

ОКСИД АЗОТА В ПАТОГЕНЕЗЕ ИШЕМИЧЕСКИХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Н. Е. Максимович, д.м.н., доцент

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

В результате использования L-аргинина и селективных ингибиторов нейрональной NO-синтазы и индуцируемой NO-синтазы, а также неселективного ингибитора NO-синтазы метилового эфира N^ω-нитро-L-аргинина установлено, что в ранний период ишемии головного мозга повреждение обусловлено оксидом азота (NO), образующимся нейрональной изоформой фермента, а в поздний – NO макрофагального происхождения. NO, образующийся эндотелиальной изоформой NO-синтазы, уменьшает выраженность ишемических повреждений головного мозга.

Ключевые слова: головной мозг, ишемия, оксид азота, L-аргинин, ингибиторы NO-синтазы.

Having applied L-arginine and selective inhibitors of neuronal NO-synthase and of inducible NO-synthase as well as non-selective inhibitor of NO-synthasae N^ω-nitro-L-arginine methyl ester we found out that nitric oxide synthesized by neuronal isoform of NO-synthase potentiates the brain injury at early period of brain ischemia. NO, synthesized by inducible isoform of enzyme plays the main role in pathological injuries at later stage. NO, synthesized by endothelial isoform, decreases ischemia injuries of brain.

Key words: brain, ischemia, nitric oxide, L-arginine, inhibitors of NO-synthase.

Введение. С 80-х годов прошлого века началось интенсивное изучение биологического влияния оксида азота (NO), когда Р. Фурчготт и Дж. Завадски показали, что расширение кровеносных сосудов под влиянием ацетилхолина происходит только при наличии эндотелия сосудов и вырабатываемого в нем вещества, получившего название «сосудорасширяющий эндотелиальный фактор». В головном мозге источниками NO являются нейроны (нейрональный NO), эндотелий сосудов (эндотелиальный NO), глиальные клетки и астроциты, обладающие макрофагальной активностью (макрофагальный NO), а также тромбоциты и лейкоциты крови, образующие NO при участии как конститутивных, так и индуцируемой изоформ NO-синтазы.

Выявление структурных образований головного мозга с NO-продуцирующей активностью позволило сформулировать понятие об нитергической системе головного мозга [4, 5], включающей нейрональные (нейроны) и экстранейрональные (эндотелий, глия, макрофаги, лейкоциты, тромбоциты и др.) структуры, синтезирующие NO. NO нейроцитов участвует в передаче нервных импульсов в головном мозге, а также посредством NO-ергических (неадренергических, нехолинергических) нервных окончаний участвует в регуляции кровообращения [9]. В мозге NO важен для нейрональных процессов как медиатор синаптической передачи, отвечающий как за процессы возбуждения, так и за тормозные процессы. Благодаря этому, NO участвует во многих процессах, необходимых для реализации интегративной активности нервной системы человека [1, 7, 8]. Другим местом образования NO является эндотелий кровеносных сосудов, посредством которого осуществляется нервная, гуморальная и местная регуляция мозгового кровообращения путем вазодилатации, а также поддержания реологических свойств крови. В эндотелии происходит образование небольших количеств NO (менее 1 μ M), продуцирующихся эндотелиальной NOS (eNOS) или NOS-III, относящейся к конститутивным формам NO-синтазы. Вазодилаторный эффект NO в основном связан с влиянием на гемовую группу

растворимой (цитозольной) формы гуанилатциклазы, образованием цГМФ - активного внутриклеточного посредника, регулирующего работу мембранных ионных каналов, процессы фосфорилирования белков (через протеинкиназы), активность фосфодиэстеразы, а также другие реакции, отвечающие за механизмы вазодилатации, антиагрегационные и антиадгезивные свойства NO в эндотелии.

Третий источник NO в мозге - клетки глии, обладающие макрофагальной активностью, в которой при стимуляции со стороны инфекционных агентов, опухолевых антигенов происходит активация макрофагальной (индуцируемой Ca^{2+} и кальмодулиннезависимой) изоформы NO-синтазы (iNOS, NOS-III). Образование NO при участии этой изоформы существенно (в 1000 раз) превышает образование NO конститутивными (нейрональной и эндотелиальной) изоформами NO-синтазы.

Учитывая, что NO - молекула с высокореакционными свойствами, способная проявлять как защитные (антиоксидантные, противовоспалительные, антитромботические свойства - с одной стороны, а с другой - повреждающие (прооксидантные, провоспалительные, тромбогенные) свойства вследствие образования пероксинитрита, возник вопрос о его роли в ишемическом повреждении головного мозга (ИГМ).

Материалы и методы. Для выяснения роли NO в патогенезе ишемических повреждений головного мозга проведены исследования у крыс с субтотальной ишемией головного мозга с использованием субстрата NO-синтазы L-аргинина, неселективного ингибитора NOS - метилового эфира N ω -нитро-L-Аргинина (L-NAME), обладающего выраженным ингибиторным действием в отношении эндотелиальной изоформы NOS и не влияющего на активность индуцируемой изоформы фермента, а также селективных ингибиторов - S-метилизотиомочевина - ингибитора индуцируемой изоформы и 7-нитроиндазола, обладающего наиболее выраженным ингибирующим действием в отношении нейрональной изоформы NO-синтазы. В работе использованы общепринятые методы исследований: физиологические (гипоксический тест, фотоколориметрический метод определения степени агрегации тромбоцитов, изометрический метод изучения эндотелийзависимой вазодилатации кровеносных сосудов), биохимические (спектрофотометрическое определение нитритов и нитратов в плазме крови, продуктов перекисного окисления липидов и факторов антиоксидантной защиты в головном мозге и в плазме крови), морфологические (гистологическое исследование головного мозга, определение количества циркулирующих эндотелиальных клеток в плазме крови) и статистические (вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента и корреляционного анализа).

Результаты и их обсуждение. В результате изолированного использования данных ингибиторов, а также комбинированного использования ингибиторов нейрональной и индуцируемой изоформ NO-синтазы и L-аргинина с помощью комплекса морфологических, биохимических и функциональных методов, позволяющих оценивать выраженность ишемических повреждений, а также участие в них окислительных, воспалительных и других механизмов, установлены различия каждого из компонентов нитроергической системы головного мозга и продуцируемых ими пулов NO в патогенезе ишемических повреждений головного мозга [2-6, 10,11] (см. табл.).

В частности, показано, что патогенез повреждений головного мозга в ранний период ишемии головного мозга обусловлен участием NO, генерируемого nNOS. Установлено, что в условиях дефицита субстрата NOS L-аргинина, потребность в котором при ишемических процессах возрастает из-за активации эксайтоксических механизмов, активирующих nNOS, усиливается активность окислительных процессов, а введение L-аргинина способствует образованию NO и уменьшению выраженности ишемического повреждения.

Таблица – Влияние оксида азота, образующегося различными изоформами NO-синтазы, на изучаемые процессы у крыс с ишемией головного мозга

Анализируемые процессы	Действие NO в организме крыс с ИГМ, образующегося					
	nNOS		iNOS		eNOS	
	ранний период	поздний период	ранний период	поздний период	ранний период	поздний период
Образование и деградация оксида азота	↑	↑	-	↑	↓	↓
Окислительный стресс	↑	↑	-	↑	↓	↓
Воспаление	↑	↑	-	↑	↓	↓
Эндотелийзависимая вазодилатация	↓	↓	-	↓	↑	↑
Десквамация эндотелия кровеносных сосудов	↑	↑	-	↑	↓	↓
Устойчивость организма к гипоксии	↓	↓	-	↓	↑	↑

Поздние повреждения головного мозга при его субтотальной ишемии обусловлены в большей степени NO макрофагального происхождения. Именно за счет активации воспалительных процессов происходит расширение зоны ишемического повреждения головного мозга в поздний период. Учитывая, что индуцируемая изоформа NOS отвечает за продукцию NO, в тысячу раз превышающую количество NO, образующееся конститутивными изоформами NOS, очевидно, что гиперпродукция NO и образование пероксинитрита и других прооксидантов при участии iNOS является важным механизмом ишемических повреждений головного мозга в поздний период.

Исследования, проведенные с использованием ингибиторов nNOS, iNOS, неселективного ингибитора NOS, а также L-аргинина показали важность сохранения и поддержания активности eNOS в профилактике ишемических повреждений головного мозга. О защитной роли eNOS свидетельствует неблагоприятное течение ИГМ после введения неселективного ингибитора NOS - L-NAME, обладающего выраженным ингибирующим действием в отношении eNOS. Очевидно, что роль образующегося оксида азота при участии eNOS заключается в ауторегуляции мозгового кровотока, реализации антитромбогенных эффектов, что важно для коррекции нарушений, инициируемых воздействием ишемического фактора.

Выводы. Таким образом, роль компонентов нитрергической системы и продуцируемых ими пулов NO в патогенезе повреждений головного мозга ишемического характера является неоднозначной. NO нейронального и макрофагального происхождения выполняет патогенную, усугубляющую повреждение головного мозга роль, в то время как NO, образуемый эндотелиальной изоформой NOS, отвечает за гемодинамические эффекты в компенсации мозгового кровотока. Недостаток же NO эндотелиального происхождения приводит к усугублению повреждения в связи с выполнением им важнейших ауторегуляторных и гомеостатических функций.

Заключение. Использование результатов о неоднозначной роли оксида азота, продуцируемого при участии трех основных изоформ NO-синтазы, может использоваться при разработке коррекции ранних и поздних повреждений головного мозга ишемического генеза.

Литература

1. Гурин А.В. Функциональная роль оксида азота в центральной нервной системе // Успехи физиологических наук. – 1997 - Т. 28., №1 - С.53-57.
2. Максимович Н.Е. Возможности использования модуляторов образования оксида азота для коррекции воспалительного процесса в мозге крыс при его ишемии-реперфузии // Иммунология, аллергология, инфектология // 2003. - №3. - С. 14 - 17.
3. Максимович Н.Е. Переносимость гипоксической гипоксии при ишемии головного мозга у крыс на фоне использования модуляторов NO-синтазы // Hypoxia Medical. - 2004. – 19 - 22.
4. Максимович Н.Е. Роль различных изоформ NO-синтаз в повреждении эндотелия и формировании его дисфункции при ишемии головного мозга у крыс // Белорусский журнал.- 2004.- № 3.- С. 65-68.
5. Максимович Н.Е. Экспериментальное обоснование лечения отека мозга при его ишемии путем коррекции образования оксида азота // Журнал ГрГМУ. - 2004. - №4. - С. 17-21.
6. Максимович Н.Е., Зинчук В. В., Маслаков Д. А. Показатели прооксидантно-антиоксидантного состояния при ишемии головного мозга и введении модуляторов синтеза оксида азота // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. - 2005. - №2. - С. 54 - 57.
7. Марков Х.М. Окись азота и окись углерода – новый класс сигнальных молекул // Успехи физиологических наук.- 1996.- Т.27, № 4. - С.23 - 26.
8. Сосунов А.А. Оксид азота как межклеточный посредник // Соросовский образовательный журнал. – 2000. – Т.6, № 12. - С.27-34.
9. Уразаев А. Х., Зефилов А. Л. Физиологическая роль оксида азота // Успехи физиологических наук. - 1999.- Т. 30, №1.- С. 54-72.
10. Maksimovich N.E. Tolerance of hypoxic hypoxia in rats with cerebral ischemia treated by NO-synthase modulators // Hypoxia medical.- 2004.-V.(1-2).-P. 20-23.
11. Maksimovich N., Zinchuk V., Maslakov D. The degree of oxidative stress in the rat brain during ischemia and reperfusion in conditions of correction of the L-arginine-NO system // Neuroscience and Behavioral Physiol. - 2006. - V. 36, № 4.– P.373-378.