

ПРИМЕНЕНИЕ ОКСИДА АЗОТА В МЕДИЦИНСКОЙ ПРАКТИКЕ

И. В. ЗАГРЕБЕЛЬНАЯ

Харьковский национальный медицинский университет

Приведены литературные данные использования оксида азота в различных областях медицины. Описаны патогенетические основы положительного влияния оксида азота при различных патологических состояниях.

Ключевые слова: оксид азота, терапия, патогенез, патогенетические состояния.

Оксид азота (NO) является мощным полифункциональным биологическим посредником во всех органах и тканях человека и животных [1]. NO инициирует функции развития и множество защитных и гомеостатических механизмов путем непосредственного прямого воздействия или активации внутриклеточной сигнализации [2]. Как прямой эффектор NO активирует регуляторные белки, киназы и протеазы, которые управляют реактивными промежуточными продуктами кислорода. Как молекула-посредник азота оксид ковалентно взаимодействует с молекулами-мишенями, составляющими основу редокс-потенциалов клеток и тканей [3].

Совсем недавно NO был известен главным образом как токсичный газ в атмосфере больших городов и рассматривался преимущественно с точки зрения проблем экологии [4]. Однако исследования последующих нескольких лет в области сосудистой физиологии, патофизиологии, неврологии, биохимии, фармакологии, иммунологии и других областях биологии и медицины убедительно показали, что этот газ синтезируется в низких и умеренных концентрациях в организме млекопитающих и обладает широким спектром биорегуляторного действия [5]. Уникальные свойства NO обусловили необходимость изучения его эффекта на различные органы и системы организма в норме и при патологии [1].

Исследование биологической роли NO имеет уже более чем двадцатилетнюю историю. Однако началом «NO-истории» можно считать 1980 г., когда Furchgott и Zavadski показали, что эндотелиальные клетки способны выделять гуморальный фактор, вызывающий расслабление гладкой мышцы сосудистой стенки. Он был назван эндотелиальным фактором расслабления — ЭФР [цит. по 6]. Эти авторы впервые обнаружили, что расслабление предварительно сокращенной аорты и других артерий кролика под действием ацетилхолина и других агонистов мускариновых рецепторов зависит от присутствия эндотелиальных клеток. Они показали, что ацетилхолин действует на рецепторы клеток эндотелия и в присутствии ряда кофакторов приводит к образованию мел-

ких молекул, которые мигрируют в прилегающий слой гладкомышечных клеток, вызывая их расслабление [7]. Открытие Furchgott и Zavadski об участии эндотелия в релаксации сосудов и выделении им мощного сосудорасширяющего фактора явилось одним из наиболее важных этапов в развитии физиологии сосудов. В 1987 г. Монкада с соавт. показали, что ЭФР содержит оксид азота и именно этот компонент ответственен за его вазодилаторную активность [3]. Более того, было продемонстрировано, что эффективность вазодилаторного действия свободного NO, подводимого к изолированным сосудам в количестве, равном обнаруженному в ЭФР, практически идентична аналогичному действию этого фактора. Отсюда был сделан вывод об идентичности ЭФР и NO [7]. Однако этот результат не был подтвержден в последующих исследованиях. Оказалось, что ЭФР как вазодилатор в дозовом отношении (по количеству обнаруживаемого в нем NO) более чем на порядок эффективнее, чем свободный NO. В связи с этим предположили, что ЭФР представляет собой не свободный NO, а некое нитрозосоединение, по-видимому, S-нитрозоцистеин (cys-NO), способный защищать входящий в него оксид азота от окисления и высвободить его при контакте с гладкомышечными клетками. Аналогичный вывод был сделан M. A. Marlella с соавт. при сравнении способности ЭФР и NO образовывать динитрозольные комплексы железа [5].

В организме животных и человека NO часто выполняет роль биологического «дирижера» в различных физиологических процессах: NO принимает участие в регуляции артериального давления, свертываемости крови, клеточной пролиферации, обеспечении передачи нервного импульса, а в иммунной системе способствует уничтожению опухолевых и бактериальных клеток [8].

Известно, что в организме NO синтезируется из L-аргинина ферментом NO-синтазой (NOS) путем присоединения молекулярного кислорода к концевому атому азота в гуанидиновой группе L-аргинина [9]. NO поступает в клетку с помощью специфического транспортирующего фактора под влиянием фермента, катализирующего

синтез оксида азота, — NOS [8]. Образующийся NO стимулирует растворимую гуанилатциклазу, что ведет к образованию циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ), вызывающего активацию протеинкиназ и последующие внутриклеточные реакции и соответствующие эффекты в клетках-мишенях. Образование NO в организме человека и животных происходит в результате ферментативного пятиэлектронного окисления L-аргинина под действием цитохром P450-подобных гемопротеинов — NO-синтетазы (NOS) [10].

Одна из изоформ NOS — индуцибельная (iNOS) — была обнаружена в эндотелиальных клетках, клетках сосудов гладких мышц, макрофагах, полиморфноядерных лимфоцитах (ПМЯЛ), хондроцитах, синовиальных фибробластах [5]. Данная изоформа и образуемый из нее NO играют важную роль в развитии артериальной гипертензии, нарушении процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), развитии и прогрессировании патологических процессов [11].

NO — очень короткоживущая молекула, которая быстро подвергается окислению с переходом в нитриты и нитраты, в связи с чем биологические эффекты NO ограничены местом его образования [4].

Для понимания молекулярных основ и особенностей действия NO на различные органы и ткани необходимо иметь в виду наличие двух изоформ NO-синтетазы: постоянной — конститутивной (cNOS), содержащейся в соответствующих клетках в качестве составной части, и индуцибельной (iNOS) [3].

Активность конститутивной NO-синтетазы, содержащейся в эндотелиальных, нервных клетках, тромбоцитах и некоторых других в условиях физиологического их покоя, хотя и постоянна, но весьма низка [5]. Однако под влиянием таких факторов, как ацетилхолин, брадикинин, серотонин, АДФ, тромбин, глутамат и других агентов, стимулирующих вход кальция в клетку, ее кальцийзависимая активность заметно повышается, что приводит к синтезу небольших количеств и выделению на некоторое время NO, выполняющего через цГМФ в клетках-мишенях сугубо регуляторные «сигнальные» функции [12]. При активации конститутивной NO-синтетазы под влиянием отмеченных факторов синтез этого фермента не увеличивается [5].

Как избыток, так и недостаток NO может быть значимым в патогенезе многих заболеваний, если учесть его важную роль в регуляции деятельности по существу всех клеток, органов, систем и жизнедеятельности организма в целом.

За последние несколько лет особое внимание уделено синтезу оксида азота в эндотелиальных клетках сосудов [13]. Поступая в сосудистые гладкомышечные клетки, он стимулирует образование в них цГМФ, вызывает их расслабление. Оказывает вазодилаторное действие, принимает активное участие в поддержании нормального уровня артериального давления и целого ряда других параме-

тров деятельности сердечно-сосудистой системы [11]. В эксперименте на животных показано, что блокирование активности NO-синтетазы соответствующими ингибиторами может вызывать значительное повышение системного артериального давления, а избыточное образование NO — его снижение, вплоть до развития различного рода коллаптоидных состояний [14].

В экспериментах на изолированном перфузируемом сердце животных было показано, что повышение уровня NO в сердце в ответ на непосредственное введение L-аргинина (субстрата образования NO) и нитропрусида натрия («донора» готовых молекул NO) вызывает снижение тонуса (т. е. расширение) коронарных сосудов, увеличение сократимости миокарда и частоты сердечбиений [4]. При этом частота и сила сердечных сокращений коррелирует с изменением величины коронарного потока. Инфузия же в коронарную систему изолированного сердца животных ингибитора NO-синтетазы приводит к противоположным сдвигам деятельности сердца [2].

При выяснения роли NO в патогенезе нарушений ритма сердца показано, что оксид азота влияет на вегетативную нервную систему, обеспечивающую сократимость миокарда и функцию синусового и атриовентрикулярного узлов сердца. Возможно, выявленные изменения имеют определенное компенсаторное значение и направлены на устранение аритмогенного влияния симпатической нервной системы на сердце, предотвращая тем самым дальнейшее усугубление аритмии [4].

Об этом свидетельствуют и результаты назначения с антиаритмической целью препарата магнерот (магниевои соли оротовой кислоты) в дозе 35–45 мг/кг в сутки (1-я нед) и затем 20–25 мг/кг в сутки в течение 5 нед. Это приводило к существенному накоплению (исходно сниженного) магния в организме. При этом у всех пациентов, получавших магнерот, отмечено двукратное увеличение продукции NO и повышение содержания в крови магния [15].

Большое значение NO имеет в клинической и экспериментальной патофизиологии почек. Имеются, в частности, данные о постоянном синтезе NO в эндотелиальных и гладкомышечных клетках почечных сосудов, мезанхимальных и эпителиальных канальцевых клетках, благодаря чему оксид азота играет важную роль в регуляции почечного кровотока, экскреторной функции почек, тубулогломерулярного баланса. Эти эффекты частично осуществляются путем взаимодействия NO с системой ренин — ангиотензин и другими биорегуляторами функций почек [12].

Установлено существенное повышение образования NO при гематурической ($42,4 \pm 3,62$ мкМ), нефротической ($132,7 \pm 42,45$ мкМ) и смешанной ($27,71 \pm 3,45$ мкМ) формах хронического гломерулонефрита по сравнению с уровнем NO в крови здоровых людей ($24,09 \pm 3,43$ мкМ). В стадии ремиссии образование NO резко понижалось [16].

Значительное влияние оксид азота оказывает на печень, которая играет центральную роль во многих метаболических и иммунных процессах [17]. В печени NO образуется под действием cNOS и iNOS, и это определяет большое количество физиологических и патологических реакций, в которые вовлечен этот орган. В то же время как оксид азота, образующийся под действием cNOS, проявляет в основном защитные функции в печени в связи с регуляцией тока крови и взаимодействием клеток, так и NO, синтезированный под действием iNOS, может оказывать защитные и повреждающие эффекты на гомеостаз печени [18]. На экспериментальных моделях показано, что гепатоциты человека подобно печеночным клеткам грызунов образуют iNOS в ответ на воспалительные цитокины [19]. Клетки печени могут быть подвергнуты воздействию NO, генерируемого соседними купферовскими клетками, эндотелиальными клетками, а также влиянию эндогенного NO. Показано, что экспрессия iNOS наблюдается и при физиологических условиях в печени и, возможно, посредством этого механизма гепатоциты контролируют степень апоптоза [20].

Большое количество исследований подтверждают, что NO является важным регулятором функции гепатоцитов. При стимуляции воспалительными медиаторами или глюкокортикоидами гепатоциты секретируют вещества, характерные для острой фазы воспаления [21].

Оксид азота способен прочно связывать простатические группы гемма и сульфатные комплексы железа в определенных энзимах [2]. Вероятно, эти взаимодействия могут привести к активации или ингибированию ферментов. В печени целый ряд ферментов является потенциальными мишенями этого типа взаимодействий [4].

Имеются данные литературы, указывающие на непосредственное участие NO в процессах фибринолиза [22]. У пациентов время лизиса фибринового сгустка уменьшалось под влиянием нитропруссид натрия (донора готовых молекул NO) по сравнению с контрольной группой больных, не получавших этот препарат [23]. Не исключено, что продуцируемый эндотелием сосудов NO играет роль одного из тканевых активаторов плазминогена — основного фермента (стимулятора) фибринолиза, что согласуется с некоторыми данными экспериментальных исследований на животных [24].

У больных с тяжелой формой бронхиальной астмы образование NO значительно снижено по сравнению со здоровыми людьми, что согласуется с экспериментальными и клиническими данными, свидетельствующими о выраженном бронхолитическом и сосудорасширяющем действии NO в легких [25]. Есть основания полагать, что недостаток NO способствует повышению тонуса гладких мышц бронхов и их сужению при бронхиальной астме.

О патогенетическом значении дефицита NO при бронхиальной астме свидетельствует и тот факт, что ингаляция очень низких концентраций NO (5–20 пмоль) дает благоприятный терапевтический эффект при ряде заболеваний легких, сопровождающихся бронхоспазмом, легочной гипертензией, другими нарушениями [26].

В литературе имеются данные о влиянии NO-системы на АТФазную активность в эритроцитах у пациентов с церебральными параличами, основанные на представлении о важной роли NO в регуляции ряда функциональных отклонений центральной и периферической нервной систем [26]. Несмотря на то что АТФазная активность оказалась существенно ниже у этих больных, чем при астматическом бронхите, влияние L-аргинина на активность данного фермента было аналогичным [25]. NO-система вызывала существенное повышение перекисного окисления липидов у больных с астматическим бронхитом и церебральными параличами, а также увеличение уровня диеновых конъюгат и конечных продуктов перекисного окисления липидов в плазме крови [25].

В последнее время обнаружена закономерность изменения метаболизма оксида азота у пациентов при глаукоме. Проведено сравнение влияния различных способов лечения на динамику глаукомного процесса и уровень стабильных метаболитов оксида азота в слезной жидкости и сыворотке крови больных [27]. Разработан новый способ терапии глаукоматозной оптической нейропатии с применением NO [2].

Оксид азота принимает участие в механизмах адаптации плода и новорожденного к гипоксии и играет важную роль в обеспечении жизнедеятельности и развития плода в единой системе мать — плацента — плод [3]. В то же время недостаточная продукция NO способствует формированию патологии фетоплацентарного комплекса и внутриутробной гипоксии плода [5].

В литературе имеются данные о влиянии гипоксии на продукцию NO и состояние центральной гемодинамики у новорожденных. Показано, что оксид азота играет важную роль в регуляции сосудистого тонуса, что обеспечивает полноценное кровоснабжение жизненно важных органов плода, их нормальное развитие и постнатальную адаптацию новорожденных [4].

Исследования показали, что у новорожденных, перенесших гипоксию в период внутриутробного развития и после рождения, повышена продукция NO, что на определенном этапе является компенсаторно-приспособительной реакцией [2].

Имеются сведения о высокой эффективности использования экзогенного оксида азота, генерируемого воздушно-плазменным аппаратом «Плазон», в комплексном лечении трофических язв венозной этиологии [26]. Доказано, что NO-терапия нормализует нарушенную микроциркуляцию, снижает микробную обсемененность,

усиливая чувствительность к антибиотикам, активирует фагоцитоз и макрофагальную реакцию, усиливает рост фибробластов, сосудов, грануляционной ткани и эпителия [28]. Трофические язвы после обработки газовым потоком, содержащим оксид азота, значительно быстрее, чем в группе пациентов, лечившихся традиционными методами, очищаются от гнойно-некротического налета, гранулируют и эпителизируются, что позволяет в 2–3 раза сократить сроки лечения.

Проведены исследования о возможной роли оксида азота в развитии дисфункции эндотелия при атеросклерозе. Эндотелиальная выстилка сосудов регулирует местные процессы гемостаза, пролиферации, миграции клеток крови в сосудистую стенку и сосудистый тонус [2].

Проведен анализ причин и факторов риска развития гиперпластических процессов эндометрия у женщин репродуктивного возраста, а также активности оксида азота в плазме крови у данной категории больных [6]. Показано, что основными факторами риска развития данной патологии эндометрия являются наследственная предрасположенность и наличие различного рода травматизации эндометрия в анамнезе. Авторами высказано предположение о возможной роли оксида азота в возникновении и развитии данной патологии у женщин репродуктивного возраста [29].

Способность молекулы NO проявлять цитостатические или цитотоксические эффекты зависит от типа клеток, фазы ее развития, биохимического

потенциала, локальной концентрации NO и наличия активных форм кислорода [4].

На экспериментальных моделях было показано, что NO может способствовать гибели раковых клеток. Мишенью для NO-опосредованного антиопухолевого действия являются ферменты, входящие в дыхательную систему митохондрий [30].

Имеются незначительные сведения о применении оксида азота в гинекологической практике. Ученые обнаружили, что оксид азота значительно замедляет процесс старения яйцеклеток мышей [24], которые теряют способность к оплодотворению уже через несколько часов после овуляции. Чтобы избежать этого, ученые обработали яйцеклетки оксидом азота в разных концентрациях. В «стареющих» яйцеклетках оксид азота замедляет затвердевание их внешней оболочки, снижает активность микротрубочек цитоплазмы, усиливает высвобождение содержимого кортикальных гранул и замедляет наступление старения яйцеклетки [31].

Предполагают, что оксид азота улучшает высвобождение кальция в яйцеклетке. Именно с нарушением высвобождения кальция связывают преждевременное старение яйцеклеток млекопитающих [31].

В целом, результаты проведенного нами анализа литературных данных свидетельствуют о важной роли NO в патогенезе ряда заболеваний, а также о новых подходах к терапии, основанной на усилении или подавлении образования NO в организме в зависимости от его концентрации.

Литература

1. Марков Х. М. Оксид азота и оксид углерода — новый класс сигнальных молекул // Успехи физиол. наук.— 2003.— № 4.— С. 30–43.
2. Lowenstein C. I., Oinerman I. L., Snyder S. H. Nitric oxide, a physiological messenger // Am. Intern. Med.— 2004.— Vol. 120.— P. 227–237.
3. Moncada S., Palmer R. M., Higgs E. A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology // Pharmacol. Rev.— 2001.— Vol. 43.— P. 109–142.
4. Star R. A. Nitric oxide (Southwestern Internal Medicine Conference) // Am. J. Med. Sci.— 2003.— Vol. 306, № 5.— P. 348–355.
5. Marlella M. A., Kirk M., Maxey M. O. Nitric oxide: Function, formation and therapeutic potential // J. TIBS.— 2006.— № 14.— P. 488–492.
6. Дубинина В. Г., Рубин А. И. Біологічна роль оксиду азоту в ендометрії жінок репродуктивного віку // Одеський мед. журн.— 2002.— № 4 (72).— С. 112–114.
7. Roux N., Milgrom E. Inherited disorders of GnRH and gonadotropin receptors // Mol. Cell. Endocrinol.— 2001.— Vol. 179, № 1–2.— P. 83–87.
8. L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide / R. M. J. Palmer, K. U. Rees, O. S. Ashtin et al. // Biochem. Biophys.— 2007.— Vol. 153.— P. 1251–1256.
9. Vedernikov V. P., Mordvintcev P. J., Vanin A. F. Nitric oxide from L-arginine: a Bioregulatory System.— Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 2005.— P. 373–377.
10. Nakamura M., Imaoka S., Amano F. P450 isoforms in murine macrophage cell line, RAW 264.7, and changes in the levels of P450 Isoforms by treatment of cells // J. Biochem. Biophys. Res. Commun.— 2008.— Vol. 135.— P. 347–351.
11. Panza J. A., Epstein S. E. Effect of antihypertensive treatment on endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension // J. Am. Coll. Cardiol.— 2003.— Vol. 21.— P. 1145–1151.
12. Dibona G. F. Peripheral and central interactants the renin-angiotensin system and the renal sympatic regulation: In control of renal function // Am. J. Physiol. Renal.— 2007.— № 4.— P. 155–168.
13. Radomski W. W., Palmer R. M. J., Moncada S. The antiaggregating properties in endothelium: interaction prostacyclin and nitric oxide // Br. J. Pharmacol.— 2007.— Vol. 92.— P. 639–646.
14. Манухина Е. Б., Подкидышев Л. Ю., Голубева Л. Т. Защитный эффект ингибитора NO-синтазы при тепловом шоке // Известия РАН. Серия биологическая.— 2005.— № 5.— С. 583–588.
15. Варианты нестабильной стенокардии в свете современных представлений о механизмах повреждения эндотелия / Е. Е. Гогин, А. К. Груздев, И. А. Лазарев и др. // Тер. архив.— 2009.— № 4.— С. 21–28.

16. Кучеренко А. Г., Марков Х. М., Сергеева Т. В. Оксид азота при хроническом гломерулонефрите у детей // Роль оксида азота в процессах жизнедеятельности.— Минск, 1998.— С. 192–194.
17. Nitric oxide metabolites in chronic liver disease / E. Oekonomaki, G. Notas, I. A. Mouzas et al. // J. Free Radic. BioI.— 2004.— Vol. 39, № 2.— P. 193–203.
18. Changes in the production of nitric oxide and super oxide by inflammatory cells in liver Gin hoses / E. Masini, L. Mugnai, M. Foschi et al. // J. Gastroenterology.— 2005.— Vol. 129 (2).— P. 682–695.
19. Nussler A. K., Billiar T. R. Inflammation, immunoregulation and inducible nitric oxide synthases // Biol. Chem.— 2003.— Vol. 54.— P. 171–178.
20. Бюрне Б., Саудай К., Кнемел А. Апоптотическая гибель клеток и оксид азота: механизмы активации и антагонистические сигнальные пути (обзор) // Биохимия.— 2004.— Т. 63, вып. 7.— С. 966–975.
21. Cairo G., Pielrangelo A. Nitric-oxide-mediated activation of protein controls and iron metabolism during acute inflammation // J. Biochem.— 2005.— Vol. 232 (2), № 1.— P. 358–363.
22. Role of vascular nitric oxide in experimental liver cirrhosis / N. M. Awcha, F. J. Nadal, D. Iyu et al. // J. Vasco Pharmacol.— 2005.— № 3 (1).— P. 81–85.
23. Roopen A., Shehata Hassan A., Patel Raj K. Internal jugularve in thrombosis affer assisted conception therapy // Brit. J. Haematol.— 2001.— № 1.— P. 153–155.
24. Чеботарь Н. А. Цитогенетический анализ 1-го деления дробления зародышей крыс // Цитология.— 1978.— Т. 20, № 1.— С. 102–104.
25. Васильева Е. М., Марков Х. М. Влияние системы L-аргинина — оксид азота на активность АТФаз и перекисное окисление липидов в эритроцитах детей с астматическим бронхитом // Бюл. экспер. биол.— 1999.— № 3.— С. 340–343.
26. Васютков В. Я., Проценко Н. В. Трофические язвы стопы и голени.— М.: Медицина, 2003.— 160 с.
27. Нагорнова Н. Д. Метаболическая концепция патогенеза глаукомной оптической нейропатии // Современные технологии лечения глаукомы: Сб. тез. науч.-практ. конф.— М., 2003.— С 87–95.
28. Schena M., Mulater P. Vasoactive hormones induce nitric oxide synthases mRNA expression and nitric oxide production in human endothelial cells and monocytes // Am. J. Clin. Invest.— 2004.— Vol. 12.— P. 388–397.
29. Марков Х. М. Оксид азота и оксид углерода — новый класс сигнальных молекул // Успехи физиол. наук.— 2003.— № 4.— С. 30–43.
30. Antiapoptotic effect of hem- oxygenase-1 in experimental solid tumor / H. Maeda. S. Tanaka, T. Akaike et al. // Br. J. Cancer.— 2003.— Vol. 88 (6).— P. 902–909.
31. Estrogen enhances by nitric oxide release in the forearm vasculature in perimenopausal women / K. Sudhir, G. L. Jennings, J. M. Funder, P. A. Komesaro // Hypertension.— 2003.— Vol. 28.— P. 330–334.

ЗАСТОСУВАННЯ ОКСИДУ АЗОТУ В МЕДИЧНІЙ ПРАКТИЦІ

I. B. ZAGREBELNAYA

Наведено літературні дані використання оксиду азоту в різних галузях медицини. Описано патогенетичні засади позитивного впливу оксиду азоту при різних патологічних станах.

Ключові слова: оксид азоту, терапія, патогенез, патогенетичні стани.

THE USE OF NITRIC OXIDE IN MEDICAL PRACTICE

I. V. ZAGREBELNAYA

The literature data about the use of nitric oxide in various areas of medicine are reported. The pathogenetic foundations of positive influence of nitric oxide at different pathological conditions are described.

Key words: nitric oxide, therapy, pathogenesis, pathological state.

Поступила 26.10.2009