

45. Puig, J.G. Uric acid as a cardiovascular risk factor in arterial hypertension / J.G. Puig, L.M. Ruilope // *J. Hypertens.* — 1999. — № 17. — P.869—872.
46. Rajagopalan, S. Angiotensin II — mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation: contribution to alterations of vasomotor tone / S. Rajagopalan, S. Kurz, T. Munzel [et al.] // *J. Clin. Invest.* — 1996. — Vol. 97. — P.1916—1923.
47. Rao, G.N. Active oxygen species stimulate vascular smooth muscle cell growth and proto-oncogene expression / G.N. Rao, B.C. Berk // *Circulat. Res.* — 1992. — Vol. 70. — P.593—599.
48. Robertson, J.I.S. Cardiac failure, the kidney, renin and atrial peptides / J.I.S. Robertson, A.M. Richards // *Europ. Heart. J.* — 1988. — № 9. — P.11—14.
49. Romero, J.C. Role of angiotensin and oxidative stress in essential hypertension / J.C. Romero, J.F. Reckelhoff // *Hypertension.* — 1999. — Vol. 34. — P.943—949.
50. Sealey, J.E. Evidence for cardiovascular effect of prorenin / J.E. Sealey // *J. Human Hypertens.* — 1995. — № 9. — P.381—384.
51. Singh, R.B. Effect of hydrosoluble coenzyme Q10 on blood pressure and insulin resistance in hypertensive patients with coronary artery disease / R.B. Singh, M.A. Niaz, S.S. Rastogi [et al.] // *J. Hum. Hypertens.* — 1999. — № 13. — P.203—208.
52. Soloviev, A.I. Evidence for the involvement of protein kinase C in depression of endothelium — dependent vascular responses in spontaneously hypertensive rats / A.I. Soloviev, A.V. Parshikov, A.V. Stefanov // *Vasc. Res.* — 1998. — Vol. 35. — P.325—331.
53. Sundaresan, M. Requirement for generation of H₂O₂ for PDGF signal transduction / M. Sundaresan, Z.X. Yu, V.I. Ferrans [et al.] // *Science.* — 1995. — Vol. 270. — P.296—299.
54. Tolins, J.P. Role of endothelium — derived relaxing factor in hemodynamic response to acetylcholine in vivo / J.P. Tolins, R. Raj // In: Nitric oxide from L-arginin: a bioregulatory system. Royal Society (London). — 1989. — № 13.
55. Touyz, R.M. Oxidative stress and vascular damage in hypertension / R.M. Touyz // *Curr. Hypertens. Rep.* — 2000. — № 2. — P.98—105.
56. Touyz, R.M. Ang II-stimulated superoxide production is mediated via phospholipase D in human vascular smooth muscle cell / R.M. Touyz, E.L. Schiffrin // *Hypertension.* — 1999. — Vol. 34. — P.976—982.
57. Wagner, G. Control of the renal renin system by local factors / G. Wagner, B.L. Jensen, B.K. Kramer [et al.] // *Kidney Int.* — 1998. — Vol. 54, № 67. — P.78—83.
58. Wang, X. Expression of endothelin-1, endothelin-3, endothelin-converting enzyme-1, and endothelin-A and endothelin-B receptor mRNA after angioplasty — induced neoinimal formation in the rat / X. Wang, S. Douglas, C. Loudon [et al.] // *Circulat. Res.* — 1996. — Vol. 78. — P.322—328.
59. Watanpitayakul, S.K. Endothelial dysfunction and peroxynitrite formation are early events in angiotensin — induced cardiovascular disorders / S.K. Watanpitayakul, D.M. Weinstein, B.J. Holycross, J.A. Bauer // *FASEB J.* — 2000. — № 14 (2). — P.271—278.
60. Wei, E.P. Superoxide generation and reversal of acetylcholine-induced cerebral dilatation after acute hypertension / E.P. Wei, H.A. Kontos, C.W. Christman // *Circulat. Res.* — 1985. — Vol. 57. — P.781—787.
61. Zafari, A.M. Role of NADH/NADPH oxidase-derived H₂O₂ in angiotensin II-induced vascular hypertrophy / F.M. Zafari, M. Ushio-Fukai [et al.] // *Hypertension.* — 1998. — Vol. 32. — P.488—495.
62. Zatz, R. Chronic nitric oxide inhibition model six years on / R. Zatz, C. Baylis // *Hypertension.* — 1998. — Vol. 32. — P.958—964.

© Р.Г.Сайфутдинов, 2009

УДК 546.172.6-31:616.1/.4

РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ (обзор литературы)

Рафик Галимзянович Сайфутдинов

ГОУ ДПО «Казанская государственная медицинская академия Росздрава», кафедра терапии № 1

Ключевые слова: оксид азота, заболевания внутренних органов.

THE ROLE OF NITRIC OXIDE IN PATHOLOGY OF INTERNAL DISEASES (literature review)

R. G. Saifoutdinov

Kazan State Medical Academy, Department of Therapy № 1

Key words: nitric oxide, pathology of internal organs.

Более 100 лет прошло после синтеза нитроглицерина и применения его в клинике. Однако метаболизм и механизм действия этого препарата в организме человека до конца не раскрыт. Считается, что эффект нитроглицерина обусловлен оксидом азота (NO), относящимся к двухатомным нейтральным молекулам. Малые размеры и отсутствие заряда обеспечивают ему высокую проницаемость через мембраны клеток и субклеточных структур. При температуре 37°C коэффициент диффузии для NO приблизительно в 1,4 раза выше, чем для кислорода.

Эндотелий стенки сосуда при участии фермента NO-синтазы из L-аргинина продуцирует эндогенный фактор расслабления, проявляющий свойства NO [23, 38]. В на-

стоящее время известно, что NO-синтаза представляет собой группу ферментов (КФ 1.14.13.39) (табл. 1).

Ген I типа NO-синтазы человека занимает регион 12q24.2-12q24.31 в хромосоме 12, ген II типа — 17q11 в хромосоме 17, а ген III типа — 7q35-7q36 в хромосоме 7 [16].

Синтазы оксида азота обладают различными функциями и активируются или ингибируются в зависимости от природы агентов, действующих на клетки (табл. 2).

NO-синтаза I типа (нейроны, конститутивная) наиболее активна в нейронах мозжечка и в астроглии. Она представляет собой гомодимер, состоящий из двух одинаковых субъединиц с молекулярной массой в 160 кДа. Характеризуется обратимым связыванием

Клетки, содержащие NO-синтазу

Тип I	Тип II	Тип III
Нейроны	Макрофаги	Эндотелий
Эпителий бронхов	Мышечные клетки сердца человека	
Эпителий желудка	Гладкомышечные элементы сосудов	
Скелетные мышцы человека	Гепатоциты (кальмодулинзависимая)	
Фоторецепторы	Эпителий кишечника	
	Мегакариоциты, кератиноциты	

Регуляция активности NO-синтазы

Регуляция	Тип I (нейроны)	Тип II (макрофаги)	Тип III (эндотелий)
Экспрессия: постоянная повышается снижается мутация	Да При воспалении IFN- γ , LPS Делеции	Нет IFN- γ , LPS IL-1,2 Глюкокортикоиды ?	Да Shear stress TNF- α ?
Посттрансляционные модификации: димеризации фосфорилирование миристилирование связывание с кальмодулином	Да Да Нет Обратимое (Ca ²⁺)	Да (кофакторзависима) ? Нет Необратимое	? Да Да Обратимое (Ca ²⁺)
Регуляция активности: при повышении Ca ²⁺ MeArg аутоингибирование (NO) внутриклеточное pH	Существенно Ингибирует Нет/да ?	Нет эффекта Ингибирует Нет ?	Существенно Ингибирует ? Модулируется

Примечание. IFN- γ , LPS — липополисахарид; IL — интерлейкин; TGF- β — трансформирующий β -фактор роста; TNF- α — фактор некроза опухолей; MeArg — метил-L-аргинин.

с кальмодулином. Более 50% ее аминокислотной последовательности идентично редуктазе цитохрома P₄₅₀. Регуляция этого фермента осуществляется при участии ионов Ca²⁺.

NO-синтаза II типа (макрофаги, индуцибельная) представляет собой гомодимер с молекулярной массой 130 кДа. Находится преимущественно в растворимой форме. В противоположность конститутивным ферментам она менее зависима от ионов Ca²⁺ или кальмодулина. В норме концентрация NO-синтазы II типа очень низка, однако ряд агентов индуцируют ее образование в высоких концентрациях (табл. 3). Поскольку она не нуждается в Ca²⁺, то фермент может поддерживать высокую активность в течение нескольких дней.

Таблица 3

Агенты, влияющие на экспрессию индуцибельной NO-синтазы [27, 46]

Индукторы	Активаторы	Ингибиторы
IL-1 β	cAMP	TGF β
TNF- α	EGF	PDGF
IFN- γ	Basic FGF	IGF
LPS	Плазмин	Тромбин
		Дексаметазон, гидрокортизон
		SNAP
		HGF
		Белок p53

Примечание. IL-1 β — интерлейкин 1 β ; TGF — трансформирующий β -фактор роста; PDGF — ростовой фактор тромбоцитов; IFN- γ — интерферон γ ; FGF — ростовой фактор фибробластов; IGF — инсулинподобный фактор роста; LPS-бактериальный липополисахарид; EGF — эпидермальный ростковый фактор; HGF — фактор роста гепатоцитов; SNAP — S-нитрозо-N-ацетил-DL-пеницилламин.

NO-синтаза III типа (эндотелий клеток, конститутивная) с молекулярной массой 133 кДа. Она так же, как и NO-синтаза I типа, характеризуется обратимым связыванием с кальмодулином и активность ее зависит от внутриклеточной концентрации ионов Ca²⁺. Основные различия NO-синтазы III типа от NO-синтазы I типа — на N-конце белковой молекулы. Она может находиться как в растворимой, так и в мембранно-связанной форме.

COOH — терминальные концы всех NO-синтаз содержат локусы для связывания NADPH, FAD и FMN, идентичные для NADPH-цитохром P₄₅₀-редуктазы. Регуляторный домен включает кальмодулин-связывающий участок [46].

Механизм образования NO при участии NO-синтаз

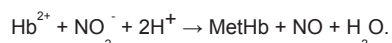
Точные данные о механизме образования NO из L-аргинина до сих пор отсутствуют. Предложена схема образования NO, N^o-гидрокси-L-аргинина, цитруллина и NO₂/NO₃ в ходе NO-синтазной реакции. При этом, кроме L-аргинина, требуются восстановленный NADPH и тетрагидробиоптерин (BH₄), ФАД и ФМН. Ингибиторами NO-синтаз являются амино-, нитро- и метильные производные L-аргинина [47]. При очень низкой концентрации BH₄ (<<10⁻⁹M) продуцируется O₂^{•-}; 10⁻⁶ до 10⁻⁹M-ONOO⁻ (пероксинитрит), а при очень высокой концентрации (>>10⁻⁶M) — NO [6].

Следует также особо отметить, что молекулярный кислород используется как для образования NO, так и L-цитруллина. Таким образом, имеющиеся в настоящее время данные позволяют сделать вывод, что **NO-синтазный механизм образования NO — это синтез NO в присутствии кислорода**. При дефиците последнего (например, при гипоксии/ишемии) роль NO-синтазного механизма может снижаться.

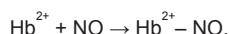
I и III типы NO-синтазы экспрессируются постоянно и их активность регулируется концентрациями Ca^{2+} . Они в основном генерируют NO. Образовавшийся NO за несколько секунд может окисляться в нитрит и нитрат (NO_2^- , NO_3^-) [22]. При снижении концентрации L-аргинина I тип (но не II тип) легко переходит к образованию O_2^- вместо оксида азота [6].

Каким образом происходит восстановление нитратов и нитритов до оксида азота в организме человека? Однозначного ответа на этот вопрос пока нет. Известно, что через 1 ч после поступления нитратов в дозе 5 мг/100 г массы тела образуется около 60% MetHb от общего содержания Hb в крови животных. При этом около 10—15% составляют Hb-NO-комплексы. Содержание Hb в крови млекопитающих, как известно, в норме колеблется в пределах 110—160 г/л, что составляет около 2×10^{-3} М. Поэтому 10—15% Hb-NO-комплексов будут составлять $2\text{—}3 \times 10^{-4}$ М. Сравнивая стационарную концентрацию NO, образующейся при функционировании NO-синтаз (10—100 нмоль), становится понятным, что эта концентрация ($10^{-7}\text{—}10^{-8}$ М) на 3—4 порядка ниже той, которая может появляться в результате восстановления NO_2^- в NO в организме млекопитающих. Учитывая столь высокую нитритредуктазную активность в организме млекопитающих по сравнению с NO-синтазной активностью можно предположить о ее существенной роли в реакции образования оксида азота в организме человека.

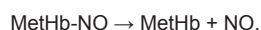
Имеется следующее объяснение механизма восстановления NO_2^- в NO у животных. В опытах *in vitro* установлено, что после поступления в кровь NO_2^- быстро проникает через эритроцитарные мембраны, образуя высокий уровень метгемоглобина (10—45%). Одновременно с окислением Hb наблюдается образование Hb-NO-комплексов. Каким образом осуществляется превращение NO_2^- в NO? В отсутствие кислорода концентрация Hb-NO-комплексов, образующихся в присутствии NO_2^- в течение первого часа, по крайней мере, на порядок выше концентрации этих же комплексов, образующихся в присутствии O_2^- . При взаимодействии NO_2^- с дезоксиHb последний окисляется в MetHb, а NO_2^- восстанавливается в NO [17]:



Взаимодействуя с восстановленным гемоглобином, NO образует стабильные Hb-NO-комплексы:



Комплексы MetHb с NO нестабильны и поэтому легко распадаются:



Образование O_2^- , H_2O_2 и других активных форм кислорода может явиться причиной окисления NO в NO_2^- и NO_3^- .

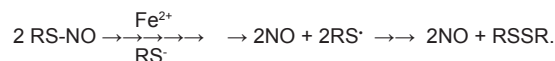
Переводить NO_2^- в NO может лишь восстановленный Hb. Поэтому системы, участвующие в этом, играют важную роль в нитритредуктазной реакции. В настоящее время известны ферментативные системы восстановления MetHb (NADH-, и NADPH-зависимая MetHb-редуктазы) и неферментативные (аскорбиновая кислота и восстановленный глутатион). Наиболее мощная из них — NADH-зависимая MetHb-редуктаза [10]. Показано, что метаболизм нитроглицерина [17] и нитропрussa натрия [41] с высвобождением NO в основном осуществляется в печени млекопитающих при участии цитохрома P₄₅₀.

NO может генерироваться в ишемическом сердце и прямым восстановлением нитрита в NO при понижении рН среды и высоком уровне восстановления. Указанный путь не блокируется ингибиторами NO-синтазы и он все более преобладает при прогрессировании ишемии с переходом ее в некроз. Этот ферментнезависимый механизм формирования NO повреждает миокард с потерей контрактильной функции и имеет важное значение в патогенезе гибели тканей [50].

Нитраты и нитриты в организме человека могут восстанавливаться микроорганизмами до оксида азота в ротовой полости, в желудочном содержимом и в кишечнике [19].

NO оказывает как аутокринное, так и паракринное действие, т.е. будучи синтезирован в каких-либо клетках, он способен влиять на метаболические процессы как в самих этих клетках, так и в расположенных по соседству. Это означает, что молекулы NO, несмотря на свою высокую химическую активность, способны транспортироваться на расстояния, превышающие в несколько раз клеточные размеры и дальше в виде стабильных переносчиков NO — динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ) с тиолсодержащими лигандами и S-нитрозотиолов (RS-NO) [2].

Распад RS-NO катализируется железом и завершается высвобождением в растворе нейтральных молекул NO и накоплением в нем дисульфидов при физиологическом рН:



Таким образом, обладая нитритредуктазной и NO-связывающей способностью организм человека, по-видимому, с помощью Hb может доставлять NO на большие расстояния независимо от места образования. Возможно оксид азота в организме может также транспортироваться в виде S-нитрозотиолов и динитрозильных комплексов железа.

Эффекты оксида азота

Оксид азота в норме осуществляет регуляцию внутри- и межклеточных процессов, что представляет интерес для медиков самых различных специальностей.

Нервная система. В мозге NO выполняет не только функцию вторичного мессенджера в процессах внутриклеточной сигнализации, но и участвует как нейромедиатор в межклеточной сигнализации, функционально соединяя постсинаптический и пресинаптический нейроны. Наибольшая активность NO-синтазы выявлена в мозжечке, более низкая в гипоталамусе, среднем мозге, стриатуме, коре, гиппокампе и продолговатом мозге. По эфферентным нервам этот агент регулирует деятельность органов желудочно-кишечного тракта, дыхательной и мочеполовой системы. Считается, что оксид азота участвует в патогенезе болезни Паркинсона, так как его уровень в мозге при этой патологии увеличивается [36].

Онкология. С одной стороны, NO является предшественником канцерогенных N-нитрозосоединений, а с другой — участвует вместе с ростстимулирующими факторами, тирозинкиназой, Na^+/H^+ -обменником, вторичными мессенджерами (цАМФ, цГМФ, инозитол-1,4,5-трифосфатом, диацилглицеролом, арахидоновой кислотой и циклической ADP-рибозой) в регуляции Ca^{2+} -мобилизующей системы внутриклеточной передачи

сигнала и в процессах деления клеток. Кроме того, NO выделяется из соединений, обладающих противоопухолевой активностью, например, нитрофуранов и нитроимидазолов [4, 25]. NO повышает радиочувствительность опухолевых тканей. Это связано с тем, что углеродные радикалы, образующиеся при действии ионизирующей радиации на ДНК в присутствии NO, реагируют с атомами водорода соседних белков, что облегчает репарацию ДНК [3].

Желудочно-кишечный тракт. NO расслабляет гладкие мышцы не только в стенке сосудов, но и желудочно-кишечного тракта [11]. При ряде физиологических и патологических воздействий, влияющих на печень, включая септический и геморрагический шок, в гепатоцитах экспрессируется ген II типа синтазы. Она тормозится стероидами (дексаметазон и гидрокортизон), донором NO — S-нитрозо-N-ацетил-DL-пеницилламином (SNAP), митогенными факторами гепатоцитов — фактором роста гепатоцитов (HGF), эпидермальным фактором роста (EGF) и трансформирующим ростовым фактором TGF- β , белком p53, тепловым шоком. Индуцированный в печени синтез оксида азота существенным образом влияет на функции гепатоцитов, повышая устойчивость их к сепсису и ишемии-реперфузии. Блокирование II типа синтазы ингибиторами резко усиливает повреждение печени. В ответ на ЛПС, препараты убитых бактерий *Corynebacterium parvum*, IL-1 β , INF- γ , простагландины и активаторы протеинкиназы C, такие как форболовые эфиры и ионофор Ca²⁺ — Ф23187 клетки печени интенсивно синтезируют II тип синтазы. При этом образуется значительное количество NO₂⁻ и NO₃⁻ [4, 22].

При циррозе печени усилена продукция NO. Об этом свидетельствует повышение уровня NO₃⁻ и цГМФ в моче этих пациентов. При этом имеется прямая корреляция между выраженностью гемодинамических изменений и накоплением NO₃⁻ [24].

Методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) изучена роль кишечной микрофлоры (*B. bifidum*, *Lactobacillus* и *E. coli*) в синтезе Гем-NO *in vitro*. Из фекалий выделялись чистые культуры. Гем-NO устанавливался по характерному сигналу ЭПР [18], который появлялся при наличии *B. bifidum* и *Lactobacillus* [45].

Воспаление. Активация макрофагов и нейтрофилов сопровождается усиленным синтезом NO, коррелирующим с их цитостатическим и цитотоксическим действием [8, 32]. Антимикробное действие NO вызвано блокадой синтеза ДНК, ингибированием РНКазы и инактивированием внутриклеточных железосерных белков путем их S-нитрозилирования. Также оно обусловлено образованием в присутствии кислорода пероксинитрита, напрямую оказывающего цитотоксическое действие, или распадаясь на N₂O и HO[•] [12, 31].

Система органов дыхания. Изучается эффективность ингаляции NO у пациентов с острыми и хроническими заболеваниями легких, которым сопутствует легочная гипертензия [2, 35]. Показаны защитные и повреждающие эффекты периодической гипоксии и роль оксида азота в этих процессах [14]. Исследовано влияние гормона роста на уровень оксида азота и фибрирование цист в легочной ткани [30]. Много внимания уделяется оксиду азота при бронхиальной астме [43].

Мочеполовая система. В спектре ЭПР перитонеального экссудата и интестинального содержимого регистрируется сигнал Гем-NO. Через 4—5 сут у больных со среднетяжелым и тяжелым течением перитонита

уровень его снижается, а у больных с крайне тяжелым — повышается [47].

Уровень оксида азота в крови пациентов с болезнью Берже (разновидность хронического гломерулонефрита) существенно увеличивается после введения изосорбид-5-мононитрата. При этом существенно снижается протеинурия и фильтрация в сравнении с базальным уровнем [43].

Показано участие оксида азота при формировании интерстициальных циститов [33].

Сердечно-сосудистая система. Оксид азота регулирует тонус кровеносных сосудов как антагонист адренергической нервной системы, участвует в синтезе «белков теплового шока» HSP-70, обладающих протекторными свойствами при ишемии сердца, тормозит агрегацию тромбоцитов и их адгезию на стенках сосудов. Сосудорасширяющее действие оксида азота связано с активацией гуанилатциклазы и с накоплением цГМФ. Последний активирует цГМФ-зависимую протеинкиназу, а также Ca²⁺-АТФазу, участвующую в дефосфорилировании легких цепей миозина. Это приводит к выходу Ca²⁺ из мышечных клеток и в конечном итоге — к вазодилатации [20].

Антиагрегационное действие оксида азота обусловлено ингибированием цГМФ освобождения арахидоновой кислоты и тем самым предупреждения образования тромбоксанов A₂ и B₂, стимулирующих накопление Ca²⁺. цГМФ также снижает синтез 1,2-диацилглицерина — сильного активатора протеинкиназы C и уменьшает уровень инозитолтрифосфата, тормозящего накопление Ca²⁺. Таким образом, цГМФ предотвращает распад фосфолипидов (в том числе и фосфолипидов инозитола) и ингибирует агрегацию и активацию тромбоцитов через общий механизм торможения накопления Ca²⁺ [21].

Индукция II типа синтазы характерна для шоков различного генеза (теплового, септического, кардиогенного, анафилактического и геморрагического), дезнотелизации (ангиопластика) и атеросклероза. Условия, при которых NO меняет свои вазопротекторные свойства (вазодилатация, ингибирование адгезии и агрегации тромбоцитов и лейкоцитов) на токсические, зависят не только от уровня NO в ткани, но и от локальной концентрации тиолов, аскорбиновой кислоты, переходных металлов и, возможно, других соединений, реагирующих с NO. Избирательными ингибиторами синтазы II типа являются N^G-иминоэтил-L-лизин, 2-амино-4-метилпиридин, хелаторы железа и метиленовый синий [24].

Недостаточному образованию NO придают определенное значение в патогенезе атеросклероза [5], сахарного диабета [1], инфаркта миокарда [7, 37], артериальной гипертензии [29] и других заболеваний [26, 28, 42], сопровождающихся дисфункцией эндотелия. Показано, что введение предшественника NO L-аргинина приводит к нормализации АД у больных эссенциальной гипертензией. С другой стороны, введение ингибиторов синтеза NO здоровым добровольцам сопровождается значительным увеличением периферического сосудистого сопротивления [27].

Точный механизм коронарных спазмов остается до конца неизвестным. Интракоронарная инъекция ацетилхолина (АХ) вызывает коронарный спазм у пациентов со стенокардией Принцметала (СП), в то время как такая же процедура у молодых людей с нормальными коронарными артериями вызывает их вазодилатацию. Последняя при интактном эндотелии обусловлена выделением NO, сужение же кровеносных сосудов при

удаленном или поврежденном эндотелии объясняется прямым воздействием АХ на гладкие мышцы сосудов. В ответ на введение АХ в коронарных артериях пациентов с СП выделение эндотелиального NO в коронарных артериях недостаточно и артерия поэтому гиперчувствительна к нитроглицерину [39].

При нестабильной стенокардии изучено влияние линсидомина (в/в 1 мг/ч в течение 72 ч) на состояние пациентов. Линсидомин, как и молсидомин, принадлежит к группе сиднониминов и освобождает NO без каталитического включения тиолов [34].

Исследован эффект ингибирования синтеза оксида азота при введении N^G-monomethyl-L-arginine (L-NMMA) в дозе 16 мкмоль/мин в течение 4 мин в эпикардальную артерию у пациентов со стабильной стенокардией. При этом суживается только дистальная часть артерии, но не проксимальная [48].

Методом ЭПР оценена динамика нитратвосстанавливающей способности слюны больных ИБС, получающих нитраты пролонгированного действия и у здоровых доноров. Как у больных, так и у здоровых лиц с течением времени содержание NO₂⁻ в слюне увеличивалось. У больных ИБС оно оказалось максимальным через 140 мин, а у здоровых лиц — через 100 мин. Статистически значимое увеличение концентрации нитрита по сравнению с исходным в обеих группах наблюдалось через 40 мин. Таким образом, эти данные указывают, что нитратвосстанавливающая способность слюны у больных ИБС повышена [18].

Некоторые микроорганизмы желудочно-кишечного тракта восстанавливают нитраты и нитриты до оксида азота и участвуют в синтезе гем-NO. Последний выводится с калом, в котором и регистрируется методом ЭПР. Удаление части нитратов из кишечника в виде гем-NO, по-видимому, является одним из факторов возникновения толерантности к нитратам у больных ИБС [18].

Обзор данных литературы свидетельствует о том, что электронно-транспортные цепи митохондрий и эндоплазматического ретикулаума клеток млекопитающих могут использоваться в качестве терминальных акцепторов электронов как O₂, так и NO₂⁻ [17]. Дефицит кислорода, по-видимому, является тем сигналом, который вызывает переход клеток на нитратно/нитритное дыхание. Какие же биохимические структуры в клетках первыми начинают реагировать на наличие или отсутствие кислорода в клетке? Очевидно, гемсодержащие белки, взаимодействующие с кислородом, — цитохромоксидаза, цитохром P₄₅₀, Hb и Mb. Именно они могут претендовать на роль сенсорных элементов, определяющих степень гипоксии или кислородного обеспечения клеток. По-видимому, эти же белки могут осуществлять и функцию триггеров, переводящих клетки на режим нитратно/нитритного дыхания. Причем, в этом режиме активность цитохромоксидазы и цитохрома P₄₅₀ возрастают [13]. Причина последнего в условиях дефицита кислорода была бы совершенно неясной, если бы NO₂⁻ не могли бы акцептировать электроны с гемсодержащих белков.

Рассматривая NO₂⁻ в качестве альтернативных акцепторов электронов, естественно возникает вопрос: существуют ли доказательства того, что действительно нитриты могут защищать организм человека и животных от гипоксии? Более привычной является точка зрения, что нитриты, окисляя гемоглобин, сами могут являться причиной гипоксии (гемическая форма гипоксии). Однако традиционно снижение степени кислородного голодания миокарда связывают с сосудорасширяющим действием

этих веществ. Имеются данные о том, что L-аргинин может защищать животных от гипоксии и, таким образом, обладает противогипоксическим действием [27]. Поэтому эти данные служат доказательством о способности NO₂⁻ защищать организм животных от гипоксии.

Методы регистрации NO

NO регистрируется напрямую методом ЭПР путем улавливания его в виде нитрозильных комплексов или соединения гем-NO (Hb-NO) [3], либо по уровню нитратов и нитритов [9; 15]. В эксперименте внутриклеточная продукция NO в тканях изучается с использованием техники спиновой ловушки [43, 44, 46] и флуоресцентными метками [40].

Активность NO-синтазы определяется косвенно. Либо по генерации NO, образования ЦГМФ или ингибированием ее N^G-monomethyl-L-arginine (L-NMMA) (для I и III типов) и 1400W (N-(3-(амино-метил)бензил)ацетамидин), специфичного для II типа [18, 46].

Суммируя вышеизложенное можно сделать вывод, что дальнейшее изучение роли NO в патогенезе заболеваний может привести к появлению новых терапевтических подходов и лекарственных препаратов в медицине.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бондарь, И.А. Оксид азота и диабетические ангиопатии / Т.А. Бондарь, В.В. Климонтов, И.А. Поршенников // Сахарный диабет. — 1999. — № 4. — С. 1—3.
2. Ванин А.Ф. Оксид азота в биологии: история, состояние и перспективы исследований / А.Ф. Ванин // Биохимия. — 1998. — Вып. 7. — С. 867—869.
3. Винк, Д.А. Значение химических свойств оксида азота для лечения онкологических заболеваний / Д.А. Винк, Й. Водовоз, Дж.А. Кук [и др.] // Биохимия. — 1998. — Вып. 7. — С. 948—957.
4. Виноградов, Н.А. Многоликая окись азота / Н.А. Виноградов // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. — 1997. — № 2. — С. 6—11.
5. Голиков, П.П. Характер взаимосвязи оксида азота с ангиотензинпревращающим ферментом и малоновым диальдегидом у больных с атерогенным стенозом внутренней сонной артерии / П.П. Голиков, В.Л. Леманев, В.В. Ахметов // Клиническая медицина. — 2004. — № 7. — С. 15—19.
6. Горрен, А.К.Ф. Универсальная и комплексная энзимология синтазы оксида азота / А.К.Ф. Горрен, Б. Майер // Биохимия. — 1998. — Вып. 7. — С. 870—880.
7. Драпкина, О.М. Особенности синтеза оксида азота у больных инфарктом миокарда / О.М. Драпкина, О.О. Задорожная, В.Т. Ивашкин [и др.] // Клиническая медицина. — 2000. — № 3. — С. 19—23.
8. Звенигородская, Л.А. Оксид азота как маркер воспаления при стеатогепатите у больных с метаболическим синдромом / Л.А. Звенигородская, Т.В. Нилова // Рос. медицинский журнал. — 2008. — Т. 10, № 2. — С. 41—47.
9. Коробейникова, Э.М. Оценка состояния нитроксидергической вазорелаксации по содержанию нитратов в сыворотке крови больных ИБС / Э.М. Коробейникова, Ю.В. Кудревич // Клиническая лабораторная диагностика. — 2001. — № 10. — С. 2—3.
10. Косьмицки, М. Нитраты при лечении коронарной болезни / М. Косьмицки, З. Садовски // Новости фармации и медицины. — 1996. — Т. 30, № 2—3 (156). — С. 54—60.
11. Лазебник, Л.Б. Роль NO в этиопатогенезе некоторых заболеваний органов пищеварения / Л.Б. Лазебник, В.Н. Дроздов, Е.Н. Барышников // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. — 2005. — № 2. — С. 4—11.
12. Львов, Н.П. Молибден в ассимиляции азота у растений и микроорганизмов / Н.П. Львов. — М., 1989. — 87 с.
13. Малышев, И.Ю. Введение в биохимию оксида азота. Роль оксида азота в регуляции основных систем организма / И.Ю. Малышев // Российский журнал гастроэнтерологии,

- гепатологии, колопроктологии. — 1997. — № 1. — С.49—55.
14. Манухина, Е.Б. Защитные и повреждающие эффекты периодической гипоксии: Роль оксида азота / Е.Б. Манухина, Х.Ф. Дауни, Р.Т. Маллет, И.Ю. Малышев // Вестник Рос. АМН. — 2007. — № 2. — С.25—33.
 15. Метельская В.А. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови / В.А. Метельская, Н.Г. Туманова // Клиническая лабораторная диагностика. — 2005. — № 6. — С.15—18.
 16. Пулатова, М.К. Электронный парамагнитный резонанс в молекулярной радиобиологии / М.К. Пулатова, Г.Т. Рихирева, З.В. Куроптева. — М., 1989. — 232 с.
 17. Реутов, В.П. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих / В.П. Реутов, У.Г. Сорокина, В.Е. Охотин, Н.С. Косицын. — М., 1998. — 231 с.
 18. Сайфутдинов, Р.Г. Парамагнитные центры биологических жидкостей человека и их диагностическая и патогенетическая роль при некоторых заболеваниях внутренних органов: дис. ... докт. мед. наук / Р.Г. Сайфутдинов. — Иркутск, 1989. — 437 с.
 19. Сайфутдинов, Р.Г. Динамика НВС слюны / Р.Г. Сайфутдинов, А.В. Суханов // Пленум НОГ России. — Ростов н/Д., 1995. — С.52—53.
 20. Северина, И.С. Растворимая гуанилатциклаза в молекулярном механизме физиологических эффектов оксида азота / И.С. Северина // Биохимия. — 1998. — Вып. 7. — С.939—947.
 21. Седов, К.Р. Метод электронного парамагнитного резонанса в клинике внутренних заболеваний / К.Р. Седов, Р.Г. Сайфутдинов. — Иркутск, 1993. — 156 с.
 22. Стокле, Ж.К. Гиперпродукция оксида азота в патофизиологии кровеносных сосудов / Ж.К. Стокле, Р. Андрианци-тохайна, А.Л. Клещев // Биохимия. — 1998. — Вып. 7. — С.976—983.
 23. Титов, В.Н. Оксид азота в реакции эндотелийзависимой вазодилатации. Основы единения эндотелия и гладкомышечных клеток в паракринной регуляции метаболизма / В.Н. Титов // Клиническая лабораторная диагностика. — 2007. — № 2. — С.23—39.
 24. Тэйлор, Б.С. Индуцибельная синтаза оксида азота в печени: регуляция и функции / Б.С. Тэйлор, Л.Х. Аларсон, Т.Р. Биллиар // Биохимия. — 1998. — Вып. 7. — С.905—923.
 25. Шубин, В.Е. Исследование методом ЭПР образования окиси азота при восстановлении нитрофуранов и нитроимидазолов. I. Растворы гемоглобина / В.Е. Шубин, З.В. Куроптева // Studia biophysica. — 1983. — Vol. 97, № 2. — P.157—164.
 26. Anderson, R.A. Nitric oxide-dependent human acrosomal loss induced by PPCM (SAMMA) and by nitric oxide donors occurs by independent pathways: basis for synthesis of an improved contraceptive microbicide / R.A. Anderson, K.A. Feathergill, S. Jain, A. Krunic // J. Androl. — 2009. — Vol. 30. — P.168—182.
 27. Anggard, E. Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine / E. Anggard // Lancet. — 1994. — Vol. 343. — P.1199—206.
 28. Fitzsimmons, R.J. A pulsing electric field (PEF) increases human chondrocyte proliferation through a transduction pathway involving nitric oxide signaling / R.J. Fitzsimmons, S.L. Gordon, J. Kronberg [et al.] // J. Orthop. Res. — 2008. — Vol. 26. — P.854—859.
 29. Garaliene, V. Endothelium and nitric oxide / V. Garaliene // Medicina. — 2008. — Vol. 44. — P.564—569.
 30. Grasemann, C. Effect of growth hormone therapy on nitric oxide formation in cystic fibrosis patients / C. Grasemann, F. Ratjen, D. Schnabel [et al.] // Eur. Respir J. — 2008. — Vol. 31. — P.815—821.
 31. Huang, J. Role of redox signaling and poly (adenosine diphosphate-ribose) polymerase activation in vascular smooth muscle cell growth inhibition by nitric oxide and peroxynitrite / J. Huang, S.C. Lin, A. Nadershahi, S.W. Watts, R. Sarkar // J. Vasc. Surg. — 2008. — Vol. 47. — P.599—607.
 32. Karpuzoglu, E. Estrogen regulation of nitric oxide and inducible nitric oxide synthase (iNOS) in immune cells: implications for immunity, autoimmune diseases, and apoptosis / E. Karpuzoglu, S.A. Ahmed // Nitric Oxide. — 2006. — Vol. 15. — P.177—86.
 33. Koskela, L.R. Localization and expression of inducible nitric oxide synthase in biopsies from patients with interstitial cystitis / L.R. Koskela, T. Thiel, I. Ehrén [et al.] // J. Urol. — 2008. — Vol. 180. — P.737—741.
 34. Kugiyama, K. Nitric oxide activity is deficient in spasm arteries of patients with coronary spastic angina / K. Kugiyama, H. Yasue, K. Okumura // Circulation. — 1996. — Vol. 94. — P.266—272.
 35. Mathru, M. Inhaled nitric oxide attenuates reperfusion inflammatory responses in humans / M. Mathru, R. Huda, D.R. Solanki [et al.] // Anesthesiology. — 2007. — Vol. 106. — P.275—282.
 36. Mishra, O.P. Nitric oxide-mediated mechanism of neuronal nitric oxide synthase and inducible nitric oxide synthase expression during hypoxia in the cerebral cortex of newborn piglets / O.P. Mishra, R. Mishra, Q.M. Ashraf, M. Delivoria-Papadopoulos // Neuroscience. — 2006. — Vol. 140. — P.857—863.
 37. Nagasaka, Y. Brief periods of nitric oxide inhalation protect against myocardial ischemia-reperfusion injury / Y. Nagasaka, B.O. Fernandez, M.F. Garcia-Saura [et al.] // Anesthesiology. — 2008. — Vol. 109. — P.675—682.
 38. Palmer, R.M.J. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor / R.M.J. Palmer, A.G. Ferrige, S. Moncada // Nature. — 1987. — Vol. 327. — P.524—526.
 39. Pronai, L. Investigation of the existence and biological role of L-arginine/nitric oxide pathway in human platelets by spin-trapping/EPR studies / L. Pronai, K. Ichimori, H. Nozaki [et al.] // Eur. J. Biochem. — 1991. — Vol. 202. — P.923—930.
 40. Ouyang, J. A novel fluorescent probe for the detection of nitric oxide in vitro and in vivo / J. Ouyang, H. Hong, C. Shen [et al.] // Free Radic. Biol. Med. — 2008. — Vol. 45. — P.1426—1436.
 41. Rao, D.N. Reductive metabolism of nitroprusside in rat hepatocytes and human erythrocytes / D.N. Rao, S. Elguindi, H.J. O'Brien // Arch. Biochem. Biophys. — 1991. — Vol. 286. — P.30—37.
 42. Rakshit, S. N-acetyl cysteine enhances imatinib-induced apoptosis of Bcr-Abl+ cells by endothelial nitric oxide synthase-mediated production of nitric oxide / S. Rakshit, J. Bagchi, L. Mandal [et al.] // Apoptosis. — 2009. — Vol. 14. — P.298—308.
 43. Roccatello, D. Isosorbide 5 mononitrate administration increases nitric oxide blood levels and reduces proteinuria in IgA glomerulonephritis patients with abnormal urinary endothelin/cyclic GMP ratio / D. Roccatello, G. Mengozzi, M. Ferro [et al.] // Clin. Nephrol. — 1995. — Vol. 44. — P.163—169.
 44. Saifutdinov, R.G. Methaemoglobin and Hem-NO of the intestinal content investigated by the method of ESR at the patients with the peritonitis / R.G. Saifutdinov, L.A. Sadochina, E.G. Grigorjev // The 2nd Asia-Pacific EPR/ESR Symposium Hangzhou. — China, 1999. — P.59.
 45. Saifutdinov, R.G. Participation of same bacteria of human intestinal microflora in the formation of nitric oxide haemoglobine in vitro / R.G. Saifutdinov, A.V. Sukhanov, K.V. Protasov // 2nd International Conference on Bioradicals and 5th International Workshop on ESR (EPR) Imaging and in vivo ESR Spectroscopy. — Yamagata (Japan), 1997. — P.56.
 46. Saifutdinov, R.G. Electron Pfrfmagnetic Resonance in Biochemistry and Medicine / R.G. Saifutdinov, L.I. Larina, T.I. Vakulskeya, M.G. Voronkov. — New York, 2000. — 268 с.
 47. Schmidt, H.H.H.W. The role of nitric oxide in physiology and pathophysiology / H.H.H.W. Schmidt, H. Hofmann, P. Ogilvie. — Springer, 1995. — P.75—86.
 48. Tayeh, M.A. Nitric oxide from L-arginine: A bioregulatory system / M.A. Tayeh, M.A. Marletta // Excerpta medica. — 1990. — P.183—188.
 49. Turner, S. Exhaled nitric oxide in the diagnosis and management of asthma / S. Turner // Curr. Opin. Allergy. Clin. Immunol. — 2008. — Vol. 8. — P.70—76.
 50. Zweier, J.L. Enzyme-independent formation of nitric oxide in biological tissues / J.L. Zweier, P. Wang, A. Samouilov, P. Kuppusamy // Nat. Med. — 1995. — Vol. 1. — P.804—809.