

Биологическая роль оксида азота при сахарном диабете

О.Н. Бондаренко*, Г.Р. Галстян*, М.Б. Анциферов*,
Т.В. Кузнецова**, А.Г. Кобылянский**

* Государственное учреждение

Эндокринологический научный центр

(дир. — акад. РАМН И.И. Дедов) РАМН, Москва

** Российский кардиологический научно-производственный комплекс

(дир. — акад. Е.И. Чазов) МЗ РФ, Москва

История изучения биологической роли оксида азота

История изучения оксида азота (NO) как биологической молекулы берет начало с открытия, сделанного Танненбаумом в 1980 г. Он впервые связал образование нитритов с воспалением. Ранние работы по NO не позволяли говорить о каких-либо благотворных или регуляторных эффектах этой чрезвычайно лабильной молекулы с коротким периодом жизни (6-10 с) и приписывали ей лишь токсическое действие в организме человека. Считалось, что нитриты и нитраты попадают в организм исключительно с пищей. Однако в начале 80-х было установлено, что пища — не единственный и даже не главный источник нитритов и нитратов. Был сделан вывод, что нитриты и нитраты образуются в организме человека в результате окисления восстановленных форм азота, в ходе которого в качестве промежуточного продукта может возникать NO [3].

В 1988 г. была выдвинута гипотеза об идентичности фактора расслабления, выделяемого эндотелием, и оксида азота [53]. Однако, последующие открытия ставят под сомнение это предположение. Вероятно, эндотелиальный фактор релаксации (ЭДФР) представляет собой нитрозосоединение, активным вазодилатирующим компонентом которого является NO [4].

При связывании нейромедиатора ацетилхолина и других вазодилататоров с клетками эндотелия сосудов в них повышается активность NO-синтазы и увеличивается количество NO. Оксид азота мигрирует в прилежащие мышечные клетки, активирует синтез циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ), который вызывает расслабление сосудов (схема 1).

Открытие ЭДФР привлекло внимание к биологической роли NO, что стимулировало поток исследований в этой области. Кроме центральной роли вазодилататора, была определена важная роль NO в подавлении адгезии форменных элементов крови к эндотелию, угнетении агрегации тромбоцитов [6].

Следующее важное открытие заключалось в том, что при воспалительной реакции ключевую роль в образовании нитратов играют макрофаги. Исследования Hibbs J.V. и соавт. (1988) обнаружили генерацию NO активированными макрофагами. Было доказано, что цитостатический и цитотоксический эффекты макрофагов осуществляются посредством NO [31, 42, 43]. При активации бактериальными эндотоксинами или Т-лимфоцитами макрофаги усиливают синтез фермента NO-синтазы (NOS), который превращает аргинин в NO. Последний выделяется из макрофагов (МФ) и быстро проникает в бактерии, грибы, опухолевые клетки, где ингибирует три жизненно важные группы ферментов: митохондриальные, цикла Креб-

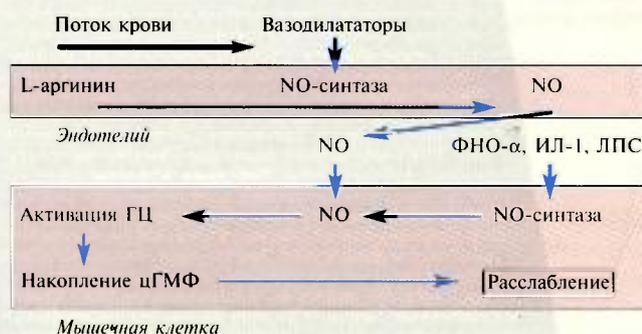


Схема 1. Механизм сосудорасслабляющего действия NO.

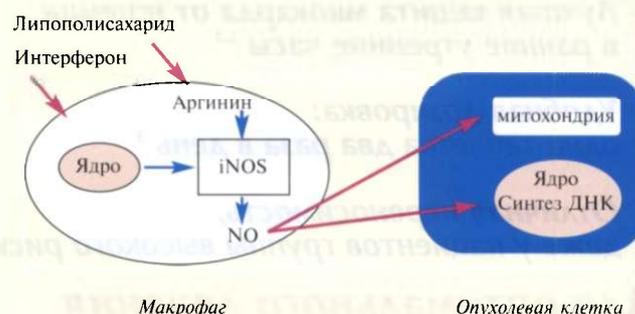


Схема 2. Механизм цитотоксического действия макрофагов.

са и синтеза ДНК. В этих условиях энергопродукция и деление клеток становится невозможным и клетка погибает. Таким образом, NO играет важную роль в иммунной защите организма. Он вовлекается в процесс на самых последних и ответственных этапах иммунного ответа (схема 2).

Результаты исследований J. Garthwaite и соавт. (1988) и S.H. Snyder (1989) позволили сделать предположение об участии эндогенно продуцируемого NO в функционировании центральной и вегетативной нервной системы. NO является посредником между возбуждающей аминокислотой глутаматом и образованием вторичных мессенджеров, ответственных за клеточные ответы, в том числе за формирование долговременной памяти [16, 49]. Длительность жизни NO и возможность диффундировать от места синтеза на 100 мкм определяют ее свойства нейротрансмиттера [12, 18]. Действительно, нитрические нервы описаны в сердце [25], желудочно-кишечном тракте [28] и в дыхательных путях [38]. Наряду с холин- и норадренергическими проводниками автономной нервной системы они могут представлять собой третий тип нервной системы [39], где синтез NO опосредуется либо пре-, либо постсинаптическое действие ацетилхолина и норадреналина.

Стало известно, что главным источником синтеза NO в организме служит аминокислота L-аргинин. Превращение аргинина в NO и цитруллин происходит с обязательным участием NO-синтазы (NOS). Существует несколько изоформ NO-синтазы (табл. 1). Основные из них: нейрональная, или тип 1 (nNOS), макрофагальная, или тип 2 (iNOS), и эндотелиальная, или тип 3 (eNOS). Они отличаются друг от друга локализацией в организме и способом активации.

Нейрональная и эндотелиальная изоформы являются конститутивными, обеспечивают синтез NO в нормальных условиях. Базальное образование NO конститутивной NO-синтазой эндотелиоцитов мо-

жет увеличиваться при действии, по меньшей мере, двух групп факторов. Во-первых, это происходит при увеличении механической стимуляции эндотелиоцитов из-за повышения «напряжения сдвига» и изменения частоты пульсации кровотока, обеспечиваемых насосной функцией сердца. Во-вторых, базальное образование NO повышается при действии на эндотелиоциты продуктов тромбоцитарного происхождения (серотонин, тромбин, аденозиндифосфат) и определенных аутокоидов (ацетилхолин, брадикинин, гистамин, субстанция P, вазопрессин, альфа-адренергические агонисты) [13].

В работах W.C. Sessa и соавт. (1993) было показано, что хронические физиологические нагрузки у собак индуцируют более сильное расширение коронарной артерии в ответ на кратковременную стимуляцию ацетилхолином, что было обусловлено повышением продукции NO вследствие экспрессии гена eNOS.

Существуют данные о вовлечении АКТГ как неспецифического механизма долговременной адаптации организма к различного рода стрессорным воздействиям в систему регуляции синтеза NO. Во многих работах приводятся свидетельства участия других стероидных гормонов (половых) в этом процессе [52]. Ген эндотелиальной NOS человека содержит в своей структуре нуклеотидные последовательности, соответствующие тем, на которые оказывают воздействие эстрогены и стрессорные агенты. Возможно, они представляют собой регуляторные элементы, имеющие функциональное значение в экспрессии гена NOS [53]. В работах С. Weiner и соавт. (1993), G.M. Rubanyi и соавт. (1993) описан положительный эффект 17 β -эстрадиола на уровень образования NO в головном мозге, почках, сердце и скелетных мышцах морских свинок; показано также, что введение небольших доз 17 β -эстрадиола вызывает у крыс увеличение базального уровня NO. Аналогичный эффект давал эстроген, который вызывал экспрессию м-РНК конститутивных форм

Таблица 1

Основные типы изоформ NO-синтазы

Нейрональная (тип 1)	Макрофагальная (тип 2)	Эндотелиальная (тип 3)
Локализация		
Центральная и периферическая нервная система	Макрофаги, миокард, гладкая мускулатура	Эндотелий сосудов, миокард
Характер активации		
Конститутивная, активна в нормальных условиях	Индукцибельная, в нормальных условиях неактивна	Конститутивная, активна в нормальных условиях
Основные функции		
Синтезирует NO для синаптической передачи нервных импульсов	Обеспечивает NO-зависимую бицидную функцию макрофагов	Регулирует тонус гладкомышечных клеток сосудистой стенки

NOS в ЦНС и в клетках эндотелия. Их инкубация с 17β -эстрадиолом в течение 16 – 24 ч. вызывала дозозависимое увеличение содержания м-РНК NOS и уровня образования NO в ответ на стимуляцию ацетилхолином [46].

В последние годы раскрыты механизмы действия андрогенов на эрекцию: обнаружено, что NOS является андрогензависимым ферментом [54]; у животных с гипогонадизмом снижена экспрессия NOS в кавернозных телах, а терапия тестостероном приводит к восстановлению ее экспрессии [57]. Дополнительным указанием на андрогензависимость NOS является обнаружение рецепторов к андрогенам в нервных клетках тазовых парасимпатических ганглиев, в которых происходит синтез NO [56], а также стимуляция синтеза NO в ганглиях под влиянием андрогенов. В работе D. Vernet и соавт. (1995) было показано, что у мужчин с СД и эректильной дисфункцией низкий уровень NO строго коррелировал с плазменным уровнем тестостерона. Таким образом, экспрессия конститутивной формы NO-синтазы необходима прежде всего для участия NO в регуляции сосудистого тонуса и синаптической передачи нервного импульса.

Макрофагальная форма NOS – индуцибельный фермент, в нормальных условиях неактивен, является кальций-, кальмодулиннезависимым, способен продуцировать NO в большом количестве в ответ на действие эндотоксинов и некоторых цитокинов. Оксид азота, продуцируемый в результате активации NO-синтазы, прежде всего предназначен для защиты организма человека. Он способствует снижению активности провоспалительных клеток, гибели микроорганизмов и внутриклеточных паразитов, тормозит агрегацию тромбоцитов и улучшает местное кровообращение [12, 34]. Однако, в случае чрезмерной активации iNOS образуемый в избытке NO способен повреждать собственные клетки.

В настоящее время накоплен большой материал о механизме регуляции активности iNOS в макрофагах [9, 31, 40] и гладкомышечных клетках [26, 29, 34], об участии вторичных мессенджеров было показано на культуре мезангиальных клеток, протеинкиназ и цитокинов в регуляции синтеза NOS. Так,

в работе D. Kunz и соавт. (1993) что интерлейкин – 1β и вещества, увеличивающие концентрацию цГМФ, индуцируют экспрессию гена iNOS, что приводит к увеличению активности фермента и образованию NO. Установлено, что кроме интерлейкина-1 синтез iNOS индуцируется интерфероном- γ , фактором некроза опухолей, липополисахаридами грамотрицательных бактерий [26]. Пик продукции этой формы NOS достигается, по одним источникам, через 6 ч., по другим – через 12 ч. после начала действия индуктора. К этому времени независимая от кальция продукция NO достигает уровня, при котором начинает сказываться влияние NO не только на гуанилатциклазу, но и на железосодержащие компоненты дыхательной цепи митохондрий, на аконитазу, рибонуклеотидредуктазу. В результате этого в клетках, подвергнутых действию избыточного количества NO, нарушается энергетический обмен и синтез ДНК. В организме эта способность оксида азота используется для уничтожения опухолевых клеток макрофагами [43], которые не только сами производят NO, но и секретируют фактор некроза опухолей, вызывающий индукцию NOS в опухолевых и других клетках. Активация iNOS имеет место при болезнях иммунной системы, сердечно-сосудистых заболеваниях, злокачественных заболеваниях [9], острых и хронических воспалениях [64]. Изучены некоторые механизмы подавления активности iNOS. Установлено, что изоформы трансформирующего фактора роста (TGF)- $\beta 1$, $\beta 2$ и $\beta 3$, тромбоцитарный фактор роста (PDGF), интерлейкин (IL)-4 и -8 являются сильными ингибиторами синтеза NO. Подавление экспрессии iNOS впервые было показано в культуре макрофагов при инкубации с TGF- β и в дальнейшем в мезангиальных клетках, гладкомышечных клетках сосудов и кардиомиоцитах [44, 55]. Супрессия iNOS была обнаружена и в кератиноцитах под влиянием эпидермального фактора роста, в гладкомышечных клетках под влиянием тромбоцитарного фактора роста, в нейтрофилах под влиянием IL-8, в макрофагах под влиянием IL-4. Таким образом, NO-синтаза представляет собой один из самых регулируемых в биологии ферментов, в связи с чем система генера-

Таблица 2

Взаимодействие NO с клеточными и внеклеточными мишенями

Тип мишени	Действие
Железосодержащие ферменты и белки (ГЦ, NOS, гемоглобин; ферменты: митохондрий, цикла Кребса, синтеза белка)	Цитотоксический эффект макрофагов, расслабление мышц сосудов и ЖКТ, перенос кислорода, образование АТФ, нервная передача
SH-группы, содержащие ферменты и белки (гемоглобин, факторы транскрипции)	Регуляция активности SH-содержащих ферментов, регуляция синтеза белка
Активные формы кислорода (супероксидный радикал)	Септический и геморрагический шок, ишемические язвенные повреждения органов

ции NO является наиболее чувствительной к изменениям, происходящим в организме.

Оксид азота, синтезированный в клетке, очень быстро связывается со своими клеточными мишенями (табл. 2). Существует три группы мишеней для NO.

1. Железосодержащие белки и ферменты, такие как гуанилатциклаза, NO-синтаза, гемоглобин, митохондриальные ферменты и ферменты цикла Кребса, синтеза белка и ДНК. Связывание NO с железосодержащим участком фермента приводит к изменению его активности. Взаимодействие NO с этими мишенями играет роль в цитотоксическом действии макрофагов [9, 31, 40], расслаблении мышц сосудов и ЖКТ [31, 40], переносе кислорода, образовании АТФ и формировании долговременной памяти.

2. Белки, содержащие SH-группы. Активность большого количества ферментов зависит от образования дисульфидных мостиков. Благодаря взаимодействию с SH-группами NO может регулировать такой важный процесс для клетки, как биосинтез белка.

3. Активные формы кислорода. NO связывается с кислородом, образуя пироксинитриты, по токсичности во много раз превосходящие NO. Они играют важную роль во многих патофизиологических процессах, включая язвенные и ишемические повреждения тканей, септический шок.

В настоящее время особый интерес вызывает выявляемая на уровне трансляции способность NO индуцировать синтез ряда важнейших белков и ферментов. Это – белки антиоксидантной защиты, белок Р 53, ответственный за блокирование злокачественного роста опухолевых клеток [9, 23, 25]. Кроме того, важная роль отводится NO в стимулировании или подавлении активности многих белков и ферментов (гуанилатциклазы, рибонуклеотидредуктазы, компонентов дыхательной цепи и гликолиза).

С начала 90-х годов стали появляться важные доказательства того, что NO вовлечен в регуляцию активности генетического аппарата как на уровне факторов транскрипции [4, 10], так и на уровне самих механизмов транскрипции [5] и трансляции мРНК [7].

Полученные данные о значительных изменениях в продукции NO при стрессе и адаптации к разным факторам позволили предположить важную роль NO в стрессорных и адаптивных ответах организма.

Выдвинута гипотеза о том, что NO участвует в регуляции стресс-реакции, ограничивая ее чрезмерную активацию и повреждающие эффекты как на центральном, так и на периферическом уровне. NO модулирует секрецию основных гипофизарных стресс-гормонов, таких как пролактин [11, 15], лютеинизирующий гормон [18], КРФ [16], вазопрессин [17] и гормон роста [19]. NO ограничивает выброс симпатических медиаторов как на уровне надпочеч-

ников [22], так и на уровне нервных окончаний [23]. Один из защитных эффектов NO связан с его способностью увеличивать активность антиоксидантных ферментов [25] и экспрессию кодирующих их генов [2]. Кроме того, сама молекула NO обладает антиоксидантными свойствами. Эти механизмы могут лежать в основе ограничения активации свободнорадикального окисления при стрессе.

Имеются данные, что NO может предупреждать повышение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} [26], ограничивая его повреждающие эффекты на сердечно-сосудистую систему. В зависимости от длительности воздействия и концентрации NO он способен стимулировать или подавлять синтез простагландинов, участвующих в механизмах повреждения мембран. Наконец, данные о ключевой роли NO в предупреждении агрегации и адгезии тромбоцитов [31] позволяют предположить, что NO может участвовать в снижении осложнений при ишемических повреждениях мозга и сердца.

Кроме того, установлено, что NO играет роль не только в стресс-реакции, но и может быть вовлечен в механизмы специфического повреждения. В зависимости от природы действующего фактора эти повреждения могут быть обусловлены либо гипо-, либо гиперпродукцией NO. Так, например, гипопродукция NO может возникать под действием высоких концентраций глюкозы [11], липопротеинов низкой плотности [32] и ишемии [33], что приводит к повышению тонуса сосудов, свертываемости крови и снижению иммунитета и, таким образом, вносит вклад в развитие сахарного диабета, гипертензии, тромбозов, ишемической болезни сердца, инфекционных заболеваний и опухолевого роста [34].

Гиперпродукция NO вызывает избыточную вазодилатацию и угнетение вазоконстрикции, что является важным звеном патогенеза острой гипотензии при тепловом [35], кардиогенном [36], септическом и других видах шока [34]. Представленные данные свидетельствуют о двойной роли NO в организме человека. С одной стороны, NO участвует в регуляции физиологических функций организма, с другой – активно содействует развитию патологических процессов.

Таким образом, за относительно короткий промежуток времени с начала 80-х до 90-х годов была доказана важная роль NO в регуляции основных систем организма, что свидетельствует об универсальном значении NO для биологических систем и является предпосылкой для становления новой области биологии – биологии NO.

Роль NO в развитии СД типа 1

Благодаря исследованиям последних лет получены данные, позволяющие расширить наши пред-

ставления о механизмах патогенеза аутоиммунного сахарного диабета (СД) и его осложнений. Изучение биологической значимости оксида азота явилось значительным прорывом в понимании механизмов деструкции β -клеток поджелудочной железы.

Роль эндогенного NO при СД интересна с двух точек зрения: с одной стороны, как фактора, способного индуцировать само заболевание — сахарный диабет, с другой, как фактора, провоцирующего развитие микрососудистых осложнений СД. В первом случае молекула NO выступает в роли цитотоксина, повреждающего инсулинпродуцирующие β -клетки поджелудочной железы; во втором случае — как вазоактивный фактор [50].

Установлено, что именно оксиду азота, который образуется в островках и β -клетках поджелудочной железы, принадлежит важная роль в механизмах разрушения и гибели β -клеток, что и приводит к резкому уменьшению их количества и развитию СД 1 типа.

Центральная роль в инициации каскада иммунных реакций, приводящих к деструкции β -клеток поджелудочной железы, принадлежит макрофагам. Активирование макрофагов осуществляется несколькими путями: взаимодействием с липополисахаридами (ЛПС), γ -интерфероном (γ -ИФН) или фактором некроза опухолей (ФНО), что сопровождается высвобождением большого количества оксида азота и цитокинов (IL-1), которые индуцируют экспрессию iNOS, а последняя, в свою очередь, оперирует уже непосредственно в β -клетках, способствуя образованию оксида азота из L-аргина. Образование оксида азота сопровождается значительным повышением нитритов, которые, по мнению многих исследователей, также участвуют в механизмах повреждения β -клеток (схема 3).

Оксид азота, образуемый макрофагами, функционирует как специфическая эффекторная молекула, но также может участвовать в деструкции β -клеток. Однако основное повреждающее значение принадлежит оксиду азота, который образуется непосредственно

в β -клетках. Так, J.A. Corbett и соавт. (1995) показали, что экспрессия iNOS в макрофагах и образование ими оксида азота не оказывает непосредственного повреждающего эффекта на функцию островка, в то же время влияет на экспрессию iNOS в β -клетках и образование здесь оксида азота, приводя к апоптозу β -клеток.

Экспрессия iNOS в β -клетках индуцируется IL-1, который связывается с соответствующим рецептором, локализованным на мембране β -клетки. Комплексообразование IL-1 со своим рецептором на β -клетке происходит при участии специфического белка — антагониста рецептора IL-1 (БАРИ). В регуляцию экспрессии мРНК iNOS вовлечены транскрипционные регуляторы c-fos, c-jun и ядерный фактор NF-kB. Установлено также, что ген iNOS локализуется на 11-й хромосоме в непосредственной близости от полиморфной области, кодирующей синтез инсулина, что позволяет предполагать сопряженность и вовлечение этих двух областей 11-й хромосомы в патогенез сахарного диабета типа 1. [1]

Об участии оксида азота в деструкции β -клеток свидетельствуют работы, где было показано, что в β -клетках трансгенных мышей, у которых развивается СД типа 1, определяется повышенная экспрессия iNOS, что свидетельствует об избыточном образовании оксида азота [61] и развитии СД у этих животных без признаков инсулита.

Роль NO в развитии сосудистых осложнений сахарного диабета

Результаты различных исследований свидетельствуют о том, что СД сопровождается дисфункцией эндотелия сосудов и последний теряет способность к адекватному синтезу вазодилаторов. Наряду со снижением концентрации вазодилаторов четко возрастает уровень вазоконстрикторов и прокоагулянтов.

Поддержание нормальной скорости кровотока и состояния тонуса сосудистой стенки координируют несколько систем организма. Решающую роль в поддержании гемостаза и нормальной гемодинамики играет эндотелий, который с полным правом можно отнести к эндокринным тканям организма, так как он является местом образования различных соединений и гормонов, в том числе участвующих в поддержании тонуса сосудов. Так, нарушение функции сосудистого эндотелия влияет на содержание как вазоконстрикторов, наиболее важными среди которых следует считать эндотелин-1, ангиотензин II и тромбоксан A2, так и вазодилаторов, таких как простагландин и оксид азота.

В развитии диабетической ретино- и нефропатии важная роль отводится нарушению соотношения вазоактивных факторов, что приводит к нарушению

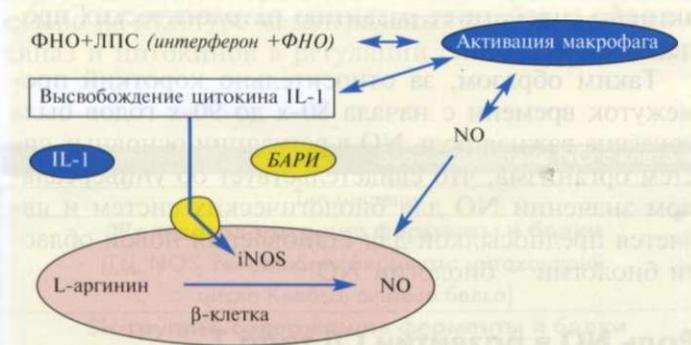


Схема 3. Механизм активации макрофага островка. Высвобождение цитокинов и индукция iNOS (по J.A. Corbett, 1995)

ауторегуляции тонуса сосудов сетчатки и повреждению внутрисосудистой гемодинамики соответственно. В экспериментальных работах было показано, что NO расслабляет тонус преимущественно приносящей (афферентной) артериолы клубочка, не влияя на тонус выносящей (эфферентной) артериолы. Подобная дисрегуляция тонуса артериол приводит к увеличению клубочкового кровотока (гиперфузии почек) и установлению высокого градиента внутриклубочкового гидростатического давления (внутриклубочковой гипертензии), что сопровождается выраженным повышением СКФ (гиперфильтрацией). Именно эти изменения внутрисосудистой гемодинамики характеризуют первую функциональную стадию диабетической нефропатии [8].

Исследования N. Bank и соавт. (1993), проведенные на крысах со стрептозотоциновым СД, и клинические исследования M. Rein (1994) у больных СД типа I свидетельствуют о гиперпродукции ЭДФР/NO на ранних стадиях сахарного диабета и его роли в развитии и поддержании гиперфильтрации.

В клинических исследованиях М.В. Шестаковой и соавт. (1994, 1995) выявлена повышенная активность NOS у больных сахарным диабетом на различ-

ных стадиях диабетической нефропатии, но максимальная активность этого фермента также была отмечена у больных на стадии гиперфильтрации.

Принимая во внимание имеющиеся в литературе данные об участии NO в развитии и прогрессировании сосудистых осложнений сахарного диабета, огромный интерес представляет изучение вклада этого соединения в формирование синдрома диабетической стопы (СДС).

Периферическая нейропатия является одним из основных факторов риска поражения нижних конечностей при СД. В основе патогенеза диабетической нейропатии лежат две основные теории: сосудистая и метаболическая. Причем, если ранее больше внимания и соответственно больший удельный вес приписывали сосудистым изменениям, объединенным в понятие диабетической микроангиопатии, то сегодня результаты ряда исследований свидетельствуют в пользу тесной взаимосвязи метаболических сдвигов и состояния эндоневрального кровотока. Установлено, что именно изменение продукции NO является причиной нарушения микроциркуляции в питающих нервы сосудах.

Экспериментальные и клинические исследования свидетельствуют, что длительная гипергликемия спо-



Схема 4. Патогенетические звенья развития диабетической нейропатии

способствует активизации полиолового пути обмена глюкозы, в ходе которого происходит истощение запасов НАДФ, являющегося облигатным кофактором эндотелиальной NO-синтазы. В условиях повышенного уровня свободных радикалов NO быстро инактивируется и усугубляет нарушения эндотелия сосудов. Увеличение активности диацилглицерина и протеинкиназы C, ингибируя эндотелиальную NO-синтазу, также препятствует синтезу NO. Конечные продукты гликирования (КПГ), снижая доступность или активность оксида азота, являются дополнительным фактором дисфункции эндотелия. Таким образом, снижение образования NO отражается на состоянии интраневрального кровотока, возникает состояние хронической ишемии нерва, что способствует нарушению скорости распространения возбуждения по нервному волокну (схема 4).

Еще одним механизмом, определяющим первые функциональные расстройства периферической нервной системы в ответ на гипергликемию, является опосредованная NO регуляция интраневрального кровотока путем модулирования симпатического тонуса сосудов. Так, установлено, что в симпатичес-

ких ганглиях NO выступает в роли ингибиторного нейротрансмиттера, подавляющего выделение ацетилхолина (Ах) из преганглионарных нейронов [60]. Снижение синтеза NO в вегетативных ганглиях способствует ослаблению ингибиторного контроля над синтезом Ах, что в свою очередь приводит к гиперпродукции норадреналина постганглионарными волокнами и последующей стойкой вазоконстрикции интраневральных сосудов.

Таким образом, существующие на сегодняшний день знания о многогранных свойствах NO позволили расширить наши представления о механизмах развития СД I типа. Определен вклад этого соединения в патогенез микрососудистых осложнений диабета. Однако некоторые вопросы, касающиеся, например, взаимосвязи цитостатических и цитотоксических свойств NO с образованием язвенных дефектов стоп у больных СД остаются малоизученными. В связи с этим представляет несомненный интерес дальнейшее исследование свойств NO для понимания патогенеза осложнений СД и его использования в клинической практике.

Литература

1. Балаболкин М.И. Патогенез сахарного диабета типа 1. // В кн.: Диабетология. – М. «Медицина» – 2000. – С. 199 – 217.
2. Ванин А.Ф., Манухина Е.Б., Лапшин А.В., Меерсон Ф.З. Усиление синтеза оксида азота в стенке аорты при экспериментальном инфаркте миокарда. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1993. – N. 8. – С. 142 – 144.
3. Ванин А.Ф. NO в биологии: история, состояние и перспективы исследований. // Биохимия. – 1998. – Т. 63, вып. 7. – С. 966 – 975.
4. Ванин А.Ф. Динитрозильные комплексы железа и S-нитрозотиолы – две возможные формы стабилизации и транспорта оксида азота в биосистемах. // Биохимия. – 1998. – Т. 63, вып. 7. – С. 924 – 938.
5. Волин М.С., Дэвидсон К.А., Камински П.М., Фейнгерш Р.П., Мохазаб-Х К.М. Механизмы передачи сигнала оксидант-оксид азота в сосудистой ткани. // Биохимия. – 1998. – Т. 63, вып. 7. – С. 958 – 965.
6. Голиков П.П., Голиков А.П. Роль оксида азота в патологии. // Международный Медицинский Журнал ТОП медицина. – 1999. – N. 5. – С. 24 – 27.
7. Голубев А.Г. Окись азота (NO) в ЦНС. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1994. – Т. 117. – N. 2. – С. 201.
8. Дедов И.И., Шестакова М.В. «Медиаторы» прогрессирования диабетической нефропатии. // В кн.: Диабетическая нефропатия. – М. «Универсум Паблшинг» – 2000. – С. 66 – 79.
9. Маеда Х., Акаике Т. Оксид азота и кислородные радикалы при инфекции, воспалении и раке. // Биохимия. – 1998. – Т. 63, вып. 7. – С. 1007 – 1019.
10. Малышев И.Ю. Введение в биохимию оксида азота. Роль оксида азота в регуляции основных систем организма. // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1997. – N. 1. – С. 49 – 55.
11. Малышев И.Ю., Манухина Е.Б. Стресс, адаптация и оксид азота. // Ж. Патологической физиологии и экспериментальной терапии. – 1998. – Т. 63, вып. 7. N. – С. 992 – 1006.
12. Невзорова В.А., Зуга М.В., Гельцер Б.И. Роль оксида азота в регуляции легочных функций. // Терапевтический архив. – 1997. N. 3. – С. 68 – 73.
13. Недоспаев А.А. Биогенный NO в конкурентных отношениях. // Биохимия. – 1998. Т. 63, вып. 7. – С. 881 – 904.
14. Поленов С.А. Окись азота в регуляции функций желудочно-кишечного тракта. // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1998. – N1. – С. 53 – 61.
15. Фищенко А.Д., Верткин А.Л., Мартынов А.И. Применение нитратов в лечении ишемической болезни сердца. // Кардиология. – 1996. – Т. 36. – N. 6. – С. 88 – 97.
16. Цапин А.И., Степанович М.Ю., Либе М.Л., Гулеева Н.В. Определение NO-синтазы в мозгу. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1994. – Том. 117. – N. 1. – С. 39 – 41.
17. Цыганин А.А., Медвинская Н.А., Козяр В.В. Влияние окиси азота на окислительное фосфорилирование митохондрий сердца, печени, мозга, почек и АТФ-азную активность актиномиозина миокарда. // Анестезиология и реаниматология. – 1991. – N. 2. – С. 7 – 8.
18. Чирков Ю.Ю., Белушкина Н.Н., Тыщук И.А., Северина И.С. // Вестн. АМН СССР. – 1991. – N. 10. – С. 51 – 54.
19. Шебеко В.И., Родионов Ю.Л. Ингибирование Носинтазы вызывает устойчивую прессорную реакцию в условиях 10-минутной внутривенной инфузии ангиотензина двум наркотизированным крысам. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1993. N. 11. – С. 479 – 480.
20. Шестакова М.В., Северина И.С., Дедов И.И. и соавт. Эндотелиальный фактор релаксации в развитии диабетической нефропатии. // Вестн. Акад. Мед. Наук – 1995. – N. 5. – С. 30 – 34.
21. Шестакова М.В., Кутырина И.М., Рагозин А.К. Роль сосудистого эндотелия в регуляции почечной гемодинамики. // Тер. Архив. – 1994. – N2. – С. 83 – 86.
22. Albert J., Wallen H., Li N., Frostell C., Hjemdahl P. Effects of nitric oxide inhalation on platelet function during systemic inhibition of endogenous NO production by L-NMMA. // Second International Congress, Stockholm, August 29-30. – 1997. – P. 53.
23. Aruoma O.I. Free radicals and antioxidant strategies in sports. // J. of Nutritional Biochem. – 1994. – Vol. 5. – N. 8. – P. 370 – 381.
24. Bank N., Aynedjian H. Role of EDRF (nitric oxide) in diabetic renal hyperfiltration. // Kidney Int. – 1993. – Vol. 43. – P. 1306 – 1312.
25. Beckman J.S., Chen J., Ischiropoulos H., Grow J.P. Oxidative chemistry of peroxynitrite. // Methods Enzymol. – 1994. Vol. 233. – P. 229 – 240.
26. Bluethmann H., Rothe J., Schulze N., Trachuk M., Koebel P. Establishment of the role of IL-6 and TNF receptor 1 using gene knockout mice. // J. of Leucocyte Biology. – 1994. – Vol. 63. – P. 175 – 195.

27. Brown J.F., Tepperman B.L., Whittle B.J.L., Moncada S. Differential distribution of nitric oxide synthase between cell fractions isolated from the red gastric mucosa. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1992. – Vol. 184. – N. 4. – P. 680 – 685.
28. Buttery L.D.K., Springall D.R., Evans T.J., Parums D.V., Standfield N., Polac J.M. Inducible nitric oxide synthase (iNOS) is present in atherosclerotic vessels and relates to the severity of the lesion. // *Endothelium*. (Suppl.) – 1995. – Vol. 3. – P. 37.
29. Cason B.A., Shubayev I., Hickey R.F. Blockade of adenosine triphosphate-sensitive potassium channels eliminates isoflurane-induced coronary vasodilatation. // *Anesthesiology*. – 1994. – Vol. 81. N. 5. – P. 1245 – 1255.
30. Corbett J.A., Wang J.L., Hughes J.H. et al. Nitric oxide and cyclic GMP formation induced by interleucin-1 in islets of Langerhans. Evidence for an effector role of nitric oxide in islet dysfunction. // *Biochem. J.* – 1992. Vol. 287. – P. 229 – 235.
31. Corraliza I.M., Campo M.L., Soler G., Modolell M. Determination of arginase activity in macrophages: a micromethod. // *J. of Immunol. Methods*. – 1994. – Vol. 174. – P. 1 – 2.
32. Drexler H., Hablawetz E., Lu W., Riede U., Christes A. Effects of nitric oxide formation on regional blood flow in experimental myocardial infarction. // *Circulation*. – 1992. – Vol. 86. – N. 1. – P. 255 – 262.
33. Ducala R., Trasey K.J., Cerami A. Advanced Glycosylation products quench nitric oxide and mediate defective endothelium-dependent vasodilatation in experimental diabetes. // *J. Clin. Invest.* – 1991. – Vol. 87. – N. 2. – P. 432 – 438.
34. Dudec R.R., Conforfo A., Bing R.J. Lysophosphatidylcholine-induced vascular relaxation of cGMP are mediated by endothelium-derived factor. // *Proceeding of the Society for Exper. Biol. And Medicine*. – 1993. – Vol. 203. – N. 4. – P. 474 – 479.
35. Ehring T., Baumgart D., Krajar M., Hummelgen M., Kompa S., Heusch G. Attenuation of myocardial stunning by the ACE inhibitor ramiprilat through a signal cascade of bradykinin and prostaglandins but not nitric oxide. // *Circulation*. – 1994. – Vol. 90. – N/ 3/ – P. 1368 – 1385.
36. Endelman D.T., Watanabe M., Maulik N., Cordis G.A., Endelman R.M., Rousou J.A. et al. L-arginine reduced endothelial inflammation and myocardial stunning during ischemia/reperfusion. // *Ann. Thorac. Surg.* – 1995. – Vol. 60. – N. 5. – P. 1275 – 1281.
37. Garthwaite J., Charles S.L., Chess-Williams R. Endothelium-derived relaxing factor release on activation of NMDA receptors suggest role as intercellular messenger in the brain. // *Nature*. – 1988. – Vol. 336. – P. 385 – 388.
38. Hamon M., Vallet B., Batters C., Wernert N., McFadden E.P., Lablanche J.M., Dupuis B., Bertrand M.E. Long-term oral administration of L-arginine reduces intimal thickening and enhances neoendothelium-dependent acetylcholine-induced relaxation after arterial injury. // *Circulation*. – 1994. – Vol. 90. – N. 3. – P. 1357 – 1362.
39. Hecker H., Alam T., Moonga B.S. et al. A role for endothelium-derived NO in bone resorption. // *J. Physiol.* – 1991. – Vol. 438. – P. 307.
40. Hibbs J.B., Varvin Z., Taintor R.R. L-arginin is required for expression of the activated macrophage effector mechanism causing selective metabolic inhibition in target cells. // *J. Immunology*. – 1987. Vol. 138. – P. 550 – 565.
41. Hibbs J.B., Taintor R.R., Vavrin Z., Rachlin E.M. Nitric oxide: a cytotoxic activated macrophage effector molecule. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1988. – Vol. 157. – P. 87 – 94.
42. Iyengar R., Stuehr D.J., Marletta M.A. Macrophage synthesis of nitrite, nitrate, and N-nitrosamines: precursors and role of the respiratory burst. // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 1987. – Vol. 84. – P. 6368 – 6373.
43. Keller R., Bassetti S., Keist R., Mulnsch A., Klausner S. Induction of NOS is a necessary precondition for expression of tumor necrosis factor- independent tumoricidal activity by activated macrophages. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1992. – Vol. 184. N. 3. – P. 1346 – 1371.
44. Ketteler M., Wayne A. Border, Nancy A. Noble. Cytokines and L-arginine in renal injury and repair. // *Am. J. Physiol.* – 1994. – Vol. 267. – P. F197 – F207.
45. Kunz D., Muhl H., Walker G., Pfeilschiffer J. // *Endothelium* (suppl.). – 1993. – Vol. 1. – S. 23. – P. 90.
46. Leier A.M., Schray-Ulz.B., Busse R. // *Endothelium* (suppl.). – 1993. – Vol. 1. – S. – 4. – P. 15.
47. Pein M., Ehler U., Marcks R. et al. Nitric-oxide-synthase activity in vitro is different in IDDM at high and low risk for the development of diabetic nephropathy. // *Diabetologia*. – 1994. – Vol. 37. (suppl. 1). – P. A4.
48. Palmer R.M.G., Ferrige A.G., Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. // *Nature*. – 1987. – Vol. 327. – P. 524 – 526.
49. Plane F., Garland C.J. Smooth muscle hyperpolarization and relaxation to acetylcholine in the rabbit basilar artery. // *J. of the Autonomic Nervous System*. – 1994. – Vol. 49. – P. S15 – S18.
50. Pfeilschiffer J. Does nitric oxide, an inflammatory mediator of glomerular mesangial cells, have a role in diabetic nephropathy? // *Kidney Int.* – 1995. – Vol. 48 (suppl. 51). – P. S50 – S61.
51. Rembish S.J., Yang Y.L., Trush M.A. Inhibition of mitochondrial superoxide generation in rat alveolar macrophages by 12-Otetradecanoylphorbol-13-acetate: potential role of protein kinase C. // *Research Communic. In Molecular Pathol. And Pharmacol.* – 1994. – Vol. 85. – N. 2. – P. 115 – 129.
52. Riedel M., Mugge a. Direct effects of estrogens on the vascular tone: characterisation and clinical importance. // *Zeitschrift fur kardiologia*. – 1994. – Vol. 83. – N. 10. – P. 768 – 774.
53. Robinson L.G., Thomas M. // *Endothelium* (suppl.). – 1993. Vol. 1. – S. 1. – P. 3.
54. Rossi P., Menchini Fabris F., Fiorini I. et al. // *Biomed Pharmacother.* – 1998. – Vol. 53. – N. 7 – 8. – P.308 – 310.
55. Rubanyi G.M., Kauser K. // *Endothelium* (suppl.). – 1993. – Vol. 1. – S. – 1. – P. 4.
56. Schirar A., Chang C., Rousseau J.P. // *J. Neuroendocrinol.* – 1997. – Vol. 9. – N. 2. – P. 141 – 150.
57. Shabsigh R. // *World J. Urol.* – 1997. – Vol. 15. – N. 1. – P. 21 – 26.
58. Sessa W.C., Pritchard K., Seyedi N. et al. // *Endothelium* (suppl.). – 1993. – Vol. 1. – S.1. – P.1.
59. Snyder S.H. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 1989. – Vol. 86. – P. 9030 – 9033.
60. Stevens M.J., Feldman E.L., Greene D.A. // *The aetiology of diabetic neuropathy: the combined roles of metabolic and vascular defects.* // *Diabetic medicine*. – 1995. – Vol. 12. – P. 566 – 579.
61. Takamura T., Kato I., Kimura N. et al. Transgenic mice overexpressing type 2 nitric-oxide synthase in pancreatic β cells develop insulin-dependent diabetes without insulinitis // *J. Biol. Chem.* – 1998. – Vol. 273. – P. 2493 – 2496.
62. Vernet D., Cai L., Garbin et al. // *Endocrinology*. – 1995. – Vol. 136. – P. 5709 – 5717.
63. Weiner C., Baylis S., Lizasoan J. et al. // *Endothelium* (suppl.). – 1993. – Vol. 1. – S. – 1. – P. 3.
64. Wildhirt S.M., Dudec R.R., Suzuki H., Pinto V., Narayan K.S., Bing R.J. Immunohistochemistry in the identification of nitric oxide synthase isoenzymes in myocardial infarction. // *Cardiovasc. Res.* – 1995. – Vol. 29. – N. 4. – P. 526 – 531.