

MODERN ASPECTS OF DIAGNOSTICS AND TREATMENT OF PATIENTS
WITH METABOLIC SYNDROME*T.V.Kazantseva, S.V.Bilets'kyi, N.A.Shevtsova, T.N.Trypadush*

Abstract. Metabolic syndrome which includes abdominal obesity, arterial hypertension, diabetes mellitus of type 2 is at the centre of attention of the whole world in connection with a high risk of developing cardiovascular complications and premature mortality of this category of patients. The review reflects questions of diagnostics and the principles of treating metabolic syndrome.

Key words: metabolic syndrome, diagnostics, treatment.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Рецензент – проф. О.І.Федів

Buk. Med. Herald. – 2008. – Vol.12, №4.–P.139-143

Надійшла до редакції 21.10.2008 року

УДК 616.831-005.4-092

*В.О.Куровська, В.П.Пішак, С.С.Ткачук*РОЛЬ ОКСИДУ АЗОТУ В ІШЕМІЧНИХ І ІШЕМІЧНО-РЕПЕРФУЗІЙНИХ
УШКОДЖЕННЯХ ГОЛОВНОГО МОЗКУКафедра фізіології (зав. – проф. С.С.Ткачук)
Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці

Резюме. За умов ішемічного та ішемічно-реперфузійного ушкодження головного мозку руйнівна дія оксиду азоту проявляється в його здатності ініціювати синтез нових вільнорадикальних сполук, що беруть участь у процесах перекисного окиснення ліпідів. У той же час оксид азоту володіє позитивними ефекта-

ми, як регулятор багатьох внутрішньонейрональних процесів, які можуть мати вплив при ішемії-реперфузії головного мозку.

Ключові слова: оксид азоту, ішемія, реперфузія, головний мозок.

На сьогодні проблема ішемічного інсульту продовжує залишатись актуальною. Незважаючи на те, що патогенез цієї недуги вивчений достатньо добре, існує багато спірних моментів, які перешкоджають розробці нових, більш досконалих схем лікування.

Дослідження останніх десятиліть довели, що оксид азоту (NO) займає значне місце в розвитку ішемічних ушкоджень мозку. З часу відкриття NO накопичилося чимало даних і створилася ситуація, коли велика їх кількість утруднює розуміння та вирішення проблеми, потребує обробки та аналізу.

За нормальних умов оксид азоту постійно утворюється в головному мозку та спричиняє певні фізіологічні ефекти. Так, зокрема, він контролює осциляторну активність нейронів і модулює міжнейрональні комунікації, синаптичну пластичність, стан рецепторів, внутрішньоклітинну передачу сигналу, вивільнення нейротрансмітерів [10].

Ефекти NO в організмі реалізуються шляхом метаболізму в трьох основних реакціях: 1) із супероксидним радикалом і ліпідним перекисом; 2) з білками, що містять гемове і негемове залізо; 3) з тіолами і вторинними амінами. Синтезований у клітині NO дуже швидко зв'язується зі своїми клітинними мішенями, якими є залізовмісні ферменти і білки: гуанілатциклаза, власне NO-синтаза, гемоглобін, мітохондріальні ферменти циклу Кребса, ферменти синтезу білка і ДНК [28, 20].

NO є ендogenousним регулятором енергетики мітохондрій (мембранного потенціалу, дихання та синтезу АТФ). Він виступає як інгібітор мітохондріального дихання, підвищений вміст у тканинах організму посилює гліколіз і знижує споживання кисню мітохондріями. Цей ефект досягається через блокування мітохондріальної пори (МП) і може здійснюватися різними шляхами: через зв'язування з функціонально важливими тіоловими групами білків, що входять до складу пори, а також опосередковано, за допомогою регуляції мембранного потенціалу мітохондрій і, відповідно, здатності органел до накопичення та утримання кальцію в мітохондріальному матриксі [19, 37, 17].

Цікавим є здатність NO і його похідних експресувати низку важливих білків і ферментів як на рівні транскрипції, так і трансляції (стрес-білків, феритину, білків антиоксидантного захисту, білків-рецепторів трансферину, ядерного білка p53, відповідального за блокаду злоякісних новоутворень), стимулювати чи пригнічувати активність багатьох білків і ферментів (гуанілатциклази, рибонуклеотидредуктази, компонентів дихального ланцюга й гліколізу, фактору транскрипції NFκB, білків типу цитохрому P-450, білків іонних каналів) [3].

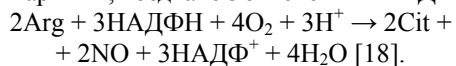
Оксид азоту є сигнальною молекулою, регуляторні можливості якої значно збільшуються за рахунок взаємодії з внутрішньоклітинними сигнальними системами і, перш за все, із системою

транспортування кальцію. В основі цієї взаємодії лежать такі механізми, як NO-залежна активація гуанілатциклази, нітрозолування кальцієвої АТ-Фази саркоплазматичного ретикулума (SERCA), кальцієзалежна активація конститутивної NO-синтази [30]. Встановлено також, що NO-індуковане вивільнення нейротрансмітерів може здійснюватися як за кальцієзалежним механізмом екзоцитозу із синаптичних везикул, так і внаслідок зміни роботи мембранних натрієзалежних переносників. Обидва шляхи регулюються мембранним потенціалом [17].

На сьогодні вважають, що є два основні шляхи утворення ендогенного оксиду азоту: NO-синтазний шлях і нітритредуктазний, що здійснюється за участю гемоглобінової, ксантинооксидазної, циклооксигеназної і цитохром-Р-450-редуктазної систем.

Спершу зупинимося на NO-синтазному шляху. Існує декілька типів NOS: нейрональна, конститутивна (nNOS), яка каталізує синтез NO в нейронах під впливом глутамату; ендотеліальна, конститутивна (eNOS), яка синтезує NO в ендотеліальних клітинах судин під впливом ацетилхоліну, брадикініну, а також змін тиску й потоку крові в судинах; індукційна (iNOS) ізоформа ферменту в макрофагах, мікроглії, астроцитах, гладеньком'язових клітинах судин, яка синтезує NO після активації цитокінами [11, 31].

Сумарне рівняння каталізованої NOS реакції включає 5-електронне ($N^3 \rightarrow N^{2+}$) окиснення атому азоту в L-аргініні, поєднане з окисненням НАДФН:



NO-синтази зараховують до біфункціональних ферментів, оскільки вони активують кисень, і, «зв'язуючи» його з гуанідиновим азотом L-аргініну, вивільняють NO «із брили амінокислоти L-аргініну, подібно до скульптора, що відсікає все зайве» [26].

Основна каталітична різниця ізоформ полягає в тому, що іони кальцію (Ca^{2+}) необхідні для eNOS і nNOS, у той час як кальмодулін зв'язаний з iNOS так міцно, що додавання кальцію не є необхідним. Вважають, що кальмодулін надає ферменту конформаційного стану, необхідного для внутрішнього переносу електронів від редуктазного на оксигеназний домен [6].

Оксид азоту, синтезований різними типами NOS, виконує, відповідно, і неоднакові функції. Зазначимо, зокрема, що активація ендотеліальної NOS спостерігається при підвищенні швидкості кровотоку (напруга зсуву) під час гострого фізичного навантаження [15]. Збільшення ендотеліальної продукції NO зазвичай сприятливе для організму, оскільки захищає його від гіпертензії, тромбозів, спазмів судин, вільнорадикального ушкодження. Однак експресія iNOS призводить до гіперпродукування NO і токсичних ефектів його надлишку. У такому випадку NO продукує мікроглія і лейкоцити. Вважають, що синтезований цією формою NOS NO забезпечує антигенний гомеостаз мозкової тканини [14]. Оскільки

iNOS не потребує кальцію, то фермент може підтримувати високу активність протягом декількох днів [6].

При гіпоксичних впливах експресія iNOS починається тільки після 6 год безперервної гіпоксії, тоді як конститутивні ізоформи активуються одразу [36].

Оскільки нейрональна NOS відіграє першочергову роль при ішемії головного мозку, доцільно розглянути її детальніше.

nNOS у мозку зосереджена в глутаматергічних гранулярних клітинах і ГАМК-ергічних корзинчастих клітинах мозочка, у нейронах кори мозку, де вона співлокалізована з соматостатином, нейропептидом Y чи ГАМК. Подібна картина виражена в стріатумі. У корі мозку і в смугастому тілі NOS-нейрони становлять 1-2 % від загальної популяції нервових клітин. Пірамідні клітини в ділянці CA_1 гіпокампа практично не містять нейрональної форми NO-синтази, однак тут, а також у ділянці CA_3 , як і в гранулярних клітинах зубчастої звивини, виявлена значна концентрація ендотеліальної форми ферменту.

Хоча NO може продукуватися майже всіма тканинами організму, за нормальних умов найбільше NOS міститься в мозку. Відростки нейронів, що містять NOS, так широко розгалужені, що практично всі нейрони ЦНС розташовуються в межах декількох мікрометрів від джерела NO. Встановлено, що найбільш багатим джерелом NO є нюхова цибулина і мозочок [1, 4].

Вважається, що NOS-вмісні нейрони мозку проявляють підвищену резистентність до шкідливих впливів, оскільки володіють НАДФН-діафоразною активністю. НАДФН-діафораза - необхідний компонент ланцюга утворення NO в нейронах, глії, клітинах судин мозку, вона відіграє значну роль у механізмах відповіді на ішемічні процеси в мозковій тканині і віддзеркалює початковий етап активації різних систем, що беруть участь у відновленні пошкодженого мозку (ефекторні системи, біосинтез структурних білків і ферментів, експресія генів) [9].

Якщо напруга кисню падає нижче 30 мм рт. ст., то ферментативний синтез NO знижується [10]. Включається інший шлях утворення NO в організмі - нітритредуктазний. NO-синтазний і нітритредуктазний компоненти утворюють цикл, який називають циклом оксиду азоту [27].

Одним із основних продуктів метаболізму NO є іони NO_2^- і NO_3^- . Іони NO_2^- в організмі свавців досить активно перетворюються в NO і NO_3^- , при цьому останні, в основному, виводяться з організму [28]. Продукування NO в процесі нітритредуктазної реакції в 1000 разів вище інтенсивності NO-синтазної реакції [27].

Дефіцит кисню - чинник, який забезпечує активну роботу нітритредуктазних систем з гемвмісними білками - гемоглобіном, міоглобіном, цитохромоксидазою і цитохромом P-450. Кисень інгібує нітритредуктазну активність гемвмісних білків, а гіпоксія/ішемія і функціональне навантаження активують цикл оксиду азоту. Однак від-

новлювати іони NO_2^- в NO можуть лише відновлені форми гемвісних білків. Тому найважливішим компонентом нітритредуктазних систем є електроннодонорні системи, що здійснюють відновлення гемоглобіну, міоглобіну, цитохромоксидози і цитохрому P-450. У першу чергу до них потрібно зарахувати метгемоглобін- і метміоглобінредуктази, а також електроннотранспортувальні ланцюги мітохондрій і ендоплазматичного ретикула. Ці ферментні системи, як відомо, переносять електрони від НАДФН чи НАДФ через флавопротеїд на гемвісні білки. Серед низькомолекулярних систем, здатних брати участь у відновленні гемвісних білків, слід виділити аскорбінову кислоту і відновлений глутатіон.

Як бачимо, електроннодонорні системи, що містять НАДФ, НАДФН, флавопротеїди і відновлені гемвісні білки, які перебувають у дезоксиформі, володіють нітритредуктазною активністю і здатні замкнути ланцюг метаболічних перетворень $\text{L-аргінін} \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{NO}_2^- / \text{NO}_3^-$ [27].

Активізація нітритредуктазного компонента за умов ішемії/гіпоксії може бути однією зі складових ішемічного ушкодження нейронів у період реоксигенації. Однак за фізіологічних умов сила «слабкого» NO -синтазного компонента полягає в тому, що саме він лімітує надходження субстрату NO_2^- для «сильного» нітритредуктазного компонента. Тут прослідковується аналогія з принципом доповненості, який добре відомий фізикам: сила «слабкого» компонента в слабкості «сильного» [26].

Окисний стрес – основний патогенетичний шлях руйнування нейронів, і NO відіграє тут значну роль. Молекула NO містить непарну кількість електронів, один із яких має неспарений спін. Наявність цього електрона і зумовлює високу реакційну спроможність молекули NO .

В основі порушень механізму регуляції перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) при церебральній ішемії лежать зміни функціонального стану мітохондріального електроннотранспортувального ланцюга (роз'єднання окисного фосфорилування) як одного з основних джерел продукції активних форм кисню. Тут наявний вплив оксиду азоту, оскільки ця сполука є інгібітором мітохондріального дихання.

Саме в мітохондріях спостерігається найбільш помітний, порівняно з цілою тканиною, дозозалежний приріст вмісту метаболітів NO та активних форм кисню, який добре корелює із дозозалежним збільшенням кальцієвої ємності мітохондрій і може вказувати на підвищене надходження кальцію в ці органели. Добре відомо, що кальцій є ендogenousним регулятором мітохондріальних дегідрогеназ, а також і мітохондріальної NO -синтази, яку зараховують до кальцієзалежних ізоформ ферменту, нейрональної NO -синтази. Зважаючи на достовірну кореляцію посилення активності NO -синтази зі збільшенням кальцієвої ємності мітохондрій, можна припустити, що саме посилене надходження кальцію до мітохондріального матриксу є причиною різкої стимуляції утворення метаболітів NO , пероксидів і вільнорадикальних похідних кисню внаслідок

док кальцієзалежної активації мітохондріальних ферментів – комплексів дихального ланцюга та мітохондріальної NOS.

Транспортування кальцію до мітохондріального матриксу може значно полегшуватися через його котранспорт з NO_3^- , який проникає через мітохондріальну мембрану. При цьому концентрація NO_3^- збільшується в мітохондріях у десятки разів, за механізмом, аналогічним з дією інших мембранопроникних аніонів (ацетату та фосфату) на транспорт кальцію [19, 35].

Додатковим моментом дії NO , яка впливає на сигнальні шляхи активних форм кисню (АФК), є взаємодія з системами, які в процесі метаболізму арахідонової кислоти продукують простагландини. Їх утворення залежить від наявності зазначеної кислоти і перекису, рівень яких може регулюватися NO . Крім того, похідні NO , очевидно, взаємодіють із багатьма ферментами, що метаболізують арахідонову кислоту. Наприклад, пероксинітрид інгібує простагліциніназу, і цей ефект може здійснювати сильний вплив на опосередковані простагліцинінами судинні реакції перетворення вазодилаторного ефекту у вазоконстрикторний [16].

Ініціувальна дія NO на процес апоптозу спостерігається при генеруванні високих концентрацій NO в клітинах і тканинах, наприклад, при функціонуванні iNOS. Очевидно, це зумовлено тим, що при інтенсивній генерації NO різко підвищується ймовірність його перетворення в пероксинітрид, який запускає процес апоптозу. Крім того (і для цього не обов'язково ініціювати синтез NO у високих концентраціях), цей агент, взаємодіючи з мітохондріями, може спричинити вихід із них цитохрому C – потужного активатора апоптозу. NO здатний ініціювати посилений синтез проапоптичного білка p53 [2].

Окисний стрес спостерігається при ішемії, однак більшою мірою він є наслідком подальшої реперфузії, у період якої відбувається виражене виснаження водо- і ліпідорозчинних антиоксидантів. Вважається, що внаслідок цього розвиваються порушення функції мембранних структур, які призводять до тривалої неврологічної дисфункції, незважаючи на відносну збереженість ДНК ядер нейронів [5].

Оскільки, як вважають, нейротоксичність NO зумовлена його перетворенням у більш агресивні сполуки, зокрема пероксинітрид, розглянемо його роль детальніше.

Реакція окиснення L-аргініну, яка каталізується NOS, призводить до утворення принаймні двох продуктів вільнорадикальної природи – NO і супероксидного аніон-радикала. Продуктом взаємодії NO і супероксиду є високореактивні сполуки – пероксинітриди – що мають виражені нейротоксичні властивості і, таким чином, виключають сигнальну функцію NO , період існування якого дуже короткий. При патологічній гіпергенерації NO вірогідність утворення сильного оксиданту пероксинітриду значно збільшується, оскільки NO – єдина біомо-

лекула, що конкурує із супероксиддисмутазою за супероксид [11, 5].

Пероксинітриди легко проникають через ліпідний бішар мембрани і мають значно більше хімічних мішеней, ніж NO. Вони модифікують білкові макромолекули, окиснюючи тиольні групи [27], інгібують білки мітохондріального дихального ланцюга, що призводить до зниження продукування АТФ і порушення кальцієвого гомеостазу; пригнічують антиоксидантні ферменти і посилюють утворення супероксидного аніона і – додатково – пероксинітридів. Пероксинітриди також модифікують і розривають ланцюги ДНК, одночасно інгібуючи ДНК-лігазу, що спричиняє ще більше uszkodження ДНК і клітини в цілому [7].

Іншим механізмом нейротоксичності пероксинітриду є його взаємодія із супероксиддисмутазою (СОД). Реагуючи з іонами металів, що входять до складу супероксиддисмутази, пероксинітрид призводить до утворення реактивного і високотоксичного іону нітронію (NO_2^+), який, у свою чергу, зв'язується з фенольними групами і утворює нітрофеноли. При цій реакції супероксиддисмутази виконують роль каталізатора нітрування широкого спектра похідних фенолу, у тому числі тирозинів. Утворення нітротирозинів суттєво визначає токсичність NO, оскільки при інактивації тирозинкінази не відбувається фосфорилування білків і порушуються функції цитоплазматичних рецепторів. Крім того, нітрування білків збільшує їх антигенність, що сприяє розвитку аутоімунних процесів у нервовій системі.

Пероксинітрид взаємодіє також з іоном кисню, утворює пероксинітридну кислоту (ONOOH), яка розпадається і дає початок молекулам гідроксирадикала і NO_2^- [4, 20].

За наявності пероксинітриду чи продуктів його розпаду утворюються радикали глутатіону, внаслідок чого останній з антиоксиданту перетворюється в прооксидант, ініціюючи процеси ПОЛ [21].

При гіперпродуванні ONOO^- можна стверджувати про “нітрозуючий стрес”, що, на думку дослідників, є однією з важливих ланок окисного стресу [8].

Внесок в uszkodження нейронів під час окисного стресу робить ксантинооксидаза. За участю іонів кальцію, що є в надлишковій кількості в ішемізованих нейронах, відбувається перехід ксантиндегідрогенази в ксантинооксидазу, яка, використовуючи молекулярний кисень як акцептор електронів, здатна каталізувати реакції утворення O_2^- і H_2O_2 , що перевищують детоксуючі можливості антиоксидантної системи захисту організму [13]. У той же час ксантинооксидаза може здійснювати в організмі функцію джерела оксиду азоту, використовуючи як субстрат нітрид-іони. Встановлено, що цей фермент може функціонувати як нітриредуктаза тільки за наявності НАДФ, причому кисень для прояву нітриредуктазної активності ксантинооксидази не потрібний [24].

Окисний стрес впливає на функціонування NO-синтази, що, безперечно, позначається на нер-

вовій тканині. NO володіє захисним чи деструктивним впливом залежно від стадії ішемічного процесу й від клітинних джерел NO. В умовах *in vivo* після глобальної ішемії мозку відбувалося зниження активності NOS у тих структурах (гіпокамп, мозочок), в яких виражений окисний стрес. Це дозволило вважати, що зниження активності NOS пов'язане з порушенням каталітичної функції ферменту внаслідок окисного стресу [5].

Участь NO-синтази в механізмах ушкоджувального впливу NO підтверджується тим, що трансгенні миші, в яких відсутній ген, що кодує нейрональну NO-синтазу, виявляють стійкість до ішемії мозку [29]. До того ж, NO нейронального походження відіграє провідну роль у патогенезі реперфузійного ушкодження клітин мозку. У мишей із дефіцитом експресії nNOS розміри ушкодження і набряку мозку при його реперфузії виражені меншою мірою [14]. Ці дані дозволяють вважати, що саме нейрональна ізоформа ферменту вносить найбільш суттєвий вклад у посилення генерування NO, що спостерігається при ішемії мозку [34].

Отже, підвищення продукування NO в клітинах мозку призводить до ушкодження і загибелі. У той же час, зниження продукування NO в ендотелії судин мозку спричиняє вазоконстрикцію, що ще сильніше перекриває доступ кисню [7, 9].

Застосування інгібіторів NO-синтази в умовах ішемії призводить до збільшення ділянки інфаркту мозку. Очевидно, це відбувається завдяки блокуванню eNOS, що вказує на важливу позитивну роль цієї ізоформи ферменту. Дійсно, вибіркоче інгібування eNOS спричиняє нейротоксичний вплив, а найбільш яскравий нейропротекторний ефект досягається за рахунок вибіркового пригнічення nNOS [7].

Механізми ушкодження нейронів при гіперпродуванні NO універсальні. Надлишкова кількість оксиду азоту пригнічує ферменти дихального ланцюга, циклу Кребса і синтез ДНК [14, 15]. Фрагментація ДНК стимулює активність ядерного ферменту полірибозосинтази (PARS). Цей фермент, використовуючи як субстрат NAD^+ , в умовах «отруєного» NO мітохондріального транспортування електронів, сприяє швидкому виснаженню енергетики клітини, спричиняючи її загибель. Інгібуванням PARS можна також запобігти нейротоксичності [11]. Якщо наномолярні концентрації оксиду азоту призводять до зворотного інгібування мітохондріального дихання, то мікромольні концентрації NO, які виникають за участі iNOS, спричиняють незворотні зміни ферментів дихального ланцюга [14].

Під час ішемії-реперфузії NO проявляє й позитивні ефекти. У першу чергу, слід звернути увагу на його взаємодію із супероксид-аніоном. Ослаблення NO-залежних процесів, таких, як вазодилатація, відбувається внаслідок захоплення наростаючими концентраціями супероксиду значних кількостей наявного NO і належить до найдетальніше вивчених взаємодій між NO і супероксидом. При перевищенні наномольного рівня

концентрацій NO виступає як потужний перехоплювач супероксиду. Це призводить до ослаблення АФК-залежних механізмів передачі й активації тих, що зумовлені утворенням ONOO-. При концентрації NO, яка відповідає рівню СОД у тканині, він може конкурувати з останньою, тобто функціонувати як внутрішньоклітинна пастка супероксиду, змінюючи АФК активовані сигнальні механізми альтернативними, активованими NO [16].

У фізіологічних концентраціях NO виступає як антиоксидант, який гальмує розвиток радикальних окисних реакцій, зв'язуючись із вільними іонами Fe^{2+} , що входять до складу гемму та інгібуючи розкладання перекису [23]. Тому в умовах ішемії гіперпродукування NO може активувати антиоксидантні системи і, як наслідок, призводити до зниження вмісту вільних радикалів, які посилюють синтез NO в організмі [11].

З одного боку, окисний стрес у мозку спричиняє індукцію кальцієнезалежної NOS, з іншого – гемоксигеназа (фермент, експресія якого зростає при окисному стресі) інгібуює NOS у макрофагах, здійснюючи таким чином контроль генерації NO за типом негативного зворотного зв'язку [5].

NO-залежні механізми, що запобігають ефективному обмеженню вільнорадикального окиснення, полягають у зниженні внутрішньоклітинної концентрації кальцію шляхом інгібування кальцієвої АТФази та здатності збільшувати активність ферментів антиоксидантного захисту і експресію генів, які їх кодує. До таких ферментів зараховують супероксиддисмутазу, каталазу, глутатіонпероксидазу, глутатіонредуктазу, а також водо- і жиророзчинні антиоксиданти: α -токоферол, ретинол, аскорбінову кислоту, глутатіон, тіолові амінокислоти, деякі мікроелементи [13, 15].

При ішемічних інсультах відбувається активація молекул адгезії на тромбоцитах. Активація і агрегація тромбоцитів у зоні ішемічного ушкодження мозку погіршує перебіг ішемічного інсульту [25]. Дані про роль NO у запобіганні адгезії й агрегації тромбоцитів зумовлюють його важливе значення в обмеженні тромбоутворення і, відповідно, у зниженні негативних проявів ішемічного ушкодження мозку [38].

Навіть на такий головний генератор АФК, як мітохондрії, в умовах ішемії оксид азоту може мати позитивний вплив. Посилена акумуляція кальцію в мітохондріях спричинює короткотривалий цитопротекторний ефект внаслідок видалення кальцію із цитозолу, блокування МП і пригнічення апоптогенних процесів, однак за умов більш тривалої дії вона все ж таки призводить до руйнівних наслідків для мітохондрій і незворотного порушення енергетичного метаболізму клітини [19].

За умов окисного стресу NO інгібуює дію фосфоліпази D (мітохондрій еритроцитів), активованої окиснювачами, запобігаючи небажаному дисбалансу складу мембранних ліпідів [22].

Інгібуючи викид адренкортикотропного гормону, адреналіну, норадреналіну, NO виконує

стреслімітувальну функцію. Особливої ваги механізми сукупної гальмівної і судинорозширювальної дії набувають у постішемічному періоді, коли NO-залежне розширення судин і гальмування нейронів сприяє збереженню клітин мозку [9].

Існує механізм, пов'язаний із NO-залежною активацією цГМФ-залежної протеїнкінази, яка, у свою чергу, інгібуює активацію каспаз, за рахунок поки що нез'ясованого впливу. Крім того, є свідчення, що NO безпосередньо пригнічує активність каспаз шляхом S-нітрозювання тіолів у їх активному центрі [7].

Цікавим є те, що NO може інгібувати вивільнення цитохрому C із мітохондрій шляхом індукції білків теплового шоку і, таким чином, захищати клітину від дії оксидативного стресу. NO може активувати експресію антиапоптотичних членів сімейства Bcl-2, інгібувати їх розщеплення. Це призводить до зниження чутливості до апоптотичних стимулів [7, 2].

NO активує синтез протекторних стрес-білків Hsp70, які беруть участь у ренатурації білків, ушкоджених внаслідок стресу. Це означає, що NO-залежна активація Hsp70 може бути одним зі складників важливого механізму антистресорного захисту клітин.

Один із механізмів обмеження стрес-індукованих ушкоджень мембран пов'язаний із простагландінами груп E і I₂. Як виявилось, NO за рахунок активації циклооксигеназ може стимулювати синтез цих цитопротекторних простагландинів [15].

Щодо зміни рівня оксиду азоту в мозку при ішемії дані суперечливі. Є відомості як про зниження утворення оксиду азоту в мозковій тканині, так і про підвищення його утворення [33]. Іншими вченими встановлено, що при ішемії головного мозку в різних його відділах відбуваються мозаїчні зміни активності нейрональної NO-синтази: у корі великих півкуль – зниження, у гіпокампі – підвищення, у той час як у мозочку зміни активності не спостерігаються [34].

Вважається, що є дві фази генерації NO протягом ішемії і реперфузії. Посилене продукування NO в період ішемії розглядається як фізіологічна відповідь і може бути пов'язана зі збільшенням мозкового кровотоку, шляхом прямої вазорелаксації мозкових судин і ретроградної блокади NMDA-рецепторів, що спричиняє NO. З іншого боку, утворення NO в період реперфузії може супроводжуватися ушкодженням тканини [1, 11, 12, 32].

Враховуючи зазначене, можемо дійти висновку, що позитивні ефекти впливу NO спостерігаються на початкових стадіях ішемії, а також у пізніх періодах ішемії-реперфузії. Ішемічне ушкодження пов'язане з потужним окисним стресом. Відбувається пригнічення NO-синтазного шляху генерації NO і генерований нітритредуктазним шляхом оксид азоту, завдяки своїй радикальній природі, лише сприяє руйнації. Посилюється вона і в період реперфузії. Тільки тоді, коли зона пенумбри звільнена від продуктів ПОЛ че-

рез відновлення кровотоку, можна передбачати позитивні ефекти NO.

Перспективи подальших досліджень. Наведені дані свідчать про залежність позитивних чи негативних ефектів оксиду азоту на перебіг ішемічно-реперфузійних ушкоджень головного мозку від багатьох чинників, конкретна роль яких потребує уточнення та експериментального підтвердження.

Література

1. Башкатова В. Оксид азота в механізмах пошкодження мозгу, обумовлених нейротоксическим действием глутамата / В.Башкатова, К.Раевский // Биохимия. – 1998. – № 7. – С. 1020-1028.
2. Ванін А.Ф. Оксид азота в біомедицинських дослідженнях / А.Ф.Ванін // Вестн. РАМН. – 2000. – № 4. – С. 3-5.
3. Ванін А.Ф. Оксид азота в біології: історія, стан і перспективи досліджень / А.Ф.Ванін // Биохимия. – 1998. – № 7. – С. 867-869.
4. Викторів І.В. Роль оксиду азота і других вільних радикалів в ішемічній патології мозку / І.В.Викторів // Вестн. РАМН. – 2000. – № 4. – С. 5-10.
5. Влияние окислительного стресса на активность синтазы оксида азота мозга *in vivo* и *in vitro* / М.В.Онуфриев, М.Ю.Степанович, О.С.Митрохина [и др.] // Рос. физиол. ж. им. И.М. Сеченова. – 1999. – № 4. – С. 531-538.
6. Горрен А.К.Ф. Универсальная и комплексная энзимология синтазы оксида азота / А.К.Ф.Горрен, Б.Майер // Биохимия. – 1998. – № 7. – С. 870-880.
7. Гипоксия и оксид азота / И.Ю.Мальшев, Е.А.Монастырская, Б.В.Смирин [и др.] // Вестн. РАМН. – 2000. – № 9. – С. 44-48.
8. Дослідження антирадикальних властивостей s-карбоксалкільних похідних 4-тіохіназоліну в дослідях *in vitro* у системі утворення оксиду азоту / С.І.Коваленко, І.Ф.Беленічев, О.В.Карпенко [та ін.] // Ліки. – 2003. – № 1-2. – С. 68-72.
9. Зайнидінова Р. Роль нитроксидазної системи в патогенезі ураження головного мозку / Р.Зайнидінова, А.Степанов // Рос. педиатр. ж. – 2005. – № 5. – С. 21-25.
10. Зенков Н.К. NO-синтазы в норме и при патологии различного генеза / Н.К.Зенков, Е.Б.Меньщикова, В.П.Реутов // Вестн. РАМН. – 2000. – № 4. – С. 30-34.
11. Зозуля Ю. Мультифункціональність і метаболізм оксиду азота в центральній нервовій системі / Ю.Зозуля, Л.Сенько // Ж. Акад. мед. наук України. – 2000. – № 1. – С. 3-26.
12. Лапша В.И. Изменение активности NO-синтазы, ферментов энергетического обмена и ультраструктуры в нейронах коры большого мозга при моделировании кратковременной ишемии / В.И.Лапша, В.Н.Бочарова, В.Н.Гурин // Морфология. – 2003. – № 3. – С. 32-36.
13. Лук'ячук В.Д. Окисний гомеостаз мозку при ішемії і досвід експериментальної фармакотерапії / В.Д.Лук'ячук, Л.В.Савченкова, О.Ю.Бібік // Ж. Акад. мед. наук України. – 2001. – № 4. – С. 647-659.
14. Максимович Н.Е. Особенности формирования уровня оксида азота в плазме крови крыс при ишемических и реперфузионных повреждениях головного мозга / Н.Е.Максимович // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2004. – № 3. – С. 55-60.
15. Мальшев И. Стресс, адаптация и оксид азота / И.Мальшев, Е.Манухина // Биохимия. – 1998. – № 7. – С. 992-1006.
16. Механізми передачі сигналу оксидант-оксид азота в судинистій ткани / М.С.Волин, К.А.Девидсон, П.М.Каминський [и др.] // Биохимия. – 1998. – № 7. – С. 958-965.
17. Могін А.А. Деполаризація ізольованих нервових окончаний мозку донорами оксиду азоту: мембранні механізми / А.А.Могін, П.И.Недвєцький, С.В.Федорович // Биохимия. – 1998. – № 6. – С. 787-796.
18. Недоспасов А.А. Биогенный NO в конкурентных отношениях / А.А.Недоспасов // Биохимия. – 1998. – № 7. – С. 891-904.
19. Оксид азоту пригнічує відкриття мітохондріальної пори і збільшує кальцієву ємність мітохондрій *in vivo* / О.В.Акопова, А.В.Коцюрба, Ю.П.Ткаченко [та ін.] // Фізіолог. ж. – 2005. – № 3. – С. 3-11.
20. Оксид азоту та імунна система організму / А.І.Гоженко, І.В.Ніколаєвська, С.Г.Котюжинська [та ін.] // Мед. хімія. – 2001. – № 3. – С. 5-8.
21. Оксид азота как активная форма кислорода / Т.В.Звягина, И.Е.Белик, А.А.Кривошей [и др.] // Укр. мед. альманах. – 2001. – № 6. – С. 203-206.
22. Паніна Л. В. Роль оксиду азоту в розвитку антигіпоксичної адаптації / Л.В.Паніна, О.І.Терлецька, І.Ф.Тимочко // Експерим. фізіол. та біохім. – 1999. – № 1. – С. 29-38.
23. Паршина С.С. Современные представления о биологических эффектах оксида азота и его роли в развитии сердечно-сосудистой патологии / С.С.Паршина // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2006. – № 1. – С. 88-94.
24. Петренко Ю.М. Новые источники окиси азота, их возможная физиологическая роль и значение / Ю.М.Петренко, Д.А.Шашурин, В.Ю.Титов // Эксперим. и клин. фармакол. – 2001. – № 2. – С. 72-80.
25. Петрищев Н. Функциональное состояние эндотелия при ишемии – реперфузии / Н.Петрищев, Т.Власов // Рос. физиол. ж. им. И.М.Сеченова. – 2000. – № 2. – С. 148-163.
26. Реутов В.П. Медико-биологические аспекты циклов оксида азота и супероксидного анионрадикала / В.П.Реутов // Вестн. РАМН. – 2000. – № 4. – С. 35-41.
27. Реутов В. NO-синтазная и нитритредуктазная компоненты цикла оксида азота / В.Реутов, Е.Сорокина // Биохимия. – 1998. – № 7. – С. 1029-1040.
28. Роль оксиду азоту в регуляції мікроциркуляції і агрегантного стану крові / А.И.Гоженко, С.Г.Котюжинская, А.П.Котюжинский [и др.] // Укр. мед. альманах. – 2000. – № 1. – С. 197-200.

29. Семакс предупреждает повышение генерации оксида азота в мозге крыс, обусловленное неполной глобальной ишемией / О.Е.Фадюкова, А.А.Алексеев, В.Г.Башкатова [и др.] // Эксперим. и клин. фармакол. – 2001. – № 2. – С. 31-34.
30. Увеличение экспрессии генов Ca^{2+} -АТФазы саркоплазматического ретикулаума играет роль в защитных эффектах оксида азота / Н.П.Аймашева, Е.Б.Маленюк, Е.Б.Манухина [и др.] // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1999. – № 10. – С. – 375-380.
31. Effects of acute hypobaric hypoxia on the nitric oxide system of the rat cerebral cortex: protective role of nitric oxide inhibitors / J.Serrano, J.M.Encinas, A.P.Fernández [et al.] // Neurosci. – 2006. – № 3. – P. 799-808.
32. Effects of L-arginine on the brain ischaemia-reperfusion damage in rats: An investigation by somatosensory evoked potentials and histopathology / Tülay Kurt, Atilla Oguzhanoglu, Ragip Ortaç [et al.] // Neurosci. Res. Comm. – 2002. – № 12. – P. 175-182.
33. Free radical injury and blood-brain barrier permeability in hypoxic-ischemic encephalopathy / A.Kumar, K.Mittal, H.D.Khanna [et al.] // Pediatrics. – 2008. – № 3. – P. 722-727.
34. Gajkowska B. Endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelium of rat hippocampus after ischemia: evidence and significance / B.Gajkowska, M.J.Mossakowski // Fol. Neuropathol. – 1997. – № 3. – P. 171-180.
35. Mitochondrial intermembrane junctional complexes and their involvement in cell death / M.Crompton, E.Barksby, N.Johnson, M.Capano // Biochimie. – 2002. – № 2. – P. 143-152.
36. Nitric oxide down-regulates caveolin-1 expression in rat brains during focal cerebral ischemia and reperfusion injury / J.Shen, S.Ma, P.Chan [et al.] // J. Neurochem. – 2006. – № 4. – P. 1078-1089.
37. Rizzuto R. Mitochondria as all-round players of the calcium game / R.Rizzuto, P.Bernardi, T.Pozzan // J. Physiol. – 2000. – № 1. – P. 37-47.
38. The role of free radicals in cerebral hypoxia and ischemia / J.Rodrigo, A.P.Fernández, J.Serrano [et al.] // Free Radical Biol. Med. – 2005. – № 1. – P. 26-50.

РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА В ИШЕМИЧЕСКИХ И ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННЫХ ПОВРЕЖДЕНИЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА

В.О.Куровская, В.П.Пишак, С.С.Ткачук

Резюме. В условиях ишемических и ишемическо-реперфузионных повреждений головного мозга разрушительное действие оксида азота проявляется в его способности инициировать синтез новых свободнорадикальных соединений, которые принимают участие в процессах перекисного окисления липидов. В то же время оксид азота обладает положительными эффектами, как регулятор многих внутринейрональных процессов, которые могут иметь место и при ишемии-реперфузии головного мозга.

Ключевые слова: оксид азота, ишемия, реперфузия, головной мозг.

THE ROLE OF NITRIC OXIDE IN ISCHEMIC AND ISCHEMIC-REPERFUSION BRAIN DAMAGES

V.O.Kurovs`ka, V.P.Pishak, S.S.Tkachuk

Abstract. The destructive action of nitric oxide is manifested by its ability to initiate synthesis of new free radical compounds which participate in the processes of lipid peroxidation under conditions of ischemic-reperfusion brain damages. At the same time nitric oxide possesses positive effects as a regulator of many intraneuronal processes which may exert an influence in case of ischemia-reperfusion of the brain.

Key words: nitric oxide, ischemia, reperfusion, brain.

Bukovinian State Medical Univesity (Chernivtsi)

Рецензент – проф. Ю.С.Роговий

Buk. Med. Herald. – 2008. – Vol.12, №4.–P.143-149

Надійшла до редакції 27.10.2008 року