

УДК 615.272:616.2

АБАТУРОВ А.Е.<sup>1</sup>, ВОЛОСОВЕЦ А.П.<sup>2</sup>, ХУДЯКОВ А.Е.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГУ «Днепропетровская медицинская академия Министерства здравоохранения Украины»

<sup>2</sup>Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, г. Киев

## МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ АКТИВИРОВАННЫХ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ МЕТАБОЛИТОВ В РЕСПИРАТОРНОМ ТРАКТЕ. Провоспалительное действие (часть 2)

**Резюме.** В обзоре литературы изложены современные данные об антибактериальном и противовирусном действии монооксида азота. Подробно рассмотрены бактерицидное действие монооксида азота в фагосоме, участие монооксида азота в развитии гриппозной инфекции. Представлено значение деятельности индуцибельной изоформы нитрооксидсинтазы при инфекционных заболеваниях, вызванных различными возбудителями. Показано участие альвеолярных макрофагов в образовании пероксинитрита, влияние монооксида азота на дренажную функцию респираторного тракта, бронходилатирующее и бронхопротекторное действие монооксида азота.

**Ключевые слова:** активированные азотсодержащие метаболиты, легкие, провоспалительное действие.

### Введение

Монооксид азота (NO) продуцируется в респираторном тракте нитрооксидсинтазами (NOS) эпителиоцитов, эндотелиоцитов, провоспалительных клеток иммунной системы и участвует в регуляции множества процессов, имеющих важное значение в развитии патологии легких. NO обладает бактерицидными и противовирусными свойствами, регулирует тонус бронхиального дерева, сосудов, подвижность ресничек реснитчатого эпителия бронхов [2, 23].

### Антибактериальное и противовирусное действие монооксида азота

В настоящее время доказано, что усиленная активность индуцибельной изоформы нитрооксидсинтазы (iNOS) является мощным компонентом системы защиты респираторного тракта организма. В 1994 году было установлено, что iNOS высоко экспрессируется при инфекционно-воспалительных заболеваниях [13, 14]. Несмотря на очевидную саногенетическую значимость увеличения концентрации NO в местах внедрения инфекционного агента, механизмы, с помощью которых NO выполняет защитные функции, остаются недостаточно определенными. Потенциальным механизмом действия

NO является прямой бактерицидный эффект реакции NO с ионами железа или тиоловыми группами протеинов. Формирование железо-нитрозильных комплексов инактивирует целевые протеины, в частности, ферменты, играющие ключевую роль в митохондриальном дыхании или репликации ДНК [26, 27].

Полагают, что в противоинфекционной защите респираторного тракта ведущую роль играет индуцибельно-продуцируемый NO. Время транскрипционных процессов индуцибельно-продуцируемого NO составляет 6–8 часов после воздействия внешнего или внутреннего стимула. Мощность генерации NO iNOS превышает в 1000 и более раз мощность конститутивных нитрооксидсинтаз (cNOS) [5]. Однако показано, что снижение активности NOS в респираторном тракте, характерное для муковисцидоза, может быть причиной хрониче-

Адрес для переписки с авторами:  
Абатуров Александр Евгеньевич  
E-mail: alexabaturov@i.ua

© Абатуров А.Е., Волосовец А.П., Худяков А.Е., 2016

© «Здоровье ребенка», 2016

© Заславский А.Ю., 2016

зации воспалительного процесса, вызванного бактериальной или грибковой инфекцией, в частности *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus fumigatus* [28]. NO ингибирует рост бактерий, грибов, паразитов и подавляет репликацию вирусов [6, 13]. Продemonстрировано, что экспериментальная пневмония, вызванная *K.pneumoniae*, в условиях блокирования генерации NO протекает значительно тяжелее и с более высоким уровнем летальности [10].

Механизм бактерицидного действия NO остается недостаточно изученным. Показано, что NO, прямо вступая в реакцию с железо- и тиолсодержащими регионами молекул ферментов, которые участвуют в митохондриальном дыхании, репликации ДНК инфекционных агентов, проявляет прямое бактерицидное действие. NO ингибирует многие вирусные протеиназы и факторы транскрипции, необходимые для вирусной репликации [16], а также усиливает противовирусный эффект IFN- $\gamma$  [23].

Влияние активированных кислородсодержащих метаболитов (АКМ) на инфекционные агенты также связано со скоростью их взаимодействия с активированными азотсодержащими метаболитами (ААМ), которое приводит к образованию ONOO<sup>-</sup> [6, 11, 19].

В настоящее время представлено новое понимание синергизма действия активных радикалов кислорода и азота в неспецифической защите организма [6]. Согласно данным современных исследований продукция АКМ и ААМ является важнейшим признаком активации фагоцитирующих клеток — макрофагов, нейтрофилов и моноцитов. Генерация NO и O<sub>2</sub><sup>-</sup> происходит практически в эквимольном количестве. Баланс в уровне и темпах генерации NO и O<sub>2</sub><sup>-</sup> при развитии окислительного взрыва имеет решающее значение в формировании аддитивного результата их совместного влияния. Одновременная продукция макрофагами и эпителиоцитами практически в эквимольном соотношении супероксидного аниона радикала и NO приводит к образованию пероксинитрита ONOO<sup>-</sup>, более токсичного, чем NO для большинства бактериальных, вирусных [16, 22] и грибковых инфекционных агентов [24].

Показано, что комбинированный дефицит iNOS и gp91<sup>phox</sup> компонента НАДФН-оксидазы, ответственной за генерацию супероксидного радикала аниона O<sub>2</sub><sup>-</sup>, приводит к быстрому развитию бактериальной инфекции с предопределенным, практически неизбежным летальным исходом. Уровень продукции индуцибельного NO, генерируемого альвеолярными макрофагами при развитии ответа на воздействие патоген-ассоциированного молекулярного паттерна (PAMP) инфекционных агентов, намного ниже, чем необходимо для обеспечения бактериального киллинга, в то время как концентрация ONOO<sup>-</sup> в среде микроокружения достигает 500 мкмоль/л и является достаточной для проявления бактерицидного эффекта [12]. Пероксинитрит взаимодействует с белками капсулы вирусов, ингибируя проникновение вирусов в клетку [22].

Пероксинитрит как фактор с выраженным бактерицидным свойством образуется при одновременной генерации NO и O<sub>2</sub><sup>-</sup> альвеолярными макрофагами. Внеклеточная супероксиддисмутаза (ECSOD) в высоких концентрациях не оказывает существенного влияния на восстановление пероксинитрита и способствует нитрованию тирозиновых остатков. По всей вероятности, ECSOD не может конкурировать с NO за взаимодействие с O<sub>2</sub><sup>-</sup>, так как супероксид анион радикал генерируется на мембране клетки, а монооксид азота диффундирует через мембрану, и потому их взаимодействие происходит в таком регионе примембранного пространства, который не доступен для ECSOD (рис. 1) [20].

Показано, что NO и пероксинитрит оказывают выраженное бактерицидное действие на *Streptococcus group B* [9], *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia*, *Leishmania*, *Mycobacterium tuberculosis* [6, 8]. Однако некоторые микроорганизмы высокоустойчивы к бактерицидному действию NO. Также показано, что NO при некоторых острых респираторных вирусных заболеваниях, например, при гриппе, способствует более тяжелому течению заболевания (табл. 1) [1].

Особую бактерицидную роль NO играет в фагосоме. Уровень концентрации NO в фагосомах зависит от наличия конкретных изоформ NOS и степени активности NOS. В фагосоме продукция NO сочетается с генерацией супероксида аниона радикала, в результате чего в кислой среде внутреннего пространства фагосомы наблюдается образование динитрогена триоксида (N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) и нитрит-аниона (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), обладающих мощным бактерицидным действием (рис. 2) [15].

A. Vazquez-Torres и соавт. [3, 28] считают, что бактериальный киллинг начинают АКМ, а NO осуществляет последующее, отсроченное во времени ингибирование роста бактериальных колоний.

Во время вирусной инфекции, как и при бактериальных инфекциях респираторного тракта за счет стимуляции PAMP и цитокинами (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-1) NO генерируется iNOS эпителиоцитов и фа-

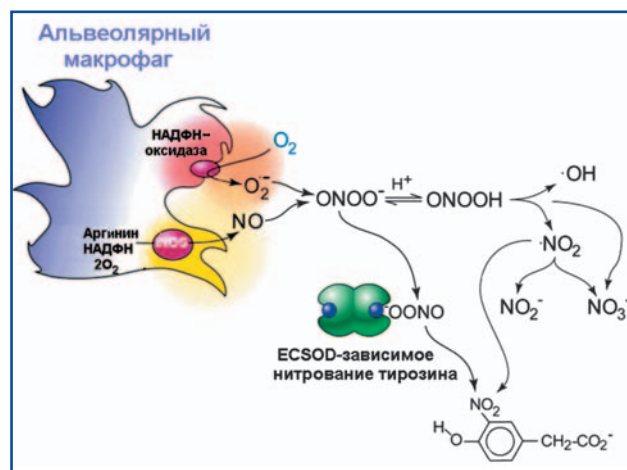


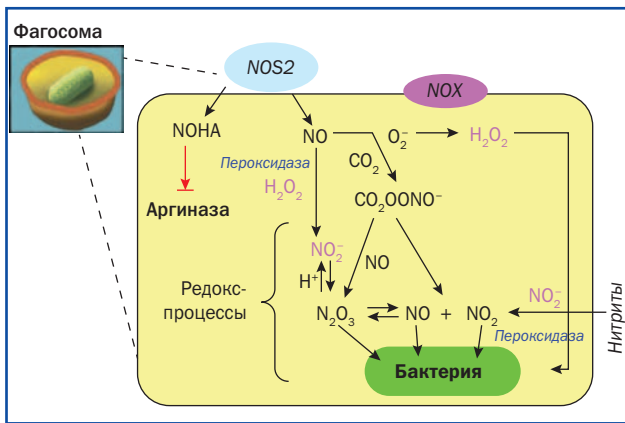
Рисунок 1. Участие альвеолярных макрофагов в образовании пероксинитрита [20]

гоцитирующих клеток иммунной системы. Считают, что основными индукторами экспрессии iNOS при вирусной инфекции являются IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$  [1, 7]. Несмотря на выраженную противовирусную активность NO, избыточная продукция монооксида азота может способствовать развитию вирус-ассоциированного поражения легочной ткани. Так, при гриппозной инфекции у экспериментальных мышей экспрессия iNOS в бронхиальных эпителиальных клетках и альвеолярных макрофагах коррелирует с выраженностью воспалительной инфильтрации, альвеолярного экссудативного процесса и разрушения архитектуры легочной ткани. Ингибция продукции NO при помощи терапии L-NMMA у мышей, инфицированных вирусом гриппа, приводит к значительному повышению уровня выживаемости [30]. По всей вероятности, усиление лизиса зараженных клеток, ассоциируемое с действием NO, при острых респираторных вирусных инфекциях является зако-

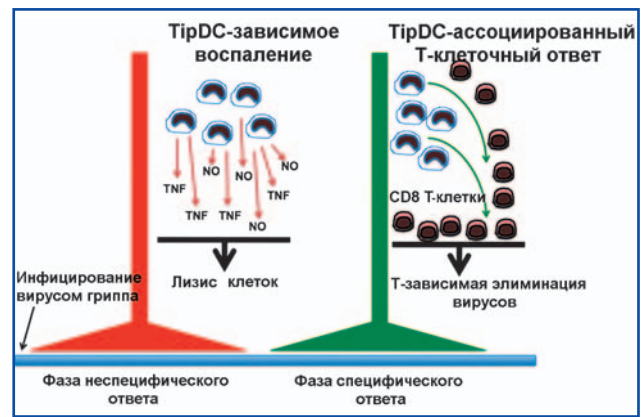
номерным процессом, который повышает уровень элиминации вирусных агентов. В начале заболевания NO-продуцирующие иммунциты участвуют в лизисе зараженных клеток, а в последующем — в реализации адаптивного иммунного ответа. Так, было установлено, что при реализации воспалительного процесса у экспериментальных мышей, инфицированных вирусом гриппа, рекрутирование TNF- и iNOS-продуцирующих дендритных клеток (TipDC) коррелирует с вирулентностью вирусного штамма. Рекрутирование TipDC повышает эффективность элиминации вирусов как на ранних, увеличивая NO-зависимый лизис зараженных клеток, так и на поздних стадиях заболевания, увеличивая активность вирус-специфических Т-клеток (рис. 3) [21].

**Бронходилатирующее действие NO**

Действие NO приводит к умеренному расслаблению гладких мышц преимущественно крупных



**Рисунок 2. Бактерицидное действие NO в фагосоме [15]**



**Рисунок 3. Участие NO-продуцирующих клеток в развитии гриппозной инфекции [21]**

**Таблица 1. Значение деятельности iNOS при инфекционных заболеваниях, вызванных различными возбудителями [4]**

Роль iNOS	Вирусы	Бактерии	Простейшие
Рестриктирует жизнедеятельность возбудителя	Вирус Коксаки В3 (миокардит), вирус Коксаки В3 (панкреатит), вирус Коксаки В4	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Leishmania donovani</i> , <i>T. cruzi</i> (Y штамм), <i>Leishmania major</i> , <i>Trypanosoma cruzi</i> (Tulahuen штамм)
Несущественно ограничивает жизнедеятельность возбудителя	Вирус лимфоцитарного хориоменингита, вирус Сендай	<i>Borrelia burgdorferi</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Helicobacter pylori</i> , <i>Legionella pneumophila</i> , <i>Mycobacterium leprae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Shigella flexneri</i> , <i>Streptococcus pneumonia</i>	<i>Eimeria vermiformis</i> , <i>Plasmodium berghei</i> , <i>Plasmodium chabaudi</i> , <i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i>
Контрибутивно контролирует возбудитель	Вирус гепатита В	<i>Chlamydia pneumoniae</i> , <i>C. trachomatis</i> (селезенка, легкие), <i>Human granulocytic ehrlichiosis agent</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> (печень, селезенка), <i>L. monocytogenes</i> (центральная нервная система), <i>Mycoplasma pulmonis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptosporidium parvum</i> , <i>Entamoeba histolytica</i> , <i>Toxoplasma gondii</i> (центральная нервная система)
Утяжеляет течение заболевания	Вирус гриппа	<i>Mycobacterium avium</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>T. gondii</i> (кишечник), <i>Trypanosoma brucei</i> (GUTat), <i>T. cruzi</i> (бразильский штамм)



бронхов. В основе данного механизма действия лежит непосредственное взаимодействие NO с сГЦ, которое обуславливает индукцию синтеза цГМФ. Мощным бронходилатирующим действием, не зависимым от цГМФ пути, обладают образующиеся при нитрозилировании нитрозотиолы [23].

### Бронхопротекторное действие NO

Показано, что дефицит активности сNOS сопряжен с развитием гиперчувствительности бронхиального дерева [17, 23]. При низком уровне NO способствует восстановлению экстрацеллюлярного матрикса, индуцируя простагландин E<sub>2</sub>-зависимый синтез коллагена, и активно участвует в процессах репарации слизистой оболочки респираторного тракта [25, 29].

### Влияние NO на дренажную функцию респираторного тракта

Активные радикалы азота увеличивают продукцию муцина и эпителиальной слизи, усиливая активность подслизистых желез, ускоряют движения ресничек реснитчатого эпителия. NO индуцирует активность апикальных анионных и базолатеральных калиевых каналов эпителиоцитов, способствуя механической элиминации инфекционных агентов [17, 23].

### Список литературы

1. Akaike T. Nitric oxide and virus infection / T. Akaike, H. Maeda // *Immunology*. — 2000. — Vol. 101, № 3. — P. 300-308. — PMID: 11106932.
2. Allain A. Role of nitric oxide in developmental biology in plants, bacteria, and man / A. Allain, V.T. Hoang, G.F. Lasker et al. // *Curr. Top. Pharmacol.* — 2011. — № 15(2). — P. 25-33. — PMID: 24563585.
3. Antimicrobial actions of the NADPH phagocyte oxidase and inducible nitric oxide synthase in experimental salmonellosis. I. Effects on microbial killing by activated peritoneal macrophages in vitro / A. Vazquez-Torres, J. Jones-Carson, P. Mastroeni et al. // *J. Exp. Med.* — 2000. — Vol. 192. — P. 227-236. — PMID: 10899909.
4. Bogdan C. Nitric oxide and the immune response // *Nat. Immunol.* — 2001. — Vol. 2, № 10. — P. 907-916. — PMID: 11577346.
5. Cuzzocrea S. Effect of inhibitors of nitric oxide in animal models and future directions for therapy in inflammatory disorders // *Current. Med. Chem. Anti-inflammatory & Anti-allergy agent.* — 2004. — Vol. 3. — P. 261-270. — Doi: 10.2174/1568014043355302.
6. Fang F.C. Antimicrobial reactive oxygen and nitrogen species: concepts and controversies // *Nat. Rev. Microbiol.* — 2004. — Vol. 2. — P. 820-832. — PMID: 15378046.
7. Fatal outcome of pandemic H1N1 2009 influenza virus infection is associated with immunopathology and impaired lung repair, not enhanced viral burden, in pregnant mice / G. Marcelin, J.R. Aldridge, S. Duan et al. // *J. Virol.* — 2011. — Vol. 85, № 21. — P. 11208-11219. — Doi: 10.1128/JVI.00654-11. Epub 2011 Aug 24.
8. Flannagan R.S. Antimicrobial mechanisms of phagocytes and bacterial evasion strategies / R.S. Flannagan, G. Cosío, S. Grinstein // *Nat. Rev. Microbiol.* — 2009. — Vol. 7, № 5. — P. 355-366. — Doi: 10.1038/nrmicro2128.
9. Goodrum K.J. Cytokine Responses to Group B Streptococci Induce Nitric Oxide Production in Respiratory Epithelial Cells / K.J. Goodrum, J. Poulson-Dunlap // *Infect. Immun.* — 2002. — Vol. 70, № 1. — P. 49-54. — PMID: 11748162.
10. IL-22 mediates mucosal host defense against Gram-negative bacterial pneumonia / S.J. Aujla, Y.R. Chan, M. Zheng et al. // *Nat. Med.* — 2008. — Vol. 14, № 3. — P. 275-281. — Doi: 10.1038/nm1710. Epub 2008 Feb 10.

11. Li H. Physiological mechanisms regulating the expression of endothelial-type NO synthase / H. Li, T. Wallerath, U. Forstermann // *Nitric. Oxide*. — 2002. — Vol. 7. — P. 132-147. — PMID: 12223183.

12. Mannick J.B. Immunoregulatory and antimicrobial effects of nitrogen oxides // *Proc. Am. Thorac Soc.* — 2006. — Vol. 3, № 2. — P. 161-165. — PMID: 16565425.

13. Mehta D.R. The nitric oxide pathway provides innate antiviral protection in conjunction with the type I interferon pathway in fibroblasts / D.R. Mehta, A.A. Ashkar, K.L. Mossman // *PLoS One*. — 2012. — Vol. 7, № 2. — P. e31688. — Doi: 10.1371/journal.pone.0031688. Epub 2012 Feb 21.

14. Nathan C. Nitric oxide synthases: roles, tolls, and controls / C. Nathan, Q.W. Xie // *Cell*. — 1994. — Vol. 78, № 6. — P. 915-918. — PMID: 7522969.

15. Nitric oxide and redox mechanisms in the immune response / D.A. Wink, H.B. Hines, R.Y. Cheng et al. // *J. Leukoc. Biol.* — 2011. — Vol. 89, № 6. — P. 873-691. — Doi: 10.1189/jlb.1010550. Epub 2011 Jan 13.

16. Nitric oxide inhibits the adenovirus proteinase in vitro and viral infectivity in vivo / W. Cao, M.L. Baniecki, W.J. McGrath et al. // *FASEB J.* — 2003. — Vol. 17. — P. 2345-2346. — PMID: 14525937.

17. Nitric Oxide in Health and Disease of the Respiratory System / F.L.M. Ricciardolo, P.J. Sterk, B. Gaston, G. Folkerts // *Physiol. Rev.* — 2004. — Vol. 84, № 3. — P. 731-765. — PMID: 15269335.

18. Nitric oxide synthase 1 as a potential modifier gene of decline in lung function in patients with cystic fibrosis / J. Texereau, S. Marullo, D. Hubert et al. // *Thorax*. — 2004. — Vol. 59. — P. 156-158. — PMID: 14760158.

19. Oxidant-Antioxidant Balance in Acute Lung Injury / J.D. Lang, P.J. McArdle, P.J. O'Reilly, S. Matalon // *Chest*. — 2002. — Vol. 122. — P. 314S-320S. — PMID: 12475808.

20. Pacher P. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease / P. Pacher, J.S. Beckman, L. Liaudet // *Physiol. Rev.* — 2007. — Vol. 87, № 1. — P. 315-424. — PMID: 17237348.

21. Pamer E.G. Tipping the balance in favor of protective immunity during influenza virus infection // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 2009. — Vol. 106, № 13. — P. 4961-4962. — Doi: 10.1073/pnas.0901574106. Epub 2009 Mar 25.

22. Peroxynitrite inhibition of coxsackievirus infection by prevention of viral RNA entry / E. Padalko, T. Ohnishi, K. Matsushita et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 2004. — Vol. 101. — P. 11731-11736. — PMID: 15286280.

23. Ricciardolo F.L.M. Multiple roles of nitric oxide in the airways // *Thorax*. — 2003. — Vol. 58. — P. 175-182. — PMID: 12554905.

24. Stamler J.S. Nitrosylation; the prototypic redox-based signaling mechanism / J.S. Stamler, S. Lamas, F.C. Fang // *Cell*. — 2001. — Vol. 106. — P. 675-683. — PMID: 11572774.

25. The role of iNOS in wound healing / H.P. Shi, D. Most, D.T. Efron et al. // *Surgery*. — 2001. — Vol. 130. — P. 225-229. — PMID: 11490353.

26. The role of nitric oxide in inflammatory reactions / P. Tripathi, P. Tripathi, L. Kashyap, V. Singh // *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* — 2007. — Vol. 51, № 3. — P. 443-452. — PMID: 17903207.

27. Tripathi P. Nitric oxide and immune response // *Indian. J. Biochem. Biophys.* — 2007. — Vol. 44, № 5. — P. 310-319. — PMID: 18341206.

28. Vazquez-Torres A. Oxygen-dependent anti-Salmonella activity of macrophages / A. Vazquez-Torres, F.C. Fang // *Trends Microbiol.* — 2001. — Vol. 9. — P. 29-33. — PMID: 11166240.

29. Wong S. H. Caspases and nitric oxide broadly regulate dendritic cell maturation and surface expression of class II MHC proteins / S.H. Wong, L. Santambrogio, J.L. Strominger // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 2004. — Vol. 101, № 51. — P. 17783-17788. — PMID: 15598739.

30. Zaki M.H. Nitric oxide-induced nitrate stress involved in microbial pathogenesis / M.H. Zaki, T. Akuta, T. Akaike // *J. Pharmacol. Sci.* — 2005. — Vol. 98, № 2. — P. 117-129. — PMID: 15937405.

Получено 04.02.16 ■

Абатуров О.Є.<sup>1</sup>, Волосовець О.П.<sup>2</sup>, Худяков О.Є.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ДЗ «Дніпропетровська медична академія  
Міністерства охорони здоров'я України»

<sup>2</sup>Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця,  
м. Київ

**МЕХАНІЗМ ДІЇ АКТИВОВАНИХ АЗОТУМІСНИХ  
МЕТАБОЛІТІВ У РЕСПІРАТОРНОМУ ТРАКТІ.  
Прозапальна дія (частина 2)**

**Резюме.** В огляді літератури висвітлені сучасні дані щодо антибактеріальної та протівірусної дії монооксиду азоту. Докладно розглянуто бактерицидну дію монооксиду азоту в фагосомі, участь монооксиду азоту в розвитку грипозної інфекції. Наведено значення діяльності індукцйбельної ізоформи нітрооксидсинтетази при інфекційних захворюваннях, викликаних різними збудниками. Показано участь альвеолярних макрофагів у синтезі пероксинітриду, вплив монооксиду азоту на дренажну функцію респіраторного тракту, бронходилатуючу та бронхопротекторну дію монооксиду азоту.

**Ключові слова:** активовані азотумісні метаболіти, легені, прозапальна дія.

Abaturov O.Ye.<sup>1</sup>, Volosovets O.P.<sup>2</sup>, Khudiakov O.Ye.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>State Institution «Dnipropetrovsk Medical Academy  
of Ministry of Healthcare of Ukraine», Dnipropetrovsk

<sup>2</sup>National Medical University named after O.O. Bohomolets,  
Kyiv, Ukraine

**THE MECHANISM OF ACTION OF THE ACTIVATED  
NITROGEN-CONTAINING METABOLITES  
IN THE RESPIRATORY TRACT.  
Proinflammatory Effect (Part 2)**

**Summary.** The review of literature presents modern data about antibacterial and antiviral effect of nitrogen monoxide. Bactericidal action of nitric monoxide in the phagosome, involvement of nitrogen monoxide in the development of influenza infection are considered in detail. The value of activity of inducible isoform of nitrogen oxide synthetase in infectious diseases caused by various pathogens is presented. The participation of alveolar macrophages in the formation of peroxyne nitrite, the effect of nitric monoxide on the drainage function of the respiratory tract, bronchodilatory and bronchoprotective action of nitrogen monoxide are shown.

**Key words:** activated nitrogen-containing metabolites, lungs, proinflammatory effect.