

Б. О. БЕКМАНОВ

## ОРГАНИЗМДЕГІ АЗОТ ТОТЫҒЫНЫҢ РОЛІ

(KP YFA академигі Н. Б. Ахматуллинамен ұсынылған)

Азотtotығы (NO) организмдегі физиологиялық және патофизиологиялық процестерге тікелей қатысатын маңызды биологиялық медиаторлардың біріне жатады. Сонын ішінде NO нерв клеткаларында нейромедиаторлы қызметте, ойлау және үйқы процестерінде, қанның үюнінда және қан қысымының деңгейін реттеуде, ісік клеткаларының өсүін басуда иммундық жүйе қызметін арттыру және т.с.с. басқа да өмірлік маңызы бар процестерге тікелей қатысады. Бұл мақалада осы NO-ның клеткада түзілуін жылдамдататын (катализдайтін) азот totығы синтаза (NO-синтаза) ферменттін изоформалары, реттелуі, олардың белсенделіліктері және NO-ның маңызды механизмдері туралы мәселелер қарастырылған.

Омыртқалы организмдер клеткаларының жоғары биологиялық белсенделілікке ие NO синтездей алу қабілеті өткен ғасырдың 80-ж. аяғында табылды. Содан бері осы бос радикал NO-ның және оның туындыларының клеткаішілік және клеткааралық механизмдері, физиологиялық және патофизиологиялық процестердегі рөліне байланысты жұмыстар саны күн сайын өсуде [1-3]. Әсіреке азот totығының нерв клеткаларындағы, зат алмасу процестеріндегі және иммундық жүйенің қызметін арттырудығы рөлдері қазіргі кезде үлкен маңызға ие. NO – суда еритін және бірегей физиологиялық қасиеттерге ие түссіз зат. Химиялық құрылымы жағынан NO – бір оттегі және бір азот атомдарынан тұратын, құрамында сынар электроны бар ете кішкентай липофильді молекула [4]. Осы құрылымдық қасиеті оны клеткада биологиялық мембраналардан еркін өтуіне және басқа да қосылыстармен жылдам реакцияға түсіне көмектеседі. NO-ның клеткада өмір сұру уақыты небәрі 5–8 секунд қана. Ары қарай ол азот totығының соңғы өнімдері нитрат және нитриттерге ( $\text{NO}_2^-$  және  $\text{NO}_3^-$ ) айналады [5].

**Азот totығы синтаза ферменті: құрылымы және изоформалары.** Азот totығын клеткада азот totығы синтаза (NO-синтаза) деп аталатын фермент синтездейді. Барлық белгілі NO-синтаза ферменттері негізгі екі топқа бөлінеді. Біріншісі, клеткада барлық уақытта түзіліп отыратын (экспрессияланатын) және белсенделіліктегі кальций иондары ( $\text{Ca}^{+2}$ ) мен кальмодулин (CaM) арқылы реттеліп отыратын конститутивті формалар да, ал, екіншісі, тек цитокиндердің және басқа да әртүрлі лигандтардың әсерінен түзілетін, белсенделілігі клеткадағы  $\text{Ca}^{+2}$  иондары және CaM деңгейіне мүлде тәуелсіз индуцибелді форма [6].

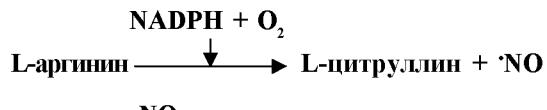
Ферменттің конститутивті формалары азот totығын клеткада әр уақытта аздап болса да

синтездеп отырады және олардың белсенделіліктегі клеткадағы  $\text{Ca}^{+2}$  иондары деңгейінің өсүіне әсер ететін агенттерге байланысты ауытқып отырады. NO-синтаза ферменттің конститутивті формасының «физиологиялық» маңызы өте зор және ол клеткаішілік және клеткааралық реакцияларға тікелей қатысады [7].

NO-синтаза ферменттің индуцибелді формасы өзінің белсенделілігін сыртқы қоздырушылардың әсерінен кейін біраз уақыттан кейін көрсетеді және ол клеткадағы NO-ның деңгейін өсіреді. Клеткада NO-ның көп мөлшері өте улы болғандықтан, ферменттің бұл формасы «патофизиологиялық» деп саналады [8].

Клеткада NO L-аргинин аминқышқылынан NO-синтаза ферменттің және оттегінің қатысында синтезделеді. Қазір жоғары сатыдағы организмдердің әртүрлі клеткаларында өзінің клеткалық ерекшеліктеріне, реттелу механизмдеріне, хромосомадағы локализациясына, гендердің синтезіне жауапты нуклеотидтік тізбегіне және клеткаішілік мембраннымен байланысының болуболмауына байланысты NO-синтаза ферменттің үш түрлі изоформаларын ажыратады. Олар: нейрональды (nNOS), эндотелиальды (eNOS) және индуцибелді (iNOS). Барлық изоформалардың белсенделі формаларының молекулалық массалары 130 (iNOS), 133 (eNOS) және 160 (nNOS) кДа болатын гомодимерлер болып табылады [8].

Клеткада NO-синтаза ферменттің белсенделілігін әртүрлі әдістер арқылы анықтауға болады.



NO және L-цитруллиннан L-аргинин аминқышқылынан NO-синтаза ферменттің қатысында түзілуі [8]

Ол өдістерді тұра және жанама деп екі топқа бөледі. Біріншісі, аргинин аминқышқылын ( $^3\text{H}$  немесе  $^{14}\text{C}$ ) радиоактивті белгілеп, реакция нәтижесінде түзілген цитруллиннің мөлшерін анықтауға негізделген. Сондай-ақ клеткадағы газдың (NO) санын тікелей зерттеу үшін электронды резонанс және электрохимиялық өдістер қолданылады. Жанама өдіске клеткада түзілген NO-ның соңғы өнімдері нитрат және нитриттерді ( $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ ) спектрофотометрдің көмегімен белгілі толқын ұзындығында анықтау жатады. Бұл өдістің нәтижелерінің сапасы өте жоғары сипатка ие [9].

**Азот тотығының әсері және физиологиясы.** NO-синтаза ферменттің өнімі NO молекуласының заряд тасымалдамауы және төменгі молекулалы қасиеті оның клетка мембраналарынан және клеткааралық байланыстардан еркін өтуіне мүмкіндік жасайды. Плазматикалық мембрана арқылы өткен NO тек клеткааралық сигналдарды тасымалдап кана қоймай, сондай-ақ белгілі екіншіреттік мессенджерлер (байланыстырушылар) сияқты клеткаішлік кейбір ферменттерді белсендіреді немесе керісінше, олардың белсенділіктерін басады. Осындай клеткадағы маңызды NO-ның нысанасы (мишени) еритін гуанилатциклаза (eГЦ) болып табылады [10].

NO-ның құрамында сынар электрон болады. Ол жоғары химиялық белсенділікке ие, сондай-ақ көптеген клетка құрылымымен және химиялық компоненттермен жеңіл реакцияласа алады. Оның клеткада биологиялық процестерге жылдам қатыса алатыны да осы қасиетіне байланысты [11].

Эндотелиальды NO-синтаза ферменті көп мөлшерде ең алдымен эндотелиальды клеткаларда шоғырланады. Сондай-ақ оның біршама мөлшерлері тромбоциттерде, афферентті және эфферентті артериолдарда, гломерулаларда, мезенгиальды клеткаларда және т.б. да табылған [12]. Ал нейрональды NO-синтаза ферменті нейрондарда, эндотелиальды клеткаларда миоциттерде, бұлшық ет жүйелерінде, нерв талшықтарында және т.б. көптеп кездесетіндігі анықталған [13].

Индуцибеліді NO-синтаза ферменті клеткада тек олардың бактериалдық эндотоксиндерін және асқынудың кейбір медиаторларын егуден кейінғана пайда болады. Ондай метаболиттерге мысалы, липополисахаридтер, интерлейкин-1, интерлейкин-2, γ-интерферон, ісік некроз факторы

сияқты кейбір эндотоксиндер мен цитокиндер және т.б. жатады [14].

Қалыпты жағдайдағы клеткаларда iNOS ферменттің белсенділігі байқалмайды, ал қоздырудан кейін оның мөлшері макрофагтарда, нейтрофилдерде, мезангия және бұлшық ет клеткаларында, жүректе, ас қорыту, зәр-жыныс жүйелерінде, купфер клеткаларында, гепатоциттерде және т.б. көптеген клеткаларда түзіледі [15].

NO және NO-синтаза ферменттерінің белсенділік механизмдері сүткоректілермен қатар жәндіктерде, соның ішінде бунакденелілерде де зерттелді [16]. Мысалы дрозофилада шыбыны, бал арасы, көбелектер және т.б. [17, 18]. Қазақстанда дрозофилада шыбынында азот тотығының белсенділігін зерттеу жұмыстары 1995 жылдары басталды [19]. Жәндіктерді үлгі жүйе ретінде колданып, азот тотығының және оның клеткада синтезделуін жеделдеттін ферменттің өртүрлі механизмдерін зерттеу Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігі «Жалпы генетика және цитология институты» молекулалық генетика зертханасында КР ҰҒА академигі Р. И. Берсімбаевтың бастамасымен жүргізілді. Зерттеу жұмыстары нәтижесінде алғаш рет дрозофилада шыбынында NO-синтаза ферменттің үлпаарнайылылық қасиеті анықталды. Ал NO клеткалық пролиферация және дифференциация процесстерінің арасында тепе-тендікті бакылай отырып, дрозофиланың даму барысында антипролиферативті агент ретінде қызмет атқаратыны анықталды. Сонымен қатар алғаш рет дрозофилада шыбынында ісіктүзілудің қатерлі және катерсіз типтерімен сипатталатын мутантты линияларына жүргізілген зерттеу нәтижесінде NO-синтаза ферменті мен дрозофиладағы ісіктің дамуы арасында байланыс бар екендігі анықталды [20]. Дрозофиланың ісікті мутантты линияларының дамуында NO-синтаза ферменттің арнағы ингібиторларын колдану ферменттің индуцибеліді формасының ісікті басуда маңызды қызмет атқаратының көрсетті [21]. Арнағы поликлональды және моноклональды антиденелер көмегімен NO-синтаза ферменттің экспрессиясы егукуйрықта да көрсетілді [22]. NO-синтаза ферменттің донорларын үлгі жүйе ретінде колданылған егукуйрықтың ас қорыту жүйесінен бөлініп а-лынған клеткаларда азот тотығының жылу шогы белоктарының арасында да байланыс болатыны да көрсетілді [23].

Азот тотығы синтаза ферментін ары қарай зерттеу алдағы уақытта да биология және медицина салаларында жаңа тұжырымдамалар жасауға және осының негізінде табиғаты әртүрлі ауруларды емдеуге мүмкіндік береді.

*Автор КР БГМ «Жалпы генетика және цитология институты» молекулалық генетика лабораториясының ұжымына алғыс сезімін білдіреді.*

### ӘДЕБІЕТ

1. Nathan C., Xie Q. Nitric oxide sNthases: roles, tolls, and controls // Cell. 1994. V. 78. P. 915-918.
2. Moncada S., Palmer R.M.J., Higgs E.A. Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. A pathway for the regulation of cell function and communication // Biochem. Pharmacol. 1989. V. 8. P. 1709-1715.
3. Горрен А.К.Ф., Майер Б. Универсальная и комплексная энзимология синтазы окиси азота // Биохимия. 1998. Т. 63. С. 870-880.
4. Lowenstein C.J., Dinnerman J.L., Snyder S.H. Nitric oxide: a physiologic messengers // Ann. Intern. Med. 1994. V. 120. P. 227-237.
5. Cho K.B., Gauld J.W. Second half-reaction of nitric oxide synthase: computational insights into the initial step and key proposed intermediate // J. Phys. Chem. 2005. V. 109. P. 23706-23714.
6. Murad F. Discovery of some of the biological effects of nitric oxide and its role in cell signaling // Biosci. Rep. 1999. V. 19. P. 133-154.
7. Zhou L., Zhu D.Y. Neuronal nitric oxide synthase: structure, subcellular localization, regulation, and clinical implications // Nitric Oxide. 2009. V. 4. P. 223-230.
8. Knowles R.G., Moncada S. Nitric oxide synthases in mammals // Biochem. J. 1994. V. 298. P. 249-258.
9. Виноградов Н.А., Журавлева И.А. и др. Метод определения оксида азота в моче // Российский кардиологический журнал. 2003. № 2. С. 63-65.
10. Ahanchi S.S., Tsihlis N.D., Kibbe M.R. The role of nitric oxide in the pathophysiology of intimal hyperplasia // J. Vasc. Surg. 2007. V. 45. P. A64-A73.
11. Snyder S.H., Bredt D.S. Nitric oxide as a neuronal messenger // Trends. Pharmacol. Sci. 1991. V. 12. P. 125-128.
12. Dudzinski D.M., Michel T. Life history of eNOS: partners and pathways // Cardiovasc. Res. 2007. V. 15. P. 247-260.
13. Casadei B. The emerging role of neuronal nitric oxide synthase in the regulation of myocardial function // Exp. Physiol. 2006. V. 91. P. 943-955.
14. Fitzpatrick B., Mehibel M., Cowen R.L. et all. iNOS as a therapeutic target for treatment of human tumors // Nitric Oxide. 2008. V. 19. P. 217-224.
15. Kleinert H., Schwarz P.M., Forstermann U. Regulation of the expression of inducible nitric oxide synthase // Biol. Chem. 2003. V. 384. P. 1343-1364.
16. Muller U. The nitric oxide system in insects // Prog. Neurobiol. 1997. V. 51. P. 363-381.
17. Ray S.S., Tejero J., Wang Z.Q., et all. Oxygenase domain of *Drosophila melanogaster* nitric oxide synthase: unique kinetic parameters enable a more efficient NO release // Biochemistry. 2007. V. 46. P. 11857-11864.
18. Watanabe T., Kikuchi M., Hatakeyama D., et all. Gaseous neuromodulator-related genes expressed in the brain of honeybee *Apis mellifera* // Dev. Neurobiol. 2007. V. 67. P. 456-473.
19. Bekmanov B.O., Bersimbaev R.I., Djansugurova L.B. The role of Nitric oxide synthase in development of unstable mutant strains of *Drosophila melanogaster* // Доклады АН РК. 1999. № 4. С. 80-86.
20. Бекманов Б.О., Берсімбаев Р.І. Азот тотығы синтаза ферменттің активтілігін дрозофиланың әртүрлі линияларында зерттеу // Вестник КазГУ. Сер. биол. 2001. № 2(14). С. 23-29.
21. Джансугрова Л.Б., Бекманов Б.О., Берсімбаев Р.І. Роль различной изоформы синтазы окиси азота в развитии опухолевых мутантов *Drosophila melanogaster* // Онтогенез. 2003. Т. 34, № 4. С. 254-262.
22. Yugai Y.E., Bersimbaev R.I., Hanson P.J. Effect of nitric oxide donors on the induction of the potentially protective proteins HSP 72 and HO-1 (HSP 32) in isolated rat gastric mucous cells // Изв. МОН РК, НАН РК. Сер. биол. и мед. 2000. № 2. С. 89-93.
23. Bersimbaev R.I., Yugai Y.E., Hanson P.J. Effect of incubation of rat gastric mucosal cells with NO donors on the presence of HSP 72 and HO-1 // 6<sup>th</sup> IUBMB Seoul Conference «Life Science for the next Millennium». Seoul. Korea, 1999. P. 72.

### Резюме

Оксид азота (NO) является основным биологическим медиатором, который участвует в организме физиологических и патофизиологических процессах. NO, производимый клетками эндотелия сосудов, отвечает за расслабление гладких мышц сосудов и их расширение (вазодилатацию), предотвращает агрегацию тромбоцитов и адгезию нейтрофилов к эндотелию, участвует в различных процессах в нервной, репродуктивной и иммунной системах. NO также обладает цитотоксическими и цитостатическими свойствами. Клетки-киллеры иммунной системы используют оксид азота для уничтожения бактерий и клеток злокачественных опухолей. В этой статье описывается характеристики, регуляции ферментов синтазы окиси азота (NO-синтаза).

### Summary

Nitric oxide (NO) is a basic biological mediator, which participates in wide range of physiological and pathophysiological processes. NO, generated by endothelial cells, is responsible for smooth muscles relaxation, prevents trombocytes aggregation and adhesion of neutrophils to endothelium, participates in various processes in nervous, reproductive and immune systems. Nitric oxide also demonstrates cytotoxic and cytostatic characteristics. Natural killer cells of immune system use nitric oxide to destroy bacteria and malignant tumor cells. In the given article characteristics and regulations of ferment of nitric oxide synthesis are described.

УДК 577.1

КР БГМ ФК «Жалпы генетика және цитология институты», Алматы қ.

02.09.10 ж. түсті