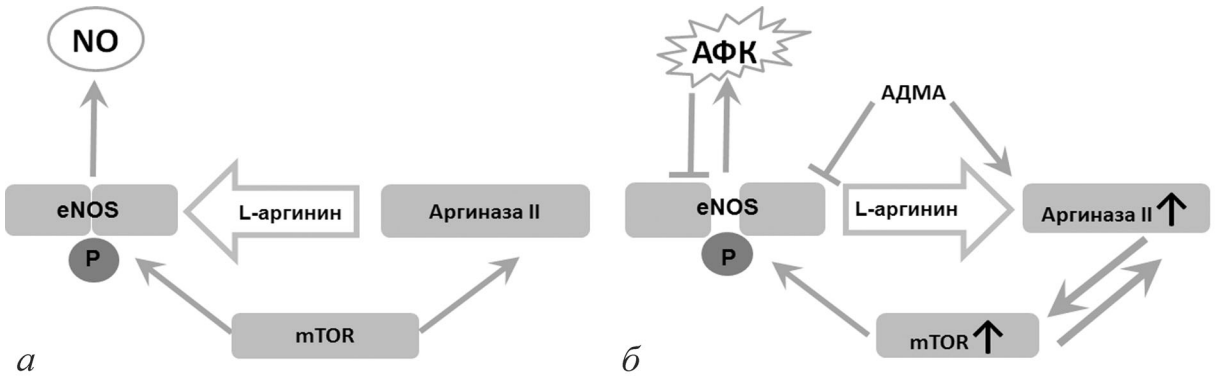

Рис. 2. Нарушение метаболизма аргинина при эндотелиальной дисфункции. *а* – В норме mTOR поддерживает баланс активности аргиназы II и eNOS; *б* – при развитии эндотелиальной дисфункции под действием провоспалительных факторов и окислительного стресса происходит усиление активности аргиназы II, формирование петли взаимной активации между аргиназой и mTOR. В совокупности с усилением продукции АДМА это приводит к созданию относительного дефицита субстрата для eNOS, диссоциации фермента и продукции АФК вместо NO. mTOR-опосредованное фосфорилирование eNOS по активационному сайту S1117 усиливает выработку АФК

них исследованиях на клетках гепатомы мыши AML12 было установлено, что аргиназа II тоже может усиливать активность mTORC1 независимо от гидролиза L-аргинина ферментом [20]. Индукция экспрессии аргиназы II в клетках гепатомы приводила к активации сигнального комплекса mTORC1 за счет его ассоциации с лизосомами, опосредованной неконвенциональным мономерным миозином первого класса (Myo1b) [20]. Было установлено, что взаимодействие Arg II–Myo1b–mTORC1–S6K1 запускает старение и апоптоз гладкомышечных клеток сосудов человека (HSMC) [20]. Аргиназа II активировала TOR/S6K1-сигнальный путь в изолированных мезентериальных артериях у мышей [77]. Предполагают, что синергизм активации аргиназы и mTOR необходим для синхронизации процессов гликолиза и активации ферментов цикла мочевины в клетке [100]. Эти данные ставят под сомнение зависимость mTOR от биодоступности аргинина в ЭК. В противном случае активация аргиназы должна приводить к ингибированию mTOR за счет создания ферментом дефицита внутриклеточного L-аргинина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Многочисленные экспериментальные данные показывают, что нарушение баланса регуляции аргинин-метаболизирующих ферментов с преимущественной активацией аргиназ приводит к диссоциации eNOS, в результате чего фермент вместо вазопротекторного NO производит повышенное количество супероксидного анион-радикала. Этот механизм лежит в основе развития дисфункции сосудов при различных патофизиологических состояниях и старении. Эксперименты, направленные на ингибирование mTOR при эндотелиальной дисфункции, демонстрируют, что этот внутриклеточный сигнальный путь является центральным узлом, ответственным за нарушение баланса метаболизма L-аргинина в ЭК. В случае гиперактивации mTORC1 формируется петля взаимной позитивной регуляции между mTORC1 и аргиназой, что в конечном итоге приводит к нарушению функции eNOS. Функциональное состояние eNOS в ЭК определяется множеством факторов, в ряду которых сигнальные молекулы, биодоступность субстрата, экспрессия молекул, регулирующих конформацию фермента. Данные, накопленные в настоящее время в этой области, в значительной степени противоречивы. Остается непонятным, как аргиназа может вызывать дефицит субстрата для eNOS, если последняя преимущественно использует внеклеточный L-аргинин. Парадоксально, что сигнальный путь mTOR может синергично активировать eNOS и аргиназу, хотя эти ферменты реципрокно регулируют активность друг друга. И еще одно противоречие состоит в том, что дефицит L-аргинина, вызванный аргиназой, подавляет активность eNOS, которая зависит от L-аргинина, но усиливает активацию аргинин-зависимого пути mTOR. Решение перечисленных вопросов необходимо для более полного понимания механизмов развития эндотелиальной дисфункции.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Freed, J. K., and Gutterman, D. D. (2017) Communication is key: mechanisms of intercellular signaling in vasodilation, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **69**, 264-272, doi: 10.1097/FJC.0000000000000463.
2. Tousoulis, D., Kampoli, A. M., Tentolouris, C., Papageorgiou, N., and Stefanadis, C. (2012) The role of nitric oxide on endothelial function, *Curr. Vasc. Pharmacol.*, **10**, 4-18.
3. Huang, P. L., Huang, Z., Mashimo, H., Bloch, K. D., Moskowitz, M. A., et al. (1995) Hypertension in mice lacking the gene for endothelial nitric oxide synthase, *Nature*, **377**, 239-242, doi: 10.1038/377239a0.
4. Moroi, M., Zhang, L., Yasuda, T., Virmani, R., Gold, H. K., Fishman, M. C., and Huang, P. L. (1998) Interaction of genetic deficiency of endothelial nitric oxide, gender, and pregnancy in vascular response to injury in mice, *J. Clin. Invest.*, **101**, 1225-1232, doi: 10.1172/JCI1293.
5. Lefer, D. J., Jones, S. P., Girod, W. G., Baines, A., Grisham, M. B., et al. (1999) Leukocyte-endothelial cell interactions in nitric oxide synthase-deficient mice, *Am. J. Physiol.*, **276**, H1943-H1950, doi: 10.1152/ajpheart.1999.276.6.H1943.
6. Freedman, J. E., Sauter, R., Battinelli, E. M., Ault, K., Knowles, C., Huang, P. L., and Loscalzo, J. (1999) Deficient platelet-derived nitric oxide and enhanced hemostasis in mice lacking the NOSIII gene, *Circ. Res.*, **84**, 1416-1421, doi: 10.1161/01.res.84.12.1416.
7. Kuhlencordt, P. J., Gyurko, R., Han, F., Scherrer-Crosbie, M., Aretz, T. H., et al. (2001) Accelerated atherosclerosis, aortic aneurysm formation, and ischemic heart disease in apolipoprotein E/endothelial nitric oxide synthase double-knockout mice, *Circulation*, **104**, 448-454, doi: 10.1161/hc2901.091399.
8. Ha, J. M., Jin, S. Y., Lee, H. S., Shin, H. K., Lee, D. H., et al. (2016) Regulation of retinal angiogenesis by endothelial nitric oxide synthase signaling pathway, *Kor. J. Physiol. Pharmacol. Official J. Kor. Physiol. Soc. Kor. Pharmacol.*, **20**, 533-538, doi: 10.4196/kjpp.2016.20.5.533.
9. Zani, B. G., and Bohlen, H. G. (2005) Transport of extracellular l-arginine via cationic amino acid transporter is required during *in vivo* endothelial nitric oxide production, *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.*, **289**, H1381-H1390.
10. MacKenzie, A., and Wadsworth, R. M. (2003) Extracellular L-arginine is required for optimal NO synthesis by eNOS and iNOS in the rat mesenteric artery wall, *Br. J. Pharmacol.*, **139**, 1487-1497, doi: 10.1038/sj.bjp.0705380.
11. Oludare, G. O., Jinadu, H. D., and Aro, O. O. (2018) L-arginine attenuates blood pressure and reverses the suppression of angiogenic risk factors in a rat model of preeclampsia, *Pathophysiology*, **25**, 389-395, doi: 10.1016/j.pathophys.2018.08.001.
12. Mariotti, F. (2020) Arginine supplementation and cardiometabolic risk, *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, **23**, 29-34, doi: 10.1097/MCO.0000000000000612.
13. Moretto, J., Guglielmetti, A. S., Tournier-Nappey, M., Martin, H., Prigent-Tessier, A., Marie, C., and Demougeot, C. (2017) Effects of a chronic l-arginine supplementation on the arginase pathway in aged rats, *Exp. Gerontol.,* **90**, 52-60, doi: 10.1016/j.exger.2017.01.023.
14. Kabat, A., and Dhein, S. (2006) L-arginine supplementation prevents the development of endothelial dysfunction in hyperglycaemia, *Pharmacology*, **76**, 185-191.
15. Rodrigues-Krause, J., Krause, M., Rocha, I., Umpierre, D., and Fayh, A. (2018) Association of L-arginine supplementation with markers of endothelial function in patients with cardiovascular or metabolic disorders: a systematic review and meta-analysis, *Nutrients*, **11**, 15, doi: 10.3390/nu11010015.
16. Xiong, Y., Fru, M. F., Yu, Y., Montani, J. P., Ming, X. F., and Yang, Z. (2014) Long term exposure to L-arginine accelerates endothelial cell senescence through arginase-II and S6K1 signaling, *Aging (Albany NY)*, **6**, 369-379, doi: 10.18632/aging.100663.
17. Morris, S. M., Jr. (2016) Arginine metabolism revisited, *J. Nutr.*, **146**, 2579S-2586S, doi: 10.3945/jn.115.226621.
18. Saxton, R. A., and Sabatini, D. M. (2017) mTOR signaling in growth, metabolism, and disease, *Cell*, **168**, 960-976, doi: 10.1016/j.cell.2017.02.004.
19. Decker, B., and Pumiglia, K. (2018) mTORc1 activity is necessary and sufficient for phosphorylation of $eNOS^{S1177}$, *Physiol. Rep.*, **6**, e13733, doi: 10.14814/phy2.13733.
20. Yu, Y., Xiong, Y., Montani, J. P., Yang, Z., and Ming, X. F. (2018) Arginase-II activates mTORC1 through myosin-1b in vascular cell senescence and apoptosis, *Cell Death Dis.*, **9**, 313, doi: 10.1038/s41419-018-0356-9.
21. Rafikov, R., Fonseca, F. V., Kumar, S., Pardo, D., Darragh, C., Elms, S., and Black, S. M. (2011) eNOS activation and NO function: structural motifs responsible for the posttranslational control of endothelial nitric oxide synthase activity, *J Endocrinol.*, **210**, 271-284, doi: 10.1530/JOE-11-0083.
22. Govers, R., and Rabelink, T. J. (2001) Cellular regulation of endothelial nitric oxide synthase, *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.*, **280**, F193-F206.
23. Murthy, S., Koval, O. M., Ramiro Diaz, J. M., Kumar, S., Nuno, D., et al. (2017) Endothelial CaMKII as a regulator of eNOS activity and NO-mediated vasoreactivity, *PLoS One*, **12**, e0186311, doi: 10.1371/journal.pone.0186311.
24. Lee, M. Y., Gamez-Mendez, A., Zhang, J., Zhuang, Z., Vinyard, D. J., et al. (2018) Endothelial cell autonomous role of Akt1: regulation of vascular Tone and ischemia-induced arteriogenesis, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **38**, 870-879, doi: 10.1161/ATVBAHA.118.310748.
25. Cacicedo, J. M., Gauthier, M. S., Lebrasseur, N. K., Jasuja, R., Ruderman, N. B., and Ido, Y. (2011) Acute exercise activates AMPK and eNOS in the mouse aorta, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **301**, H1255-H1265, doi: 10.1152/ajpheart.01279.2010.
26. Vanhoutte, P. M., Zhao, Y., Xu, A., and Leung, S. W. S. (2016) Thirty years of saying NO: sources, fate, actions, and misfortunes of the endothelium-derived vasodilator mediator, *Circ. Res. Am. Heart Assoc.*, **119**, 375-396, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.306531.
27. Ghimire, K., Altmann, H. M., Straub, A. C., and Isenberg, J. S. (2017) Nitric oxide: what's new to NO? *Am. J. Physiology*, **312**, C254-C262, doi: 10.1152/ajpcell.00315.2016.
28. Bibli, S. I., Zhou, Z., Zukunft, S., Fisslthaler, B., Andreadou, I., et al. (2017) Tyrosine phosphorylation of eNOS regulates myocardial survival after an ischaemic insult: role of PYK2, *Cardiovasc. Res.*, **113**, 926-937, doi: 10.1093/cvr/cvx058.
29. Förstermann, U., and Sessa, W. C. (2012) Nitric oxide synthases: regulation and function, *Eur. Heart J.*, **33**, 829-837, 837a-837d, doi: 10.1093/eurheartj/ehr304.
30. Sugimoto, M., Nakayama, M., Goto, T. M., Amano, M., Komori, K., and Kaibuchi, K. (2007) Rho-kinase phosphorylates eNOS at threonine 495 in endothelial cells, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **361**, 462-467, doi: 10.1016/j.bbrc.2007.07.030
31. Chen, Z. P., Mitchelhill, K. I., Michell, B. J., Stapleton, D., Rodriguez-Crespo, I., et al. (1999) AMP-

activated protein kinase phosphorylation of endothelial NO synthase, *FEBS Lett.*, **443**, 285-289.
32. Greif, D. M., Sacks, D. B., and Michel, T. (2004) Calmodulin phosphorylation and modulation of endothelial nitric oxide synthase catalysis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 1165-1170, doi: 10.1073/pnas.0306377101.
33. Oliveira-Paula, G. H., Lacchini, R., and Tanus-Santos, J. E. (2016) Endothelial nitric oxide synthase: From biochemistry and gene structure to clinical implications of NOS3 polymorphisms, *Gene*, **575 (2 Pt 3)**, 584-599, doi: 10.1016/j.gene.2015.09.061.
34. Gebhart, V., Reiß, K., Kollau, A., Mayer, B., and Gorren, A. (2019). Site and mechanism of uncoupling of nitric-oxide synthase: Uncoupling by monomerization and other misconceptions. Nitric oxide: biology and chemistry, **89**, 14-21. https://doi.org/10.1016/j.niox.2019.04.007
35. Luo, S., Lei, H., Qin, H., and Xia, Y. (2014) Molecular mechanisms of endothelial NO synthase uncoupling. *Curr. Pharm. Des.*, **20**, 3548-3553, doi: 10.2174/13816128113196660746.
36. Li, H., and Förstermann, U. (2017) *Nitric Oxide (Third Edition), Biology and Pathobiology*, 117-124, doi: 10.1016/B978-0-12-804273-1.00009-0.
37. Sharma, J. N., Al-Omran, A., and Parvathy, S. S. (2007) Role of nitric oxide in inflammatory diseases, *Inflammopharmacology*, **15**, 252-259, doi: 10.1007/s10787-007-0013-x.
38. Liang, P., Jiang, B., Li, Y., Liu, Z., Zhang, P., et al. (2018) Autophagy promotes angiogenesis via AMPK/Akt/mTOR signaling during the recovery of heat-denatured endothelial cells, *Cell Death Dis.*, **9**, 1152, doi: 10.1038/s41419-018-1194-5.
39. Vanhoutte, P. M. (2018) Nitric oxide: from good to bad, *Ann. Vasc. Dis.*, **11**, 41-51, doi: 10.3400/avd.ra.17-00134.
40. Park, I. S., Kang, S. W., Shin, Y. J., Chae, K. Y., Park, M. O., et al. (2003) Arginine deiminase: a potential inhibitor of angiogenesis and tumour growth, *Br. J. Cancer*, **89**, 907-914, doi: 10.1038/sj.bjc.6601181.
41. Chen, F., Lucas, R., and Fulton, D. (2013) The subcellular compartmentalization of arginine metabolizing enzymes and their role in endothelial dysfunction, *Front Immunol.*, **4**, 184, doi: 10.3389/fimmu.2013.00184.
42. Loscalzo, J. (2001) An experiment of nature: genetic L-arginine deficiency and NO insufficiency, *J. Clin. Invest.*, **108**, 663-664, doi: 10.1172/JCI13848.
43. Morris, C. R., Kato, G. J., Poljakovic, M., Wang, X., Blackwelder, W. C., et al. (2005) Dysregulated arginine metabolism, hemolysis-associated pulmonary hypertension, and mortality in sickle cell disease, *JAMA*, **294**, 81-90, doi: 10.1001/jama.294.1.81.
44. Luiking, Y. C., and Deutz, N. E. (2007) Exogenous arginine in sepsis, *Crit. Care. Med.*, **35**, 557-563, doi: 10.1097/01.CCM.0000279191.44730.A2.
45. Pribis, J. P., Zhu, X., Vodovotz, Y., and Ochoa, J. B. (2012) Systemic arginine depletion after a murine model of surgery or trauma, *J. Parenter. Enteral. Nutr.*, **36**, 53-59, doi: 10.1177/0148607111414579.
46. Kao, C., Wedes, S., Hsu, J., Bohren, K., Comhair, S., Jahoor, F., and Erzurum, S. (2015) Arginine metabolic endotypes in pulmonary arterial hypertension, *Pulmonary Circ.*, **5**, 124-134, doi: 10.1086/679720.
47. Kan, M. J., Lee, J. E., Wilson, J. G., Everhart, A. L., Brown, C. M., et al. (2015) Arginine deprivation and immune suppression in a mouse model of Alzheimer's disease, *J. Neurosci.*, **35**, 5969-5982, doi: 10.1523/JNEUROSCI.4668-14.2015.
48. Morris, S. M., Jr. (2012) Arginases and arginine deficiency syndromes, *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, **15**, 64-70, doi: 10.1097/MCO.0b013e32834d1a08.
49. Di Franco, M., Lucchino, B., Conti, F., Valesini, G., and Spinelli, F. R. (2018) Asymmetric dimethyl arginine as a biomarker of atherosclerosis in rheumatoid arthritis, *Mediat. Inflamm.*, **2018**, 3897295, doi: 10.1155/2018/3897295.
50. Jung, C. H., Lee, W. J., Hwang, J. Y., Lee, M. J., Seol, S. M., et al. (2012) Vaspin increases nitric oxide bioavailability through the reduction of asymmetric dimethylarginine in vascular endothelial cells, *PLoS One*, **7**, e52346, doi: 10.1371/journal.pone.0052346.
51. Watson, C. P., Pazarentzos, E., Fidanboylu, M., Padilla, B., Brown, R., and Thomas, S. A. (2016) The transporter and permeability interactions of asymmetric dimethylarginine (ADMA) and L-arginine with the human blood-brain barrier *in vitro*, *Brain Res.*, **1648 (Pt A)**, 232-242, doi: 10.1016/j.brainres.2016.07.026.
52. Yokoro, M., Minami, M., Okada, S., Yano, M., Otaki, N., Ikeda, H., and Fukuo, K. (2018) Urinary sodium-to-potassium ratio and serum asymmetric dimethylarginine levels in patients with type 2 diabetes, *Hypertens. Res.*, **41**, 913-922, doi: 10.1038/s41440-018-0098-1.
53. Gać, P., Poręba, M., Jurdziak, M., Trzmielewska, E., Gocławska, K., et al. (2020) Cardiovascular risk factors and the concentration of asymmetric dimethylarginine, *Adv. Clin. Exp. Med.*, **29**, 63-70, doi: 10.17219/acem/111808.
54. Hou, L., Guo, J., Xu, F., Weng, X., Yue, W., and Ge, J. (2018) Cardiomyocyte dimethylarginine dimethylaminohydrolase1 attenuates left-ventricular remodeling after acute myocardial infarction: involvement in oxidative stress and apoptosis, *Basic Res. Cardiol.*, **113**, 28, doi: 10.1007/s00395-018-0685-y.
55. Fulton, M. D., Brown, T., and Zheng, Y. G. (2019) The biological axis of protein arginine methylation and asymmetric dimethylarginine, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, 3322, doi: 10.3390/ijms20133322.
56. Wielkoszyński, T., Zalejska-Fiolka, J., Strzelczyk, J. K., Owczarek, A. J., Cholewka, A., Furmański, M., and Stanek, A. (2018) Oxysterols increase inflammation, lipid marker levels and reflect accelerated endothelial dysfunction in experimental animals, *Mediators Inflamm.*, **2018**, 2784701, doi: 10.1155/2018/2784701.
57. Knipp, M., Braun, O., Gehrig, P. M., Sack, R., and Vasák, M. (2003) Zn(II)-free dimethylargininase-1 (DDAH-1) is inhibited upon specific Cys-S-nitrosylation, *J. Biol. Chem.*, **278**, 3410-3416.
58. Bollenbach, A., and Tsikas, D. (2019) Pharmacological activation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH) activity by inorganic nitrate and DDAH inhibition by NG-hydroxy-L-arginine, Nω,Nω-dimethyl-L-citrulline and Nω,Nω-dimethyl-Nδ-hydroxy-L-citrulline: results and overview, *Amino Acids*, **51**, 483-494, doi: 10.1007/s00726-018-2684-6.
59. Morita, M., Hayashi, T., Ochiai, M., Maeda, M., Yamaguchi, T., Ina, K., and Kuzuya, M. (2014) Oral supplementation with a combination of L-citrulline and L-arginine rapidly increases plasma L-arginine concentration and enhances NO bioavailability, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **454**, 53-57, doi: 10.1016/j.bbrc.2014.10.029.
60. Elms, S., Chen, F., Wang, Y., Qian, J., Askari, B., et al. (2013) Insights into the arginine paradox: evidence against the importance of subcellular location of arginase and eNOS, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **305**, H651-666, doi: 10.1152/ajpheart.00755.2012.
61. Koo, B. H., Won, M. H., Kim, Y. M., and Ryoo, S. (2020) p32-dependent p38 MAPK Activation by arginase II downregulation contributes to endothelial nitric oxide synthase activation in HUVECs, *Cells*, **9**, 392, doi: 10.3390/cells9020392.

62. Rajapakse, A. G., Yepuri, G., Carvas, J. M., Stein, S., Matter, C. M., et al. (2011) Hyperactive S6K1 mediates oxidative stress and endothelial dysfunction in aging: inhibition by resveratrol, *PLoS One*, **6**, e19237, doi: 10.1371/journal.pone.0019237.
63. Morris, S. M., Jr. (2009) Recent advances in arginine metabolism: roles and regulation of the arginases, *Br. J. Pharmacol.*, **157**, 922-930, doi: 10.1111/j.1476-5381.2009.00278.x.
64. Chandra, S., Romero, M. J., Shatanawi, A., Alkilany, A. M., Caldwell, R. B., and Caldwell, R. W. (2012) Oxidative species increase arginase activity in endothelial cells through the RhoA/Rho kinase pathway, *Br. J. Pharmacol.*, **165**, 506-519, doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01584.x.
65. Ming, X. F., Barandier, C., Viswambharan, H., Kwak, B. R., Mach, F., et al. (2004) Thrombin stimulates human endothelial arginase enzymatic activity via RhoA/ROCK pathway: implications for atherosclerotic endothelial dysfunction, *Circulation*, **110**, 3708-3714, doi: 10.1161/01.CIR.0000142867.26182.32.
66. Morris, S. M., Jr., Kepka-Lenhart, D., and Chen, L. C. (1998) Differential regulation of arginases and inducible nitric oxide synthase in murine macrophage cells, *Am. J. Physiol.*, **275**, E740-747, doi: 10.1152/ajpendo.1998.275.5.E740.
67. Chandrasekharan, U. M., Wang, Z., Wu, Y., Tang, W., Hazen, S. L., Wang, S., and Husni, M. E. (2018) Elevated levels of plasma symmetric dimethylarginine and increased arginase activity as potential indicators of cardiovascular comorbidity in rheumatoid arthritis, *Arthritis Res. Ther.*, **20**, 123, doi: 10.1186/s13075-018-1616-x.
68. Liu, G. Y., and Sabatini, D. M. (2020) mTOR at the nexus of nutrition, growth, ageing and disease, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **21**, 183-203, doi: 10.1038/s41580-019-0199-y.
69. Jung, J. W., Kim, J. E., Kim, E., and Lee, J. W. (2020) Amino acid transporters as tetraspanin TM4SF5 binding partners, *Exp. Mol. Med.*, **52**, 7-14, doi: 10.1038/s12276-019-0363-7.
70. Scalise, M., Galluccio, M., Pochini, L., Cosco, J., Trotta, M., et al. (2019) Insights into the transport side of the human SLC38A9 transceptor, *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.*, **1861**, 1558-1567, doi: 10.1016/j.bbamem.2019.07.006.
71. Starikova, E. A., Lebedeva, A. M., Burova, L. A., and Freidlin, I. S. (2012) Regulation of endothelial cells functions by ultrasonic supernatant of *Streptococcus pyogenes*, *Tsitologiya*, **1**, 49-46.
72. Starikova, E. A., Sokolov, A. V., Vlasenko, A. Y., Burova, L. A., Freidlin, I. S., and Vasilyev, V. B. (2016) Biochemical and biological activity of arginine deiminase from Streptococcus pyogenes M22, *Biochem. Cell Biol.*, **94**, 129-137, doi: 10.1139/bcb-2015-0069.
73. Starikova, E. A., Mammedova, J. T., Burova, L. A., Sokolov, A. V., Vasilyev, V. B., and Freidlin, I. S. (2017) Effect of arginine deiminase from *Streptococcus pyogenes* on cytoskeleton structure and migration activity of human endothelial cells, *Meditsinskaya Immunologiya*, **19**, 521-528, doi: 10.15789/1563-0625-2017-5-521-528.
74. Mammedova, J. T., Starikova, E. A., Burova, L. A., Malashicheva, A. B., Semenova, D. S., and Freidlin, I. S. (2017) Effect of arginine deiminase from *Streptococcus pyogenes* on proliferation and migration of human umbilical vein endothelial cells, *Tsitokiny Vospaleniye*, **3**, 48-51.
75. Beloussow, K., Wang, L., Wu, J., Ann, D., and Shen, W. C. (2002) Recombinant arginine deiminase as a potential antiangiogenic agent, *Cancer Lett.*, **183**, 155-162, doi: 10.1016/S0304-3835(01)00793-5.
76. Donato, A. J., Machin, D. R., and Lesniewski, L. A. (2018) Mechanisms of dysfunction in the aging vasculature and role in age-related disease, *Circ. Res.*, **123**, 825-848, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.118.312563.
77. Galvan, V., and Hart, M. J. (2016) Vascular mTOR-dependent mechanisms linking the control of aging to Alzheimer's disease, *Biochim. Biophys. Acta*, **1862**, 992-1007, doi: 10.1016/j.bbadis.2015.11.010.
78. Johnson, R. W., Kreis, H., Oberbauer, R., Brattstrom, C., Claesson, K., and Eris, J. (2001) Sirolimus allows early cyclosporine withdrawal in renal transplantation resulting in improved renal function and lower blood pressure, *Transplantation*, **72**, 777-786.
79. Lebranchu, Y., Thierry, A., Toupance, O., Westeel, P. F., Etienne, I., et al. (2009) Efficacy on renal function of early conversion from cyclosporine to sirolimus 3 months after renal transplantation: concept study, *Am. J. Transplant.*, **9**, 1115-1123.
80. Carrizzo, A., Puca, A., Damato, A., Marino, M., Franco, E., et al. (2013) Resveratrol improves vascular function in patients with hypertension and dyslipidemia by modulating NO metabolism, *Hypertension*, **62**, 359-366, doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.01009.
81. Gordish, K. L, and Beierwaltes, W. H. (2014) Resveratrol induces acute endothelium-dependent renal vasodilation mediated through nitric oxide and reactive oxygen species scavenging, *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.*, **306**, F542-550.
82. Gholizadeh, S., Visweswaran, G. R. R., Storm, G., Hennink, W. E., Kamps, J. A. A. M., and Kok, R. J. (2018) E-selectin targeted immunoliposomes for rapamycin delivery to activated endothelial cells, *Int. J. Pharm.*, **548**, 759-770, doi: 10.1016/j.ijpharm.2017.10.027.
83. Mangiacapra, F., Conte, M., Demartini, C., Muller, O., Delrue, L., et al. (2016) Relationship of asymmetric dimethylarginine (ADMA) with extent and functional severity of coronary atherosclerosis, *Int. J. Cardiol.*, **220**, 629-633, doi: 10.1016/j.ijcard.2016.06.254.
84. Mahdi, A., Kövamees, O., and Pernow, J. (2020) Improvement in endothelial function in cardiovascular disease – Is arginase the target? *Int. J. Cardiol.*, **301**, 207-214, doi: 10.1016/j.ijcard.2019.11.004.
85. Montezano, A. C., and Touyz, R. M. (2012) Reactive oxygen species and endothelial function – role of nitric oxide synthase uncoupling and Nox family nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidases, *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.*, **110**, 87-94, doi: 10.1111/j.1742-7843.2011.00785.x.
86. Kurdi, A., De Meyer, G. R., and Martinet, W. (2016) Potential therapeutic effects of mTOR inhibition in atherosclerosis, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **82**, 1267-1279, doi:10.1111/bcp.12820
87. Marchio, P., Guerra-Ojeda, S., Vila, J. M., Aldasoro, M., Victor, V. M., and Mauricio, M. D. (2019) Targeting early atherosclerosis: a focus on oxidative stress and inflammation, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, **2019**, 8563845, doi: 10.1155/2019/8563845.
88. Arlouskaya, Y., Sawicka, A., Głowala, M., Giebułtowicz, J., Korytowska, N., et al. (2019) Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) and Symmetric Dimethylarginine (SDMA) concentrations in patients with obesity and the risk of Obstructive Sleep Apnea (OSA), *J. Clin. Med.*, **8**, 897, doi: 10.3390/jcm8060897.
89. Jia, G., Aroor, A. R., Martinez-Lemus, L. A., and Sowers, J. R. (2014) Overnutrition, mTOR signaling, and cardiovascular diseases, *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Compar. Physiol.*, **307**, R1198-R1206, doi: 10.1152/ajpregu.00262.2014.
90. Oguntibeju, O. O. (2019) Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links, *Int. J. Physiol. Pathophysiol. Pharmacol.*, **11**, 45-63.

91. Daiber, A., Xia, N., Steven, S., Oelze, M., Hanf, A., et al. (2019) New therapeutic implications of endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) function/dysfunction in cardiovascular disease, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, 187, doi: 10.3390/ijms20010187.
92. Sandqvist, A., Schneede, J., Kylhammar, D., Henrohn, D., Lundgren, J., et al. (2018) Plasma L-arginine levels distinguish pulmonary arterial hypertension from left ventricular systolic dysfunction, *Heart Vessels*, **33**, 255-263, doi: 10.1007/s00380-017-1055-7.
93. Rabelo, L. A., Ferreira, F. O., Nunes-Souza, V., da Fonseca, L. J., and Goulart, M. O. (2015) Arginase as a critical prooxidant mediator in the binomial endothelial dysfunction-atherosclerosis, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, **2015**, 924860, doi: 10.1155/2015/924860.
94. D'Uscio, L. V. (2011) eNOS uncoupling in pulmonary hypertension. *Cardiovasc. Res.*, **92**, 359-360, doi: 10.1093/cvr/cvr270.
95. Kumar, V., Evans, L. C., Kurth, T., Yang, C., Wollner, C., et al. (2019) Therapeutic suppression of mTOR (Mammalian Target of Rapamycin) signaling prevents and reverses salt-induced hypertension and kidney injury in dahl salt-sensitive rats, *Hypertension*, **73**, 630-639, doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.12378.
96. Bruno, R. M., Masi, S., Taddei, M., Taddei, S., and Virdis, A. (2018) Essential hypertension and functional microvascular ageing, *High Blood Press Cardiovasc. Prev.*, **25**, 35-40, doi: 10.1007/s40292-017-0245-9.
97. Incalza, M. A., D'Oria, R., Natalicchio, A., Perrini, S., Laviola, L., and Giorgino, F. (2018) Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases. *Vascul. Pharmacol.*, **100**, 1-19, doi: 10.1016/j.vph.2017.05.005.
98. McCabe, T. J., Fulton, D., Roman, L. J., and Sessa, W. C. (2000) Enhanced electron flux and reduced calmodulin dissociation may explain "calcium-independent" eNOS activation by phosphorylation, *J. Biol. Chem.*, **275**, 6123-6128.
99. Yepuri, G., Velagapudi, S., Xiong, Y., Rajapakse, A. G., Montani, J. P., et al. (2012) Positive crosstalk between arginase-II and S6K1 in vascular endothelial inflammation and aging, *Aging Cell*, **11**, 1005-1016, doi: 10.1111/acel.12001.
100. Grandvuillemin, I., Buffat, C., Boubred, F., Lamy, E., Fromonot, J., et al. (2018) Arginase upregulation and eNOS uncoupling contribute to impaired endothelium-dependent vasodilation in a rat model of intrauterine growth restriction. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, **315**, R509-R520, doi: 10.1152/ajpregu.00354.2017.

THE MECHANISMS OF L-ARGININE METABOLISM DISORDER IN ENDOTHELIAL CELLS*

Review

J. T. Mammedova, A. V. Sokolov, I. S. Freidlin, and E. A. Starikova**

Federal State Budgetary Scientific Institution "Institute of Experimental Medicine", 197376 Saint-Petersburg; e-mail: starickova@yandex.ru

L-arginine is a key metabolite for nitric oxide production by endothelial cells, as well as signaling molecule of the mTOR signaling pathway. mTOR supports endothelial cells homeostasis and regulates activity of the L-arginine-metabolizing enzymes, endothelial nitric oxide synthase, and arginase II. Disruption of the L-arginine metabolism in endothelial cells leads to the development of endothelial dysfunction. Conflicting results of the use of L-arginine supplement to improve endothelial function reveals a controversial role of the amino acid in the endothelial cell biology. The review is aimed at analysis of the current data on the role of L-arginine metabolism in the development of endothelial dysfunction.

Keywords: L-arginine, endothelium, nitric oxide, eNOS, arginase, mTOR