УДК 616.8:577.1

К ВОПРОСУ О РОЛИ ОКСИДА АЗОТА В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Львова О.А.[1], Орлова А.Е.[2], Гусев В.В.[1], Ковтун О.П.[1], Чегодаев Д.А.[1]

[1]Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Уральская государственная медицинская академия» Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию
[2]Муниципальное Учреждение Детская городская клиническая больница №9, г. Екатеринбург

В статье представлен литературный обзор сведений о биохимической структуре и свойствах оксида азота, путях выработки и обмене его в организме человека. Представлены сведения о роли оксида азота в нормальном и патологическом функционировании нервной системы, и описанные в современных литературных источниках сведения о ферментах-регуляторах физиологической и патологической продукции оксида азота – NO-синтетазах, их генетической регуляции.

Ключевые слова: оксид азота, NO-синтетаза, нервная система.

THE ROLE OF NITRIC OXIDE IN HEALTH AND DISEASE OF THE NERVOUS SYSTEM

Lvova O.A. [1], Orlova A. E. [2], Kovtun O.P. [1], Gusev V.V. [1], Chegodaev D.A. [1]

[1]State educational institution of higher education "Urals State Medical Academy", Federal Agency for Health and Social Development
[2]Children City Clinical Hospital №9, Ekaterinburg

The article presents a literature review of information about the biochemical structure and properties of nitric oxide, and its ways of development and sharing in the body. The article provides the information of the role of nitric oxide in normal and pathological functioning of the nervous system, and also provides described in modern literature data of enzyme regulators of physiological and pathological production of nitric oxide - NO-synthases and their gene regulation.

Keywords: nitric oxide, NO-synthase, the nervous system.

Всего 12 лет тому назад Louis J. Ignarro, Ferid Murad и Robert F. Furchgott – были награждены Нобелевской премией по физиологии и медицине за установление функциональной роли оксида азота в работе сердечно-сосудистой системы. Продолжая их путь, современные ученые неуклонно обогащают науку все новыми знаниями о роли этой маленькой молекулы в организме человека.

Биохимические свойства

В химическом отношении NO представляет собой маленькую липофильную молекулу, состоящую из одного атома азота и одного атома кислорода и имеющую непарный электрон, что

превращает ее в высоко реактивный радикал, свободно проникающий через биологические мембраны и легко вступающий в реакции с другими соединениями. Это растворимый в воде и жирах бесцветный газ с уникальными физиологическими свойствами. Как соединение с промежуточной степенью окисления азота NO может быть как восстановителем, так и окислителем [1].

Подбором условий можно превратить NO и в другие соединения со степенями окисления от + 1 до – 3. В организме молекула NO может существовать в разных электронных состояниях:

относительно стабильный (NO*) нейтрально заряженный радикал;

при присоединении одного электрона он восстанавливается до (NO-) нитроксил-аниона. Имеет лишний электрон, с чем связана его высокая (в три раза выше, чем у кислорода) химическая активность;

при потере одного электрона он может трансформироваться в ион нитрозония (NO+) [2].

Строение молекулы окиси азота, во многом сходной с молекулами кислорода, оксида углерода(II) и HCN, сообщает ей такое общее с ними свойство, как способность к образованию комплексов.

Каждая из описанных форм NO имеет свои клеточные мишени и, соответственно, играет различные роли в клеточных процессах. Главная мишень окиси азота — растворимая гуанилатциклаза, содержащая 4 гема (рецепторы для NO) связывание с которыми индуцирует гуанилатциклазу и усиливает синтез циклической ГМФ [3]. В клетках гладкой мускулатуры это циклическое соединение снижает концентрацию внутриклеточного кальция, что приводит к расслаблению клетки и вазодилатации. Кроме того, цГМФ в крови совместно с предсердным натрийуретическим гормоном, вырабатываемым в эндокринных клетках предсердия, взаимодействует со специфическими рецепторами почечного эпителия, гладкой мускулатуры артерий, коры надпочечников и гипофиза, легких, печени, тонкого кишечника, вызывая разнообразные биологические эффекты.

Еще одной точкой приложения NO является матричная РНК. В этой связи представляет особый интерес способность NO и его производных экспрессировать ряд важнейших белков и ферментов, причем как на уровне транскрипции, так и трансляции (стресс-белков, ферритина, белков антиоксидантной защиты, белков-

рецепторов трансферритина, ядерного белка p53, ответственного за блокаду злокачественных новообразований и других белков). В разных электронных состояниях молекула NO может активировать или подавлять активность многих ферментов и белков (гуанилат-циклазы, РНК-редуктазы, компонентов дыхательной цепи и гликолиза, ядерных факторов транскрипции, белков ионных каналов).

Вопреки небольшим, высокие концентрации NO не реализуют свой эффект через цГМФ, а напротив, оказывают прямое цитотоксическое действие, связываясь супероксидным радикалом и образуя пероксинитрит, который индуцирует повреждения ДНК и мутации, ингибирует функцию ферментов. Таким образом, в высоких концентрациях NO является фактором эндогенной интоксикации, играющим важную роль в течении и исходе критических состояний, так при терминальных состояниях (септический шок, синдром длительного раздавливания, уремическое кровотечение) наблюдается резкое повышение уровня в крови NO. При этом активированные в гепатоцитах и макрофагах производящие NO синтетазы увеличивают продукцию NO более чем в 1000 раз.

В условиях организма NO может связываться в относительно стабильные соединения и депонироваться в клетках или транспортироваться на расстояния, во много раз превышающие размеры клетки. В качестве депо NO выступают динитрозильные комплексы железа с серусодержащими лигандами и S-нитротиолы (.RS-NO) [2].

NO в организме животных и человека синтезируется из L-аргинина с помощью цитохром P-450-подобных гемопротеинов — NO-синтаз. Молекулы синтаз содержат домены с оксигеназной и редуктазной активностью и при синтезе NO присоединяют молекулярный кислород к конечному атому азота в гуанидиновой группе L-аргинина [4].

2Arg + 3NADPH + 4O2 + 3H =

= 2Cit + 2NO + 3NADPH + 4H2O

где Arg - аргинин; Cit - цитруллин.

По характеру индукции и действию они подразделяются на ряд типов, каждая из которых имеет свои особенности в механизмах действия, локализации и в биологическом значении для организма [136].

Выделяют Ca2+-независимую (индуцибельную, iNOS) NO-синтазу (2 тип) и менее мощные конститутивные (ингредиентные) Ca2+-зависимые и кальмодулинзависимые NO-синтазы — нейрональная (название дано по месту

первого обнаружения, 1 тип, nNOS) и эндотелиальная или макрофагальная (3 тип, eNOS) изоформы. Последние два типа NO-синтаз считаются конституциональными, потому что экспрессируются постоянно, и в условиях физиологической нормы, и при патологии [5]. nNOS является цитозольным белком, а eNOS — мембраносвязанным белком [6].

NOS-1, кроме нервной ткани, экспрессируется в скелетных мышцах, кардиомиоцитах, эпителии бронхов и трахеи [7]. Фермент участвует в обеспечении механизмов памяти, модуляции болевого раздражения, координации между нервной активностью и сосудистым тонусом [8, 9]. При избирательном блокировании NOS-1 [10] повышаются агрессивность и сексуальность животных, увеличивается частота небольших церебральных инфарктов. В условиях дефицита L-аргинина nNOS может генерировать супероксид-анион и перекись водорода, которые способны оказывать нейротоксическое действие при ишемии [2].

"Индуцибильная" NO-синтаза (NO-синтаза 2 типа), может экспрессироваться в клетках сосудистой стенки и макрофагах только при патологических процессах (например, при воспалении). Основные индукторы NOS-2 - воспалительные цитокины, эндотоксины, некоторые компоненты клеточной стенки грамположительных бактерий, механическое повреждение сосудистой стенки, беременность. Ее экспрессия не зависит от концентрации внутриклеточного кальция. Впервые выделенная из активированных лейкоцитов, гомодимер с молекулярной массой 135 кД, она также обнаружена в кардиомиоцитах, эндотелиоцитах, гладкомышечных клетках, гепатоцитах, однако основным ее источником являются макрофаги [7]. Следствием индукции NOS-2 является усиление кровотока в очагах воспаления, при гиперпродукции NO возможна полная потеря сосудистой реактивности на прессорные стимулы вплоть до развития септического шока (это единственная форма NOS, способная синтезировать цитотоксические уровни NO, так как в ее структуре отсутствует аутоингибирующая последовательность). В некоторых тканях, например бронхиальном эпителии человека, почках крысы, ряде фетальных тканей, NOS-2 - конституциональный фермент. Экспериментальная блокада NOS-2 приводит к повышению чувствительности организма к инфекции, ослаблению, но не полной утрате гипотензивного эффекта эндотоксина. Вероятно, этому ферменту принадлежит важная роль в

патофизиологических механизмах развития ишемии, а затем и формировании инсульта и других сосудистых катастроф (шок, синдром длительного раздавливания).

Третий тип NOS - эндотелиальная NO-синтетаза (также названная по месту первого обнаружения) с молекулярной массой 160 кД, конституциональный мембраносвязанный фермент, регулируемый уровнем ионов кальция. NOS-3, помимо эндотелиальных клеток, встречается в целом ряде тканей (кардиомиоциты, пейсмекерные клетки, тромбоциты, гиппокамп, легочный и почечный эпителий). Блокада NOS-3 не приводит к развитию сердечно-сосудистых аномалий, однако способствует нарушению регуляции сосудистого тонуса: у экспериментальных животных отмечается умеренное повышение АД, эндотелий-зависимая релаксация в ответ на ацетилхолин блокируется (не повреждается эндотелийнезависимая релаксация на нитропруссид натрия) [11].

Изоформы NOS являются продуктами различных генов. Ген первой из них (нейрональная,1 тип, nNOS) картирован в хромосоме 12q24. Ген NO-синтазы 3 типа, эндотелиальной, участвующей в синтезе NO эндотелием и регуляции сосудистого тонуса, локализован в хромосоме 7q35-36 [12]. Отмечено, что полиморфизм этого гена имеет значение в развитии сердечно-сосудистой патологии, такой как артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, гипертрофия левого желудочка, эндотелиальной дисфункции, атеросклероза и даже – сахарного диабета [11]. Описаны и изучаются 4 полиморфных маркера гена NOS3: интрон 18 локус A27C; интрон 23 локус G10T; интрон 4 eNOS4a/b полиморфизм и аксон 7 Glu298Asp полиморфизм (структурный) [12,13].

Регуляция синтеза

Авторами отмечены различия в регуляции работы конституциональных и индуцибельной NOS. Первые обладают кальцийзависимой активностью, доказано заметное повышение их активности под влиянием таких факторов, как ацетилхолин, брадикинин, серотонин, АДФ, тромбин, глутамат, и других агентов, стимулирующих вход кальция в клетку [4]. Механизм их действия во многом сходен: Ca2+ под влиянием нейротрансмиттера входит в клетку, где связывается в единый комплекс с кальмодулином в цитозоле. Комплекс Ca-кальмодулин выступает как кофактор и активирует NOS[14]. Это

приводит к синтезу небольших количеств (пикомоли) и выделению на некоторое время (порядка нескольких минут) NO. При активации конститутивной NO-синтетазы под влиянием отмеченных факторов синтез этого фермента не увеличивается.

Последнее характерно для индуцируемой, кальцийнезависимой NO-синтетазы. Под влиянием иммуногенных и провоспалительных стимулов (эндотоксины, бактериальные липополисахариды, γ-интерферон, интерлейкин-1, фактор некроза опухолей и др.) происходит экспрессия гена, ответственного за синтез индуцируемой NO-синтетазы. При этом соответствующие клетки (макрофаги, нейтрофилы, моноциты, клетки Купфера, гепатоциты, фибробласты и др.) продуцируют и выделяют на протяжении многих часов, иногда дней, в тысячу раз больше NO (наномоли), чем под влиянием конститутивной NO-синтетазы [4]. NO в данном случае оказывает мощное повреждающее действие на проникающие в организм микробные и другие инородные клетки, осуществляя, таким образом, защитную функцию, при этом повышая устойчивость клеток печени к сепсису и процедуре ишемии-реперфузии [15, 16, 17]. Экспрессия iNOS тормозится стероидами, белком p53, тепловым шоком и самим оксидом азота. Так, блокирование iNOS неселективными ингибиторами резко усиливает повреждение печени. Таким образом, экспрессию iNOS в печени можно рассматривать как адаптивный ответ ткани, обеспечивающий снижение степени ее повреждения при воспалительной реакции.

С возрастом активность NOS снижается. У лиц старше 75 лет уровень NO в крови в 3-4 раза ниже, чем у лиц 25-30-летнего возраста. Предполагают, что это является одним из физиологических механизмов старения организма [2].

Длительное применение доноров NO может привести к ингибированию его эндогенного синтеза в эндотелии по механизму отрицательной обратной связи. Эта же проблема возникает и при длительной ингаляции NO, при курении. Активность NO-синтаз снижается даже после одной сигареты. Уменьшение интенсивности синтеза NO может быть одним из механизмов развития бронхоконстрикции у хронических курильщиков. Количество эндогенного NO, который обнаруживается в выдыхаемом воздухе, у них заметно снижено. Так же синтез NO снижен при бронхиальной астме и хроническом обструктивном бронхите.

Недостаток NO обусловливает спазм гладкой мускулатуры бронхов, опосредует развитие бронхоспазма [18].

Относительно недавно обнаружен эндогенный ингибитор фермента NOS - асимметричный диметиларгинин (АДМА). Скорее всего, АДМА является "физиологическим" конкурентным ингибитором NOS. Его деградация осуществляется при помощи внутриклеточного фермента диметиларгинин-диметиланимогидролазы (ДДАГ), метаболизирующей его в цитруллин, выводящийся почками. Повышение уровня АДМА отмечается при снижении клубочковой фильтрации, активности ДДАГ, усилении гидролиза метилированных протеинов. Внутриартериальное введение АДМА способно вызывать вазоконстрикцию у здоровых лиц [19]. Имеется связь между концентрацией АДМА в плазме крови и уровнем общей продукции NO [20].

Механизм действия

NO способен оказывать паракринное и дистантное воздействие [21]. Под влиянием ингредиентных NOS образуются очень малые количества NO, которые измеряются пикомолями. Продуцируемый этими изоформами NOS осуществляет, главным образом, местную (паракринную) регуляцию, опосредуя свои эффекты через систему гуанилатциклазы. (Shi et al., 1998; Looms et al., 2001).

Будучи липофильной молекулой, NO легко диффундирует через клеточные мембраны и проникает в соседние клетки. NO может также активировать натрий-калиевый насос наружной клеточной мембраны, что приводит к ее гиперполяризации [22].

Для объяснения дистантного действия NO было выдвинуто несколько гипотез, одна из которых предполагает транспортировку NO в форме S-нитрозотиолов цистеина, альбумина и гемоглобина, а также гемоглобиновых динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ) в плазме [21, 23]. Процесс связывания и освобождения NO регулируется степенью оксигенации гемоглобина: деоксигенация гемоглобина сопровождается разрывом нитрозильной связи [24]. В итоге, Hb-SNO оказывает сосудорасширяющее действие и усиливает кровоток в сосудах, в отличие от HbO2, который вызывает сокращение сосудов (так как превращает NO в нитрат). Другая гипотеза позволяет рассматривать нитрит-ионы в качестве транспортной формы и источника NO. Причем высвобождение газообразного азота может происходить как в кровеносном

русле, так и в тканях путем диспропорционирования нитритов. Цепочка редукции будет выглядеть следующим образом [21,25]:

$$NO2^{-} + H \rightarrow HNO2 \quad (1)$$

$$HNO2 \rightarrow N2O3 + H2O \quad (2)$$

$$N2O3 \rightarrow NO + NO2 \quad (3)$$

Данный путь образования NO имеет значение примущественно при патологических состояниях, сопровождающихся закислением среды. При нейтральных pH имеет место прямое восстановление нитрита в присутствии гемопротеинов (гемоглобин, миоглобин, цитохром С оксидаза и цитохром Р-450) [25] по схеме:

$$Hb + NO2^{-} + 2H \rightarrow metHb + NO + H2O \quad (4)$$

Все исследователи отмечают зависимость действия оксида азота от его концентрации. С одной стороны, он обладает цитопротективным эффектом и недостаточный синтез его приводит к свободнорадикальному повреждению мембран клеток, как итог - развитие дисфункции эндотелия, атеросклероза. В то же время, избыточный синтез NO обусловливает апоптотическую гибель клеток. Лишь концентрация NO порядка нескольких наномолей оказывается оптимальной для процесса жизнедеятельности клеток [2].

РОЛЬ В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ

Физиологическая активность оксида азота играет важную роль в функционировании различных систем организма, а именно сердечно-сосудистой, дыхательной, мочевыделительной, иммунной, пищеварительной, эндокринной, системы гемостаза и, конечно же, центральной и периферической нервной систем.

Оксид азота (NO) — один из важнейших мессенджеров в регуляции систем внутри- и межклеточной сигнализации — широко представлен как в центральной, так и в периферической нервной системе. NO синтезируется в нейронах некоторых отделов головного мозга (Garthwaite, Boulton, 1995; Chertok et al., 2009), интрамуральных ганглиях (Thippeswamy et al., 2001), преганглионарных парасимпатических и постганглионарных симпатических волокнах (Keilhoff et al., 2002). Не так давно NO был обнаружен в афферентных волокнах и рецепторных аппаратах сердца [14].

Методами иммуногистохимии и гибридизации in situ удалось детально

изучить локализацию nNOS в мозге. Местами ее локализации оказались в первую очередь глутаматергические гранулярные клетки и ГАМК-ергические корзинчатые клетки мозжечка, нейроны коры мозга и полосатое тело (в последних двух образованиях nNOS содержится в 1— 2% общей популяции нейронов). Необходимо отметить, что во всех нейронах, где обнаружена NOS, одновременно выявляется и другой фермент — NADPH-диафораза [26].

В ЦНС и ВНС имеются нитрергические синапсы. Их медиатором является также NO. Высокая и кратковременная реактогенность присущи NO и другим нейротрансмиттерам. До открытия системы окиси азота нитрергические синапсы относились к "нехолинергическим и неадренергическим" [27].

Показано, что в центральной нервной системе NO специфически не связывается с рецепторами постсинаптической мембраны, как в случаях с классическими нейротрансмиттерами. Он диффундирует в другие участки, включая пресинаптические нейроны (т. е. действует как ретроградный мессенджер), смежные нейроны и глиальные клетки. Так, по эфферентным нитрергическим нервам NO распространяется в органы дыхательной системы, желудочно-кишечного тракта, мочеполовой системы, в матку [22].

В большинстве случаев NO действует как нейромодулятор динамической активности нейронов, не оказывая прямого влияния на величину их потенциала. В периферической нервной системе NO может выступать в роли нейротрансмиттера, опосредуя активность нитроксидергических нейронов (Коцюба А. Е., 2003). Центральные отростки этих нейронов участвуют в образовании эфферентных сплетений, иннервирующих сосудистую и внесосудистую гладкую мускулатуру сердца, пищеварительной системы и дыхательных путей. Стимуляция NO-нейронов вызывает глубокую релаксацию гладких миоцитов артериальных сосудов, нижней части пищевода, желудка и тонкой кишки (Мотавкин, 2004).

Недавние исследования (Черток В.М., Коцюба А. Е., 2010) показали, что NO широко представлен в афферентных структурах головного мозга, а особенности функциональных свойств этой газообразной молекулы доказывают возможность ее активного участия в локальных механизмах чувствительной иннервации церебральных сосудов. Находясь в структуре клубочковых рецепторов сосудов, NO участвует в

барорецепции, реагировании на изменения кровяного давления, сигнализирует о тонусе и сократительной деятельности сосудов, о количестве протекающей по ним крови, создавая необходимые предпосылки для обеспечения нормальной работы нейронов головного мозга (Motavkin et al., 1990). И хотя механизмы участия NO в рецепции и проведении возбуждения к вышележащим центрам доподлинно неизвестны, предполагается, что они универсальны как в центральной, так и в периферической нервной системе (Kaushik et al., 2001; Toda, Okamura, 2003).

В иммунонейроэндокринной системе оксид азота является также одним из важнейших медиаторов внутриклеточного и межклеточного взаимодействия. Показана важная модулирующая роль оксида азота при стресс-реакции, некоторые исследователи даже выделяют оксид азота как отдельную «стресслимитирующую NO-систему».

Известно, что регуляторная система чутко реагирует на любое изменение гомеостаза, очевидна и ее реакция на стрессорное воздействие, каковым являются многие тяжелые неврологические (черепно-мозговая травма, острые нарушения мозгового кровообращения, прежде всего острая церебральная ишемия) и соматические заболевания (сепсис, шоки, политравма). Запуск стресс-реакции иммунонейроэндокринной системы происходит за счет активации основных ее стрессреализующих осей — гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и симпатоадреналовой. Стрессорная реакция, которая первично являлась адаптивной, вскоре начинает принимать участие в механизмах патологического процесса: избыточные гормональные изменения вызывают комплекс циркуляторных и метаболических нарушений и замыкают порочные круги патогенеза той или иной болезни. Таким образом, первично компенсаторный акт становится «болезнью адаптации».

Установлено также, что NO оказывает ингибирующее влияние на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему, подавляя ее функциональную активность и тем самым ограничивая стресс-реакцию. Ингибирование нейрональной изоформы NOS (в исследованиях гипоталамо-гипофизарной системы крыс) приводило к уменьшению синтеза оксида азота в нейронах, усиливалось освобождение вазопрессина и окситоцина. Таким образом, NO ингибирует активацию гипоталамо-гипофизарно-

надпочечниковой системы, вызываемую вазопрессином, и обладает стресслимитирующим действием [28].

Как избыток, так и недостаток NO может быть значимым в патогенезе многих заболеваний, если учесть его важную роль в регуляции деятельности всех по существу клеток и систем органов в целом. Так, кроме нейропротективного и стресспротективного, оксиду азота свойственно и нейротоксическое действие; он участвует как в провоспалительных, так и в противовоспалительных каскадах реакций. Выделяемый под влиянием iNOS, NO, наряду с защитной функцией, в зависимости от локализации, степени выраженности и длительности воспалительного процесса, может оказывать противоположное, патологическое действие. В некоторых случаях к таким же негативным результатам могут приводить и изменения активности конститутивной NO-синтетазы в нервной и сердечно-сосудистой системах. Следует также иметь в виду и прямое цитотоксическое действие больших концентраций NO [4].

В последние годы продемонстрирована ведущая роль высоких концентраций NO в патогенезе нейродегенеративных заболеваний центральной нервной системы, связанных с нейротоксическим действием глутамата, в который может превращаться аргинин. Глутамат является главным возбуждающим нейротрансмиттером в головном (в пределах коры) и спинном мозге. В то же время, глутамат является самым мощным стимулятором синапсогенеза, регуляции роста и развития аксона нервной клетки.

В определенных рецепторах глутамат и его структурные аналоги способны связываться с глутаматными рецепторами и проявлять нейротоксическое действие путем гиперреактивации рецепторно-канальных комплексов, что приводит к повреждению, дегенерации и гибели нейронов. Это явление известно как "глутаматный каскад", или глутаматная нейротоксичность, которая в итоге приводит к повреждению нейронов с развитием устойчивых расстройств мозговой деятельности: длительное открытие ионных кальциевых каналов приводит к перегрузке клеточного матрикса кальцием. Это явление лежит в основе ряда патологических состояний центральной нервной системы (ЦНС) — болезней Паркинсона, Альцгеймера, эпилепсии, ишемическом инсульте и др.

В настоящее время большинство исследователей полагают, что цитотоксическое/цитостатическое

действие NO обусловлено его способностью в реакции с супероксидным радикалом продуцировать пероксинитрит. Этот анион сравнительно стабилен при физиологических значениях pH, но при патологических состояниях в течение секунд распадается, оказывая окислительное действие на различные внутриклеточные мишени, что и определяет цитотоксическое действие, вызывающее гибель клеток и тканей по механизмам апоптоза и некроза [2].

В вопросе изучения механизмов апоптогенного эффекта оксида азота, рядом исследований показано, что NO может служить фактором, инициирующим запуск киназного каскада [29] – основной регуляторной системы, контролирующей экспрессию ряда генов, ответственных за развитие апоптоза клетки.

Более подробно механизм инициации стресс-активируемых киназ (MAPKs) оксидом азота может быть представлен следующим образом. Как известно, весь каскад представляет собой цепь последовательных реакций фосфорилирования нижестоящих киназ (MAPK, к которым относятся p38 MAPK и JNK) вышестоящими (например Ask-1). В покое Ask-1 (киназа первого порядка) связана с белком тиоредоксином (Trx1), образуя негативный комплекс [30,31,32]. Нитрирование тиоредоксина по остатку тирозина (Tyr49) приводит к изменению конформации белка. Вследствие чего происходит диссоциация комплекса и, соответственно, активация Ask-1 [33,34,35]. Интересно, что S-нитрозилирование Trx1 по остаткам цистеина (Cys-69, Cys-73), напротив, приводит к повышению его активности и, соответственно, блоку апоптоза [34].

Кроме регуляции экспрессии генов, ферменты третьего порядка MAP-киназного каскада, способны к посттрансляционной модификации некоторых проапопотозных белков. Так, например, p38 MAPK обусловливает конформационные изменения белка Bax, способствуя, его транслокации к митохондриальной мембране, и последующему высвобождению цитохрома С. [36,37]. То же справедливо и по отношению к протеинкиназе JNK [38,39].

Существенное значение в развитии программированной клеточной гибели имеет S-нитрозилирование белков семейства IAP. Это семейство высококонсервативных протеинов, блокирующих активные сайты каспаз, связывая их через специфические BIR-домены. Поскольку BIR-домены XIAP (наиболее часто экспрессируемого белка

семейства) содержат множество цистеиновых остатков это предопределяет его в качестве субстратов для S-нитрозилирования, что нивелирует функцию ингибитора апоптоза [40].

Антиапоптозный эффект оксида азота сводится к подавлению активности каспаз, главным образом каспазы-3. Подавление происходит либо вследствие, опять же, S-нитрозилирования активного центра непосредственно каспазы-3 [41], либо в результате блока инициирующих каспаз [41, 42]. Так, например, нарушение олигомеризации белка Apaf-1 (структурного компонента апоптосомы, в рамках которой происходит протеолиз прокаспазы-9) является одним из механизмов блокирования апоптоза на уровне инициирующих каспаз [43].

В настоящее время в патогенезе ишемии головного мозга, как было указано выше, детально изучаются механизмы повреждения нервных клеток, связанные с нейротоксичностью глутамата, опосредованной монооксидом азота [44].

По современным данным, NO, синтезируемый в ранний период ишемического повреждения мозга (по некоторым данным, до 8 мин), обладает нейропротективным действием и препятствует запуску процессов апоптоза в нейронах, но в более поздние сроки проявляет нейротоксический эффект, зависящий от определенной изоформы синтазы в конкретной области мозга [45].

Учитывая, что NO может играть патогенетическую роль при целом ряде патологических состояний нервной системы, в том числе ишемии, некоторые ингибиторы NOS стали объектом интенсивного изучения в качестве возможных нейропротекторов. Описана группа производных 7-нитроиндазола [46]. Они селективно ингибируют nNOS, проявляя при этом антиноцицептивное и противосудорожное действие [47].

Таким образом, дальнейшее углубленное изучение роли NO как в нервной системе, так и в целом организме человека, открывает перспективы для новых терапевтических стратегий в лечении неврологической и соматической патологии.

Список литературы

1. Зеленин К.Н. Оксид азота (II): новые возможности давно известной молекулы // Соросовский образовательный журнал, 1997, №10, с. 105-110.
2. Степанов Ю. М., Кононов И. Н., Журбина А. И. и др. Аргинин в медицинской практике (обзор литературы).// Журн. АМН Украины. 2004. Т. 10. Вып. 1. С. 340-352.

3. Moncada S., Higgs E.A. The L-arginine-nitric oxide pathway.// New Engl J Med 1993; 329: 2002-2012.
4. Марков. Х.М. Роль оксида азота в патогенезе болезней детского возраста.// Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2000. Вып.4. С.43-47.
5. Терещенко С.Н., Затейщиков Д.А., Жиров И.В. и др. Полиморфизм генов ангиотензинпревращающего фермента, ангиотензина II, NO-синтетазы, эстрогеновых рецепторов и гендерные различия в их влиянии на развитие сердечно-сосудистой патологии.// Кардиология. 2009. Вып. 4 С. 22-26.
6. Denis M. Interferon-gamma-treateated murine macrophages inhibit growth of tubercle bacilli via the generation of reactive nitrogen intermediates.// Cell Immunol 1991; 132: 150-157.
7. Kazuhiro Sase., Michel T. Expression and regulation of endothelial nitric oxide synthase. TCM 1997; 7(1): 28-37.
8. Garthwaite J. Glutamate, nitric oxide and cell-cell signaling in the nervous system. Trends Neurosci 1991; 14: 60-67.
9. Snyder S.H., Bredt D.S. Biological roles of nitric oxide. Sci Am 1992; 266: 68-71.
10. Huang P.L., Dawson T.M., Bredt D.S. et al. Targeted disruption of the neuronal nitric oxide synthase gene. Cell 1993; 75: 1273-1286.
11. Зотова И.В., Затейщиков Д.А., Сидоренко Б.А. Синтез оксида азота и развитие атеросклероза. // Кардиология. 2002. Вып. 4. С.58-67.
12. http://www.rusmedserv.com/cardio/gen.htm Минушкина Л.О. Гены эндотелиальных факторов и артериальная гипертония.
13. Каримова И. А., Елисеева М. Р., Каримова Б. Ш. и др. Эффективность терапии небивололом у больных эссенциальной гипертонией с различными генотипами полиморфного маркера 4a/4b гена эндотелиальной NO-синтетазы. // Кардиология. 2004.Т. 44, Вып. 8. С. 67-71.
14. Черток В.М., Коцюба А. Е. Оксид азота в механизмах афферентной иннервации артерий головного мозга.// Цитология. 2010. Т.52. Вып. 1. С. 24- 29.
15. Сомова Л.М., Плехова Н.Г. Оксид азота как медиатор воспаления// Вестник ДВО РАН. – 2006. Вып.2. С. 77-80.
16. Al-Ramadi B.K., Meissler J.J., Huang D., Eisenstein T.K. Immunosupression induced by nitric oxide and its inhibihion by interleukin-4 // Eur. J. Immunol. 1992. Vol. 22. P. 2249–2254.
17. Bamberger T., Masson I., Mathieu J. et al. Nitric oxide mediates the depression of lymphoproliferative responses following burn injury in rats // Biomed. and Pharmacother. 1992. Vol. 46. P. 495–500.
18. Ивашкин В.Т., Дропкина О.М. Оксид азота в регуляции активности физиологических систем.// Рос. журн. Гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. 2000. Вып.4. С.16-21.
19. Vallance P., Leone A., Collier J., Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. Lancet 1992; 339: 572-575.
20. Boger R.H., Bode-Boger S.M., Thiele W., Frolich J.C. Biochemical evidens for impaired nitric oxide synthesis in patients with peripheral arterial occlusive disease. Circulation 1997; 95: 2068-2074.)
21. Lundberg J.O., Weitzberg E. NO generation from nitrite and its role in vascular control. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2005 May;25(5):915-22.
22. Виноградов Н.А. Антимикробные свойства окиси азота и регуляция ее биосинтеза в макроорганизме.// Антибиотики и химиотерапия. 1998. Вып.2. С. 24-29.
23. Шумаев К.Б. Роль динитрозильных комплексов в защите биомолекул и клеточных структур от окислительного, нитрозативного и карбонильного стрессов. Автореф. дис. д-ра биол. наук. М., 2010, 48 с.

24. Stamler JS, Jia L, Eu JP, McMahon TJ, Demchenko IT, Bonaventura J, Gernert K, Piantadosi CA. Blood flow regulation by S-nitrosohemoglobin in the physiological oxygen gradient. Science. 1997;276:2034 –2037.
25. Осипов А.Н, Биологическая роль нитрозильных комплексов гемопротеинов. Успехи биологической химии. Т. 47. 2007, С. 259-292.
26. Нечипуренко Н.И. Роль оксида азота при ишемии головного мозга. // Медицинские новости. 2004. Вып. 1. С. 7-10.
27. Раевский К.С. Оксид азота — новый физиологический мессенджер: возможная роль при патологии центральной нервной системы. Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1997. Вып.5. С.484–490.
28. Малахов В.А., Монастырский В.О., Джанелидзе Т.Т. Оксид азота и иммунонейроэндокринная система.// Международный неврологический журнал. 2008. Вып. 3(19).
29. Huwiler A, Pfeilschifter J. Nitric oxide stimulates the stress-activated protein kinase p38 in rat renal mesangial cells. J Exp Biol.1999;202(Pt 6):655-60.
30. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Саприн А.Н. Участие тио- перокси- и глутаредоксинов в клеточных редокс-зависимых процессах. Успехи биологической химии, т. 48, 2008, С. 319-358.
31. Hsieh CC, Papaconstantinou J. Thioredoxin-ASK1 complex levels regulate ROS-mediated p38 MAPK pathway activity in livers of aged and long-lived Snell dwarf mice. FASEB J. 2006. (2):259-68.
32. Nadeau PJ, Charette SJ, Landry J. REDOX reaction at ASK1-Cys250 is essential for activation of JNK and induction of apoptosis. Mol. Biol. Cell. 2009;20(16):3628-37.
33. Yin T, Hou R, Liu S, Lau WB, Wang H, Tao L. Nitrative inactivation of thioredoxin-1 increases vulnerability of diabetic hearts to ischemia/reperfusion injury. J. Mol. Cell. Cardiol.
34. Zhang H, Tao L, Jiao X, Gao E, Lopez BL, Christopher TA, Koch W, Ma XL. Nitrative thioredoxin inactivation as a cause of enhanced myocardial ischemia/reperfusion injury in the aging heart. Free Radic. Biol. Med. 2007;43(1):39-47.
35. Tao L, Jiao X, Gao E, Lau WB, Yuan Y, Lopez B, Christopher T, RamachandraRao SP, Williams W, Southan G, Sharma K, Koch W, Ma XL. Nitrative inactivation of thioredoxin-1 and its role in postischemic myocardial apoptosis. Circulation. 2006 Sep 26;114(13):1395-402 .
36. Ghatan S., Larner S., Kinoshita Y., Hetman M., Patel L., Xia Z., Youle R.J., Morrison R.S. p38 MAP kinase mediates bax translocation in nitric oxide-induced apoptosis in neurons. J. Cell. Biol. 2000;150(2):335-47.
37. Van Laethem A., Van Kelst S., Lippens S., Declercq W., Vandenabeele P., Janssens S., Vandenheede J.R., Garmyn M., Agostinis P. Activation of p38 MAPK is required for Bax translocation to mitochondria, cytochrome c release and apoptosis induced by UVB irradiation in human keratinocytes. FASEB J. 2004;18(15):1946-8.
38. Putcha GV, Le S, Frank S, Besirli CG, Clark K, Chu B, Alix S, Youle RJ, LaMarche A, Maroney AC, Johnson EM Jr. JNK-mediated BIM phosphorylation potentiates BAX-dependent apoptosis. Neuron. 2003;38(6):899-914.
39. Kim BJ, Ryu SW, Song BJ. JNK- and p38 kinase-mediated phosphorylation of Bax leads to its activation and mitochondrial translocation and to apoptosis of human hepatoma HepG2 cells. J Biol Chem. 2006;281(30):21256-65.
40. Tsang AH, Lee YI, Ko HS, Savitt JM, Pletnikova O, Troncoso JC, Dawson VL, Dawson TM, Chung KK. S-nitrosylation of XIAP compromises neuronal survival in Parkinson's disease. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009 Mar 24;106(12):4900-5.
41. Zhou P, Qian L, Iadecola C. Nitric oxide inhibits caspase activation and apoptotic morphology but does not rescue neuronal death. J Cereb Blood Flow Metab. 2005. 25(3):348-57.
42. Rössig L, Fichtlscherer B, Breitschopf K, Haendeler J, Zeiher AM, Mülsch A, Dimmeler S. Nitric oxide inhibits caspase-3 by S-nitrosation in vivo. J Biol Chem. 1999 ;274(11):6823-6.

43. Zech B, Köhl R, von Knethen A, Brüne B. Nitric oxide donors inhibit formation of the Apaf-1/caspase-9 apoptosome and activation of caspases. Biochem J. 2003;371:1055-64.
44. Faraci F.M., Brian J.E. // Stroke. 1994. V.25. P.692—703.
45. Гомазков О.А. Нейрохимия ишемических и возрастных патологий мозга: Информ.-аналит. изд. М.: Б. и., 2003. с. 200.
46. Moore P.K., Wallace P., Gaffen Z. et al.// Brit. J. Pharmacol. 1993. V. 110. P. 219—224.
47. Mulsch A., Busse R., Mordvintsev P. et al.// Neuroreport. 1994. V. 5. P. 2325—2328.

Львова Ольга Александровна – к. м. н., доц., зав. кафедры неврологии детского возраста и неонтологии ГОУ ВПО УГМА Росздрава, 650013, г. Екатеринбург, ул Репина д. 3, e-mail: olvova@bk.ru

Дата поступления статьи: 13.12.2010