

УДК 615.272.3:616.379-008.64

РОЛЬ NO-ЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В РЕГУЛЯЦИИ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА И РАЗВИТИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА

© 2022 г. Д. В. Куркин¹, *, Е. Е. Абросимова¹, Д. А. Бакулин¹, Н. С. Ковалев¹, М. А. Дубровина¹, А. В. Борисов², В. И. Петров¹, И. Н. Тюренков¹

¹ФГБОУ ВО Волгоградский государственный медицинский университет Минздрава России, Волгоград, 400131 Россия

²ГБУ Волгоградский медицинский научный центр, Волгоград, 400131 Россия

*e-mail: strannik986@mail.ru

Поступила в редакцию 18.06.2021 г.

После доработки 20.08.2021 г.

Принята к публикации 02.09.2021 г.

Оксид азота выступает в качестве регуляторной молекулы, универсальной для большинства органов и тканей организма. Определена роль данной молекулы в регуляции углеводного обмена, а нарушения в работе NO-ергической системы часто предшествуют развитию многих патологий, в том числе и сахарного диабета. В данном обзоре анализируются современные данные о NO-ергической системе в общем и, главным образом, о роли оксида азота в регуляции углеводного обмена в норме и при патологии.

Ключевые слова: оксид азота, сахарный диабет, инсулинорезистентность, нарушения углеводного обмена

DOI: 10.31857/S0301179822010052

ВВЕДЕНИЕ

Частота случаев возникновения сахарного диабета 2 типа и его осложнений неуклонно растет, особенно среди взрослого трудоспособного населения, что влечет за собой социально-экономические потери. Современная эндокринология располагает алгоритмами эффективной терапии СД2, применение которых позволяет установить надежный контроль над гликемией. Предусмотренные стандартными алгоритмами терапии СД2 гипогликемические средства могут иметь ряд существенных недостатков, снижая приверженность терапии и/или ее эффективность [1]. Например, бигуаниды (метформин) приводят к незначительному увеличению базального и постпрандиального уровня лактата в крови, а также часто вызывает дозозависимые побочные эффекты со стороны ЖКТ (диспепсию, диарею) [22]. Препараты сульфонилмочевины (ПСМ) способствуют гиперинсулинемии, что с течением времени может потенцировать инсулинорезистентность и ограничивать их пользу, также побочным эффектом ПСМ является увеличение массы тела от 2 до 5 кг, что является следствием повышения секреции инсулина [59]. Наиболее опасным побочным действием применения ПСМ является гипогликемия, развитие которой происходит вследствие постоянной стимуляции секре-

ции инсулина и сопровождается адаптационной секрецией адреналина, что в условиях эндотелиальной дисфункции потенциально угрожает развитием микро- и макроангиопатий. Однако в последнее время помимо строгого контроля гликемии, среди основных целей фармакотерапии находится профилактика осложнений, таких как микро- и макроангиопатии, нейро-, нефро-, кардио- и ретинопатии. Существующие препараты с доказанной эффективностью как в отношении уровня глюкозы в крови, так и предотвращения осложнений СД2 (инъекционные и пероральные агонисты ГПП-1, ингибиторы ДПП-4, ингибиторы SGLT-2) доступны не всем категориям пациентов ввиду высокой стоимости и их побочных эффектов. Так, имеются данные, что ингибиторы ДПП-4 демонстрируют небольшую эффективность, определенный риск развития панкреатита, а также незначительное снижение гликированности гемоглобина. При применении ГПП-1 среди побочных эффектов отмечается диспепсия и другие нежелательные явления со стороны ЖКТ [3]. Поэтому поиск высокоэффективных и малотоксичных препаратов для лечения СД 1 и 2 типа остается по-прежнему актуальной проблемой для теоретической и практической медицины.

В 1772 г. химик Д. Пристли в результате химической реакции разбавленной азотной кислоты с

медью получил, изучил и охарактеризовал химические свойства оксида азота. В течение последующих 200 лет этот газ рассматривали исключительно как побочный продукт производства, вредный для окружающей среды и живых организмов. В 1987 г. две отдельные лаборатории — Р. Ферчготта и Дж. Завадски и Луи Дж. Игнарро, который совместно Сальвадором Монкадой [55, 52] независимо друг от друга опубликовали доказательства того, что NO является эндотелий-зависимым фактором релаксации [89].

Оксид азота выступает в качестве сигнальной молекулы, локализуемой во всех органах и тканях, опосредующей в них различные меж- и внутриклеточные взаимодействия как в норме, так и при патологии.

Молекула NO имеет неспаренный электрон на внешней p -орбитали, обладает свойствами свободного радикала, что обуславливает высокую химическую реактивность и короткий период полужизни, составляющий в различных тканях от 0.1 до 10 с. За это время происходит его взаимодействие с мишенями (в основном тиолами и переходными металлами) или же окисление, в частности, цитохром-С-оксидазой до неактивных нитрата и нитрита, или же образование активных форм (нитрозоний, нитроксил, пероксинитрит). Среди факторов, влияющих на длительность активности NO, можно выделить состояние процессов свободнорадикального окисления, к примеру, оксид азота быстро реагирует и инактивируется активными формами кислорода. Малые размеры позволяют NO легко проникать через плазматические мембраны и взаимодействовать с внутриклеточными структурами, выступая в роли внутри- и межклеточного медиатора [4].

За последние годы представления об NO-ергической системе коренным образом поменялись: если первоначально она рассматривалась только с точки зрения ключевого фактора обеспечения гомеостаза сердечно-сосудистой системы, то в последующем установлена ее значительная роль в регуляции различных функций центральной и периферической нервной, эндокринной и иммунной систем, органов дыхания и ЖКТ.

БИОСИНТЕЗ NO

Эндогенный NO, в зависимости от клеточной локализации, образуется в основном ферментативным путем при участии одной из трех изоформ NO-синтаз (NOS), катализирующих серии окислительно-восстановительных реакций, сопровождающихся превращением, в присутствии кислорода и никотинамидадениндинуклеотида (НАДФН), L-аргинина в L-цитруллин и высвобождением NO. Ключевым кофактором всех изоформ NOS является тетрагидробиоптерин (BH4).

Другими кофакторами выступают флавиноадениндинуклеотид (ФАД), флавиномононуклеотид (ФМН) и гем [58].

Процесс синтеза NO универсален для всех изоформ NOS и состоит из двух этапов. На первом этапе NOS гидроксилирует L-аргинин до N ω -гидрокси-L-аргинина (который остается в значительной степени связанным с ферментом). На втором этапе NOS окисляет N ω -гидрокси-L-аргинин до L-цитруллина и NO. Все изоформы NOS связывают кальмодулин. У nNOS и eNOS связывание кальмодулина вызывается увеличением внутриклеточного Ca²⁺ (полуМаксимальная активность между 200 и 400 нМ). Когда средство кальмодулина к NOS увеличивается, облегчается ток электронов от НАДФН в домене редуктазы к гему в домене оксигеназы. В индуцибельной NOS (iNOS) кальмодулин уже связывается при чрезвычайно низких внутриклеточных концентрациях Ca²⁺ (ниже 40 нМ) из-за другой аминокислотной структуры сайта связывания кальмодулина. Все белки NOS содержат кластер цинк–тиолат, образованный ионом цинка, который тетраэдрически координирован с двумя мотивами CysXXXXCys (по одному от каждого мономера) на границе димера NOS. Цинк в NOS выполняет структурную, а не каталитическую функцию (рис. 1).

Деление NOS на изоформы проводят на основании их относительных различий в первичных аминокислотных последовательностях (аминокислотная идентичность всего 50–60%), тканевого или клеточного распределения, способа регуляции. Две изоформы этого фермента (eNOS и nNOS) экспрессируются конститутивно, регулируются посредством связывания кальмодулина и посттрансляционных модификаций. Активность iNOS регулируется на уровне транскрипции, а не Ca²⁺/кальмодулином, поскольку эта изоформа обладает большим средством к кальмодулину и поэтому может связывать его при очень низких концентрациях Ca²⁺. Уникальные свойства каждой изоформы NOS имеют важное значение, поскольку именно величина, продолжительность и клеточная локализация продукции NO определяют ее общий физиологический или патофизиологический эффект [78]. Кинетические параметры iNOS определяют уровень ее каталитической активности и поэтому iNOS продуцирует большее, по сравнению с другими изоформами, количество NO (измеряющееся в наномолях) [7]. Эта изоформа фермента участвует в иммунной защите, воспалительных реакциях и образовании NO эпителием дыхательных путей. Также iNOS практически не чувствительна к NO-зависимому аутоингибированию, что способствует генерации высоких уровней оксида азота с их превращением в токсичные формы, такие как пероксинитрит [92]. В то же время nNOS и eNOS, постоянно произво-

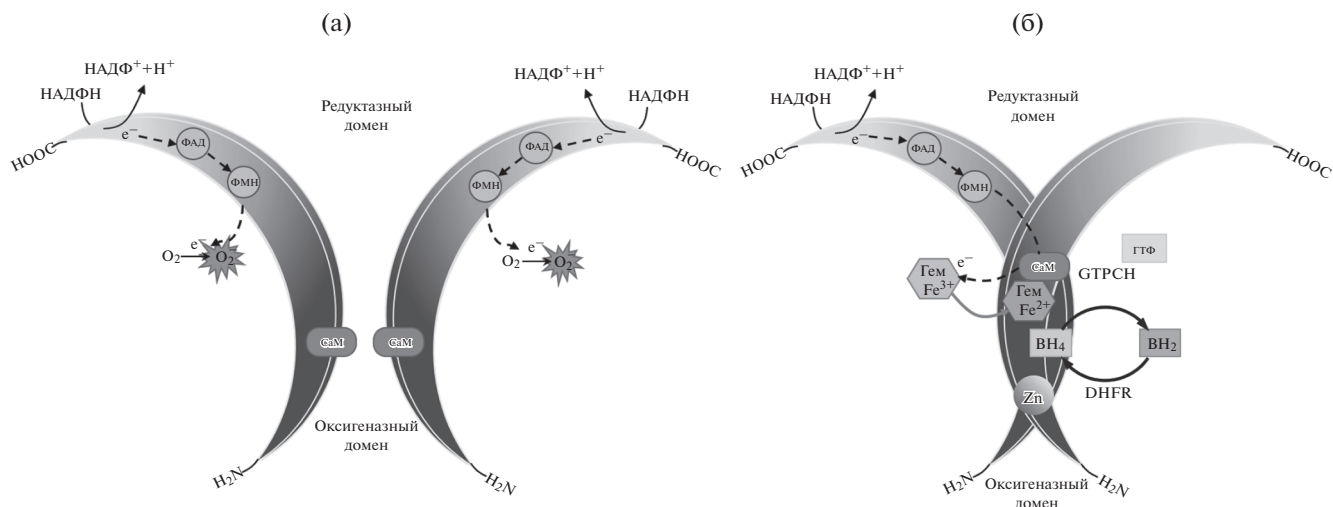


Рис. 1. Работа синтаз оксида азота (универсальна для всех изоформ).

(а) – Мономеры NOS способны переносить электроны от восстановленного НАДФ к ФАД и ФМН и обладают ограниченной способностью восстанавливать молекулярный кислород до супероксида. Мономеры и изолированные редуктазные домены могут связывать кальмодулин, который усиливает перенос электронов внутри него. Мономеры NOS не могут связывать кофактор ВН₄ или субстрат L-аргинин и не может катализировать продукцию NO.

(б) – В присутствии гема NOS может образовывать функциональный димер. Гем необходим для междоменного переноса электронов от флавинов к гему противоположного мономера. Когда присутствует достаточное количество L-аргинина (L-Arg) и ВН₄, образуется полностью функциональная NOS. L-цитруллин образуется как побочный продукт

дят более низкие количества NO (в пикомолях), которые важны для физиологических процессов, таких как вазодилатация, контроль артериального давления, нейрональная передача сигналов, ингибирование системы гемостаза и др.

Основным рецептором NO является растворимая гуанилатциклаза (рГЦ), относящаяся к группе нуклеотидциклаз наряду с аденилатциклазой и мембарносвязанной гуанилатциклазой. рГЦ представляет собой гетеродимер, состоящий из двух субъединиц – α и β , которые образуют функциональный фермент. Для активации рГЦ необходимо две молекулы NO: первая молекула связывается с β -субъединицей рГЦ с пиколярным сродством, частично активируя ее приблизительно до 15% от ее максимальной активности [23, 41]. Полная активация рГЦ зависит от концентрации NO и происходит после связывания второй молекулы NO, которое происходит при наномолярном сродстве. Конформационное изменение рГЦ после связывания NO является этапом, ограничивающим скорость его активации. Повышенные уровни циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ) активируют нижестоящие элементы сигнального пути NO протеинкиназа G (PKG), цГМФ-управляемые катионные каналы и цГМФ-регулируемые фосфодиэстеразы и опосредуют его физиологические действия [34].

В последнее время много внимания уделяется данным, касающимся роли NO-ергической системы в регуляции углеводного обмена, в частности влиянию на функции поджелудочной железы.

Сведения о роли NO в секреции инсулина противоречивы: были описаны как стимулирующие, так и ингибирующие эффекты.

РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА В СЕКРЕЦИИ ИНСУЛИНА

Механизмы, опосредующие стимулирующее действие NO на секрецию инсулина

β -клетки поджелудочной железы экспрессируют все три изоформы NOS. nNOS обычно считается основной изоформой с многофункциональными свойствами в поджелудочной железе: она в основном обнаруживается в секреторных гранулах инсулина, но также в митохондриях и ядре [88, 51, 64]. Активность nNOS положительно регулируется Ca^{2+} /кальмодулином, глюкозой и пальмитатом, отрицательно – провоспалительными цитокинами. Дифференциальные роли nNOS и eNOS в регуляции функций β -клеток не определены, однако предполагается nNOS может участвовать в регуляции секреции инсулина, а eNOS – в защите от апоптоза. Это подтверждается данными о том, что nNOS в первую очередь распределяется на грануле инсулина в β -клетках, а экспрессия eNOS имеет защитный эффект при повреждении β -клеток в результате оксидативного стресса, в том числе экспериментально индуцированного такими агентами, как стрептозотозин или аллоксан [66]. iNOS не обнаруживается в β -клетках при базальных концентрациях глюко-

зы, но ее экспрессия увеличивается при высокой концентрации глюкозы в цитоплазме [39].

Оксид азота увеличивает синтез инсулина

В работе Campbell с соавт. сообщалось об увеличении синтеза инсулина после обработки NO как в β -клетках линии Min6, так и в интактных островках поджелудочной железы [17]. У крыс с диабетом, моделированным высокожировой диетой и введением стрептозотоцина, отмечали низкое содержание островкового инсулина, однако длительное введение нитритов этим крысам увеличивало содержание инсулина в β -клетках, что указывает на усиление его синтеза [32]. Стимулирующее действие NO связывают с его активацией промотора гена инсулина в β -клетках Min6 с максимальной 2.5-кратной стимуляцией через 24 ч, причем данный эффект отменялся ингибитором PI3-киназы (вортманнин). Эти данные указывают на значимость данного фермента для активации промотора гена инсулина NO. Кроме того, NO дополнительно увеличивает экспрессию гена эндогенного инсулина в клетках Min6 и в изолированных β -клетках крыс, способствуя накоплению в ядре PDX-1 (панкреатический и дуоденальный гомеобокс-фактор-1) и его последующему связыванию с промотором гена инсулина [17]. PDX-1 играет важную роль в β -клетках, связывая метаболизм глюкозы с событиями в ядре β -клетки. Повышение уровня глюкозы приводит к активации PDX-1 и перемещению его из цитоплазмы в ядро β -клетки, где он связывается с промотором гена инсулина и активирует его.

Оксид азота увеличивает уровень цГМФ в β -клетках

Основным механизмом действия NO, в том числе и в β -клетках, является цГМФ-зависимый путь. Секреция инсулина зависит от стимуляции и ингибирования рГЦ различными агентами. Стимулирующее действие гидроксиламина на секрецию инсулина подавлялось соединением ODQ (1H-[1, 2, 4]-оксадиазоло-[4,3-а]-хиноксалин-1-он) ингибитором рГЦ. Способность NO активировать синтез инсулина опосредовалась активацией ГЦ соединением YC-1 (3-(5-гидрокси-симетил-3-фурил)-1-бензилиндазол) и мембранопроницаемым аналогом цГМФ (8-(4-хлорфенилтио)-цГМФ) в клетках INS-1 и в крысиных β -клетках [87]. Повышенные уровни цГМФ увеличивают приток Ca^{2+} при уровне глюкозы, равной 7 мМ, но этого не происходит при ее концентрации 2.8 мМ. Это, по-видимому, является результатом активации потенциал-зависимых кальциевых каналов в β -клетках крыс, поскольку повышение Ca^{2+} устраняется дигидропиридиновым блокатором кальциевых каналов — никар-

дипином [62]. Разность эффектов, оказываемых NO в зависимости от его концентраций, может объясняться тем, что низкие уровни действуют через путь NO/рГЦ/цГМФ, в то время как высокие проявляют свои эффекты независимо от цГМФ [53]. Также путь NO/рГЦ/цГМФ участвует в других положительных эффектах, оказываемых на β -клетки, таких как усиление островкового кровотока [70] и уменьшение апоптоза [92].

Механизм влияния NO на увеличение внутриклеточных уровней Ca^{2+} в β -клетках

NO увеличивает внутриклеточные уровни Ca^{2+} в β -клетках за счет его мобилизации из внутриклеточных депо, таких как эндоплазматический ретикулум и митохондрии [50, 98], или посредством ингибирования K-каналов с последующей деполяризацией мембран, которая приводит к открытию потенциал-зависимых кальциевых каналов. Применение диазоксида, специфического активатора K_{ATP} -каналов, может ингибировать стимулированное гидроксиламином высвобождение инсулина в клетках INS-1. В этом исследовании визуализировали Ca^{2+} с помощью Fura-2, что показало стимулирующее действие гидроксиламина, которое выражалось резким повышением Ca^{2+} в клетке. Данное повышение концентрации Ca^{2+} было подобно тому, которое наблюдается при стимуляции глюкозой в концентрации 15 мМ, причем ответ на Ca^{2+} происходит одновременно с деполяризацией мембраны [87].

Другой механизм повышения концентрации Ca^{2+} заключается в том, что NO, связываясь с цитохромом C и/или цитохромоксидазой, снижает активность дыхательной цепи митохондрий, вызывая снижение потенциала митохондриальной мембраны и мобилизацию Ca^{2+} из этих органелл [82]. Добавление низких концентраций NO к клеткам INS-1 приводит к быстрому увеличению секреции инсулина, сопровождаемой снижением потенциала на митохондриальной мембране, а также периодическим повышением Ca^{2+} в цитозоле. Кроме того, NO-индуцированное высвобождение Ca^{2+} из митохондрий и повышенная секреция инсулина не зависят от уровня внеклеточного Ca^{2+} , поскольку хелатирование внутриклеточного Ca^{2+} снижает секрецию инсулина, индуцированную NO, в то время как хелатирование внеклеточного Ca^{2+} подобного влияния не оказывало [50]. NO, повышая уровни цГМФ не только увеличивает секрецию инсулина [44], но также защищает β -клетки от чрезмерного увеличения внутриклеточного Ca^{2+} , предупреждая их апоптоз [47].

Высокие уровни Ca^{2+} также увеличивают продукцию NO в клетках INS-1 [87]. Nunemaker с со-

авт. отметили, что индукция синтеза NO предшествует началу процесса секреции инсулина. Хотя продукцию NO можно обнаружить до повышения внутриклеточных уровней Ca^{2+} [69], неясно, происходит это, потому что уровни Ca^{2+} , необходимые для активации NOS, на самом деле ниже пороговых значений для обнаружения визуализирующим красителем Fura-2. Представленные данные свидетельствуют о том, что продукция NO на ранней стадии оказывает положительный эффект на секрецию инсулина.

Оксид азота действует посредством S-нитрозилирования белков

NO посредством S-нитрозилирования глюкокиназы (по цистеину-371) и синтаксина 4 (по цистеину-141) способствует синтезу инсулина, стимулированного глюкозой [83]. Используя количественную визуализацию глюкокиназы с помощью присоединенных к ней разных флуоресцентных белков, было показано, что динамическая ассоциация глюкокиназы с секреторными гранулами β -клеток модулируется NO. Было обнаружено, что инсулин, стимулируя выработку NO в культивируемых β -клетках, приводит к S-нитрозилированию глюкокиназы (β TC3 клетках). Ингибирование NOS нарушает ассоциацию глюкокиназы с секреторными гранулами и ее конформацию. Было показано, что повышенное содержание глюкозы и S-нитрозилирование индуцируют одно и то же конформационное состояние, соответствующее высокой активности глюкокиназы в клетках линии β TC3 [83]. Регуляция локализации и активности глюкокиназы в β -клетках напрямую связана с продукцией NO, и ассоциация глюкокиназы с секреторными гранулами происходит через ее взаимодействие с NOS [75].

Растворимые белки прикрепления NSF (SNARE), опосредующие экзоцитоз инсулиновых везикул, также подвергаются S-нитрозилированию [30]. Эти белки можно разделить на две категории: везикулярные (v)-SNARE из мембраны везикул и таргетные (t)-SNAREs от целевой мембраны. Последние включает семейства синтаксина и ассоциированного с синапсом белка-25 (SNAP-25), тогда как v-SNARE относится к ассоциированным с везикулами мембранным белкам (VAMP) [46].

Белки SNARE посттрансляционно модифицируются NO, что, в свою очередь, влияет на экзоцитоз везикул. NO-стимулированный экзоцитоз везикул опосредуется активацией белков корового комплекса, участвующих в стыковке и слиянии везикул. В экспериментах с использованием рекомбинантных белков доноры NO (нитропруссид натрия (SNP), подкисленный нитрит на-

трия, S-нитрозоглутатион, S-нитрозоцистеин и насыщенный раствор, содержащий газообразный NO, увеличивают образование основного комплекса VAMP/SNAP-25/синтаксин-1a. Эти доноры NO снижают EC_{50} связывания VAMP с SNAP-25/синтаксином [63]. Кроме того, S-нитрозилирование синтаксина-1a (по цистеину-145), по-видимому, является молекулярным регулятором, облегчая его взаимодействие с аппаратом слияния мембран [72]. Предполагается, что вместе взятые эти активности будут способствовать стыковке/слиянию везикул.

Оксид азота увеличивает кровоток в β -клетках

NO является ключевым регулятором островкового кровотока. Улучшение микроциркуляции в β -клетках способствует оксигенации и питанию клеток, что является еще одним механизмом позитивного действия NO на секрецию инсулина [70]. Секреция инсулина может быстро модулироваться за счет изменения микроциркуляции в β -клетках, поскольку они имеют хорошо развитую сосудистую сеть с сильно фенестрированным эндотелием, что позволяет быстро и эффективно доставлять кислород и питательные вещества к эндокринным клеткам, а также опосредовать поступление инсулина в системный кровоток. Уровень кровотока в β -клетках может регулироваться независимо от экзокринной части поджелудочной железы [45]. Nystrom и его коллеги изучали влияние нитрита на кровоток в β -клетках крысы, динамические изменения секреции инсулина и гликемии. Они обнаружили, что нитрит натрия усиливает микроциркуляцию в β -клетках без влияния на общий кровоток поджелудочной железы; это усиление сопровождалось увеличением концентрации инсулина в плазме без изменения уровня гликемии, что может объясняться мобилизацией контринсулярных гормонов, таких как глюкагон и кортизол. Уровень кровотока в β -клетках повышался под действием агониста цГМФ. Повышенный нитритом натрия кровоток в β -клетках снижался после введения ингибитора ГЦ или поглотителя NO [70]. Это указывает на то, что индуцированная NO вазодилатация опосредуется путем ГЦ/цГМФ/PKG. Ингибирование NOS введением L-NAME снижает кровоток не только в β -клетках, но во всей поджелудочной железе как у нормальных, так и у диабетических крыс. Таким образом, NO играет важную роль в регуляции кровообращения поджелудочной железы, обеспечивая оперативную вазодилатацию, компенсирующую возросшую (в период поступления глюкозы с пищей) интенсивность работы β -клеток [21].

Негативная роль NO в регуляции секреции инсулина

Отмеченное выше позитивное действие NO в отношении секреции инсулина в некоторых работах не только оспаривается, но даже опровергается. Так, подавление активности NOS у мышей (L-NAME, L-NMMA или 7-нитроиндазол) сопровождается увеличением секреции инсулина в ответ на стимуляцию глюкозой β -клеток [25], что указывает на отрицательную роль NO в секреции инсулина.

Что касается механизма, по которому ингибирует секрецию инсулина, предполагается, что существует несколько механизмов. Во-первых, NO влияет на ток ионов через мембрану. Было показано, что гидроксилламин снижает поступление Ca^{2+} через его потенциалзависимые каналы, увеличивая отток K^+ из β -клеток, этот эффект ослабляется глибенкламидом. Гидроксилламин не влияет на отток Ca^{2+} , концентрация которого повышается вследствие K^+ -индуцированной деполяризации, что усиливает эффект гидроксилламина на отток K^+ . Отсутствие влияния гидроксилламина на катионный ответ при стимуляции K^+ , указывает на то, что снижение притока Ca^{2+} можно рассматривать как следствие активации K^+ канала. NO способен не только ингибировать активность различных лизосомальных ферментов после прямого добавления к гомогенатам островков, но также избирательно подавляет активность кислых α -глюкозидгидролаз в изолированных островках, вместе с тем ингибируя высвобождения инсулина, стимулированное глюкозой [33]. Во-вторых, NO реагирует с рядом белков, содержащих сульфгидрильную группу, которые важны для связывающего глюкозу сайта глюкокиназы и являются мишенью для окислителей, наиболее вероятно, что образуются S-нитрозотиолы: важные тиоловые группы в молекуле фермента α -глюкозидгидролазы, нитрозилированы и, таким образом, инактивированы. Также путем образования железонитрозильных комплексов с FeS-содержащими ферментами, такими как аконитаза, NO вызывает обратимую инактивацию митохондриального фермента. Такие механизмы были раскрыты при исследованиях индуцибельной формы NO-синтазы в инсулино-продуцирующих клетках [65]. Таким образом, представленные данные свидетельствуют о важной роли NO-ергической системы в регуляции продукции и высвобождения инсулина и соответственно в регуляции углеводного обмена. Вместе с тем в литературе есть полярные данные об участии NO, которые не совсем или не всегда соответствуют представленным выше.

Противоречивость данных о влиянии NO на синтез инсулина

Обозначенная выше неоднозначность в определении роли NO в отношении влияния на синтез и секрецию инсулина может являться следствием некоторых причин. Основная часть противоречий относительно роли NO в секреции инсулина возникает из-за использования различных и, возможно, несовместимых модельных систем, таких как:

- линии β -клеток с разными качественными/количественными паттернами секреторных реакций по сравнению с нормальными β -клетками [33];
- инкубация β -клеток/ β -клеточных линий с различным (высоким или низким) уровнем глюкозы. Концентрация глюкозы, используемая в исследованиях, может быть причиной несовпадающих эффектов NO на секрецию инсулина: при низкой концентрации глюкозы (7 мМ) L-NAME не влияет на секрецию инсулина изолированными β -клетками у мышей, неподвергнутых пищевой депривации, но незначительно стимулирует секрецию инсулина β -клетками голодных животных. При высоких концентрациях глюкозы (20 мМ) L-NAME усиливает секрецию инсулина β -клетками как у мышей, получавших пищу без ограничений, так и у голодных. Сверхэкспрессия iNOS, наблюдаемая при высоких концентрациях глюкозы в крови, и высокая секреция инсулина в ответ на введение L-NAME могут быть связаны с ингибирующим действием L-NAME на iNOS [33];
- концентрации применяемых ингибиторов NOS – еще один фактор, который следует учитывать. Влияние L-NAME на секрецию инсулина, по-видимому, зависит от концентрации, поскольку концентрации 0.1–5.0 мМ не оказывали значительного влияния на высвобождение базального инсулина в изолированных в β -клетках мыши, в то время как при его введении в высокой концентрации (10 мМ) происходит 3-кратное увеличение секреции инсулина [33];
- использование разных типов внеклеточных/внутриклеточных доноров NO [33];
- различные ферментативные активности различных изоформ NOS, экспрессируемых в островках [33].

ОКСИД АЗОТА И ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ

Инсулинорезистентность это основная патогенетическая причина и/или следствие СД2, ожирения и метаболического синдрома. Поскольку NO-ергическая система широко представлена в β -клетках поджелудочной железы, на-

рушения в ее функционировании вносят свой вклад в патофизиологию ожирения и диабета.

Известно, что хроническое системное воспаление связано с нарушением передачи сигналов инсулина, что влечет за собой развитие так называемых метаболических заболеваний, таких как ожирение. Несколько путей и внутриклеточных механизмов вовлечены в запуск этих патологических процессов, включая избыточную продукцию оксида азота NO из-за активации iNOS [35]. Активация iNOS, которая может быть вызвана провоспалительными цитокинами [60], также была описана как потенциальная причина инсулинорезистентности, состояния, которое часто предшествует этим метаболическим нарушениям [80].

Была установлена связь между активацией воспаления и стрессом эндоплазматического ретикула при ожирении. Эндоплазматический ретикулум (ЭР) — это органелла, ответственная за синтез, фолдинг, созревание, транслокацию и процессинг почти всех белков, которые находятся или проходят через эндомембранную систему эукариотических клеток [42]. Однако при некоторых патологических состояниях нарушается нормальная работа ЭР (ЭР-стресс), что приводит к накоплению неправильно свернутых белков в его просвете, в свою очередь, подобное накопление активирует внутриклеточные пути передачи сигнала, называемые ответом развернутого белка [76]. ЭР-стресс и последующая ответная реакция на неправильно свернутые белки поначалу оказывает защитное действие и служит механизмом компенсации, но продолжительная активация может вызвать повреждение сосудов. При этом ожирение, по-видимому, стимулирует развитие хронического ЭР-стресса в периферических тканях, что может быть вероятным механизмом, участвующим в возникновении инсулинорезистентности и СД2 [54]. Вариант терапии синтетическими шаперонами, увеличивающими способность ЭР осуществлять фолдинг улучшает чувствительность к инсулину и его действие в периферических тканях [73].

Взаимосвязь между iNOS и ЭР-стрессом сложна и двунаправлена: увеличение уровня NO, продуцируемого iNOS, может вызвать ЭР-стресс и позже усилить ее экспрессию посредством активации факторов транскрипции гена [103]. В исследовании Zanotto на мышцах, нокаутных по гену iNOS, было показано, что животные этой линии в условиях высокожировой диеты сохраняли чувствительность к инсулину в мышечной ткани и частично — в печени и жировой ткани, что позволяет предположить, что при ожирении также существует ЭР-стресс независимый от активности iNOS [101].

NO вносит вклад в патогенез инсулинорезистентности, поскольку ингибирование iNOS предотвращает, а ингибирование eNOS способствует диет-индуцированной (высококалорийная жировая диета) инсулинорезистентности. Избыточная продукция NO посредством iNOS играет роль в развитии СД2, а нарушения в работе гена iNOS препятствуют инсулинорезистентности. Вероятный механизм данного эффекта заключается в том, что NO, продуцируемый iNOS, в печени крыс вызывает активацию N-концевой киназы c-Jun (JNK), которая фосфорилирует адаптор субстрат инсулинового рецептора-1 (IRS-1) по серину 307 и вызывает снижение чувствительности к инсулину. Было высказано предположение, что ассоциированная со свободными жирными кислотами (СЖК) потеря β -клеток (характерна на поздних стадиях СД2), происходит из-за гиперпродукции NO, сопровождаемой повышением интерлейкина-1 β (IL-1 β), что усиливает дисфункцию и гибель β -клеток [85]. Изолированные β -клетки, которые подвергались действию IL-1 β в среде без аргинина (без возможности синтеза NO) не повреждались [74].

NO стимулирует трансэндотелиальный транспорт (ТЭТ) инсулина за счет S-нитрозилирования сигнальных белков, которое может положительно или отрицательно влиять на действие, секрецию и клиренс инсулина [19]. NO может усиливать эффекты инсулина за счет S-нитрозилирования транспортера глюкозы-4 (GLUT4) (положения 451 и 453) и протеин-тирозинфосфатазы 1B (PTP1B), высокая экспрессия которой наблюдается в мышечной и жировой ткани людей и грызунов с ожирением. Напротив, снижение эффектов инсулина происходит путем дефосфорилирования IRS-1 [40].

S-нитрозилирование также способствует диабетическим осложнениям, нарушая ранние этапы пути передачи сигналов инсулина в скелетных мышцах, жировой ткани и печени. S-нитрозилирование как Akt (протеинкиназы B) (цистеин 224), так и IRS является основным механизмом iNOS-индуцированной инсулинорезистентности при диабете и ожирении соответственно [29, 18].

При ожирении NO, продуцируемый iNOS, вызывает S-нитрозилирование и, следовательно, активацию ядерного фактора каппа B (NF κ B) [99], который снижает продукцию NO eNOS. Кроме того, S-нитрозилирование ингибирует индуцированный инсулином захват глюкозы в печени, скелетных мышцах и жировой ткани, а также снижает антилиполитический эффект инсулина [18].

Как было упомянуто выше, в зависимости от концентрации в β -клетках NO оказывает положительное или отрицательное регулирование

секреции инсулина, проявляет анти- или проапоптотическую активности.

В метаанализе, проведенном Assmann с соавт. было выявлено, что у пациентов с СД1 или СД2 уровни оксидов азота (NO_x) были значительно выше. Однако для подтверждения этих данных необходимы дальнейшие исследования. Негативное действие NO может проявляться вследствие его взаимодействия с O^{2-} , что приводит к дальнейшему разобщению eNOS, снижая биодоступность оксида азота и увеличивая оксидативный и нитрозативный стресс, повышая содержание активных форм кислорода (АФК) и NO_x . Предполагается, что высокие показатели NO_x у пациентов с сахарным диабетом связаны с активностью iNOS и, соответственно, избыточной продукцией NO. Провоспалительные цитокины и окислительный стресс, вызванные гипергликемией и/или гипоксией выступают факторами, провоцирующими активацию iNOS [5]. Кроме того, уровни NO_x положительно коррелируют с уровнями глюкозы в крови натощак и/или HbA1c как у пациентов с СД1, так и у пациентов с СД2 [84]. Следует отметить, что альтернативным источником NO, уровень которого повышается у пациентов с диабетом, является ксантин оксидоредуктаза (XOR), фермент, который может увеличивать содержание NO за счет восстановления нитрита [11]. Следовательно, iNOS и XOR могут повышать концентрации NO до такой степени, что NO может вступать в реакцию с O^{2-} и, таким образом, накапливаться в виде пероксинитрита, нитрита и нитрата в сыворотке или плазме больных диабетом [8].

NO оказывает влияние не только на секрецию инсулина β -клетками, но и на их выживаемость, в чем также наблюдается зависимость от концентрации двойственность эффектов. В токсических концентрациях (выше 10 нМ) NO вызывает повреждение клеток и нарушает их функцию, однако в нетоксических (ниже 10 нМ) он способствует их выживанию, активируя противоапоптотические механизмы. NO предотвращает апоптоз β -клеток, ослабляя ответ на повреждение ДНК (DDR). NO подавляет активацию DDR в ответ на несколько генотоксических агентов, включая камптотецин, H_2O_2 и сам NO. В то время как камптотецин и H_2O_2 вызывают активацию DDR, NO подавляет только апоптоз, вызванный камптотецином, а не некроз, индуцированный H_2O_2 . Способность NO подавлять DDR, по-видимому, является избирательной для β -клеток, поскольку NO не может ингибировать передачу сигналов DDR в макрофагах, гепатоцитах и фибробластах. Таким образом, определена роль NO как защитной молекулы, которая способствует выживанию β -клеток за счет подавления передачи сигналов DDR и

ослабления апоптоза, вследствие повреждения ДНК [71].

Роль NO в транспорте инсулина

Резистентность к инсулину тесно связана со снижением биодоступности NO и эндотелиальной дисфункцией. В сосудистой сети NO опосредует множество процессов, влияющих на доставку инсулина, включая расширение терминальных артериол в скелетных мышцах. Однако неизвестно, регулирует ли NO напрямую поглощение инсулина эндотелиальными клетками и его ТЭТ.

В исследовании Wang с соавт. сообщалось, что предварительная обработка L-NAME блокировала, а L-аргинином или нитропруссидом натрия (SNP) увеличивали поглощение инсулина эндотелиальными клетками (ЭК), инсулина, меченого флуоресцеинизотиоцианатом (FITC). SNP также частично или полностью устранял ингибирование захвата инсулина ЭК, вызванное L-NAME, вортманнином, ингибитором протоонкогенной тирозинпротеинкиназы (Src) PPI и (фактор некроза опухоли) TNF- α . Кроме того, SNP стимулировал ТЭТ на ~40%. Лечение инсулином с SNP и без него не влияло на уровни цГМФ в ЭК, а аналог цГМФ 8-бром-цГМФ не влиял на поглощение FITC-инсулина. Лечение инсулином и SNP значительно увеличивало S-нитрозилирование белков ЭК, совместную локализацию S-нитрозотиола (S-NO) и PTP1B, фосфорилирование Akt (по Ser473) и подавляло активность PTP1B. Диета с высоким содержанием жиров приводила к значительно меньшему ответу ЭК на стимулирование инсулином фосфорилирования Akt и поглощение FITC-инсулина и которое, в эксперименте на крысах, частично отменялось SNP. Ингибирование S-нитрозилирования путем нокаута белка, взаимодействующего с тиоредоксином, полностью устраняло стимулированное SNP поглощение FITC-инсулина. Таким образом, NO напрямую способствует транспорту инсулина через ЭК за счет усиления S-нитрозилирования белка и усиливает передачу сигналов инсулина, подавляя активность PTP1B [96].

На доставку инсулина в мышцы влияют скорость кровотока, его распределение и ТЭТ. Важно отметить, что доставка инсулина в межклеточное пространство миоцитов является лимитирующим этапом периферического действия инсулина и замедляется у людей с инсулинорезистентностью и/или ожирением, что указывает на важную роль этого транспортного процесса в периферической инсулинорезистентности [96]. Эндотелиальная дисфункция, вторичная по отношению к сниженной биодоступности NO, является ранним и характерным признаком инсулинорезистентности. Эндотелиальная NO-синтаза активируется инсулином. Нокаут eNOS или

ингибирование передачи сигналов инсулина за счет эндотелий-специфического нокаута *IRS2*, приводящего к снижению активности *eNOS* в ЭК сосудов, вызывает метаболическую резистентность к инсулину. Нокаут эндотелиального *IRS2* ингибирует индуцированное инсулином увеличение количества перфузируемых микрососудов и снижает доставку инсулина в интерстиций мышц. Однако неизвестно, является ли снижение доставки инсулина результатом снижения кровотока, изменения его распределения, нарушения ТЭТ инсулина или их комбинации [49]. Инсулин, увеличивая продукцию *NO* вызывает вазодилатацию, чтобы облегчить его доставку в периферические ткани.

Рецептор инсулина и кавеолы эндотелия опосредуют поглощение инсулина ЭК. Однако этот процесс подавляется либо ингибированием внутриклеточной передачи сигналов инсулина, либо применением *TNF- α* . И наоборот, стимуляция внутриклеточной передачи сигналов инсулина путем ингибирования *PTP1B* увеличивает его поглощение [97].

Экзогенный *NO* стимулировал захват и ТЭТ инсулина в ЭК аорты. Также было обнаружено, что *NO* частично или полностью восстанавливает поглощение инсулина клетками, предварительно обработанными ингибиторами сигнальных путей инсулина [96].

Инсулинорезистентность и гипоталамус

Данные исследований последних лет показали, что инсулинорезистентность связана не только с периферическими процессами, но и может быть обусловлена различными процессами, протекающими в ЦНС, в частности в гипоталамусе – высшем центре регуляции вегетативной системы, включая метаболические процессы, нейроиммунную и эндокринную системы [24].

Индукцированное *iNOS* S-нитрозилирование внутриклеточных метаболических путей является повсеместным процессом, которому способствует хроническое воспаление, связанное с ожирением. Как было показано ранее, S-нитрозилирование сигнального пути инсулина способствует увеличению инсулинорезистентности в печени и мышечной ткани [77].

У людей с ожирением усиленное гипоталамическое S-нитрозилирование сигнального пути инсулина является важным механизмом в развитии инсулинорезистентности. Более того, повышенное гипоталамическое S-нитрозилирование инсулинового рецептора (*IR*) и *Akt* было связано со снижением фосфорилирования этих ферментов, что согласуется с нарушением их ферментативной активности [99]. Соответственно, устранение S-нитрозилирования с помощью физиоло-

гических, фармакологических и генетических подходов может привести к устранению инсулинорезистентности. Взятые вместе, эти данные предполагают, что ожирение опосредует резистентность к инсулину, по крайней мере частично, за счет индукции S-нитрозилирования *IR* и *Akt*.

Фармакологическая модуляция активности гипоталамической *NOS* способствует устойчивым изменениям в потреблении пищи и энергетическом метаболизме. Ингибирование *iNOS* приводит к потере веса у мышей *ob/ob* в то время, как введение лептина и нейропептид-*Y* (*NPY*) повышает уровни *NO* в гипоталамусе. Вызванное *GSNO* (S-нитрозоглутатионом) 50 мкМ S-нитрозилирование сигнальных путей инсулина способствует развитию резистентности гипоталамуса к лептину и *NPY* и увеличивает потребление пищи, что ведет к увеличению массы тела. У грызунов с ожирением уровни *iNOS* и, как следствие, количество S-нитрозилированных белков сигнальных путей инсулина в гипоталамусе повышено. Соответственно, подавление экспрессии или активности *iNOS* физиологическими, фармакологическими или генетическими методами может снизить потребление пищи и способствовать уменьшению массы тела. Таким образом, индуцированное *iNOS* S-нитрозилирование сигнального пути инсулина вызывает хронические изменения в энергетическом гомеостазе, что способствует ожирению [48].

Нейровоспаление, в том числе вызванное ожирением, – самоусиливающийся патофизиологический процесс [15]. Несмотря на повышенную экспрессию *iNOS* во множестве состояний, связанных с острым или хроническим воспалением, патофизиологическая роль *iNOS* является сложной, иногда двойственной [28]. Интересно, что S-нитрозилирование связано с противовоспалительным действием *NO*. В частности, S-нитрозилирование снижает активность провоспалительных молекул, таких как *JNK*, *IKK β* и *NF κ B*, которые также связаны с нейровоспалением и нейродегенерацией, опосредованными ожирением [56]. С другой стороны, S-нитрозилирование *IR* и *Akt* частично устраняет потенциальные провоспалительные эффекты и, следовательно, способствует развитию ожирения, усиливая посредством S-нитрозилирования *IR* и *Akt* резистентность к инсулину.

Известно, что гипоталамус влияет на метаболизм глюкозы и липидов, регулируя энергетический баланс организма [100]. Различные подходы к созданию изолированной нейрональной инсулинорезистентности неизменно приводили к прогрессированию ожирения [36]. Внутривенное введение *GSNO* 50 мкМ индуцировало инсулинорезистентность, приводило к увеличению массы тела, уровня лептина и периферической

инсулинорезистентности. Интрацеребровентрикулярная инфузия GSNO снижала уровни триглицеридов (ТГ) у крыс, несмотря на периферическую инсулинорезистентность, тогда как у мышей с нокаутом iNOS уровни ТГ были повышены. Учитывая, что секреция ЛПОНП и ТГ в печени чувствительна к введению в ЦНС жирных кислот, NPY, глицина и глюкозы, возможно, что инфузия GSNO непосредственно модулирует метаболизм липидов.

Возможно также, что помимо S-нитрозилирования, нитрование может участвовать в развитии iNOS-индуцированной гипоталамической инсулинорезистентности. В этом контексте Charbonneau и Marette показали [20], что после инфузии липидов ковалентная связь пероксинитрита (ONOO⁻) с IR, IRS-1, IRS-2 и Akt также участвует в развитии резистентности к инсулину. Аналогично этим эффектам, нитрование JAK2 было связано с увеличением резистентности к гормону роста [48]. Следовательно, эти два посттрансляционных феномена (S-нитрозилирование и нитрование) могут взаимодействовать, что влечет нарушение передачи сигналов инсулина.

Таким образом, была показана центральная роль iNOS и S-нитрозилирования в контроле энергетического гомеостаза как в норме, так и при патологии. У животных с ожирением индуцированное iNOS S-нитрозилирование сигнального пути инсулина сильно подавляло передачу сигналов этого гормона и способствовало увеличению потребления пищи. В совокупности эти данные предполагают, что ингибирование S-нитрозилирования сигнального пути инсулина может быть важной терапевтической мишенью в лечении ожирения и связанных с ним заболеваний. Однако раскрытие механизмов, которые противодействуют регулированию сигнальных белков S-нитрозилированного инсулина является предметом дальнейших исследований [48]. Изучение этих механизмов представляет значительный интерес для понимания процессов нарушения центральной регуляции углеводного и липидного обмена.

Инсулинорезистентность и эндотелий

НАДФН-оксидаза (NOX) является ключевой молекулой в развитии эндотелиальной дисфункции и основным источником продукции АФК в эндотелиальных клетках. СД2 характеризуется нарушением контроля окислительно-восстановительного баланса с перепроизводством АФК. Эндотелиальная NOS, продуцирующая NO является основными эндотелиопротекторным фактором [2]. Функция эндотелия поддерживается сосудорасширяющими (например, NO, простагландинами,) и сосудосуживающими факторами (например, ET-1, ангиотензин II). Активация пу-

ти PI-3K/Akt вызывает фосфорилирование и активацию eNOS [91].

Эндотелиальная дисфункция и инсулинорезистентность способствуют нарушению клеточного поглощения глюкозы, NO-зависимой вазодилатации, усилению окислительного стресса и воспалению.

Повышенные уровни цитокинов, включая C-реактивный белок, TNF- α и интерлейкин-6 (IL-6), ингибируют стимулированное инсулином производство NO за счет снижения экспрессии eNOS, что приводит к ингибированию пути PI3K/Akt/eNOS [102]. Ожирение и СД2 связаны с повышенными уровнями лептина и резистина, которые вызывают увеличение TNF- α и IL-6. Кроме того, лептин усиливает фосфорилирование серина IRS-1, тем самым нарушая передачу сигналов инсулина через путь PI-3K/Akt. Хотя адипонектин и грелин стимулируют продукцию NO через сигнальные пути PI-3K/Akt и повышают биодоступность NO, известно, что уровень этих цитокинов снижаются у пациентов с ожирением или СД2 [91].

ЭР-стресс также вносит вклад в формирование инсулинорезистентности сосудов и эндотелиальной дисфункции у пациентов с СД. ЭР-стресс, как уже было сказано выше, активирует клеточный ответ на несвернутые белки, который инициируется активацией 3 трансмембранных белков: (1) РНК-зависимой протеинкиназа-подобной ЭР киназы эукариотического фактора инициации-2а (PERK); (2) инозитол-требующий сигнальный белок 1 ЭР-к-ядру (IRE1 α); и (3) активацией фактора транскрипции 6 (ATF6) [38]. Хроническая активация ответа на несвернутый белок способствует усилению окислительного стресса и воспаления и часто приводит к гибели эндотелиальных клеток [43]. Новые доклинические и клинические данные подтверждают мнение о том, что фармакологические модуляторы ЭР-стресса обладают терапевтическим потенциалом в качестве новых методов лечения метаболических заболеваний. Так, нативный человеческий GLP-1 улучшает эндотелий-зависимый кровоток у здоровых людей и снижает эндотелиальную дисфункцию у людей с СД2 и стабильной коронарной болезнью сердца, предполагая тем самым, что эндотелиопротективные эффекты нативного и синтетического GLP-1 могут опосредоваться воздействием на ЭР-стресс. Экспериментальные исследования показали, что агонист рецептора глюкагоноподобного пептида 1 (GLP-1), лираглутид, подавляет активацию ответа на несвернутый белок, вызванную высоким уровнем глюкозы, и ЭР-стресс в культивируемых эндотелиальных клетках [81]. Кроме того, лираглутид улучшает сердечно-сосудистую функцию на животных моделях [10]. Экспериментальные исследе-

дования показали, что агонисты GLP-1 обладают противовоспалительным действием на эндотелиальные клетки. Лечение агонистом рецептора GLP-1 лираглутидом ингибировало фактор некроза опухоли- α , молекулу внутриклеточной адгезии-1 и молекулу адгезии сосудистых клеток-1 в эндотелиальных клетках человека [57].

В исследовании Bretón-Romeo с соавт. показано, что лираглутид снижает активацию острого ЭР-стресса и фосфорилирование JNK в эндотелиальных клетках, недавно выделенных от пациентов с СД2. Предыдущее исследование у пациентов с СД показало тенденцию к лираглутид-опосредованной эндотелий-зависимой вазодилатации [67]. Лираглутид может восстанавливать действие инсулина в эндотелии пациентов с СД2. Более того, положительный эффект на сосудистую сеть опосредуется действием на рецептор GLP-1 [14].

РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА В РАЗВИТИИ ОЖИРЕНИЯ И ДИАБЕТА

Основной причиной ожирения является энергетический дисбаланс – несоответствие между количеством потребляемых калорий и калорий, затрачиваемых на основной и общий обмен. Многие “косвенные” причины ожирения, такие как окружающая среда, род занятий и социальные факторы, чрезвычайно трудно измерить или модифицировать. Молекулярные процессы и пути, которые непосредственно регулируют энергетический обмен или потребление калорий являются более подходящими целями для терапии, чем попытка изменения образа жизни. В частности, накапливается все больше подтверждений, что NO является центральным регулятором энергетического обмена. Биодоступность NO снижается при моделировании ожирения у животных высококалорийной диетой, а также у пациентов с ожирением и инсулинорезистентностью. Снижение биодоступности NO отмечено при ожирении и СД2 в исследованиях на животных и у людей и является основным механизмом резистентности сосудов к инсулину, а также является независимым предиктором впервые возникшего СД2, атеросклероза и гипертонии. Снижение экспрессии или активности NOS (снижение синтеза NO) и утилизации NO (усиление окисления NO) являются причинами уменьшения биодоступности NO. Кроме того, снижение доступности и транспорта L-аргинина, разобщение NOS, повышение активности аргиназы и повышенное содержание асимметричного диметил-L-аргинина (ADMA) снижает выработку NO. Разрабатываемые препараты, ингибирующие димеризацию iNOS, в экспериментальных исследованиях улучшают выживаемость и функциональное состояние β -клеток при СД [104].

Риск возникновения различных заболеваний, в том числе и метаболических нарушений увеличивается с возрастом. Недавние исследования взаимосвязи состояния NO-ергической системы с возрастом показали, что активация iNOS и увеличение продукции NO могут быть ответственны за повреждения β -клеток, усиление их апоптоза и гибели, что влечет за собой снижение секреции инсулина при старении.

Предполагается, что продукция NO посредством iNOS усиливается у старых крыс и отвечает за снижение секреции инсулина и устраняется неселективным ингибитором NOS L-NAME. Активность индуцибельной NOS участвует в антипролиферативном/проапоптотическом эффекте провоспалительных цитокинов, которые вызывают разрушение островков и ингибируют секрецию инсулина β -клетками поджелудочной железы [26].

Дисбаланс эндотелиальной и индуцируемой синтаз оксида азота при ожирении

В жировой ткани eNOS была обнаружена в адипоцитах, а iNOS в основном продуцируется провоспалительными макрофагами. При ожирении экспрессия и активность eNOS в жировой ткани и скелетных мышцах ниже, что может происходить за счет нарушения фосфорилирования eNOS по серину 1177. Повышение уровня СЖК при ожирении и СД2 активирует Toll-подобный рецептор 4 (TLR4) или TLR2 и NF κ B, снижая PI3K-Akt-опосредованное фосфорилирование eNOS и тем самым уменьшая ее активность. Высокий уровень АФК, который наблюдается при ожирении и СД2 [6], ингибирует путь PI3K/Akt/eNOS и фосфорилирование eNOS, что приводит к снижению продукции и биодоступности NO. Гипергликемия также вызывает модификацию N-ацетилглюкозамина eNOS и снижает ее активность. У женщин с ожирением и/или СД2 экспрессия мРНК кавеолина-1 выше как в висцеральной, так и в подкожной жировой ткани, что является другим механизмом снижения продукции NO, синтезируемой eNOS. Кавеолы, небольшие инвагинации в плазматической мембране, особенно многочисленны в адипоцитах, биогенез которых происходит при участии кавеолина-1, непосредственно связывающегося с eNOS и ингибируя продукцию NO [13], а также и из-за высокой уровней церамида, разрушающего комплекс eNOS/Akt/HSP-90 [27].

Повышенная экспрессия iNOS при ожирении и СД2 отмечена в адипоцитах и β -клетках поджелудочной железы животных с ожирением, мРНК iNOS у крыс с диабетом в 20 раз выше, чем у интактных. Увеличение TNF- α активирует iNOS в адипоцитах, которая также участвует в развитии мышечной инсулинорезистентности при ожире-

нии, отрицательно воздействуя на PI3K и Akt у мышей. При ожирении высокие уровни NO, из-за активности iNOS, вызывают S-нитрозилирование и, следовательно, активацию NFkB, что также снижает экспрессию eNOS. Повышенный уровень TNF- α при ожирении резко увеличивает активность eNOS за счет активации путей PI3K–Akt и сфингомилиназы/сфингозин-1-фосфата, но NO вызывает отрицательную обратную связь и снижают стабильность мРНК eNOS, частично за счет усиления фактора элонгации 1-a1 и снижения экспрессии eNOS.

Экспрессия и активность eNOS строго регулируются в жировой ткани и мышцах, и при возникновении энергодифицита eNOS необходима для активации SIRT1 – белка, участвующего в повышении чувствительности к инсулину и усилении активности eNOS [90]. У мышей, нокаутных по eNOS не было обнаружено положительных эффектов, индуцированных физической нагрузкой (плаванием), увеличения митохондриального биогенеза, количества копий митохондриальной ДНК и поглощения глюкозы подкожной жировой тканью, что наблюдалось у мышей дикого типа. Донор NO, DETA-NO, способствует митохондриальному биогенезу, поглощению глюкозы и увеличению плотности мембраны GLUT4 в культивируемых адипоцитах мыши и человека [95]. Эти результаты показывают, что физиологические уровни NO играют ключевую роль в поддержании здоровой метаболической функции жировой ткани.

Аргиназа – это фермент, который конкурирует с NOS за их общий субстрат, L-аргинин, снижение доступности которого нарушает продукцию NO. Несколько исследований на моделях ожирения, индуцированного высокожировой диетой, показали явное участие аргиназы в воспалительном процессе, протекающем в висцеральной жировой ткани или развитии эндотелиальной дисфункции. У мышей, которых содержали на диете с высоким содержанием жиров, в эндотелиальных клетках у которых уровень аргиназы-1 был низким, эндотелиальная дисфункция не развивалась, также не отмечали гипертонии, пониженного NO в сосудах, повышенных уровней АФК, воспаления жировой ткани, фиброза и снижения кровоснабжения [16].

NO, продуцируемый nNOS и eNOS в низких или умеренных концентрациях стимулирует окисление глюкозы и жирных кислот, подавляет синтез глюкозы, триглицеридов и липопротеинов низкой плотности. Эти полезные эффекты связаны с усилением митохондриального биогенеза и окислительного фосфорилирования, а также с развитием бурой жировой ткани, которая, в отличие от белой, увеличивает чувствительность к инсулину и улучшает метаболизм глюкозы. Было

показано, что функция NOS в митохондриях, наряду с выработкой цитоплазматического NO, индуцирует митохондриальный биогенез. Несмотря на множество положительных эффектов NO при низких и умеренных концентрациях, высокие концентрации NO, генерируемые iNOS, являются цитотоксичными и являются предшественниками пероксинитритных и гидроксильных радикалов. В условиях низкой биодоступности L-аргина, таких как повышенная активность аргиназы, введение дополнительного L-аргина восстанавливает продукцию NO. У крыс линии Zucker с ожирением/диабетом пищевая добавка с L-аргином подавляла увеличение веса и другие признаки метаболического синдрома, одновременно повышая коэффициент респираторного обмена и теплопродукцию. У людей прием L-аргина улучшает чувствительности к инсулину у пациентов с метаболическим синдромом [9].

Оксидативный стресс при ожирении и диабете

Повышенная продукция АФК считается основным фактором развития и прогрессирования СД2. При ожирении и СД2 в значительной степени преобладают процессы разобщения eNOS вместо ее димеризации. Избыточное количество NO, продуцируемого iNOS, усиливает образование пероксинитрита, что увеличивает окислительное повреждение [60] и усиливает разобщение eNOS. Пероксинитрит может вызывать окисление, нитрование и S-нитрозилирование белков, липидов и ДНК. Ожирение и СД2 связаны со снижением ВН4 и увеличением ВН2 и, следовательно, с уменьшением отношения ВН4 к ВН2, которое нарушает работу eNOS и увеличивает выработку супероксида.

В жировой ткани макрофаги продуцируют как TNF- α , так и iNOS, оба из которых являются провоспалительными факторами и вносят вклад в развитие инсулинорезистентности, вызванной ожирением. Соотношение ксантинооксидазы (XO) и ксантиндегидрогеназы (XDH) определяет количество продуцируемых АФК, а пероксинитрит и TNF α стимулируют превращение XDH в XO, увеличивая соотношение XO/XDH. НАДФН-оксидаза (NOX), XO, ферменты дыхательной цепи митохондрий и несвязанная eNOS продуцируют АФК. При СД2 протеинкиназа C также дополнительно активирует NOX в сосудистой стенке и генерирует супероксид-анион, который реагирует с NO и продуцирует пероксинитрит, а затем окисляет ВН4. Другим фактором, способствующим усилению окислительного стресса при ожирении и СД2, является гипоксия, которая индуцирует активность XO, продукцию провоспалительных цитокинов, включая TNF- α , накопление макрофагов в жировой ткани, усиливает влияние TNF- α на индукцию экспрессии iNOS, снижает активность

каталазы и экспрессию гена глутатионпероксидазы [37].

Роль воспаления в формировании ожирения и диабета

Ожирение и СД2 связаны с хроническим воспалением. В то время как нормальные адипоциты производят лептин и адипонектин, которые увеличивают чувствительность к инсулину, гипертрофированные секретируют моноцитарный хемоаттрактантный белок 1 (MCP-1) и TNF- α , ответственные за инсулинорезистентность. Хроническое воспаление при СД2 приводит к увеличению воспалительных факторов, которые активируют переносчик катионных аминокислот (CAT-2) и подавляют переносчики аргинина CAT-1, которые увеличивают доступность L-аргинина для iNOS и уменьшают ее для eNOS.

В определенных условиях eNOS может индуцировать избыточную продукцию NO, опосредующего токсические эффекты. В исследовании Guo с соавт. был определен сигнальный путь PPAR γ /eNOS, следуя которому NO может регулировать воспаление при СД2. PPAR γ принадлежит к семейству ядерных рецепторов, активируемых пролифератором пероксисом, которые регулируют экспрессию нескольких генов, участвующих в регуляции метаболизма липидов/глюкозы/аминокислот, пролиферации/дифференцировки клеток и воспаления, что позволяет предположить, что он может играть важную роль во многих патологических процессах [61]. Концентрация воспалительных факторов (С-реактивный белок, гемоглобин, IL-1 β , TNF- α , IL-6) была значительно увеличена в клетках линии HepG2 после обработки донатором NO. Напротив, обработка клеток данной линии поглотителем NO обнаружила снижение уровня воспалительных факторов. Таким образом, избыточные количества NO могут принимать участие в воспалительном процессе у пациентов с СД2. Согласно представлениям Singh с соавт., PPAR γ способствует экспрессии eNOS [86], которая индуцирует продукцию NO. Ингибирование экспрессии PPAR γ в клеточной линии HepG2 значительно снижало уровни eNOS и NO, а также уровни С-реактивного белка, гемоглобина, IL-1 β , TNF- α и IL-6. Следовательно, воспалительный процесс при метаболических нарушениях, вызванных СД2 может регулироваться посредством продукции NO, опосредованной путем PPAR γ /eNOS [37].

Развитие гипоксии при ожирении и СД

У гипертрофированных адипоцитов нарушена метаболическая функция, поскольку их диаметр составляет более 150–200 мкм, тогда как нормальное расстояние диффузии кислорода составляет

100–200 мкм; кроме того, по сравнению с худыми людьми, васкуляризация жировой ткани при ожирении снижается. У людей, не страдающих ожирением, кровотоки к жировой ткани увеличиваются после еды, в то время как при ожирении происходит обратная ситуация. Концентрация кислорода низкая в белой жировой ткани как людей, так и животных с ожирением. Парциальное давление кислорода (pO $_2$) в белой жировой ткани мышцей с ожирением в три раза ниже, чем у животных с нормальной массой тела (15.2 мм рт. ст. против 48.0 мм рт. ст.) [12].

Доказательство роли гипоксии в жировой ткани отмечено у людей. Так, нормальное внутрибрюшное давление у человека составляет приблизительно 7 мм рт. ст. и увеличивается до 18 мм рт. ст. при патологическом ожирении, что может снизить приток крови к жировой ткани и привести к гипоксии адипоцитов. Гипоксия индуцирует выработку провоспалительных цитокинов, включая TNF, IL-6, MCP-1, подавляет экспрессию и секрецию адипонектина, который является сенситизатором инсулина [94]. Незначительное хроническое воспаление жировой ткани при ожирении также может вызывать гипоксию, что дает положительную обратную связь [12]. Гипоксия связана с накоплением макрофагов в жировой ткани, обеспечивая связь между гипоксией и воспалением. Окислительный и ЭР-стресс являются одними из основных механизмов развития воспаления при гипоксии [94], которое индуцирует активность XO, а также стимулирует экспрессию XOR. Низкое давление O $_2$ снижает экспрессию генов митохондриального разобщающего белка-2 (UCP-2), каталазы, рецептора, активирующего пролиферацию пероксисом (PPARg), коактиватора PPARg-1a (PGC-1a) и глутатионпероксидазы, тогда как оно увеличивает экспрессию лептина, апелина и висфатина [94]. Для правильного функционирования NOS необходимы физиологические концентрации кислорода, тогда как гипоксия снижает активность eNOS и продукцию NO, а также усиливает эффект TNF- α по индукции экспрессии iNOS как в белых, так и в бурых адипоцитах [68]. NO действует как посредник адаптации к хронической гипоксии, при этом более высокие уровни циркулирующего NO отмечены у жителей низменности, акклиматизировавшихся на больших высотах. Методы, улучшающие васкуляризацию жировой ткани оправданы для уменьшения ее гипоксии. При гипоксии и доступности нитрита образование NO увеличивается; это снижает потребление кислорода и потенциал внутренней митохондриальной мембраны, что приводит к снижению выработки АТФ [31].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Система оксида азота присутствует в организме повсеместно, поэтому модуляция NO-ергической системы может не только улучшить эндотелиальную функцию при СД2, но и непосредственно выступать самостоятельным терапевтическим подходом к лечению диабета.

Воздействие на NO-ергическую систему может улучшить эффективность уже имеющейся терапии, поскольку принимает непосредственное участие в углеводном обмене, а именно функционировании β -клеток, взаимодействии инсулина с клетками-мишенями и центральной регуляции метаболических процессов. Более очевидной роль NO-ергической системы становится при развитии патологических состояний на разных уровнях нарушений углеводного обмена: синтез и секреция инсулина, чувствительность к нему в тканях-мишенях, смещение баланса провоспалительных и противовоспалительных факторов в β -клетках и жировой ткани. Некоторые недостаточно изученные точки взаимодействия и противоречия в существующей литературе еще не дают полного понимания роли NO-ергической системы в развитии нарушений углеводного обмена, но ее вовлеченность в патофизиологию СД2 не вызывает сомнений. Поиск фармакологических средств, влияющих на функционирование NO-ергической системы, может стать перспективным подходом в качестве разработки мишени для фармакологического воздействия с целью повышения эффективности лечения СД.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа поддержана РНФ (проект № 20-75-10013).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дедов И.И., Шестакова М.В., Майорова А.Ю. и др. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом (9-й выпуск) // Сахарный диабет. 2019. Т. 22. № 1. С. 1–121.
2. Дзукоев С.Г., Дзукоева Ф.С., Метельская В.А. Роль оксида азота в формировании эндотелиальной дисфункции при сахарном диабете // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2010. Т. 9. № 8. С. 63–68.
3. Галстян Г.Р., Каратаева Е.А., Юдович Е.А. Эволюция агонистов рецепторов глюкагоноподобного пептида-1 в терапии сахарного диабета 2 типа // Сахарный диабет. 2017. Т. 20. № 4.
4. Пожилова Е.В., Новиков В.Е., Левченкова О.С. Активные формы кислорода в физиологии и патологии клетки // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2015. № 2.
5. Adela R., Nethi S.K., Bagul P.K. et al. Hyperglycaemia enhances nitric oxide production in diabetes: a study from South Indian patients // PLoS One. 2015. V. 10. № 4. P. 125270.
6. Al-Suhaimi E.A., Shehzad A. Leptin, resistin and visfatin: the missing link between endocrine metabolic disorders and immunity // Eur. J. Med. Res. 2013. V. 18. № 1. P. 12.
7. Anggård E. Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine // Lancet. 1994. V. 343. № 8907. P. 1199–206.
8. Assmann T.S., Brondani L.A., Bouças A.P. et al. Nitric oxide levels in patients with diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis // Nitric Oxide. 2016. V. 61. P. 1–9.
9. Atawia R.T., Bunch K.L., Toque H.A. et al. Mechanisms of obesity-induced metabolic and vascular dysfunctions // Front. Biosci. 2019. V. 24. P. 890–934.
10. Ban K., Noyan-Ashraf M.H., Hofer J. et al. Cardio-protective and vasodilatory actions of glucagon-like peptide 1 receptor are mediated through both glucagon-like peptide 1 receptor-dependent and -independent pathways // Circulation. 2008. V. 117. P. 2340–2350.
11. Battelli M.G., Polito L., Bolognesi A. Xanthine oxidoreductase in atherosclerosis pathogenesis: not only oxidative stress // Atherosclerosis. 2014. V. 237. № 2. P. 562–567.
12. Bhattacharya I., Dominguez A.P., Dragert K. et al. Hypoxia potentiates tumor necrosis factor- α induced expression of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in white and brown adipocytes // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2015. V. 461. № 2. P. 287–292.
13. Blaslov K., Bulum T., Duvnjak L. The role of endothelial dysfunction driven by adipocytokines in the development and progression of microvascular complications in patients with type 1 and type 2 diabetes // Med. Hypotheses. 2015. V. 84. № 6. P. 593–595.
14. Bretón-Romero R., Weisbrod R.M., Feng B. et al. Liraglutide Treatment Reduces Endothelial Endoplasmic Reticulum Stress and Insulin Resistance in Patients With Diabetes Mellitus // J. Am. Heart. Assoc. 2018. V. 7. № 18. P. 009379.
15. Cai D. Neuroinflammation and neurodegeneration in overnutrition-induced diseases // Trends Endocrinol. Metab. 2013. V. 24. № 1. P. 40–47.
16. Caldwell R.W., Rodriguez P.C., Toque H.A. et al. Arginase: A Multifaceted Enzyme Important in Health and Disease // Physiol. Rev. 2018. V. 98. № 2. P. 641–665.
17. Campbell S.C., Richardson H., Ferris W.F. et al. Nitric oxide stimulates insulin gene transcription in pancreatic beta-cells // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2007. V. 353. P. 1011–1016.
18. Carvalho-Filho M.A., Ueno M., Hirabara S.M. et al. S-nitrosation of the insulin receptor, insulin receptor substrate 1, and protein kinase B/Akt: a novel mechanism of insulin resistance // Diabetes. 2005. V. 54. № 4. P. 959–967.
19. Cha H.N., Kim Y.W., Kim J.Y. et al. Lack of inducible nitric oxide synthase does not prevent aging-associated insulin resistance // Exp. Gerontol. 2010. V. 45. № 9. P. 711–718.
20. Charbonneau A., Marette A. Inducible nitric oxide synthase induction underlies lipid-induced hepatic insulin resistance in mice: potential role of tyrosine nitration of insulin signaling proteins // Diabetes. 2010. V. 59. № 4. P. 861–871.

21. *Dai C., Brissova M., Reinert R.B. et al.* Pancreatic islet vasculature adapts to insulin resistance through dilation and not angiogenesis // *Diabetes*. 2013. V. 62. P. 4144–4153.
22. *DeFronzo R.A., Fleming G. A., Chen K. et al.* Metformin-associated lactic acidosis: Current perspectives on causes and risk // *Metabolism*. 2016. V. 65. № 2. P. 20–29.
23. *Denninger J.W., Marletta M.A.* Guanylate cyclase and the $\cdot\text{NO}/\text{cGMP}$ signaling pathway // *Biochim. Biophys. Acta*. 1999 V. 1411. № 2–3. P. 334–50.
24. *Donkelaar, D.H.J. ten.* Clinical Neuroanatomy: Brain Circuitry and Its Disorders. Springer International Publishing, 2020. 981 p.
25. *Eckersten D., Henningsson R.* Nitric oxide (NO) – production and regulation of insulin secretion in islets of freely fed and fasted mice // *Regul. Peptides*. 2012. V. 174. P. 32–37.
26. *Farrokhfall K., Hashtroudi M.S., Ghasemi A. et al.* Comparison of inducible nitric oxide synthase activity in pancreatic islets of young and aged rats // *Iran J. Basic Med. Sci*. 2015. V. 18. № 2. P. 115–121.
27. *Förstermann U., Sessa W.C.* Nitric oxide synthases: regulation and function // *Eur. Heart J*. 2011. V. 33. № 7. P. 829–837.
28. *Foster M.W., Hess D.T., Stamler J.S.* Protein S-nitrosylation in health and disease: a current perspective // *Trends Mol. Med*. 2009. V. 15. № 9. P. 391–404.
29. *Fujimoto M., Shimizu N., Kunii K. et al.* A role for iNOS in fasting hyperglycemia and impaired insulin signaling in the liver of obese diabetic mice // *Diabetes*. 2005. V. 54. № 5. P. 1340–1348.
30. *Gaisano H.Y.* Recent new insights into the role of SNARE and associated proteins in insulin granule exocytosis // *Diabetes Obesity Metab*. 2017. V. 19. № 1. P. 115–123.
31. *Ghasemi A., Jeddi S.* Anti-obesity and anti-diabetic effects of nitrate and nitrite // *Nitric Oxide*. 2017. V. 70. P. 9–24.
32. *Gheibi S., Bakhtiarzadeh F., Jeddi S.* Nitrite increases glucose-stimulated insulin secretion and islet insulin content in obese type 2 diabetic male rats // *Nitric Oxide*. 2017. V. 64. P. 39–51.
33. *Gheibi S., Ghasemi A.* Insulin secretion: The nitric oxide controversy // *EXCLI J*. 2020. V. 19. P. 1227–1245.
34. *Gheibi S., Jeddi S., Kashfi K. et al.* Regulation of vascular tone homeostasis by NO and H₂S: Implications in hypertension // *Biochem. Pharmacol*. 2018. V. 149 P. 42–59.
35. *Gotoh T., Mori M.* Nitric oxide and endoplasmic reticulum stress // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2006. V. 26. № 7. P. 1439–1446.
36. *Grillo C.A., Tamashiro K.L., Piroli G.G. et al.* Lentivirus-mediated downregulation of hypothalamic insulin receptor expression // *Physiol. Behav*. 2007. V. 92. № 4. P. 691–701.
37. *Guo H., Zhang Q., Yuan H. et al.* Nitric Oxide Mediates Inflammation in Type II Diabetes Mellitus through the PPAR γ /eNOS Signaling Pathway // *PPAR Res*. 2020. V. 2020. P. 8889612.
38. *Harding H.P., Zhang Y., Ron D.* Protein translation and folding are coupled by an endoplasmic-reticulum-resident kinase // *Nature*. 1999. V. 397. P. 271–274.
39. *Henningsson R., Salehi A., Lundquist I.* Role of nitric oxide synthase isoforms in glucose-stimulated insulin release // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol*. 2002. V. 283. P. 296–304.
40. *Hoeldtke R.D., Bryner K.D., McNeill D.R. et al.* Oxidative stress and insulin requirements in patients with recent-onset type 1 diabetes // *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2003. V. 88. № 4. P. 1624–1628.
41. *Horst B.G., Marletta M.A.* Physiological activation and deactivation of soluble guanylate cyclase // *Nitric Oxide*. 2018. V. 77. P. 65–74.
42. *Hotamisligil G.S.* Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease // *Cell*. 2010. V. 140. № 6. P. 900–917.
43. *Hummasti S., Hotamisligil G.S.* Endoplasmic reticulum stress and inflammation in obesity and diabetes // *Circ. Res*. 2010. V. 107. P. 579–591.
44. *Ishikawa T., Kaneko Y., Sugino F. et al.* Two distinct effects of cGMP on cytosolic Ca²⁺ concentration of rat pancreatic beta-cells // *J. Pharmacol. Sci*. 2003. V. 91. P. 41–46.
45. *Jansson L., Hellerstrom C.* Stimulation by glucose of the blood flow to the pancreatic islets of the rat // *Diabetologia*. 1983. V. 25. P. 45–50.
46. *Jewell J.L., Oh E., Thurmond D.C.* Exocytosis mechanisms underlying insulin release and glucose uptake: conserved roles for Munc18c and syntaxin 4 // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol*. 2010. V. 298. P. 517–R531.
47. *Kaneko Y., Ishikawa T., Amano S. et al.* Dual effect of nitric oxide on cytosolic Ca²⁺ concentration and insulin secretion in rat pancreatic beta-cells // *Am. J. Physiol. Cell Physiol*. 2003. V. 284. P. 1215–1222.
48. *Katashima C.K., Silva V.R.R., Lenhare L. et al.* iNOS promotes hypothalamic insulin resistance associated with deregulation of energy balance and obesity in rodents // *Sci. Rep*. 2017. V. 7. P. 9265.
49. *Kubota T., Kubota N., Kumagai H. et al.* Impaired insulin signaling in endothelial cells reduces insulin-induced glucose uptake by skeletal muscle // *Cell. Metab*. 2011. V. 13. P. 294–307.
50. *Laffranchi R., Gogvadze V., Richter C. et al.* Nitric oxide (nitrogen monoxide, NO) stimulates insulin secretion by inducing calcium release from mitochondria // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 1995. V. 217. P. 584–591.
51. *Lajoix A.D., Reggio H., Chardes T. et al.* A neuronal isoform of nitric oxide synthase expressed in pancreatic beta-cells controls insulin secretion // *Diabetes*. 2001. V. 50. P. 1311–1323.
52. *Lancaster J.R.* Chapter 1—A Concise History of the Discovery of Mammalian Nitric Oxide (Nitrogen Monoxide) Biogenesis // *Nitric Oxide Academic Press*. 2017. P. 1–7.
53. *Lazo-de-la-Vega-Monroy M.L., Vilches-Flores A.* The role of NO-cGMP signaling pathway in pancreatic beta-cell function // *Immunol. Endocr. Metab. Agents. Med. Chem*. 2014. V. 14. P. 8–14.

54. Lee J., Ozcan U. Unfolded protein response signaling and metabolic diseases // *J. Biol. Chem.* 2014. V. 289. № 3. P. 1203–1211.
55. Levine A.B., Punahaole D., Levine T.B. Characterization of the Role of Nitric Oxide and Its Clinical Applications // *Cardiology.* 2012. V. 122. P. 55–68.
56. Li J., Tang Y., Cai D. IKK β /NF- κ B disrupts adult hypothalamic neural stem cells to mediate a neurodegenerative mechanism of dietary obesity and pre-diabetes // *Nat. Cell. Biol.* 2012. V. 14. № 10. P. 999–1012.
57. Liu H., Dear A.E., Knudsen L.B. A long-acting glucagon-like peptide-1 analogue attenuates induction of plasminogen activator inhibitor type-1 and vascular adhesion molecules // *J. Endocrinol.* 2009. V. 201. P. 59–66.
58. Luiking Y.C., Engelen M.P., Deutz N.E. Regulation of nitric oxide production in health and disease // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 2010. V. 13. № 1. P. 97–104.
59. Lv W. Mechanisms and Characteristics of Sulfonylureas and Glinides // *Curr. Top. Med. Chem.* 2020. V. 20. № 1. P. 37–56.
60. Martyn J.A., Kaneki M., Yasuhara S. Obesity-induced insulin resistance and hyperglycemia: etiologic factors and molecular mechanisms // *Anesthesiology.* 2008. V. 109. № 1. P. 137–148.
61. Mastrofrancesco A., Ottaviani M., Cardinali G. et al. Pharmacological PPAR γ modulation regulates sebogenesis and inflammation in SZ95 human sebocytes // *Biochem. Pharmacol.* 2017. V. 138. P. 96–106.
62. Matsuura N., Ishikawa T., Abe S. et al. Nitric oxide-cyclic GMP system potentiates glucose-induced rise in cytosolic Ca²⁺ concentration in rat pancreatic beta-cells // *Life Sci.* 1999. V. 65. P. 1515–1522.
63. Meffert M.K., Calakos N.C., Scheller R.H. et al. Nitric oxide modulates synaptic vesicle docking/fusion reactions // *Neuron.* 1996. V. 16. P. 1229–1236.
64. Mezghenna K., Pomies P., Chalancon A. et al. Increased neuronal nitric oxide synthase dimerisation is involved in rat and human pancreatic beta cell hyperactivity in obesity // *Diabetologia.* 2011. V. 54. P. 2856–2866.
65. Mosén H., Salehi A., Henningsson R. et al. Nitric oxide inhibits, and carbon monoxide activates, islet acid alpha-glucosidase hydrolase activities in parallel with glucose-stimulated insulin secretion // *J. Endocrinol.* 2006. V. 190. № 3. P. 681–693.
66. Nakada S., Ishikawa T., Yamamoto Y. et al. Constitutive nitric oxide synthases in rat pancreatic islets: direct imaging of glucose-induced nitric oxide production in beta-cells // *Pflugers. Arch.* 2003. V. 447. P. 305–311.
67. Nandy D., Johnson C., Basu R. et al. The effect of liraglutide on endothelial function in patients with type 2 diabetes // *Diab. Vasc. Dis. Res.* 2014. V. 11. P. 419–430.
68. Norouzirad R., Gonzalez-Muniesa P., Ghasemi A. Hypoxia in obesity and diabetes: potential therapeutic effects of hyperoxia and nitrate // *Oxid. Med. Cell Longev.* 2017. V. 2017. № 5350267.
69. Nunemaker C.S., Buerk D.G., Zhang M. et al. Glucose-induced release of nitric oxide from mouse pancreatic islets as detected with nitric oxide-selective glass microelectrodes // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2007. V. 292. P. 907–912.
70. Nystrom T., Ortsater H., Huang Z. et al. Inorganic nitrite stimulates pancreatic islet blood flow and insulin secretion // *Free Radic. Biol. Med.* 2012. V. 53. P. 1017–1023.
71. Oleson B.J., Broniowska K.A., Naatz A., et al. Nitric Oxide Suppresses β -Cell Apoptosis by Inhibiting the DNA Damage Response // *Mol. Cell Biol.* 2016. V. 36. № 15. P. 2067–2077.
72. Palmer Z.J., Duncan R.R., Johnson J.R. et al. S-nitrosylation of syntaxin 1 at Cys(145) is a regulatory switch controlling Munc18-1 binding // *Biochem. J.* 2008. V. 413. P. 479–491.
73. Park S.W., Ozcan U. Potential for therapeutic manipulation of the UPR in disease // *Semin. Immunopathol.* 2013. V. 35. № 3. P. 351–373.
74. Perreault M., Marette A. Targeted disruption of inducible nitric oxide synthase protects against obesity-linked insulin resistance in muscle // *Nat Med.* 2001. V. 7. № 10. P. 1138–1143.
75. Rizzo M.A., Piston D.W. Regulation of beta cell glucokinase by S-nitrosylation and association with nitric oxide synthase // *J. Cell. Biol.* 2003. V. 161. P. 243–248.
76. Ron D., Walter P. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2007. V. 8. № 7. P. 519–529.
77. Ropelle E.R., Pauli J.R., Cintra D.E. et al. Targeted disruption of inducible nitric oxide synthase protects against aging, S-nitrosation, and insulin resistance in muscle of male mice // *Diabetes.* 2013. V. 62. № 2. P. 466–470.
78. Salvemini D., Kim S.F., Mollace V. Reciprocal regulation of the nitric oxide and cyclooxygenase pathway in pathophysiology: relevance and clinical implications // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2013. V. 304. № 7. P. 473–487.
79. Sansbury B.E., Cummins T.D., Tang Y. et al. Overexpression of endothelial nitric oxide synthase prevents diet-induced obesity and regulates adipocyte phenotype // *Circ. Res.* 2012. V. 111. № 9. P. 1176–1189.
80. Sansbury B.E., Hill B.G. Regulation of obesity and insulin resistance by nitric oxide // *Free Radic. Biol. Med.* 2014. V. 73. P. 383–399.
81. Schisano B., Harte A.L., Lois K. et al. GLP-1 analogue, liraglutide protects human umbilical vein endothelial cells against high glucose induced endoplasmic reticulum stress // *Regul. Pept.* 2012. V. 174. P. 46–52.
82. Schweizer M., Richter C. Nitric oxide potently and reversibly deenergizes mitochondria at low oxygen tension // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1994. V. 204. P. 169–175.
83. Seckinger K.M., Rao V.P., Snell N.E. et al. Nitric oxide activates β -cell glucokinase by promoting formation of the “glucose-activated” state // *Biochemistry.* 2018. V. 57. P. 5136–5144.
84. Shahid S.M., Mahboob T. Correlation between glycosylated hemoglobin (HbA1c) and serum nitrite oxide (NO) // *Aust. J. Basic. Appl. Sci.* 2009. V. 3. P. 1323–1327.
85. Shankar R.R., Wu Y., Shen H.Q. et al. Mice with gene disruption of both endothelial and neuronal nitric oxide synthase exhibit insulin resistance // *Diabetes.* 2000. V. 49. № 5. P. 684687.

86. Singh A. P., Singh N., Pathak D. et al. Estradiol attenuates ischemia reperfusion-induced acute kidney injury through PPAR- γ stimulated eNOS activation in rats // *Mol. Cell Biochem.* 2019. V. 453. № 1–2. P. 1–9.
87. Smukler S.R., Tang L., Wheeler M.B. et al. Exogenous nitric oxide and endogenous glucose-stimulated beta-cell nitric oxide augment insulin release // *Diabetes.* 2002. V. 51. P. 3450–3460.
88. Spinass G.A., Laffranchi R., Francoys I. et al. The early phase of glucose-stimulated insulin secretion requires nitric oxide // *Diabetologia.* 1998. V. 41. P. 292–299.
89. Stuart-Smith K. Demystified. Nitric oxide // *Mol. Pathol.* 2002. V. 55. № 6. P. 360–366.
90. Sun C., Zhang F., Ge X. et al. SIRT1 improves insulin sensitivity under insulin-resistant conditions by repressing PTP1B // *Cell. Metab.* 2007. V. 6. № 4. P. 307–319.
91. Takeda Y., Matoba K., Sekiguchi K. et al. Endothelial Dysfunction in Diabetes // *Biomedicines.* 2020. V. 8. № 7. P. 182.
92. Tejedo J.R., Ramirez R., Cahuana G.M. et al. Evidence for involvement of c-Src in the anti-apoptotic action of nitric oxide in serum-deprived RINm5F cells // *Cell Signal.* 2001. V. 13. P. 809–817.
93. Tejero J., Shiva S., Gladwin M.T. Sources of Vascular Nitric Oxide and Reactive Oxygen Species and Their Regulation // *Physiol. Rev.* 2019. V. 99. № 1. P. 311–379.
94. Trayhurn P. Hypoxia and adipose tissue function and dysfunction in obesity // *Physiol. Rev.* 2013. V. 93. P. 21.
95. Trevellin E., Scorzetto M., Olivieri M. et al. Exercise training induces mitochondrial biogenesis and glucose uptake in subcutaneous adipose tissue through eNOS-dependent mechanisms // *Diabetes.* 2014. V. 63. № 8. P. 2800–2811.
96. Wang H., Wang A.X., Aylor K. et al. Nitric oxide directly promotes vascular endothelial insulin transport // *Diabetes.* 2013. V. 62. № 12. P. 4030–4042.
97. Wang H., Wang A.X., Liu Z. et al. Insulin signaling stimulates insulin transport by bovine aortic endothelial cells // *Diabetes.* 2008. V. 57. P. 540–547.
98. Willmott N.J., Galione A., Smith P.A. Nitric oxide induces intracellular Ca^{2+} mobilization and increases secretion of incorporated 5-hydroxytryptamine in rat pancreatic beta-cells // *FEBS Lett.* 1995. V. 371. P. 99–104.
99. Yasukawa T., Tokunaga E., Ota H. et al. S-nitrosylation-dependent inactivation of Akt/protein kinase B in insulin resistance // *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. № 9. P. 7511–7518.
100. Yue J.T., Abraham M.A., LaPierre M.P. et al. A fatty acid-dependent hypothalamic-DVC neurocircuitry that regulates hepatic secretion of triglyceride-rich lipoproteins // *Nat. Commun.* 2015. V. 6. P. 5970.
101. Zanutto T.M., Quaresma P.G.F., Guadagnini D. et al. Blocking iNOS and endoplasmic reticulum stress synergistically improves insulin resistance in mice // *Mol. Metab.* 2016. V. 6. № 2. P. 206–218.
102. Zhang L., Wheatley C.M., Richards S.M. et al. TNF- α acutely inhibits vascular effects of physiological but not high insulin or contraction // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2003. V. 285. P. 654–660.
103. Zhang X., Fu Y., Xu X. et al. PERK pathway are involved in NO-induced apoptosis in endothelial cells cocultured with RPE under high glucose conditions // *Nitric Oxide.* 2014. V. 40. P. 10–16.
104. Zhong L., Tran T., Baguley T.D. et al. A novel inhibitor of inducible NOS dimerization protects against cytokine-induced rat beta cell dysfunction. // *Br. J. Pharmacol.* 2018. V. 175. № 17. P. 3470–3485.

The Role of the NO-Ergic System in the Regulation of Carbohydrate Metabolism and the Development of Diabetes Mellitus

D. V. Kurkin^{a, *}, E. E. Abrosimova^a, D. A. Bakulin^a, N. S. Kovalev^a, M. A. Dubrovina^a, A. V. Borisov^b, V. I. Petrov^a, and I. N. Tyurenkov^a

^a Volgograd State Medical University, Volgograd, 400131 Russia

^b Volgograd Medical Research Center, Volgograd, 400131 Russia

*e-mail: strannik986@mail.ru

Abstract—Nitric oxide acts as a regulatory molecule that is universal for most organs and tissues of the body. The role of this molecule in the regulation of carbohydrate metabolism has been determined, and disturbances in the work of the NO-ergic system often precede the development of many pathologies, including diabetes mellitus. This review analyzes current data on the NO-ergic system in general and, mainly, on the role of nitric oxide in the regulation of carbohydrate metabolism in health and disease.

Keywords: nitric oxide, diabetes mellitus, insulin resistance, disorders of carbohydrate metabolism