

ОЦЕНКА ЭНДОТЕЛИОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ НЕКОТОРЫХ ПРОТИВОВИРУСНЫХ СРЕДСТВ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ

Харитонов О. В., Поздняков Д. И., Сигарева С. С., Исмаилова С. Ю.

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» (ФГБОУ ВО ВолГМУ), 357532, пр. Калинина, 11, Пятигорск, Россия

Для корреспонденции: Поздняков Дмитрий Игоревич, заведующий кафедрой фармакологии с курсом клинической фармакологии Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолГМУ, e-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru

For correspondence: Dmitry I. Pozdnyakov, Head of the Department of Pharmacology with a course in Clinical Pharmacology Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of the Volgograd State Medical University, e-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru

Information about authors:

Kharitonova O. V., <https://orcid.org/0000-0001-7840-9269>

Pozdnyakov D. I., <https://orcid.org/0000-0002-5595-8182>

Sigareva S. S., <https://orcid.org/0000-0002-6510-6602>

Ismailova S. Yu., <https://orcid.org/0009-0004-2999-4261>

РЕЗЮМЕ

Учитывая высокую тропность вирусов гриппа и парагриппа к сосудистому эндотелию и, возникающую вследствие этого высокую частоту осложнений, изучение эндотелиопротекторного действия противовирусных средств представляется актуальным. Цель исследования – оценить эндотелиопротекторное действие некоторых противовирусных средств в условиях экспериментальной эндотелиальной дисфункции. Материал и методы. Эндотелиальную дисфункцию моделировали на мышах самцах C57BL/6 путем введения раствора нитро-L-аргинин метилового эфира (внутрибрюшинно, 25 мг/кг, 7 дней). Противовирусные препараты римантадин, осельтамивир, риамилловир, умифеновир, сополимер карбоксиметилцеллюлозы и госсипола вводили перорально на протяжении 7-ми дней после моделирования эндотелиальной дисфункции. Далее в супернатанте брюшной части аорты оценивали изменение концентрации матричных металлопротеиназ 2 и 9, эндотелиальной и индуцибельной синтазы оксида азота. Результаты. В ходе исследования было показано, что введение животным сополимера карбоксиметилцеллюлозы и госсипола, римантадина и умифеновира не приводило к значимым изменениям концентрации металлопротеиназ и изоферментов синтазы оксида азота. В тоже время на фоне введения осельтамивира и риамилловира наблюдалось достоверное уменьшение содержания в супернатанте сосуда матричных металлопротеиназ (2-го типа – на 26,3% ($p<0,05$) и 20,4% ($p<0,05$); 9-го типа – на 41,0% ($p<0,05$) и 19,5% ($p<0,05$) соответственно) и индуцибельной синтазы оксида азота (на 62,5% ($p<0,05$) и 57,2% ($p<0,05$)), тогда как концентрация эндотелиальной изоформы, напротив, увеличилась (на 64,5% ($p<0,05$) и 40,0% ($p<0,05$)). Заключение. Проведенное исследование показало, что применение риамилловира и осельтамивира у животных с экспериментальной эндотелиальной дисфункцией сопровождается развитием эндотелиопротекторного действия.

Ключевые слова: эндотелиальная дисфункция, металлопротеиназы, синтазы оксида азота, противовирусные препараты.

EVALUATION OF THE ENDOTHELIOPROTECTIVE EFFECT OF CERTAIN ANTIVIRAL AGENTS IN CONDITIONS OF EXPERIMENTAL ENDOTHELIAL DYSFUNCTION

Kharitonova O. V., Pozdnyakov D. I., Sigareva S. S., Ismailova S. Yu.

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute - branch of the Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, Russia

SUMMARY

Given the high tropism of influenza and parainfluenza viruses to the vascular endothelium and the resulting high incidence of complications, the study of the endothelioprotective effect of antiviral agents is relevant. The aim of the study was to evaluate the endothelioprotective effect of certain antiviral agents in conditions of experimental endothelial dysfunction. Material and methods. Endothelial dysfunction was modeled on male C57BL/6 mice by injection of a solution of nitro-L-arginine methyl ester (intraperitoneally, 25 mg/kg, 7 days). Antiviral drugs rimantadine, oseltamivir, riamilovir, umifenovir, carboxymethylcellulose and gossypol copolymer were administered orally for 7 days after modeling endothelial dysfunction. Further, changes in the concentration of matrix metalloproteinases 2 and 9, endothelial and inducible nitric oxide synthases were evaluated in the supernatant of the abdominal aorta. Results. The study showed that the administration of a carboxymethylcellulose and gossypol copolymer, rimantadine and umifenovir to animals did not lead to significant changes in the concentration of metalloproteinases and isoenzymes of nitric oxide synthase. At the same time, against the background of the administration of oseltamivir and riamilovir, a significant de-

crease in the content of matrix metalloproteinases in the vessel supernatant was observed by (type 2 - 26.3% ($p<0.05$) and 20.4% ($p<0.05$); type 9 by 41.0% ($p<0.05$) and 19.5% ($p<0.05$), respectively) and inducible nitric oxide synthase (by 62.5% ($p<0.05$) and 57.2% ($p<0.05$)), while the concentration of the endothelial isoform, on the contrary, increased (by 64.5% ($p<0.05$) and 40.0% ($p<0.05$)). Conclusion. The study showed that the use of riamilovir and oseltamivir in animals with experimental endothelial dysfunction is accompanied by the development of endothelioprotective effects.

Key words: endothelial dysfunction, metalloproteinases, nitric oxide synthases, antiviral drugs.

В современном мире вирусные заболевания распространяются намного быстрее, приобретая все более опасные труднокурабельные формы [1]. Влияние вирусов на микроциркуляторное русло представляет собой важную область исследований, в связи с необходимостью понимания последствий действия вирусных частиц на различные органы, системы и метаболические пути, а также риски развития осложнений на фоне присутствия вируса в организме [2].

Сосудистая система выполняет многочисленные жизненно важные функции макроорганизма, включая транспорт питательных веществ, газов, гормонов и других сигнальных молекул, иммунных клеток и гуморальных медиаторов иммунитета. Некоторые вирусы способны проникать в кровоток и провоцировать виремию, необходимую для вирусов, передающихся трансмиссивно, в то время как другие вирусы используют сосудистую систему для распространения из первичного места инфекции к другим органам-мишеням [3]. Ряд вирусов реплицируются в сосудистых и иммунных клетках, циркулирующих в сосудистой системе. В некоторых случаях нарушение целостности и функции сосудов, особенно микроциркуляторного русла, напрямую способствует вирусному повреждению, опосредуя кровотечение или нейротропные симптомы.

Микроциркуляторное русло, состоящее из артериол, капилляров и посткапиллярных венул, представляет собой наибольшую поверхность сосудистой циркуляции, и именно здесь локализовано большинство физиологических процессов, ассоциированных с эндотелием. Важным аспектом патологии микроциркуляции во время вирусной инфекции является эндотелиальная дисфункция, вызванная воспалительными реакциями и выработкой цитокинов [4].

В норме эндотелиальные клетки способствуют образованию неадгезивной сосудистой поверхности, которая улучшает перфузию тканей, ограничивает воспаление и трансвакулярное перемещение клеток и белков, а также предотвращает свертывание крови. При вирусной инфекции или повреждении тканей эндотелиальные клетки активируются непосредственно вирусными компонентами или косвенно растворимыми медиаторами (интерлейкины, фактор некроза опухоли, интерфероны). Такая активация иници-

ирует внутриклеточный трансдукционный сигнал, который достигает кульминации в активации и ядерной транслокации факторов транскрипции IRF и NF- κ B. Это приводит к экспрессии генов, которые способствуют противовирусным реакциям, свертыванию, проницаемости сосудов и миграции лейкоцитов. Кроме того, активация эндотелиальных клеток типа I, например, тромбином, вызывает быстрое высвобождение предварительно синтезированных молекул (например, VWF, ANGPT2, P-селектина и CXCL8) с аналогичными эффектами. В случае подавляющей или постоянной активации эндотелиальные клетки могут стать дисфункциональными, что ведет к потере контроля над сосудистым тонусом, проницаемостью и коагуляцией. Кроме того, прямое вирусное повреждение эндотелия еще больше нарушает сосудистый барьер и обнажает протромботические факторы (тканевой фактор, коллаген), которые усугубляют дисфункциональную коагуляцию [5]. Постепенно нарастая, по мере распространения инфекционного процесса, она может способствовать вазоконстрикции и тромбозу.

Кроме того, на эндотелиоциты могут негативно воздействовать некоторые противовирусные средства. Установлено, что антиретровирусные (ритонавир, зидовудин) и средства широкого противовирусного действия (ремдесивир) при курсовом применении способствуют развитию эндотелиальной дисфункции, что в сочетании с вирусной нагрузкой усугубляет течение инфекции, способствуя тромбозам [6]. Учитывая, что вирусы гриппа и парагриппа обладают высокой тропностью к сосудистому эндотелию, оценка эндотелипротекторного действия противогриппозных препаратов приобретает особую актуальность в контексте лекарственной безопасности и эффективности проводимого лечения. Цель исследования – оценить эндотелиопротекторное действие некоторых противовирусных препаратов на фоне экспериментальной эндотелиальной дисфункции.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на 70 самцах лабораторных мышей C57BL/6, весом $29,4 \pm 2,9$ г, полученных из вивария Пятигорского медико-фармацевтического института. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом

(протокол №4 от 20.03.2024). Мышей случайным образом распределяли на семь равных групп ($n=10$) с учетом средней разницы массы тела в межгрупповом и внутригрупповом сравнении не более 10%. Первую группу составляли интактные животные, остальным шести группам, с целью моделирования эндотелиальной дисфункции вводили внутрибрюшинно раствор N-нитро-L-аргинин метилового эфира (L-NAME) один раз в сутки в дозе 25 мг/кг ежедневно, в течение 7 дней [7]. Затем с учетом межвидового коэффициента пересчета доз для мышей осуществляли пересчет суточной дозы каждого включенного в исследование препарата. *Ex tempore* изготавливали водные растворы Осельтамивира (Тамифлю, F.Hoffmann-La Roche, Ltd, Швейцария, 0,17 мг/кг), сополимера карбоксиметилцеллюлозы и госсипола (Кагоцел ООО «Ниармедик фарма», Россия, 0,08 мг/кг), Римантадина (ПАО «Биосинтез», Россия, 0,18 мг/кг), Риамиловира (ООО «Медсинтез», Россия, 0,85 мг/кг) и суспензию Умифеновира (Арбидол, ОАО «Фармстандарт-Лексредства», 0,91 мг/кг) после чего осуществляли пероральное введение необходимой дозы атравматичным желудочным зондом раз в сутки в течении недели в объеме 0,3 мл. Расчет доз выполнен согласно рекомендациям FDA Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers, 2005. Группа животных негативного контроля (с эндотелиальной дисфункцией, но без лечения, далее L-NAME) получала аналогичный объем воды дистиллированной. После окончания введения анализируемых препаратов у животных под хлоралгидратной анестезией (внутрибрюшинное введение хлоралгидрата (PanReas, Испания), 350 мг/кг) проводили забор биоматериала – брюшной части аорты, которую гомогенизировали в фосфатно-солевом буферном растворе при pH=7,4. Полученный гомогенат центрифугировали при 20 000g на протяжении 20 мин., после чего отделяли супернатант, в котором оценивали концентрацию матриксных металлопротеиназ 2-го и 9-го типов (ММП-2 и ММП-9 соответственно), а также эндотелиальной (eNOS) и индуцибельной (iNOS) синтаз оксида азота. В ходе анализа использовали стандартные наборы реактивов для твердофазного иммуноферментного анализа, производства Cloud Clone (США), и систему микропланшетного ридера Infinite F50 (Tecan, Австрия).

Результаты экспериментов обрабатывали методом вариационной статистики с использованием пакета прикладных программ StatPlus 7.0. Полученные результаты проверяли на нормальность распределения с использованием критерия Шапиро-Уилка. В случае нормального распределения для сравнения средних использовали ANOVA

с пост-тестом Тьюки. В противном случае дальнейшую статистическую обработку результатов эксперимента проводили с использованием непараметрического критерия Краскелла-Уоллиса с пост-процессингом по Данну [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты исследования представлены в таблице 1. В группе животных с эндотелиальной дисфункцией, вызванной введением L-NAME, отмечено повышение концентрации ММП-2 и ММП-9 в супернатанте артерии по отношению к аналогичным показателям интактных мышей на 99,3% ($p<0,05$) и 184,7% ($p<0,05$) соответственно. Также у животных эндотелиальной дисфункцией наблюдалось увеличение (относительно группы интакта) концентрации iNOS на 331,2% ($p<0,05$), при снижении содержания eNOS на 54,0% ($p<0,05$).

На фоне введения животным умифеновира, сополимера карбоксиметилцеллюлозы и госсипола, а также римантадина значимых изменений концентрации биомаркеров эндотелиальной дисфункции по отношению к L-NAME группе мышей зафиксировано не было. В тоже время введение животным осельтамивира сопровождалось уменьшением (в сравнении с группой мышей, которым не проводили фармакоррекцию) концентрации ММП-2 – на 26,3% ($p<0,05$); ММП-9 – на 41,0% ($p<0,05$) и iNOS – на 62,5% ($p<0,05$). Также стоит отметить, что у мышей, получавших осельтамивир, содержание eNOS в супернатанте артерии увеличилось относительно группы животных без фармакотерапии на 64,5% ($p<0,05$). При применении риамиловира отмечено уменьшение концентрации ММП-2 и ММП-9 в сравнении с L-NAME группой животных на 20,4% ($p<0,05$) и 19,5% ($p<0,05$) соответственно. Также у мышей, которым вводили риамиловир, наблюдалось увеличение содержания eNOS на 40,0% ($p<0,05$), при снижении концентрации iNOS на 57,2% ($p<0,05$). Стоит отметить, что у животных, получавших риамиловир и осельтамивир, по отношению к мышам, которым вводили умифеновир, сополимер карбоксиметилцеллюлозы и госсипола, римантадин, отмечены достоверные отличия уровня биомаркеров эндотелиальной дисфункции, а именно содержание ММП-2, ММП-9 и iNOS было ниже, а eNOS, соответственно выше (табл. 1).

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенная работа показала, что применение некоторых противовирусных средств, в частности осельтамивира и риамиловира, сопровождается развитием эндотелиопротективного действия у животных с L-NAME-индуцированной эндотелиальной дисфункцией. При этом, важную

Таблица 1. Влияние анализируемых противовирусных препаратов на изменение концентрации биомаркеров повреждения эндотелия сосудов у мышей с эндотелиальной дисфункцией (M±SD).
Table 1. Effect of the analyzed antiviral drugs on changes in the concentration of biomarkers of vascular endothelial damage in mice with endothelial dysfunction (M±SD).

Группа	ММП-2, пг/мл	ММП-9, пг/мл	eNOS, пг/мл	iNOS пг/мл
Интакт	14,5±0,2	7,2±0,3	125,3±2,9	6,6,1±1,6
L-NAME	28,9±8,2*	20,5±2,2*	57,7±3,2*	28,5±9,3*
Умифеновир	31,2±8,5* Δ μ	22,1±5* Δ μ	62,1±4,5* Δ μ	30,5±5,7* Δ μ
Сополимер карбокси-метилцеллюлозы и госсипола	28,4±7,5* Δ μ	20,1±3,2* Δ μ	68,5±9,2* Δ μ	28,4±5,6* Δ μ
Римантадин	28,9±2,7* Δ μ	20,9±4* Δ μ	65,4±9,1* Δ μ	28,5±4,4* Δ μ
Осельтамивир	21,3±5,3#	12,1±3,9#	94,9±9,2#	10,7±7,2#
Риамиловир	23±3,1#	16,5±4,7#	80,8±9,2#	12,2±3,7#

Примечание. ММП-2,9 – металлопротеиназы 2,9, eNOS –эндотелиальная NO-синтаза, iNOS - индуцибельная NO-синтаза,*– статистически значимо относительно интактной группы (тест Тьюки; p<0,05), #– статистически значимо относительно группы мышей L-NAME (критерий тест Тьюки; p<0,05), Δ – достоверно относительно группы мышей, получавших осельтамивир (тест Тьюки; p<0,05), μ - достоверно относительно группы мышей, получавших риамиловир (тест Тьюки; p<0,05).

Note. MMP-2,9–metalloproteinase 2,9, eNOS –endothelial NO-synthase, iNOS -inducible NO-synthase,*– significant relative to the intact group (Tukey test; p<0.05), #– significant relative to the L-NAME group (Tukey test; p<0.05), Δ – significantly relative to the group of mice treated with oseltamivir (Tukey test; p<0.05), μ - significantly relative to the group of mice treated with riamilovir (Tukey test; p<0.05).

роль в реализации данного эффекта может играть уменьшение концентрации ферментов резорбции сосудистой стенки – ММП. ММП – мультигенное семейство структурно и функционально сходных Zn- и Ca-зависимых эндопептидаз, способных модифицировать все известные компоненты экстрацеллюлярного матрикса, а также многие нематриксные молекулы. Их синтез и секреция осуществляется различными клетками, среди которых нейтрофилы, моноциты, макрофаги, фибробласты, остеокласты, онкогенно-трансформированные клетки, хондроциты, кератиноциты, эндотелиальные и эпителиальные клетки. Желатиназы (ММП-2, ММП-9) влияют на проницаемость сосудистой стенки и ангиогенез, регулируя катаболизм компонентов внеклеточного матрикса и клеточно-матриксные взаимодействия [9]. Суть процессов ангиогенеза заключается в том, что после расширения сосудов и повышения их проницаемости происходит констрикция эндотелиальных клеток и уменьшение плотности межклеточных контактов. В результате базальная мембрана разрушается некоторыми протеазами, включая ММП, затем пул эндотелиальных клеток через разрушенную базальную мембрану мигрирует в паренхиму под действием ангиогенных факторов, в результате формируются новые незрелые капиллярные петли. Избыточная актив-

ность ММП-2 отрицательно коррелирует с количеством фибробластов и капилляров [10]. Кроме того, ММП-2, ММП-9 могут ингибировать ангиогенез, что обусловлено их способностью превращать плазминоген в ангиостатин, который угнетает пролиферацию и усиливает апоптоз эндотелиоцитов. Таким образом, матриксные металлопротеиназы играют важную роль в ремоделировании сосудов, что существенно повышает риски осложнений вирусной инфекции при их избыточной активации [11].

Также стоит отметить, что на фоне применения осельтамивира и риамиловира наблюдалось восстановление равновесия в системе eNOS/iNOS, что может отражать нормализацию работы системы синтеза оксида азота и сохранение интактных эндотелиоцитов. Оксид азота (NO) – важнейший эндотелий релаксирующий фактор, ответственен за вазодилатацию, синтезируется из L-аргинина под действием фермента NO-синтазы. Продукцию NO в организме млекопитающих катализируют три изоформы фермента NOS, две из которых постоянно функционирующие, или конститутивные ферменты: нейрональная (nNOS) и эндотелиальная (eNOS) NO-синтазы, они постоянно экспрессируются в нейронах и эндотелиальных клетках; для их активации необходимы ионы Ca²⁺ и кальмодулин

[12]. Индуцибельная NOS (iNOS) — это фермент, который не экспрессируется в клетках постоянно, но ее синтез может быть стимулирован бактериальным липополисахаридом, провоспалительными цитокинами (гамма-интерфероном, ИЛ-1, ИЛ-2, фактором некроза опухоли). Хотя iNOS в первую очередь идентифицируется в макрофагах, экспрессия фермента может быть стимулирована практически в любой клетке или ткани, под индуцирующих агентов. После экспрессии iNOS постоянно активна и не регулируется внутриклеточными концентрациями Ca^{2+} , играет значимую роль в прогрессировании воспаления, окислительного стресса, повышении сосудистой проницаемости [13]. Таким образом, эндотелиопротекторное действие осельтамивира и риампирифа может быть связано, как с воздействием на сосудистые желатиназы, так и системы синтеза монооксида азота.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что в условиях L-NAME-индуцированной эндотелиальной дисфункции у мышей введение римантадина, умифеновира, сополимера карбоксиметилцеллюлозы и госсипола не сопровождается развитием эндотелиопротекторного действия. В тоже время применение осельтамивира и риампирифа способствовало снижению концентрации матриксных металлопротеиназ 2 и 9, iNOS, повышению содержания eNOS в сосудах артериального типа, что свидетельствует о восстановлении структурно-функциональных свойств эндотелия сосудов и, соответственно, эндотелиопротекторном действии.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии явных и скрытых конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

Conflict of interests. The authors declare that there are no obvious and hidden conflicts of interest related to the publication of this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Saloň A., De Boever P., Goswami N. Microvascular Changes during Viral Infections: A Systematic Review of Studies Using Retinal Vessel Diameter Assessments. *Biomedicines*. 2024;12(7):1488. doi: 10.3390/biomedicines12071488.
2. Khan A. O., Reyat J. S., Hill H., et al. Preferential uptake of SARS-CoV-2 by pericytes potentiates vascular damage and permeability in an organoid model of the microvasculature. *Cardiovasc Res*. 2022;118(15):3085-3096. doi: 10.1093/cvr/cvac097.
3. Butsabong T., Felipe M., Campagnolo P., Maringer K. The emerging role of perivascular cells (pericytes) in viral pathogenesis. *J Gen Virol*. 2021;102(8):001634. doi:10.1099/jgv.0.001634.
4. MacLean M. A., Kamintsky L., Leck E. D., Friedman A. The potential role of microvascular pathology in the neurological manifestations of coronavirus infection. *Fluids Barriers CNS*. 2020;17(1):55. doi:10.1186/s12987-020-00216-1
5. Fosse J. H., Haraldsen G., Falk K., Edelmann R. Endothelial Cells in Emerging Viral Infections. *Front Cardiovasc Med*. 2021;8:619690. doi:10.3389/fcvm.2021.619690
6. Grosicki M., Wojnar-Lason K., Mosiolek S., Mateuszuk L., Stojak M., Chlopicki S. Distinct profile of antiviral drugs effects in aortic and pulmonary endothelial cells revealed by high-content microscopy and cell painting assays. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2024;490:117030. doi:10.1016/j.taap.2024.117030
7. Amadi P. U., Agomuo E. N., Adumekwe C. W. Modulatory properties of cardiac and quercetin glycosides from *Dacryodes edulis* seeds during L-NAME-induced vascular perturbation. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 2020;31(5):j/jbcpp.2020.31.issue-5/jbcpp-2019-0116/jbcpp-2019-0116.xml. doi: 10.1515/jbcpp-2019-0116.
8. Lang T. A., Altman D. G. Basic statistical reporting for articles published in biomedical journals: the «Statistical Analyses and Methods in the Published Literature» or the SAMPL Guidelines. *Int J Nurs Stud*. 2015;52(1):5-9. doi:10.1016/j.ijnurstu.2014.09.006
9. Chen Q., Jin M., Yang F., Zhu J., Xiao Q., Zhang L. Matrix metalloproteinases: inflammatory regulators of cell behaviors in vascular formation and remodeling. *Mediators Inflamm*. 2013;2013:928315. doi:10.1155/2013/928315
10. Egorov D., Kopaliani I., Ameln A. K., Speier S., Deussen A. Mechanism of pro-MMP9 activation in co-culture of pro-inflammatory macrophages and cardiomyocytes. *Exp Cell Res*. 2024;434(1):113868. doi:10.1016/j.yexcr.2023.113868
11. Ghosh A., Pechota A., Coleman D., Upchurch G. R Jr, Eliason J. L. Cigarette smoke-induced MMP2 and MMP9 secretion from aortic vascular smooth cells is mediated via the Jak/Stat pathway. *Hum Pathol*. 2015;46(2):284-294. doi:10.1016/j.humpath.2014.11.003
12. Roy R., Wilcox J., Webb A. J., O’Gallagher K. Dysfunctional and Dysregulated Nitric Oxide Synthases in Cardiovascular Disease: Mechanisms and Therapeutic Potential. *Int J Mol Sci*. 2023;24(20):15200. doi:10.3390/ijms242015200
13. Carlström M., Weitzberg E., Lundberg J.O. Nitric Oxide Signaling and Regulation in the Cardiovascular System: Recent Advances. *Pharmacol Rev*. 2024;76(6):1038-1062. doi:10.1124/pharmrev.124.001060.