

УДК 57(091)

**ОТКРЫТИЕ И ИССЛЕДОВАНИЯ ОКСИДА АЗОТА В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ:  
РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ<sup>1</sup>**

**А. И. Дударь**, Нижегородский государственный университет им. Н.И.  
Лобачевского (Нижний Новгород, Россия)  
e-mail: aid-queen@rambler.ru

**Аннотация.** Данная работа представляет собой анализ проведённых исследований оксида азота в российских и зарубежных научных центрах. Автор рассматривает исследования оксида азота от момента его открытия и до современных исследований, целью которых является использования NO в лечении различных заболеваний и травм.

**Ключевые слова:** оксид азота, открытие, исследования, история науки.

На основании современных представлений о регуляции клеточных процессов можно выделить некоторые химические соединения с полифункциональным физиологическим действием. К числу таких соединений можно с полным основанием отнести оксид азота. Исследования показали, что данный свободный радикал способен оказывать как активирующее, так и ингибирующее действие на различные метаболические процессы, которые протекают в организме человека и других млекопитающих.

Оксид азота — это газообразное соединение со свободным неспаренным электроном на внешней  $\pi$ -орбитали, по своей химической природе данное соединение относится к двухатомным нейтральным молекулам. Благодаря своим малым размерам и отсутствию у неё заряда, эта молекула обладает высокой проницаемостью через мембраны субклеточных структур и клеток [13]. Молекулы оксида азота способны к свободной диффузии в различных биологических средах и их жизнь достаточно продолжительна.

В 1987 году учеными было обнаружено, что оксид азота синтезируется различными клетками организма млекопитающих, в том числе и человека, что привело к открытию ранее неизвестной регуляторной системы организма - системы окиси азота [4], а в биологических науках возникло новое направление для исследования – биология NO [3].

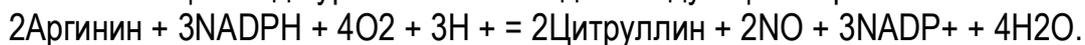
Ген эндотелиальной NO-синтазы – NOS3 кодирует фермент, который катализирует реакцию образования окиси азота (NO) из L-аргинина [16]. Аминокислота L-аргинин окисляется атомом кислорода в присутствии специфического фермента NO-

---

<sup>1</sup> Статья представлена Т.М. Хусяиновым (Нижний Новгород, Россия). Рецензент: А.Г. Соловьева, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отделения экспериментальной медицины ФГБУ "Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр" Минздрава России (Нижний Новгород, Россия).

синтазы, имеющей высокое сродство к аргинину ( $K_m$  находится в пределах микромолярных величин), что приводит к образованию из этого окиси азота [2].

В общем виде уравнение выглядит следующим образом:



Донором азота выступает азотсодержащая боковая цепь L-аргинина. В жидких средах организма окись азота проявляет свою бактерицидность и оказывает различные физиологические воздействия.

Длительное время NO считался соединением, которое вредно как для организма человека, так и для окружающей среды. Однако в ходе многочисленных исследований было установлено, что оксид азота, присутствуя в живых организмах в довольно больших концентрациях, управляет различными физиологическими процессами в организме млекопитающих.

Все началось в 1955 году с открытия, результаты которого были опубликованы Робертом Фрэнсисом Ферчготтом. Доктор Ферчготт, американский биохимик, профессор фармакологии из Государственного университета Нью-Йорка (SUNY) в городе Бруклин, проводя физиологические эксперименты с кровеносными сосудами, обнаружил расслабляющее действие, которое оказывает свет на аорту кролика. Это необъяснимое наукой, на тот момент, поведение аорты в ответ на действие на неё света стало объектом пристального внимания для него и других исследователей.

Далее, в 1961 году доктор Ферчготт опубликовал обзорную статью, в которой еще раз подробно осветил вопрос о расслабляющем действии видимого света на кровеносные сосуды. Результатом исследований Ферчготта, которые продолжались четверть века, явилось открытие в 1980 году, неизвестного ранее науке, физиологически активного вещества - эндотелиального фактора расслабления сосудов.

В 1980 году доктор Ферчготт обратил своё внимание на расслабляющее действие ацетилхолина на сосуды, на ту особенность, что это действие проявлялось только в тех случаях, когда сосуды были плохо очищены от эндотелиальных клеток, выстилающих внутреннюю поверхность сосудов. Ферчготт выдвинул гипотезу, что именно присутствие эндотелия в сосудах объясняло физиологический эффект ацетилхолина (АцХ). Пытаясь согласовать полученные в ходе исследований данные о различном характере воздействия лекарственных препаратов на кровеносные сосуды, доктор Ферчготт пришел к выводу, что эндотелиальные клетки вырабатывают неизвестную ранее "сигнальную молекулу", которая заставляет расслабляться гладкие мышечные клетки сосудов. Роберт Ферчготт назвал эту молекулу эндотелийзависимым релаксирующим фактором (EDRF) [6].

Через 10 лет, в 1991 году Ферчготт публикует целую серию статей, в которых он обосновывает утверждение, что предложенная им молекула EDRF - это не что иное, как молекула NO. То есть, под действием АцХ происходит процесс выброса окиси азота из эндотелия кровеносных сосудов, которая затем поступает в слой мышечных клеток. И именно молекула окиси азота оказывает расслабляющее действие на стенки сосудов. А относительно действия света и вызываемой им сосудистой релаксации выяснен тот же механизм высвобождения оксида азота, который, согласно исследованиям А.Ф. Ванина, существует в виде динитрозильных комплексов с различными белками.

Параллельно с работой Ферчготта, велись исследования в этой области и в СССР. Так, в 1965 году в журнале "Биофизика" была опубликована небольшая, но, как

позже оказалось, чрезвычайно важная статья под названием "Свободные радикалы нового типа в дрожжевых клетках", автор этой публикации - Анатолий Федорович Ванин, ныне профессор, доктор биологических наук, заведующий лабораторией Института химической физики Российской академии наук. В своей статье А.Ф. Ванин описывал радикалы неизвестной природы, обнаруженные в биологических объектах, которые никто в мире еще не наблюдал. В те годы СССР был лидером по созданию специального оборудования для обнаружения радикалов, основанного на явлении электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). Приборы для обнаружения радикалов, работающие на основе ЭПР, называются радиоспектрометрами. Именно такими приборами была оснащена тогда лаборатория, где работал Анатолий Федорович, который сегодня считается одним из признанных авторитетов в области ЭПР-спектроскопии [12].

Выявленное А.Ф. Ваниным явление связано со способностью радикалов, которые находятся в магнитном поле, избирательно поглощать энергию радиоволн. Неизвестная радикальная субстанция сначала была обнаружена в культурах дрожжей, а затем уже и в клетках животного происхождения. Стало ясно, что открыто совершенно новое вещество, которое присутствует во всех живых клетках. Работы Р. Ферчготта и А.Ф. Ванина открыли новое научное направление. Сейчас стало понятно, что открытые Анатолием Федоровичем неизвестные радикалы – не что иное, как молекулы оксида азота. Но в то время перед учёными встала задача выполнить немало сложнейших исследований, чтобы выяснить, какие именно радикалы подают необычный ЭПР-сигнал. Ясно было лишь одно - эти радикалы науке ещё неизвестны. Годы напряженных исследований позволили А.Ф. Ванину сделать второе открытие. Ему удалось доказать, что ЭПР-сигналы подают оксид азота, причем в комплексе с ионами железа и белками, содержащими сульфгидрильные группы, которые в будущем назвали "динитрозильные комплексы".

Доктор Луис Игнарро, в настоящее время профессор фармакологии Школы медицины Калифорнийского университета в Лос-Анджелесе, в результате серии сложных, с технической точки зрения, исследований, в 1986 году совершенно независимо от своего коллеги из Бруклина пришел к выводу, что эндотелийзависимый релаксирующий фактор идентичен оксиду азота. Результаты совместной работы Игнарро и Ферчготта произвели настоящую сенсацию в научном мире.

Ранние эксперименты доктора Игнарро с циклическим гуанилмонофосфатом (ГМФ) привели в 1992 году к открытию расслабляющего влияния оксида азота на гладкомышечные клетки сосудистой стенки. Профессор Игнарро первым показал, что механизм вазодилатирующего эффекта нитроглицерина и производных нитритов и нитратов реализуется через их метаболизм в оксиде азота и последующую стимуляцию синтеза ГМФ в гладкомышечных клетках сосудов. В результате, это привело к важному открытию свойства молекулы NO подавлять агрегацию тромбоцитов. Среди всего прочего, к заслугам профессора Луиса Игнарро следует отнести и открытие им посреднической роли окиси азота в регуляции эрекции, что стало причиной проведения революционных исследований в области патологии эректильной дисфункции у мужчин и разработке принципиально новых и эффективных фармакологических средств для ее лечения [5, С. 11].

Эксперименты Игнарро и Ферчготта были полностью подтверждены работами Фериды Мурада. Доктор Ф. Мурад, в настоящее время является профессором кафедры биохимии и молекулярной биологии Университета Джорджа Вашингтона (George Washington University). В своей работе он изучал механизм действия нитроглицерина и подобных ему сосудорасширяющих средств на стенки кровеносных сосудов. В 1977 году во время работы в Университете Вирджинии (University of Virginia) он обнаружил, что нитраты способствуют высвобождению оксида азота, который расслабляет гладкие мышечные клетки и приводит к расширению сосудов.

В середине 1970-х годов доктор Ферид Мурад сделал очень значимое открытие - он выяснил, что гуанилатциклаза, является одним из ключевых ферментов, управляющих жизнью клетки, и активируется при действии нитро- и нитрозосоединений. Ферид Мурад выдвигает гипотезы о том, что действующим активным началом этих соединений являются не они сами, а оксид азота, выделяемый из них, и подтверждает ее экспериментально. В это же время А.Ф. Ванин изучает биологическое действие динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ) и доказывает, что они обладают мощным гипотензивным действием - расслабляют кровеносные сосуды. Также, А.Ф. Ванин предложил метод обнаружения NO в органах и тканях, который затем получил широкое распространение. Следующий его шаг не менее важен. Он первым выдвигает гипотезу и обосновывает, что EDRF имеет прямое отношение к оксиду азота. В подобных спорных случаях, первенство в совершении открытия устанавливается исходя из того, чьи научные результаты раньше увидели свет. А.Ф. Ванин, получив данные, что EDRF имеет отношение к оксиду азота, в 1985 году решил их опубликовать в журнале "Бюллетень экспериментальной биологии и медицины", но его статья была опубликована только через 3 года после подачи. В это время в зарубежных научных изданиях растет число публикаций по этой теме. В 1986 году такие же данные получили американские исследователи Ферчготт и Игнарро, а в 1987 году - Сальвадор Монкада. Последний убедительно показал, что в состав EDRF входит оксид азота, и немедленно опубликовал свои данные в международном журнале "Nature". Все эти статьи были опубликованы раньше, чем оригинальная статья Анатолия Федоровича Ванина.

В 1992 году из-за необычайного количества исследований в этой области Американская ассоциация развития науки и научный журнал "Science" назвали оксид азота молекулой года [6].

10 декабря 1998 года трем ученым из США Роберту Ф. Ферчготту, Луису Дж. Игнарро и Фериду Мураду была вручена Нобелевская премия в области физиологии и медицины за "Открытие роли оксида азота как сигнальной молекулы в регуляции сердечно-сосудистой системы".

Нобелевской премией были отмечены настойчивые усилия ученых, направленные на подтверждение главных биологических эффектов, которые оказывает окись азота — эндогенный газ и одновременно свободный радикал. Научные исследования проведенные нобелевскими лауреатами доказали решающую роль, которую оксид азота играет в фундаментальных биологических процессах, таких как регуляция артериального давления, иммунитета и деятельности центральной нервной системы.

Несмотря на то, что А.Ф. Ванин не удостоен Нобелевской премии, его авторитет как основоположника нового научного направления общепризнан, вряд ли кто усомнится, что все началось с основополагающих открытий Ферчготта и А.Ф. Ванина.

Именно они были пионерами в установлении всеобъемлющей роли оксида азота в живой природе.

В результате дальнейших исследований было выяснено, что оксид азота:

1. не только выступает в роли стимулирующего агента при расширении просвета сосудов, но и участвует в их ремоделировании, а также образовании новых [15];
2. необходим для нормальной работы сердца и центральной нервной системы [1];
3. противодействует образованию злокачественных клеток [4, 9];
4. принимает участие в регуляции ПОЛ: в физиологических концентрациях NO выступает как антиоксидант, который тормозит развитие радикальных окислительных реакций, связываясь со свободными и входящими в состав гема ионами  $Fe^{2+}$  и ингибируя разложение перекисей [8, 9];
5. является регулятором деятельности желудочно-кишечного тракта, мочеполовой системы и органов дыхания [10];
6. ускоряет заживление ран и образование новой костной ткани [14];
7. способен минимизировать пагубное воздействие стрессовых гормонов [7];

Несмотря на то, что известно о роли NO как передатчика сигналов в сердечно-сосудистой и нервной системах, уже ни одно десятилетие, использование этих знаний в клинической практике только набирает обороты.

### Литература:

1. Башкатова В.Г., Раевский К.С. Оксид азота в механизмах повреждения мозга, обусловленных нейротоксическим действием глутамата // Биохимия. 1998. Т. 63. Вып. 7. С. 1020-1028.
2. Ванин А.Ф. Нобелевская премия 1998 г. по физиологии и медицине // Природа. 1999. №1. С. 1-7.
3. Ванин А.Ф. Оксид азота и его обнаружение в биосистемах методом электронного парамагнитного резонанса // Успехи физических наук. 2000. Т. 170. №4. С. 455-458.
4. Виноградов Н.А. Антимикробные свойства окиси азота и регуляция ее биосинтеза в макроорганизме// Антибиотики и химиотерапия. 1998. №43. Том 2. С.24-29.
5. Доровских В.А., Баталова Т.А., Сергиевич А.А., Уразова Г.Е. Оксид азота в химии, биологии и медицине. Благовещенск: АГМА, 2008. 40с.
6. Кузнецова В.Л., Соловьева А.Г. Оксид азота: свойства, биологическая роль, механизмы действия // Современные проблемы науки и образования. 2015. №4. С. 462.
7. Малышев И.Ю., Манухина Е.Б. Стресс, адаптация и оксид азота // Биохимия. – 1998. - Т. 63. - № 7. - С. 992-1006.
8. Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Перетягин С.П., Плеханова А.Д. Изучение биологических эффектов высоких доз газообразного оксида азота *in vitro* // Биорадикалы и антиоксиданты. 2014. Т.1. №1 (1). С. 34-46.
9. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Реутов В.П. Оксид азота и NO-синтазы в организме млекопитающих при различных физиологических состояниях // Биохимия. 2000. Т. 65. Вып.4. С. 485-503.
10. Невзорова В.А., Зуга М.В., Гельцер Б.И. Роль окиси азота в регуляции легочных функций // Терапевтический архив 1997. №3. С. 68-73.

11. Паршина С.С., Афанасьева Т.Н., Тупикин В.Д. Биологические эффекты оксида азота в развитии сердечно-сосудистой патологии как основа применения терагерцевой терапии // Бюллетень медицинских интернет-конференций. 2012. №6. С. 446-452. URL: <http://cyberleninka.ru/article/n/biologicheskie-effekty-okside-azota-v-razviti-kardiovaskulyarnoy-patologii-kak-osnova-primeneniya-teragertsovoy-terapii>
12. Петренко Ю. Окись азота и судьба человека // Наука и жизнь. 2001. №7. URL: <http://www.nkj.ru/archive/articles/6410/>
13. Рябов Г.А., Азизов Ю.М. Роль оксида азота как регулятора клеточных процессов при формировании полиорганной недостаточности // Анестезиология и реаниматология. 2001. № 1. С. 8-13.
14. Соловьева А.Г. Влияние ингаляций оксида азота на биохимические показатели крови при экспериментальной термической травме // Амурский медицинский журнал. 2015. Т. 12. №4. С. 181-183.
15. Стокле Ж.-К., Мюлле Б., Андрианцитохайна Р., Клещев А. Гиперпродукция оксида азота в патофизиологии кровеносных сосудов // Биохимия. 1998. Т. 63. № 7. С. 976-983.
16. Федоров Д.А. NOS 3 как «Ген дожития» мужчин северо-запада России // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. 2013. №12-3. С. 81-83.



Dudar' A.I. Otkrytie i issledovanija oksida azota v biologicheskikh sistemah: retrospektivnyj analiz // Nauka. Mysl'. - № 6. – 2015.

© А. И. Дударь, 2015.  
© «Наука. Мысль», 2015.

— • —

**Abstract.** This paper presents an analysis of the survey of nitric oxide in Russian and foreign scientific centers. The author considers the research of nitric oxide from the moment of its opening up to modern research, the purpose is to use NO in the treatment of various diseases and injuries.

**Keywords:** nitric oxide discovery, research, history of science.

— • —

### Сведения об авторе

Анна Ивановна **Дударь**, аспирант Института биологии и биомедицины Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского.

— • —

Подписано в печать 10.11.2015.  
© Наука. Мысль, 2015.