

# МЕХАНИЗМЫ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОГО И ТОКСИЧЕСКОГО ВЛИЯНИЯ АЗОТА ОКСИДА

О.Я. Бабак, Н.В. Ярмыш, Г.Ю. Панченко

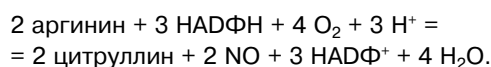
Институт терапии имени Л.Т. Малой АМН Украины, Харьков  
Харьковский государственный медицинский университет

**Ключевые слова:** оксид азота, индуцибельная NO-синтаза, гепатоциты, цирроз печени.

Азота окись (NO) является мощным полифункциональным биологическим посредником во всех органах и тканях человека и животных. NO инициирует функции развития и множество защитных и гомеостатических механизмов путем непосредственного прямого воздействия или активации внутриклеточной сигнализации. 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-потенциала клеток и тканей [30].

Образование NO в организме человека и животных происходит в результате ферментативного пяти-электронного окисления L-аргинина под действием цитохром P450-подобных гемопротеинов — NO-синтаз (NOS). Различают три изоформы данного фермента: эндотелиальная NOS (eNOS; NOS3); нейрональная NOS (nNOS; NOS1); индуцибельная NOS (iNOS; NOS2). Для работы NOS необходимы следующие субстраты: кислород ( $O_2$  — источник супероксидного аниона, включающегося в гуанидиновую группу L-аргинина); тетрагидробиоптерин ( $BH_4$  — кофактор фермента) и L-аргинин (субстрат).

Полное уравнение NOS-катализируемой реакции имеет вид:



NO — короткоживущая молекула. В дальнейшем она подвергается самопроизвольному окислению в инертные метаболиты — нитриты и нитраты ( $NO_2^-$  и  $NO_3^-$ ).

В условиях дефицита кислорода может активироваться нитритредуктазный механизм синтеза NO, связанный с восстановлением ионов  $NO_2^-$  в азота оксид. NO-синтазный механизм обеспечивает эндогенный синтез NO, ионов  $NO_2^-$  и  $NO_3^-$ , а высокая активность нитритредуктазных систем создает условия для функционирования замкнутого цикла, названного циклом азота оксида [5] (рис. 1).

Одна из изоформ NOS — индуцибельная (iNOS) — была обнаружена в эндотелиальных клетках, клетках сосудов гладких мышц, макрофагах, полиморфно-ядерных лимфоцитах (ПМЯЛ), хондроцитах, синовиальных фибробластах. Данная изоформа и образующий ею NO играют важную роль в развитии артериальной гипертензии, нарушении процессов перекис-

ного окисления липидов (ПОЛ), развитии и прогрессировании патологических процессов [2, 3, 21].

Количество NO в клетках, в которых активируется iNOS, на несколько порядков выше, чем в клетках, продуцирующих NO посредством nNOS. iNOS появляется после индукции этих клеток бактериальными эндотоксинами и некоторыми медиаторами воспаления. Наиболее изученными бактериальными индукторами iNOS являются интерферон (ИФН), фактор некроза опухоли (ФНО), интерлейкин (ИЛ)-1, липополисахариды (ЛПС)/эндотоксин. Показано, что образование NO макрофагами стимулируется бактериальными ЛПС, а также лимфокинами Т-хелперных лимфоцитов типа 1 — ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-2, ИФН- $\gamma$  (но не интерфероном  $\beta$ ) или его комбинацией с ФНО- $\alpha$  и ФНО- $\beta$ . Если генерация супероксид радикала ( $O_2^-$ ) и перекиси водорода ( $H_2O_2$ ) происходила через несколько минут после стимуляции макрофагов, то синтез NO возростал через часы и ему предшествовал синтез мРНК NOS. После стимуляции мышинных макрофагов ИФН- $\gamma$  в смеси с ЛПС максимум синтеза NO наблюдается через 12 ч. Спустя 72 ч наработка NO снижалась до начального уровня. Повторная активация связана с синтезом мРНК NOS [9, 38]. К факторам, индуцирующим экспрессию iNOS, относятся: простагландины; активаторы протеинкиназы C (форболовые эфиры, ионофор ионов  $Ca^{2+}$  — A23187); дексаметазон и гидрокортизон; S-нитрозо-N-ацетил-DL-феницилламин (SNAP — донор NO); фактор роста гепатоцитов (HGF); эпидермальный фактор роста (EGF) и трансформирующий фактор роста бета (TGF- $\beta$ ) [44].

Разные цитокины воздействуют на различные стадии процесса, приводящего к индукции NOS. Воспалительные цитокины могут действовать как триггеры, переключающие синтез NO с конститутивного на индуцибельный: ЛПС и ИФН- $\gamma$  дозо- и времязависимо ингибируют продукцию NO под действием nNOS,

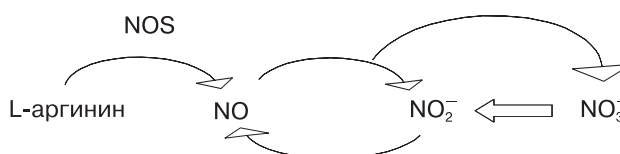


Рис. 1. Схема цикла азота оксида в организме млекопитающих [5]

одновременно вызывая классическую индукцию NOS II типа в клетках линии сосудистого эндотелия мыши, которые экспрессируют оба фермента [43].

Процесс регуляции iNOS представлен довольно сложным механизмом, который включает несколько уровней регуляции экспрессии гена, а именно: сигнальную трансдукцию, транскрипцию, трансляцию, посттрансляционные модификации и наличие кофактора.

Значительное влияние азота оксида проявляется на печень, которая играет центральную роль во многих метаболических и иммунных процессах [1]. Функции печени зависят от сложных взаимодействий гетерогенных субпопуляций ее клеток. В печени различают: истинные печеночные паренхимальные клетки (гепатоциты), сосудистые эндотелиальные клетки, остаточные печеночные макрофаги (купферовские клетки), клетки желчных протоков и клетки, запасающие жиры (звездчатые или клетки Ито). Каждый тип клеток контролирует определенный физиологический ответ. По происхождению купферовские клетки принадлежат к линейарным моноцитам и составляют 80—90% тканевых макрофагов в организме. Их местоположение определяется эндотелиальными клетками [21]. Анатомически в печени выделяют 8 сегментов, которые состоят из структурных единиц, расположенных вокруг печеночной сосудистой системы, в то же время, с физиологической точки зрения, она организована в функциональные единицы (дольки), состоящие из паренхиматозных клеток и соседних с ними купферовских клеток, которые определяют взаимодействия «клетка — клетка» [1, 9, 20]. В печени NO образуется под действием eNOS и iNOS, и это определяет большое количество физиологических и патологических реакций, в которые вовлечен этот орган. В то же время, как азота оксид, образующийся под действием eNOS, проявляет в основном защитные функции в печени в связи с регуляцией тока крови и взаимодействием клеток, NO, синтезированный под действием iNOS, может проявлять и защитные, и повреждающие эффекты на гомеостаз печени [1]. На экспериментальных моделях показано, что гепатоциты человека, подобно печеночным клеткам грызунов, образуют iNOS в ответ на воспалительные цитокины [21]. Иммуногистохимическими методами показано, что изоформа eNOS определяется в эндотелии артерий печени, терминальных печеночных венах, синусоидах и в эпителии желчных протоков. Экспрессия iNOS наблюдается в

перипортальной области с уменьшением интенсивности по направлению к перивенозным областям печеночных протоков. Клетки печени могут быть подвергнуты действию NO, генерируемого соседними купферовскими клетками, эндотелиальными клетками и клетками Ито, а также влиянию аутоэндогенного NO. Показано, что экспрессия iNOS наблюдается и при физиологических условиях в печени и, возможно, посредством этого механизма гепатоциты контролируют степень апоптоза [24].

По сравнению с другими органами, которые экспрессируют iNOS, печень уникальна тем, что включает сложный цикл мочевины и фермент фенилаланин — гидроксилазу, которая конкурирует с iNOS за кофактор тетрагидриобиптерин (BH<sub>4</sub>) [1; 28]. В цикле мочевины синтезируется аргинин из аммиака и орнитина. Неизвестно, где происходит «утечка» этой аминокислоты из цикла мочевины, которая впоследствии превращается в субстрат для iNOS гепатоцитов. В отсутствие аргинина продукция NO в печени продолжает образовываться, так как в гепатоцитах содержатся эндогенные источники данной аминокислоты [14].

Регуляция активности iNOS происходит уже на уровне ДНК. Клонированная ДНК (сДНК) iNOS была выделена из клеток мышей, крыс и человека [44]. Последовательность iNOS гепатоцитов человека составляет 4145 тысяч нуклеотидных пар сДНК, кодирующих полипептид из 1153 аминокислот с молекулярной массой 131 кДа. На нуклеотидном и аминокислотном уровнях iNOS человека на 80% идентична макрофагальной iNOS мышей. iNOS гепатоцитов человека на 51% идентична аминокислотной последовательности eNOS и на 53% — nNOS человека.

B.S. Taylor и с J.S. Mudgett выделили ген человеческой iNOS [44]. Геномная структура данной изоформы подобна структуре генов в eNOS и nNOS, что подтверждает мнение о происхождении всех изоформ от общего «наследственного» гена. Методом полимеразноцепной реакции (ПЦР) РНК в ЛПС и цитокиностимулированных гепатоцитах человека идентифицировали центр транскрипционной инициации, представленный 30 нуклеотидными парами. Человеческий ген iNOS маркировали в хромосоме 17 — 17cen-q11.2. nNOS и eNOS человека расположены в хромосоме 12 и 7, подтверждая, что три гена NOS пространственно удалены друг от друга (таблица).

Регуляция iNOS осуществляется и через другие факторы. Промотор гена iNOS содержит связываю-

Таблица. **Изоформы NOS: обозначения и особенности**

Белок NOS человека	Экспрессия мРНК и белка	Размер кДНК, кБ	Величина белка	Ферментативная активность	Хромосомная локализация
NOS1	Конститутивная	10	1433 аа	Ca <sup>2+</sup> -зависимая	12q24.2
nNOS			161 кДа		
NOS2	Индукцибельная	4,4	1203 аа	Ca <sup>2+</sup> -независимая	17cen-q12
iNOS			131 кДа		
NOS3	Конститутивная	4,1	1153 аа	Ca <sup>2+</sup> -зависимая	7q35—36
eNOS			133 кДа		

Примечание. NOS — NO-синтаза; nNOS — NOS нейрональных клеток; iNOS — индуцибельная NOS; eNOS — NOS эндотелиальных клеток; аа — аминокислоты [44].

ший центр для ядерного фактора NF-κB [48]. Транскрипционный фактор NF-κB непосредственно изменяет функцию многих генов, ответственных за синтез белков. Известно, что свободные радикалы, независимо от механизма и источника их образования, активируют этот фактор, ускоряя апоптоз гепатоцитов [41]. Фактор NF-κB опосредует высвобождение ФНО-α и ИЛ-1β, которые, в свою очередь, являются индукторами NOS (рис. 2). Активация данного фактора определяется, в частности, внутриклеточным редокс-состоянием. Показано, что индукция iNOS в гепатоцитах *in vivo* и *in vitro* зависит от состояния внутриклеточного глутатиона и коррелирует со связыванием фактора NF-κB [48]. Истощение глутатиона предотвращает индукцию iNOS в гепатоцитах, но не в клетках воспаления.

Азота оксид способен инициировать усиленный синтез проапоптического белка p53. Поскольку NO вызывает разрывы цепи ДНК подобно клеточным мутациям у человека, рассматривается гипотеза о том, что белок p53 может выполнять определенную роль в регуляции экспрессии гена iNOS. Экспозиция клеток человека с донором NO вызывает аккумуляцию белка p53, снижение экспрессии гена iNOS путем ингибирования промотора. Эти данные указывают на отрицательную обратную связь, при которой индуцированное азота оксидом повреждение ДНК активизирует экспрессию p53, которая определяет, в свою очередь, экспрессию гена iNOS у человека [44].

Установлено, что NO препятствует экспрессии собственного гена путем снижения экспрессии ядерного фактора транскрипции NF-κB в гепатоцитах крыс и в культуре первичных гепатоцитов человека [41]. Гепатоциты могут вызывать синтез большого количества NO, и принцип отрицательной обратной связи участвует в этом физиологическом ответе для предупреждения дальнейшего повреждения ткани. Эти события инициируют новый виток отрицательной обратной связи, образующийся NO снижает экспрессию гена iNOS, ограничивая сверхмерное образование данного метаболита в патофизиологических условиях.

Посттранскрипционная регуляция является также важным уровнем в регуляции экспрессии iNOS в печени. 3'-гипервариабельный участок (3'-UTR) сДНК гена iNOS гепатоцитов человека содержит несколько

АТ-обогащенных последовательностей, которые ответственны АУ-последовательностям мРНК. Эти АТТТА-последовательности транскрибируются во многих генах цитокинов и протоонкогенов и дестабилизируют мРНК [44]. В частности, подобная последовательность, ТТАТТТАТ, была идентифицирована в 3'-UTR гена ФНО и генах других цитокинов, и было показано, что она, кроме дестабилизации мРНК, участвует в эффекте трансляционного ингибирования.

Ведутся исследования, задача которых определить, вовлечены ли эти «АУ»-обогащенные элементы в регулирование стабильности мРНК гена iNOS. Кроме транскрипционного и посттранскрипционного контроля экспрессии генов iNOS, существует также посттрансляционная регуляция синтеза протеина и экспрессии iNOS. Механизмы посттрансляционного контроля включают стабильность белков, димеризацию, фосфорилирование, субклеточную локализацию, связывание кофактора ВН<sub>4</sub> и наличие субстрата (L-аргинина) и молекулярного кислорода O<sub>2</sub>. В перфузированной печени и изолированных гепатоцитах снижение уровня ВН<sub>4</sub> заметно уменьшало превращение фенилаланина в тирозин при участии фенилаланин-гидролазы, но оказывало незначительное воздействие на активность iNOS [44].

**Эффекты азота оксида на функции гепатоцитов**

Большое количество исследований подтверждают, что NO является важным регулятором функции гепатоцитов. Было показано, что NO препятствует синтезу белков в культуре гепатоцитов. При стимуляции воспалительными медиаторами или глюкокортикоидами гепатоциты секретируют вещества, характерные для острой фазы воспаления. Однако при культивировании гепатоцитов совместно с купферовскими клетками и в присутствии ЛПС наблюдалось существенное снижение включения лейцина [<sup>3</sup>H], означающее ингибирование синтеза протеинов данными клетками. Эти изменения в синтезе белков сопровождались увеличением уровней NO<sub>2</sub><sup>-</sup> и NO<sub>3</sub><sup>-</sup> в супернатантах культивированных клеток, которые предотвращались в присутствии ингибитора NG-монометил-L-аргинина (L-NMMA) [4]. Таким образом, NO, продуцирующийся купферовскими клетками и гепатоцитами, уменьшает общую продукцию белков этих клеток.



Рис. 2. Физиологические механизмы, опосредованные ядерным фактором NF-κB

Факторы роста: M-CSF — моноцит-колониестимулирующий фактор;

GM-CSF — гранулоцит-моноцит-колониестимулирующий фактор;

MCP-1 — моноцит-хемоаттрактантный белок; VCAM-1 — белок 1 адгезии сосудистых клеток;

ICAM-1 — внутриклеточная молекула — 1; TF — тканевой фактор

*Эффекты NO в гепатоцитах:*

- ингибирование белкового синтеза;
- ингибирование гликонеогенеза;
- ингибирование глюконеогенеза;
- ингибирование глицероальдегид-3-фосфат дегидрогеназы;
- ингибирование цитохрома P450;
- ингибирование дыхания митохондрий;
- ингибирование аконитазы;
- активация растворимой гуанилатциклазы.

Печень — важный орган в метаболизме углеводов [1]. Данные работ *in vitro* подтверждают, что NO опосредует ингибиторный эффект на метаболизм углеводов в гепатоцитах. Показано, что донор NO — SNAP не ингибирует цАМФ и глюкагонстимулированный гликолиз в печени, подтверждая, что гомеостаз глюкозы, возможно, частично контролируется NO. Доноры NO ингибируют глюконеогенез гепатоцитов. В работах, выполненных в условиях *in vitro*, показано существенное ингибирование активности NO-зависимой глицероальдегид-3-фосфат-дегидрогеназы в печени крыс с высоким уровнем экспрессии iNOS [27]. NO ингибирует печеночный глюконеогенез в культуре клеток, однако нет доказательств торможения этого процесса в условиях *in vivo*. Азота оксид способен прочно связывать простетические группы гема и сульфатные комплексы железа в определенных энзимах [45]. Вероятно, эти взаимодействия могут привести к активации или ингибированию ферментов. В печени целый ряд ферментов является потенциальными мишенями этого типа взаимодействий.

Способность печени метаболизировать различные лекарства, токсины и канцерогены зависит от активности гемсодержащего класса протеинов типа цитохрома P450 [39]. В условиях воспаления, при котором индуцируется iNOS, наблюдается ингибирование активности этого фермента. Под действием NG-нитро-L-аргинин метилового эфира (L-NAME) предотвращается ингибирование цитохрома P450 у ЛПС-стимулированных крыс. Содержание клеточного негемового железа детерминирует эффекты NO на клетки [11]. Оказалось, что клетки с низкими уровнями негемового железа (например, макрофагальная линия клеток) восприимчивы к NO-опосредованной цитотоксичности, тогда как клетки с увеличенными концентрациями негемового железа (например, гепатоциты) устойчивы к NO-опосредованной гибели клеток и к гибели клетки в результате апоптоза. Этот эффект, возможно, связан с образованием внутриклеточных железо-динитрозильных комплексов после экспозиции клеток с NO, который угнетает активность каспаз [46]. Таким образом, и экзогенный, и эндогенный NO могут воздействовать на активность важных ферментативных систем, и этот факт, возможно, будет использован в клинических исследованиях, а именно по изменению метаболизма некоторых лекарств и токсичных субстратов в печени в условиях воспаления и дисфункции этого органа.

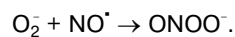
**Цитопротекторная и цитотоксическая роль NO в печени**

Способность молекулы NO проявлять цитостатические или цитотоксические эффекты зависит от ти-

па клеток, фазы ее развития, биохимического потенциала, локальной концентрации NO и наличия активных форм кислорода [3].

Цитотоксический потенциал NO требует строгой регуляции экспрессии iNOS, хотя для образования значительных количеств NO необходима стимуляция, по крайней мере, двух агентов. Обнаружен синергизм между эффектами ИФН- $\gamma$  и ЛПС, который определяется как триггер различных функций макрофагов, включая цитотоксичность. Регуляция экспрессии iNOS происходит на многих уровнях, но синергический эффект ИФН- $\gamma$  и ЛПС является транскрипционным [28, 49]. Цитотоксичность NO является результатом его избыточного количества и инициации им апоптоза. Двойственность эффекта NO проявляется в способности его, с одной стороны, защищать клетку от апоптозных сигналов, а с другой — вызывать этот процесс [28].

Имеются также доказательства того, что NO может проявлять защитный эффект в печени при ряде патологических состояний, в результате которых образуются промежуточные продукты реактивного кислорода: супероксид-анион ( $O_2^-$ ), гидроксильный радикал ( $OH^\cdot$ ) и перекись водорода ( $H_2O_2$ ). Цитотоксичность эффектов NO связана с накоплением в области поражения супероксид-анионов, которые, взаимодействуя с молекулой NO, образуют медиатор окислительного клеточного повреждения — пероксинитрит ( $ONOO^-$ ):



Этот анион стабилен в щелочной среде, но при физиологических значениях pH, присоединяя протон, в течение секунды распадается, оказывая сильнейшее окислительное воздействие на различные внутриклеточные мишени. Пероксинитрит способен окислять NH- и SH-группы белков, липопротеиды, ДНК, что может привести к инактивации ряда ферментов ( $\alpha$ 1-ингибитора протеиназ, тканевого ингибитора металлопротеиназ, Mn/Fe-СОД). Реагируя с ионами металлов, входящими в состав СОД (супероксиддисмутаза), пероксинитрит вызывает образование реактивного и высокотоксичного иона нитрозония ( $NO_2^+$ ), который, в свою очередь, образует нитрофенолы [21]. В результате нарушаются функции цитоплазматических рецепторов. В присутствии пероксинитрита или продукта его распада образуются тиольные радикалы глутатиона ( $GS^\cdot$ ), в результате чего последний превращается из антиоксиданта в прооксидант, инициирующий процессы перекисного окисления (ПОЛ) (рис. 3). Это и определяет цитотоксическое действие пероксинитрита, вызывающее гибель клеток и тканей по пути апоптоза или некроза [23].

Образование этого аниона — связующее звено между NO и системой генерации в клетках и тканях активных форм кислорода. Этот агент, взаимодействуя с митохондриями, может вызывать выход из них цитохрома C — мощного активатора апоптоза. Азота оксид подавляет апоптоз, воздействуя на каспазы — ферменты, запускающие этот процесс [46].

В ответ на такие стимулы, как TGF- $\beta$ 1, Fas-лиганд или ФНО- $\alpha$  и D-галактозамин, в гепатоцитах наблюдаются изменения, характерные для апоптоза, а именно: хромосомная конденсация, олигосомальная

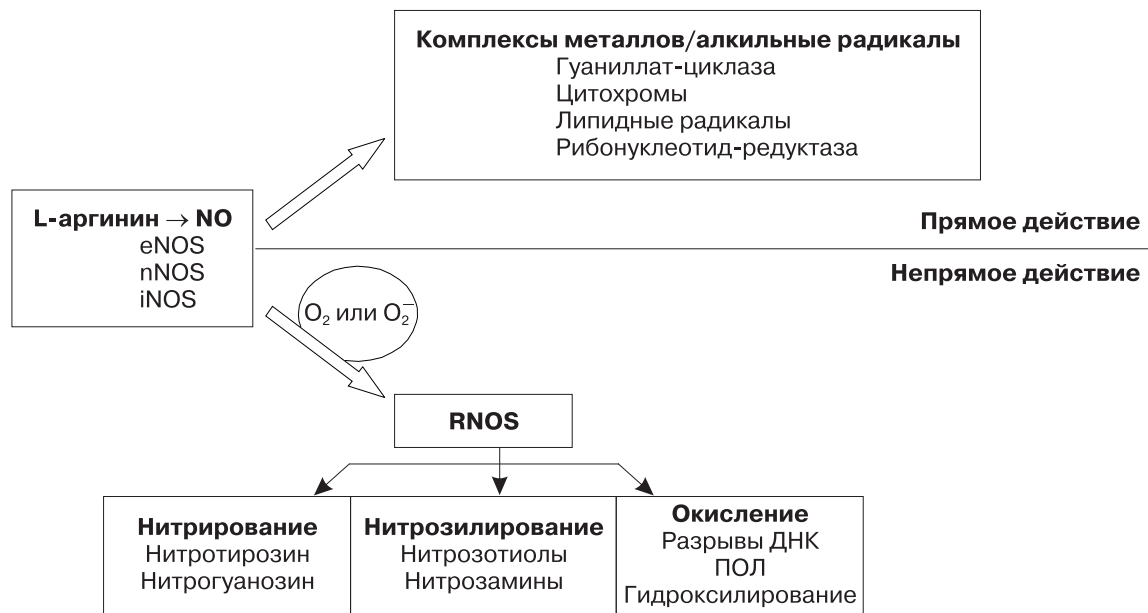


Рис. 3. Азота оксид и его физиологическая активность

фрагментация ДНК и разрыв цитоплазмы на пузырьки [29, 40]. Эмбриональные гепатоциты в первичной культуре (предварительно стимулированные ЛПС для инициации iNOS) защищены от TGF- $\beta$ 1-опосредованного апоптоза [44]. Натрия нитропруссид предоставляет полную защиту от возникновения ФНО- $\alpha$ -индуцированного апоптоза в гепатоцитах у D-галактозаминчувствительных мышей в условиях *in vivo*. Донор SNAP вызывает экспрессию мРНК белка теплового шока 70 (Hsp70) в гепатоцитах и защищает их от индуцированного ФНО- $\alpha$  и актиномицином Д апоптоза. Степень защиты прямо коррелирует с уровнем экспрессии белка Hsp70. Считается, что стимулированное окисление глутатиона является тем механизмом, с помощью которого NO индуцирует белок Hsp70 [44].

NO проявляет защитный эффект против ацетаминифениндуцированной токсичности. В этой модели ингибирование синтеза NO усугубляет повреждение печени. При воздействии L-NMMA до введения ацетаминифена показано двукратное повышение уровня аспартата-аминотрансферазы (АСТ) в плазме на фоне уменьшения в клетках глутатиона (GSH), подтверждая тем самым, что ингибирование синтеза NO может потенцировать гепатотоксичность путем истощения запасов GSH [22, 48].

Апоптоз — запрограммированная форма гибели клетки, отличающаяся морфологическими стереотипными изменениями, ответственна за удаление генетически измененных клеток [52]. Апоптоз опосредован активацией каспаз, семейством цистеиновых протеаз. Активация каспаз происходит одним из двух широко известных механизмов, вовлекая рецепторы смерти и/или выброс митохондриального цитохрома С [6, 18]. Хотя один или оба пути могут повреждаться при развитии заболевания, оказалось, что нарушение регуляции митохондриального пути является очень важным при развитии рака. Высвобожденный из митохондрий цитохром С затем соединяется в цитозоле

клетки с протеином Араф-1, который облегчает активацию прокаспазы 9 в присутствии аденозинтрифосфата (АТФ) или дезоксиАТФ [41]. Активизированная однажды, каспаза 9 вызывает активацию каспаз 3 и 7 и последующие апоптотические события. NO ингибирует апоптоз по пути выброса цитохром С путем непосредственно блокирования активации каспазы 9 и является кандидатом в посредники, вызывающие нарушение апоптоза, так как он часто генерируется в условиях воспаления и является характерным признаком индукции NOS в эпителиальных клетках под действием воспалительных цитокинов. Механизмы, принятые без доказательства для ингибирования апоптоза азота оксидом, включают: нарушение экспрессии транскрипционного Fas лиганд — зависимого фактора [29]; ингибирование ФНО- $\alpha$ -индуцированного апоптоза [25] и цГМФ-зависимого сигнального каскада [24]; модуляцию функции митохондрий и прямое нитрозилирование каспаз 3 и 8 [12]. Способность NO к нитрозилированию тиолов в активных центрах каспаз и ингибированию их активности является потенциальным механизмом модуляции апоптоза азота оксидом [46, 50].

Таким образом, баланс защитных и цитотоксических эффектов NO будет зависеть, в частности, от редокс-состояния клетки.

При воспалительной реакции или сепсисе происходит множество метаболических нарушений и повреждений печени, которые выявляются с помощью гистологических и биохимических методов. Данные об индукции iNOS в печени при сепсисе подтверждены у человека: у больных обнаружены возрастающие уровни  $\text{NO}_2^-$  и  $\text{NO}_3^-$  в плазме [3]. На различных экспериментальных моделях было показано, что неспецифическое ингибирование NOS при эндотоксемии вызывает прогрессирующее повреждение печени. В модели эндотоксемии, вызванной некрозом печени мышей *in vivo*, увеличение продукции NO было связано с гепатопротекцией, тогда как ингибирование NOS вызывало за-

метное усиление повреждения гепатоцитов [31]. Введение инактивированных *S. parvum* вызывает рост гепатоцитов, а через 5—7 сут присутствие ЛПС вызывает некроз печени. Воздействие L-NMMA увеличивает повреждение печени. При этом наблюдается 3—5-кратное возрастание активности орнитин-карбамил-трансферазы и АсТ. Эти данные подтверждают, что образующийся локально при системном воспалении NO играет защитную роль в печени. Дополнительные исследования, использующие ту же модель повреждения печени, показали, что совместное воздействие супероксиддисмутазы (СОД) может ослаблять L-NMMA-обусловленное усиление повреждения печени [26], тогда как ингибирование циклооксигеназы усугубляло повреждение органа [40]. Эти результаты дают основание предположить, что промежуточные продукты реактивного кислорода играют значительную роль в индуцированной ЛПС цитотоксичности печени.

Для изучения роли специфических изоформ NOS были проведены эксперименты, в которых неселективные или iNOS-селективные ингибиторы вводили непрерывно в печень крыс в условиях эндотоксемии. Было обнаружено, что неселективные ингибиторы (L-NMMA или L-NAME) увеличивают как некроз, так и апоптоз гепатоцитов, тогда как iNOS-специфические ингибиторы N-иминоэтил-L-лизин (L-NIL) или аминоксид гуанидин усиливают только апоптоз [15]. Азота оксид осуществляет ингибирующее действие на апоптоз через как цГМФ-зависимые, так и цГМФ-независимые механизмы [24].

Таким образом, были установлены некоторые факты прямого гепатотоксического воздействия NO при эндотоксемии. При экспериментальном сепсисе снижение уровня продукции NO в печени защищает гепатоциты от некроза, тогда как большие количества NO, продуцируемые под действием iNOS, предотвращают апоптоз.

#### **Азота оксид и опухоли печени**

NO обладает антиопухолевым (мутагенным) эффектом, однако в сочетании с реактивными молекулами кислорода и на фоне хронического воспаления может инициировать или увеличить карциногенез у человека. Бактериальные, паразитарные или вирусные инфекции и воспаление тканей, например, такие, как гастриты, гепатиты и колиты, считаются факторами риска в плане развития опухолей человека. У пациентов с хроническим гепатитом наблюдался повышенный уровень NO [35].

Для карциногенеза характерна ступенчатость развития, включающая инактивацию супрессора генов опухоли и активацию онкогенов или мутациями, или делецией ДНК. Последствия повреждений ДНК при делении клетки наблюдаются при развитии опухолей. NO и его реактивные производные могут играть активную роль в многоступенчатом процессе карциногенеза путем прямой клеточной цитотоксичности и мутагенности. Механизмы NO-индуцированной цитотоксичности и мутагенности многочисленны и включают нитрозное дезаминирование, разрыв ДНК под действием NO<sub>2</sub>, окисление под действием пероксинитрита и модификацию ДНК под действием метаболитически активированных N-нитрозаминов. Образующиеся из N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, промежуточного продукта аутоокис-

ления азота оксида, S-нитрозо-тиолы деаминируют и могут способствовать перекрещиванию нитей ДНК. N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> может также инактивировать важные ферменты, вовлеченные в механизмы репарации ДНК. NO повторно реагирует с супероксидным анионом, образуя цитотоксические радикалы пероксинитрита, которые также способны разлагать гидроксильные радикалы и азота диоксид. Генерация пероксинитрита и других окислительных агентов может привести к генотоксичности [4]. Результатом деаминирования ДНК является появление специфических мутаций. Эндогенный NO индуцирует повреждение ДНК и приводит к аккумуляции белка p53, который по механизму отрицательной обратной связи препятствует экспрессии гена iNOS. Азота оксид может вызывать апоптоз в человеческих клетках рака печени линии SMMC-7721 и Hep G2, открывая поры в митохондриях и тем самым высвобождая цитохром C [19].

Циклооксигеназа-2 (COX-2), как и iNOS, ответственна за природу факторов опухолей и за ангиогенез при различных опухолеобразованиях. Исследования подтверждают факт о том, что NO, образованный под действием iNOS, усиливает активность COX-2. Экспрессия как и iNOS, так и COX-2, повышается при пищевом Барретта, эзофагинальной аденокарциномии, при *Helicobacter*-индуцированном гастрите [14, 29]. Обнаружена позитивная корреляция между экспрессией COX-2, iNOS и плотностью микрососудов (MVD) при гепатите C (HCV). Экспрессия соответствующих генов может вызываться либо вторичным действием цитокинов, образующихся в ответ на инфекцию HCV, либо прямой активацией ядерного протеина HCV [29].

Кроме фактов, подтверждающих канцерогенную концепцию, было показано, что NO, образующийся в активированных макрофагах, может способствовать гибели раковых клеток [44]. Мишенью для NO-опосредованного антиопухолевого действия являются железо- и серосодержащие ферменты, вовлеченные в дыхательную систему митохондрий. Однако всегда ли NO действует как опухолевый механизм контроля в печени — не ясно. Экзогенный NO заметно подавлял митохондриальную аконитазу, как и другие ферменты электронотранспортной цепи, тогда как эндогенно образованный NO был менее эффективен. На моделях *in vivo* и *ex vivo* с использованием системы совместных культур линий клеток гепатомы и купферовских клеток показано, что индуцированный в купферовских клетках NO вызывает дисфункцию митохондрий, следующую за разрывом клеточной мембраны и приводящую к смерти опухолевой клетки [44]. Эти результаты подтверждают, что печень, возможно, обладает механизмом распознавания и элиминации клеток опухоли.

#### **NO и цирроз печени**

Начальная стадия компенсации цирроза связана с перемещением ионов натрия (Na<sup>+</sup>) и воды в почках в сочетании с гипердинамической циркуляцией: системная артериальная вазодилатация с уменьшением общей периферической резистентности и усилением сердечного выброса [7]. Показано, что увеличение образования NO, вызванное низкоградиентной эндотоксемией, может служить медиатором ги-

пердинамической циркуляции [17]. Эта гипотеза была подтверждена и на экспериментальных моделях, и у людей [6, 35]. Возникновение нарушений при циррозе печени легли в основу «теории недонаполнения». Вазодилатационноопосредованные механизмы, лежащие в основе данной патологии, отвечают за движение  $\text{Na}^+$  и воды в почках посредством активации барорецепторов и гуморальных антинатриуретических механизмов [37]. Уменьшенный эффективный объем перфузии стимулирует рецепторы объема, которые активируют ренин-ангиотензиновую и симпатическую системы, что в результате приводит к выбросу предсердного натрийуретического фактора. Эти изменения вызывают задержку ионов натрия почками и образование отека и могут привести к снижению гломерулярной фильтрации и развитию гепаторенального синдрома [13, 49].

Механизм, посредством которого NO действует на сократительный аппарат гладкомышечных клеток, связан с прямым эффектом на перемещение ионов  $\text{Ca}^{2+}$  из внеклеточного пространства и высвобождение их из внутриклеточных депо [6, 7, 32]. Увеличивающаяся продукция NO при циррозе подтверждается данными об увеличивающихся уровнях  $\text{NO}_3^-$  в сыворотке и моче и повышенных уровнях цГМФ в моче [32] у пациентов с данной патологией. Отмечают наличие прямой корреляции между заметными изменениями гемодинамики и уровнем  $\text{NO}_3^-$  [24].

Прямые эффекты NO на функцию почечных трубочек включают ингибирующее действие на движение  $\text{Na}^+$  в проксимальных трубочках. Избыток NO ингибирует  $\text{K}^+/\text{Na}^+$ -АТФазу и  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обменник типа 3 в клетках проксимальных трубочек [47, 51].

На экспериментальных моделях цирроза у крыс показано постоянное ингибирование iNOS под действием ингибитора L-NAME, который устраняет результат интенсивных перемещений  $\text{Na}^+$  [6, 17]. Как уже отмечалось ранее, в печени NO образуется под действием двух изоформ — eNOS и iNOS. Картина экспрессии и активности белков NOS в здоровом органе и при патологии различна [21]. При хронических заболеваниях печени наблюдается значительное повышение  $\text{Ca}^{2+}$ -независимой активности NOS с появлением индуцибельной изоформы в зонах цирроза [38]. При этом происходят глубокие изменения в клеточном распределении eNOS, приводящие к транслокации ее в ядра гепатоцитов [48]. Факторы роста, такие как фактор роста эндотелиальных сосудов, вызывают ядерное перемещение eNOS в сосудистом эндотелии. Возможно, такое перемещение фермента характеризует хроническое воспаление печени и переход в цирроз. Однако изменение положения eNOS можно рассматривать как один из защитных механизмов клеточной пролиферации или защиты от апоптоза, которые, как отмечалось выше, регулируются NO [6].

Активность iNOS увеличена при вирусном гепатите, жировом гепатите с переходом в цирроз и при холестазе [43]. Степень повышения подобна при всех этих заболеваниях, хотя они имеют разный этиопатогенез. Возможно, увеличенную активность iNOS можно рассматривать как маркер конечной стадии заболеваний печени различной этиологии [33]. Наблюдается сильная и незональная экспрес-

сия iNOS даже при таких редких нарушениях печени, как дефицит антитрипсина-1. Экспрессия iNOS в купферовских клетках слабая. Предварительная обработка этих клеток донором NO или предварительная инкубация iNOS стимулируют экспрессию индуцибельного белка теплового шока HSP-70 в гепатоцитах и ингибируют индуцированный (ФНО + актиномицин Д) апоптоз печени [19].

Таким образом, оба белка (iNOS и eNOS) по-разному экспрессируются в здоровой и больной печени, но эта экспрессия существенно изменяется на конечной стадии хронических заболеваний печени различного происхождения. Особое внимание уделяется роли NO при почечной и сердечной дисфункции, наблюдаемой при циррозе. Ингибирование синтеза NO у крыс влияет на интенсивность выделения ионов  $\text{Na}^+$  и воды через кровь. Повреждающий эффект повышенного образования NO при циррозе связан с его клеточной токсичностью. Существуют доказательства образования пероксинитрита у человека *in vivo* при хроническом гепатите и циррозе [10, 42]. Механизм повреждения, вызванный пероксинитритом, вовлекает многие факторы, включая иницирование ПОЛ и нитрирование тирозинсодержащих белков (рис. 4) [36]. При хроническом гепатите и циррозе уровень образующего пероксинитрита у человека коррелирует со степенью повреждения печени. Посредством окисления арахидоновой кислоты пероксинитрит вызывает образование изопростанов, которые сходны по составу с простагландинами и являются мощными почечными вазоконстрикторами. Самый сильный —  $\text{F}2\alpha$ -изопростан — может вызвать выброс эндотелина и почечную дисфункцию при циррозе путем воздействия на капиллярное кровообращение почек.

Повышенный уровень  $\text{F}2\alpha$ -изопростанов коррелирует с тяжестью повреждения печени. Чрезмерный синтез NO и продукция свободных радикалов способствуют образованию других компонентов, усиливающих действие первичных субстратов (рис. 4). Снижая концентрацию NO или  $\text{O}_2^-$ , можно уменьшить биологическое действие пероксинитрита [8, 31]. В перспективе рассматривается возможность установления роли NOS и назначения антиэндотоксемической терапии при лечении больных с портальной гипертензией и гипердинамической системной циркуляцией.

### Заключение

Подводя итог, можно выделить несколько главных моментов. Существует несколько уровней регуляции iNOS, то есть экспрессия данной изоформы строго контролируется на всех этапах. С тех пор, как стало известно, что продукция NO проявляет и защитные, и повреждающие эффекты, был сделан вывод о том, что процесс регуляции экспрессии iNOS является критическим в развитии стратегии выброса NO в условиях патофизиологии.

Важный фактор в определении соотношения защитных/повреждающих эффектов NO в печени — это количество и продолжительность образования продукции NO. Экспрессия iNOS при тяжелых воспалениях и сепсисе является протекторной для проявления защитных эффектов азота оксида в печени. iNOS-регулируемый выброс NO вызывает экспрес-



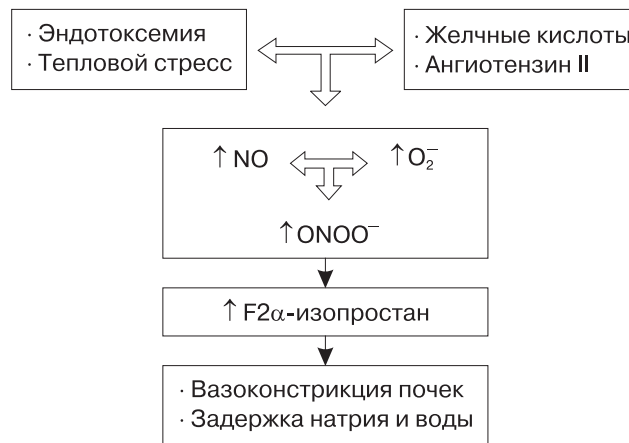


Рис. 4. Механизмы, приводящие к ренальным изменениям при циррозе печени [16]

сию двух защитных протеинов — белка Hsp70 и циклооксигеназы. На этом уровне NO обеспечивает антиапоптотические эффекты в клетках печени, в то время как при хроническом воспалении печени NO может играть определенную роль в развитии опухоли печени. NO является посредником с довольно широ-

ким спектром действия, и его неспецифическое ингибирование или прирост его активности приводит к нарушениям гомеостаза. Использование iNOS-селективных ингибиторов и доноров NO со специфическим действием предоставляет новые возможности для лечения ряда заболеваний печени.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бабак О.Я. Хронические гепатиты.— К.: АО Изд-во «Блиц-информ», 1999.— 208 с.
2. Жуков В.И., Мясоедов В.В. NO-зависимые механизмы токсичности синтетических детергентов // Вісн. пробл. біол. і мед.— 2002.— Вип. 9.— 10.— С. 12—21.
3. Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б., Реутов В.П. NO-синтазы в норме и при патологии различного генеза // Вест. АМН Украины.— 2000.— С. 30—34.
4. Лабезник Л.Б. NO в этиопатогенезе некоторых заболеваний органов пищеварения // Экспер. и клин. гастроэнтерол.— 2005.— № 2.— С. 4—10.
5. Реутов В.П. Медико-биологические аспекты циклов оксида азота и супероксидного анион-радикала // Вестн. АМН Украины.— 2000.— С. 35—41.
6. Angeli P., Fernandez-Varo G., Dalla Libera V. et al. The role of nitric oxide in the pathogenesis of systemic and splanchnic vasodilation in cirrhotic rats before and after the onset of ascites // Liver Int.— 2005.— 25 (2).— P. 429—437.
7. Atucha N.M., Nadal F.J., Iyu D. et al. Role of vascular nitric oxide in experimental liver cirrhosis // Curr. Vasc. Pharmacol.— 2005.— 3 (1).— P. 81—85.
8. Atucha N.M., Nadal F.J., Iyu D. et al. Role of vascular nitric oxide in experimental liver cirrhosis // Vasc. Pharmacol.— 2005.— 3 (1).— P. 81—85.
9. Bhandari R.N., Riccalton L.A., Lewis A.L. et al. Liver tissue engineering: a role for co-culture systems in modifying hepatocyte function and viability // Tissue Eng.— 2001.— 7.— P. 345—357.
10. Bukara M., Bautista A.P. Acute alcohol intoxication and gadolinium chloride attenuate endotoxin-induced release of CC chemokines in the rat // Alcohol.— 2000.— 20.— P. 193—203.
11. Cairo G., Pietrangelo A. Nitric-oxide-mediated activation of iron-regulatory protein controls hepatic iron metabolism during acute inflammation // Eur. J. Biochem.— 1995.— 1, 232 (2).— P. 358—363.
12. Deshmukh M., Kuida K., Johnson E.M. Jr. Caspase inhibition extends the commitment to neuronal death beyond cytochrome C release to the point of mitochondrial depolarization // J. Cell Biol.— 2000, 150.— P. 131—143.
13. DiBona G.F. Peripheral and central interactions between the renin-angiotensin system and the renal sympathetic nerves in control of renal function // Ann. NY Acad. Sci.— 2001.— 940.— P. 395—406.
14. Fantappie O., Masini E., Sardi I. et al. The MDR phenotype is associated with the expression of COX-2 and iNOS in a human hepatocellular carcinoma cell line // J. Hepatol.— 2002.— 35 (4).— P. 843—852.
15. Fiorucci S., Antonelli E., Mencarelli A. et al. A NO-releasing derivative of acetaminophen spares the liver by acting at several checkpoints in the Fas pathway // Br. J. Pharmacol.— 2002.— 135 (3).— P. 589—599.
16. Garcia-Estan J., Ortiz M.C., Lee S.S. Nitric oxide and renal and cardiac dysfunction in cirrhosis // Clinical Science.— 2002.— 102.— P. 213—222.
17. Grabe M., Brond L., Christensen S. et al. Chronic nitric oxide synthase inhibition exacerbates renal dysfunction in cirrhotic rats // Am. J. Physiol. Renal Physiol.— 2004.— 286.— P. F288—F297.
18. Green D.R., Reed J.C. Mitochondria and apoptosis // Science (Wash. DC).— 1998.— 281.— P. 1309—1312.
19. Guo H., Marroquin C.E., Wai P.Y., Kuo P.C. Nitric oxide-dependent osteopontin expression induces metastatic behavior in HepG2 cells // Dig. Dis. Sci.— 2005.— 50 (7).— P. 1288—1298.
20. Harbrecht B.G., Billiar T.R., Stadler J. et al. Nitric oxide synthesis serves to reduce hepatic damage during acute murine endotoxemia // Crit. Care Med.— 1992.— 20 (11).— P. 1568—1574.
21. Hon W.M., Lee K.H., Khoo H.E. Nitric oxide in liver diseases: friend, foe, or just passerby? // Ann. NY Acad. Sci.— 2002.— 962.— P. 275—295.
22. Ishida Y., Kondo T., Ohshima T., Fujiwara H. A pivotal involvement of IFN- $\gamma$  in the pathogenesis of acetaminophen-induced acute liver // FASEB J.— 2002.— 16.— P. 1227—1236.
23. Kim S.H., Hong K.O., Chung W.Y. et al. Abrogation of cisplatin-induced hepatotoxicity in mice by xanthorrhizol is related to its effect on the regulation of gene transcription // Toxicol Appl. Pharmacol.— 2004.— 196 (3).— P. 346—355.
24. Kim Y.M., Chung H.T., Kim S.S. et al. Nitric oxide protects PC12 cells from serum deprivation-induced apoptosis by cGMP-dependent inhibition of caspase signaling // J. Neurosci.— 1999.— 19.— P. 6740—6747.



25. Kim Y.M., de Vera M.E., Watkins S.C., Billiar T.R. Nitric oxide protects cultured rat hepatocytes from tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced apoptosis by inducing heat shock protein 70 expression // *J. Biol. Chem.*— 1997.— 272.— P. 1402—1411.
26. Kurose I., Ebinuma H., Higuchi H. et al. Nitric oxide mediates mitochondrial dysfunction in hepatoma cells induced by non-activated Kupffer cells: evidence implicating ICAM-1-dependent process // *J. Gastroenterol. Hepatol.*— 1995.— 10, Suppl. 1.— P. S68—S71.
27. Little S.A., Jarnagin W.R., DeMatteo R.P. et al. Diabetes is associated with increased perioperative mortality but equivalent long-term outcome after hepatic resection for colorectal cancer // *J. Gastrointest. Surg.*, 2002.— 6.— P. 88—94.
28. Liu J., Waalkes M.P. Nitric oxide and chemically induced hepatotoxicity: beneficial effects of the liver-selective nitric oxide donor, V-PYRRO/NO // *Toxicology.*— 2005.— 15.— 208 (2).— P. 289—297.
29. Maeda H., Tanaka S., Akaike T. et al. Antiapoptotic effect of haem oxygenase-1 in experimental solid tumour // *Br. J. Cancer.*— 2003.— 88 (6).— P. 902—909.
30. Marletta M.A., Ph.D., Kirk M., Maxey M.D. Nitric oxide: function, formation and therapeutic potential // *TIBS.*— 1995.— 14.— 488—492.
31. Masini E., Mugnai L., Foschi M. et al. Changes in the production of nitric oxide and superoxide by inflammatory cells in liver cirrhosis // *Gastroenterology.*— 2005.— 129 (2).— P. 682—695.
32. Montoliu C., Kosenko E., Del Olmo J.A. et al. Correlation of nitric oxide and atrial natriuretic peptide changes with altered cGMP homeostasis in liver cirrhosis // *Liver Int.*— 2005.— 25 (4).— P. 787—795.
33. Moriyama A., Tabaru A., Unoki H. et al. Plasma nitrite/nitrate concentrations as tumor marker for hepatocellular carcinoma // *Clin. Chem. Acta.*— 2000.— 296.— P. 181—191.
34. Nakamura M., Imaoka S., Amano F. P450 isoforms in murine macrophage cell line, RAW264.7, and changes in the levels of P450 isoforms by treatment of cells with lipopolysaccharide and interferon-gamma // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*— 1998.— 135.— P. 347—351.
35. Oekonomaki E., Notas G., Mouzas I.A. et al. Binge drinking and nitric oxide metabolites in chronic liver disease // *Alcohol and Alcoholism.*— 2004.— 39, 2.— P. 193—203.
36. Ottesen L.H., Harty D., Frost M. et al. Increased formation of S-nitrothiols and nitrotyrosine in cirrhotic rats during endotoxemia // *Free Radic. Biol. Med.*— 2001.— 15.— 31 (6).— P. 790—798.
37. Porst M., Hartner A., Krause H. et al. Inducible nitric oxide synthase and glomerular hemodynamics in rats with liver cirrhosis // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*— 2001.— 281.— P. F293—F299.
38. Ramirez-Emiliano J., Gonzalez-Hernandez A., Arias-Negrete S. Expression of inducible nitric oxide synthase mRNA and nitric oxide production during the development of liver abscess in hamster inoculated with *Entamoeba histolytica* // *Curr. Microbiol.*— 2005.— 50 (6).— P. 299—308.
39. Sacerdoti D., Gatta A., McGiff J.C. Role of cytochrome P450-dependent arachidonic acid metabolites in liver physiology and pathophysiology // *Prostaglandins Other Lipid Mediat.*— 2003.— 72 (1—2).— P. 51—71.
40. Sass G., Koerber K., Bang R. et al. Inducible nitric oxide synthase is critical for immune-mediated liver injury in mice // *J. Clin. Invest.*— 2001.— 107.— P. 439—447.
41. Simile M.M., Pagnan G., Pastorino F. et al. Chemopreventive N-(4-hydroxyphenyl)retinamide (fenretinide) targets deregulated NF- $\kappa$ B and Mat1A genes in the early stages of rat liver carcinogenesis // *Carcinogenesis.*— 2005.— 26 (2).— P. 417—427.
42. Soderman C., Leone A., Furst V., Persson M.G. Endogenous nitric oxide in exhaled air from patients with liver cirrhosis // *Scand. J. Gastroenterol.*— 1997.— 32 (6).— P. 591—597.
43. Spitzer J.A., Spitzer J.J. Lipopolysaccharide tolerance and ethanol modulate hepatic nitric oxide production in a gender-dependent manner // *Alcohol.*— 2000.— 21.— P. 27—35.
44. Taylor B.S., Alarcon L.H., Billiar T.R. Inducible nitric oxide synthase in the liver: regulation and function // *Liver Int.*— 1997.— 17 (1).— P. 336—351.
45. Tisheradge M. NO in septic shock // *Biochim. Biophys. Acta.*— 1999.— 1411.— P. 437—455.
46. Torok N.J., Higuchi H., Bronk S.T., Gores G.J. Nitric oxide inhibits apoptosis downstream of cytochrome c release by nitrosylating caspase 9 // *Cancer Research.*— 2002.— 62, 15.— P. 1648—1653.
47. Vallon V., Schwark J.R., Richter K., Hropot M. Role of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger NHE3 in nephron function: micropuncture studies with S3226, an inhibitor of NHE3 // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*— 2000.— 278.— P. F375—F379.
48. Vos T.A., Van Goor H., Tuyt L. et al. Expression of inducible nitric oxide synthase in endotoxemic rat hepatocytes is dependent on the cellular glutathione status // *Hepatology.*— 1999.— 29 (2).— P. 421—426.
49. Wei C.L., Hon W.M., Lee K.H., Khoo H.E. Temporal expression of hepatic inducible nitric oxide synthase in liver cirrhosis // *World J. Gastroenterol.*— 2005.— 21.— 11 (3).— P. 362—367.
50. Yi K., Yj. H., Ke S. et al. Hepatocyte protection by a protease inhibitor against ischemia/reperfusion injury of human liver // *J. of the American College of Surgeons.*— 2002.— 195.— P. 41—50.
51. Zhang C., Mayeux P.R. NO/cGMP signaling modulates regulation of Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase activity by angiotensin II in rat proximal tubules // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*— 2001.— 280.— P. F474—F479.
52. Zou H., Li Y., Liu X., Wang X. An APAF-1 cytochrome c multimeric complex is a functional apoptosome that activates procaspase-9 // *J. Biol. Chem.*— 1999.— 274.— P. 11549—11556.

## МЕХАНІЗМИ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОГО ТА ТОКСИЧНОГО ВПЛИВУ АЗОТУ ОКСИДУ

**О.Я. Бабак, Н.В. Ярмиш, Г.Ю. Панченко**

Азоту оксид (NO) є сильним поліфункціональним біологічним посередником у всіх органах і тканинах людини та тварин. Експресія iNOS ретельно контролюється транскрипційними, трансляційними та посттрансляційними механізмами. Важливий чинник у визначенні співвідношення захисні/пошкоджувальні ефекти NO в печінці — це кількість та тривалість утворення продукції NO. У разі тяжких запалень та сепсису експресія NO відіграє певну роль у розвитку пухлини печінки. Застосування iNOS-селективних інгібіторів та донорів NO зі специфічною дією відкриває нові можливості в лікуванні деяких хвороб печінки.

## MECHANISMS OF THE BENEFICIAL AND HARMFUL EFFECTS OF NITRIC OXIDE IN LIVER

**O.Ya. Babak, N.V. Yarmysh, G.Yu. Panchenko**

Nitric oxide (NO) is the strong polyfunctional biological mediator in all organs and tissues of people and animals. The regulation of iNOS is governed by transcriptional, translational and post-translational mechanisms. The regulation of expression iNOS is tightly controlled. The important factors in determining the beneficial versus harmful effects of NO in the liver are the amount and duration of NO production. At the heavy inflammation and sepsis the NO production demonstrates the protective effects of nitric oxide in the liver. NO plays the definite role in development of liver tumour at the chronic inflammation. The emergence of iNOS-selective inhibitors and NO donors with cell-specific action will provide a new possibility in the treatment of a number of hepatic disorders.