

## A nitrogén-monoxid szintézis és annak medicinális vonatkozásai

Írta: dr. Hrabák András egyetemi docens, Orvosi Vegytani, Mol. Biol., Pathobiok. Int.

Az aminosavak nemcsak a fehérjék építőköveiként, hanem számos más molekula prekursoraiként is fontos szerepet töltenek be. Az arginin egyike azon aminosavaknak, amelyek több alternatív reakcióút kiinduló vegyületei. Ezek közül a reakcióutak közül az utóbbi másfél évtized kutatásainak egyik fő tárgyát a nitrogén-monoxid (NO) szintézise és ez utóbbi molekula biológiai-orvosi jelentőségének vizsgálata képezi.

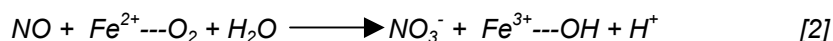
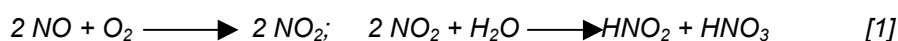
*A téma jelentőségét mutatja, hogy az NO-val kapcsolatos tudományos közlemények száma 1985 óta megsokszorozódott; a Science amerikai tudományos folyóirat 1992-ben az NO-t az "Év molekulája"-ként említette évvégi vezércikkében, 1998-ban pedig már át is adták az első olyan orvosi Nobel-díjat három amerikai kutatónak, amelyet a nitrogén-monoxiddal kapcsolatos eredményekért ítéltek oda.*

A konzultációs anyag természetesen korlátozott terjedelmű, ezért elsősorban az NO kémiai, biokémiai, élettani sajátágaival foglalkozunk, a fiziológiai és patológiai vonatkozások inkább csak említésre kerülnek, anélkül, hogy azok mélyebb hatásmechanizmusát tárgyalnánk.

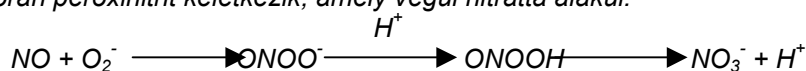
### A nitrogén-monoxid kémiája

A nitrogén-monoxid az egyik legegyszerűbb biológiai funkcióval rendelkező molekula, gáz halmazállapotú, színtelen, vízben kismértékben oldódik. Molekulatömege mindössze 30, kétatomos paramágneses szabadgyök. A gyök-jelleget egy lazító orbitálon elhelyezkedő páratlan spínű elektron okozza, ennek tulajdonítható a molekula rövid életideje és erős reakcióképessége. A páratlan elektront könnyen leadja, ekkor a nitrogénnel izoelektronos  $\text{NO}^+$  (nitrozónium) kation képződik, egy elektron felvételével pedig az oxigén molekulával izoelektronos  $\text{NO}^-$  (nitroxil) anion keletkezik, amely biradikális sajátosságú.

*A molekula reakciói közül kiemeljük az oxidációt, melynek során nitrition, ennek továbboxidálásával pedig nitráton jöhet létre. A nitrát képződése különösen akkor kerül előtérbe, ha a rendszerben ferro-vas van jelen, ez a helyzet pl. a vérben, ahol az oxihemoglobin alakul át ilyen reakcióban methemoglobinná. Ezeknek a reakcióknak az a jelentőségük, hogy az NO kimutatásának legegyszerűbb módszerei ezeken alapulnak (l. később):*



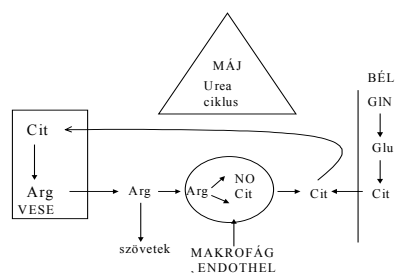
*A nitrogén-monoxid másik legfontosabb reakciója, hogy képes a szuperoxid gyök-ionnal reagálni, ennek során peroxinitrit keletkezik, amely végül nitráttá alakul:*



*A peroxinitrit tiolok és lipidek peroxidációját idézheti elő, hidroxilgyök képződésében vehet részt, ezért az NO citotoxikus hatásainak egy részéért ezt a molekulát teszik felelőssé.*

## Az arginin forrása az emlős szervezetben

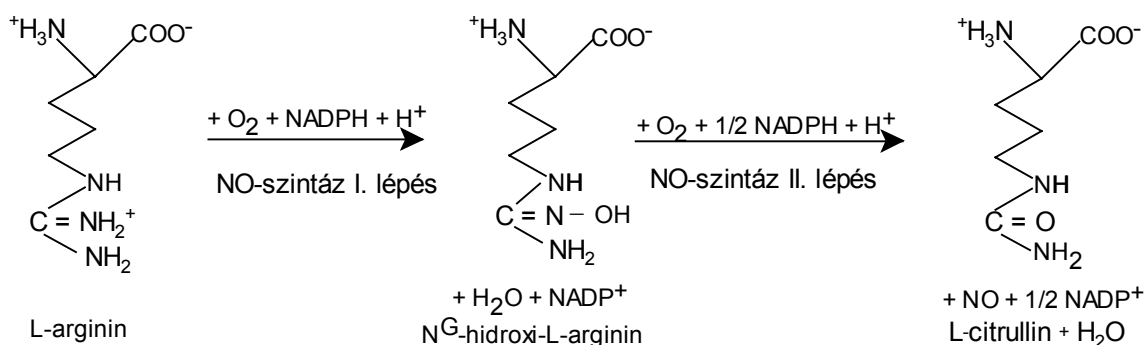
Bár a májban igen jelentős arginin-szintézis folyik, ebből a teljes szervezet nem részesül, mivel az argináz lebontja és a nitrogént urea formájában a vesén keresztül a szervezet kiüríti. A teljes szervezet arginin utánpótlása a bélben található glutamináz révén indul, ez glutaminsavat képez glutaminból. A glutaminsavból szemialdehiden át ornitin illetve citrullin keletkezik. A citrullin a véráramon keresztül különböző szövetekbe jut el, melyek közül a vesében képződik a legnagyobb mennyiségben arginin, ez a vérén keresztül eljut az arginint felhasználó szövetekhez. Az NO-szintetizáló sejtek többsége képes citrullinból arginint termelni; ez a konstitutív enzimet tartalmazó szövetekben gyakran elegendő is a NOS számára. Az indukálható NOS-t tartalmazó sejtek (pl. a makrofágok) azonban sokkal több arginint igényelnek, mivel 2-3 nagyságrenddel több NO-t termelnek. A citrullinból történő arginin-szintézis enzimei közül egyébként az argininszukcinát-szintetáz együtt indukálódik a NOS II-vel és koindukciót mutattak ki az arginin-transzportfehérje esetén is. Ezek a reakciók hozzájárulnak a NOS II megfelelő szubsztrát-ellátásához.

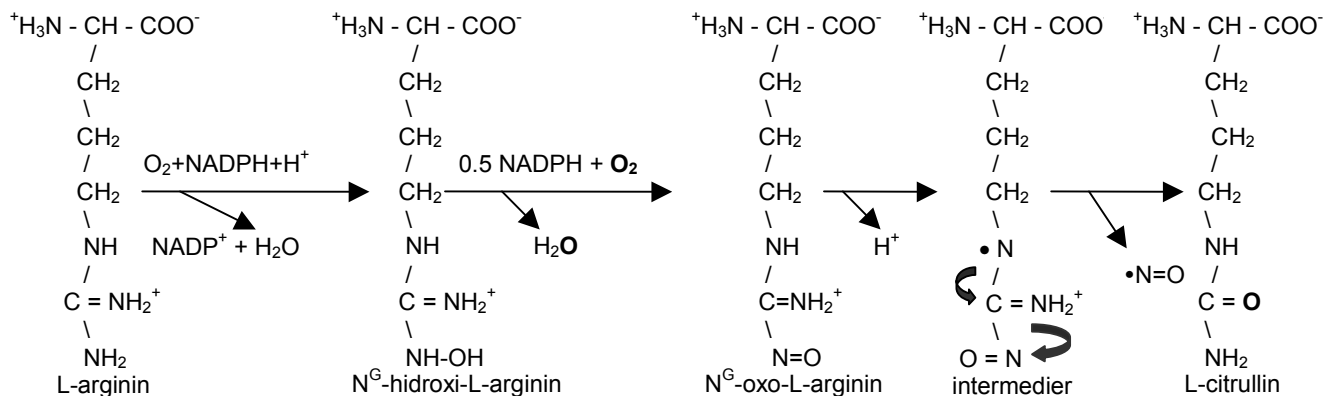


A teljes szervezet arginin-anyagcseréjének vázlatos összefoglalása

## A nitrogén-monoxid szintézis biokémiai vonatkozásai

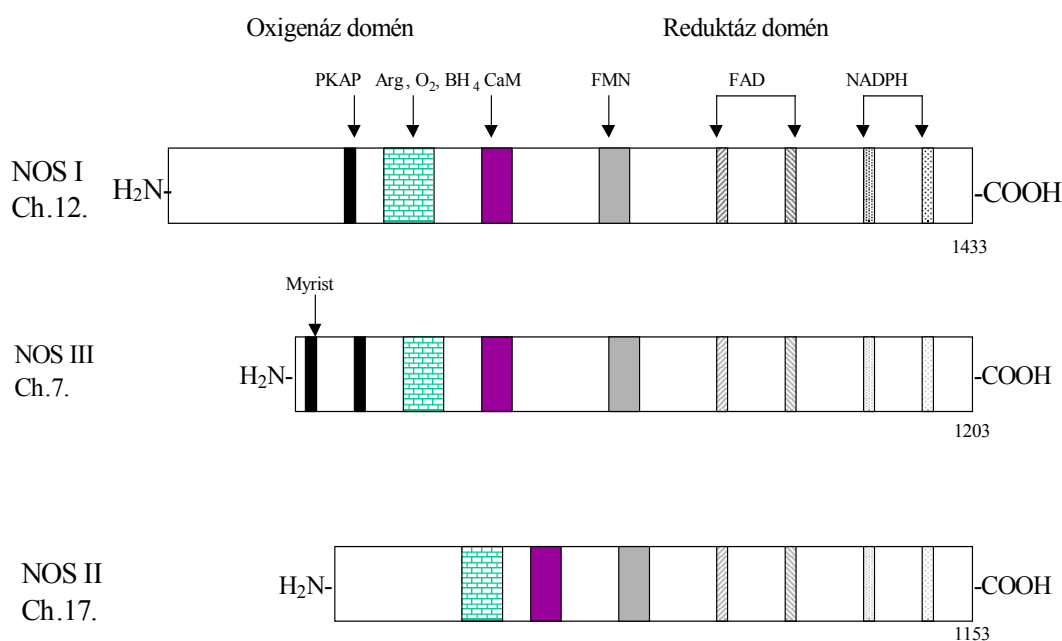
A téma kutatása során korán felismerték, hogy az NO bioszintézise L-argininből történik. A sztereokémiai specifitás egyértelmű, a D-izomer nem szubsztrátja és nem is gátlószere a reakciónak. A reakciót katalizáló enzim és maga a reakció is sok szempontból eltér az ismert biokémiai reakciók többségétől. A katalizáló enzimet nitrogén-monoxid (NO) szintáznak nevezik és általánosan a NOS rövidítést használják. Osztályozás szempontjából az enzim az oxidoreduktázok közé sorolható, monooxygenáz reakciókat katalizál (E.C. 1.14.13.39.). A reakció több lépésben megy végbe, egyszerűsítve a folyamat két fázisra osztható. Az elsőben az L-arginin egy oxigénnel N<sup>G</sup>-hidroxil-L-arginin köztiterméké (kimutatható !) és vízzé alakul, egy NADPH redukáló ekvivalenseinek felhasználásával. A második reakcióban egy "fél" NADPH-nak megfelelő redukáló ekvivalens használódik fel, egy újabb oxigénnel L-citrullin és NO gyök képződik:





1. ábra. Az NO-szintáz reakció. Felül a bruttó reakció, alul a részlépések láthatók.

A reakció egy argininre számítva páratlan számú (5) elektron átvitelét igényli, valójában két molekula szubsztrát oxidálódik el 10 elektron átmenetével. Három izoenzim ismert, ezek alapszerkezete hasonló, és a katalizált reakcióban sincs különbség. Mindegyik izoenzim tartalmaz egy oxigenáz domént, amely részleges homológiát mutat a citokróm P<sub>450</sub> enzimekkel, ez tartalmazza a hem proszтетikus csoportot kötő szekvenciát, amelynek egy cisztein oldalláncához kapcsolódik a hem, továbbá a két szubsztrát, az L-arginin és a molekuláris oxigén kötőhelyét, és a tetrahidrobiopterin kofaktort kötő helyet is. A kötőhelyek környezetében az izoenzimok homológiája lényegesen nagyobb mértékű, mint átlagosan. Az izoenzimok vázlatos szerkezetét a 2. ábra mutatja be, ezek a monomerek. Minden izoenzim dimer formában aktív, ezek a dimerek az oxigenáz domének révén kapcsolódnak össze (ún. fej-fej dimerek) és ebben a tetrahidrobiopterinnek, valamint az arginin szubsztrátnak is fontos szerepe van. A reduktáz domének a NADPH, valamint a flavin koenzimek kötődéséért felelősek, az enzim mind FAD-ot, mind FMN-t igényel és köt. A reduktáz domén koenzim-kötőhelyei is erős homológiát mutatnak. A reduktáz domén a NADPH-citokróm P<sub>450</sub> reduktáz enzimekkel is jelentős mértékű homológiát mutat. Azt lehet mondani, hogy az NO-szintáz egyesíti és két doménben hordozza a citokróm P<sub>450</sub> illetve a hozzá tartozó reduktáz funkcióit. A két domént minden monomerben kalmodulin-kötőhely kapcsolja össze, amelynek a két domén közti elektronátvitelben tulajdonítanak szerepet. A kalmodulin kötődéséhez Ca<sup>2+</sup>-ionok szükségesek, ezért a NOS I és NOS III izoenzim kalciumfüggő. Az indukálható NOS II izoenzim azért nem igényel külön kalciumot, mert a kalmodulin kötődése



Molekulatömegek : NOS I: 155 kD, konstitutív ,  $\text{Ca}^{2+}$ -dependens , citoszólban  
 NOS III: 135 kD, konstitutív ,  $\text{Ca}^{2+}$ -dependens , membrán -kötött  
 NOS II: 130 kD, indukív,  $\text{Ca}^{2+}$ -independens , citoszólban

## 2. ábra. Az NO-szintáz izoenzimek monomerjeinek szerkezete sematikus ábrázolásban.

Myrist = mirisztilációs hely, PKAP = PKA-P foszforilációs hely, CaM = kalmodulin kötőhely,  
 $\text{BH}_4$ , Arg,  $\text{O}_2$  = tetrahydrobiopterin, arginin, oxigén kötőhely

olyan erős, hogy  $\mu\text{M}$  nagyságrendű  $\text{Ca}^{2+}$  esetén is megvalósul. A 2. ábrán a két konstitutív enzim esetén egy PKA-A foszforilációs hely is látható, a foszforiláció inaktíválja az enzimet, míg a NOS III N-terminálisának közelében levő mirisztilációs hely az izoenzim membrán-kötöttségéért felelős.

## A nitrogén-monoxid szintézis regulációja és befolyásolása

A nitrogén-monoxid szintézisét az enzim specifikus inhibitoraival gátolni lehet. Erre a célra részben arginin-analógokat (pl.  $\text{N}^6$ -metil-L-arginin,  $\text{N}^6$ -nitro-L-arginin, N-iminoetil-L-ornitin, L-kanavanin) részben olyan kéntartalmú vegyületeket használnak, amelyek guanidino-csoportot tartalmaznak (L-tiocitrullin, merkaptóetil-guanidin, S-metil-izotiourea). A gátlás általában kompetitív, de több gátlószer esetén részben irreverzibilisnek találták a gátlást. Egyes gátlószernek jelentős specifitást mutatnak valamelyik izoenzimre (pl. 7-nitroindazol a NOS I-re). Érdekes az is, hogy a NOS izoenzimek az L-homoarginint is képesek szubsztrátként használni, ami mérete, továbbá a kompetitív gátlószer mérete alapján arra utal, hogy a NOS aktív centruma viszonylag lazán illeszkedik az L-arginin szubsztráthoz.

A NOS izoenzimek aktiválása izoenzimenként különböző lehet. A két konstitutív izoenzim esetén a  $\text{Ca}^{2+}$ -szinten keresztül történik az aktiváció, míg az indukálható NOS II az enzimszintézis mértékével szabályozódik. Induktorai sejttípusonként

eltérők lehetnek, de a bakteriális endotoxinon kívül általában valamilyen citokin (interleukin-1 $\beta$ ,  $\gamma$ -interferon, tumor nekrozis faktor- $\alpha$ ) rendelkezik ilyen hatással.

Az endotelben a NOS III acetilkolin-hatásra aktiválódik. Az acetilkolin-receptoron történő kötődés hatására a kalcium-csatornák kinyílnak és az intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$ -szint megemelkedik, ami elősegíti a kalmodulin kötődését a NOS III-hoz és ezzel az enzim aktiválódik. Hasonló hatást vált ki a bradikinin, ADP, hisztamin is, de fiziológiás szempontból a véráramlás során fellépő nyíró erők ilyen hatását tartják a legfontosabbnak. Ezek az erők a vérnyomás emelkedése illetve az erek szűkülése következtében jönnek létre és jelzik a vazodilatáció szükségességét az endotelnek, amely NO-termeléssel válaszol a fizikai aktivációra.

A NOS I izoenzim aktiválása a glutamát-receptorok ingerlése révén jön létre. Ebben a vonatkozásban az N-metil-D-aszpartát (NMDA) receptor aktivációja a legfontosabb, mert ez is  $\text{Ca}^{2+}$ -csatornát nyit és fokozza az intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$ -szintet, ezzel a NOS I aktiválódását eredményezi.

A NOS II indukcióját legalaposabban makrofágokban tanulmányozták. Itt az enzim mRNS-ének transzkripcióját egy nukleáris transzkripció faktor (NF- $\kappa$ B) segíti elő, ennek szintézisét pedig az LPS illetve a  $\gamma$ -interferon saját receptorához kötődése.

*A DNS-en is jól ismert az LPS-re, illetve az IFN- $\gamma$ -ra válaszoló reszponzív elemek helye; ezek a promotertől 30 nukleotidnyira elhelyezkedő TATA-boxtól 5'-irányban néhány száz, sőt ezer nukleotidnyira vannak. Szövet típusonként eltérő helyen alternatív splicing helyek is találhatóak, a humán NOS II mRNS-e végül 27 exont tartalmaz. Ezek közül többről pontosan tudjuk, hogy milyen funkciójú fehérjeszakaszért felelős, pl. a porfirint kötő szakaszt a 6., a tetrahydrobiopterint kötő szakaszt a 12. exon kódolja, míg a FAD, vagy a NADPH kötődéséért felelős szakaszok kódja több exonban található.*

Az enzimaktivitás szabályozásának fontos módja a szubsztrát- illetve koenzim ellátás is. Előbbi esetén az arginin-transzportnak van nagy jelentősége: bár a NOS izoenzimek  $K_M$ -értéke 1-25  $\mu\text{M}$  között van, tehát viszonylag alacsony, az extracelluláris arginin – ennek koncentrációja az emlősök vérplazmájában 60-100  $\mu\text{M}$  között van – felvétele az enzim  $K_M$ -jénél jóval magasabb, 100  $\mu\text{M}$  körüli  $K_M$ -mel (ezt  $K_T$ -nek jelölik) működő bázikus aminosav-transzporterrel ( $\gamma$ -transzporter) történik. Így a sejtekben a NOS aktivitását a transzport sebessége befolyásolja. Ez különösen akkor fontos, ha – mint az indukált enzim esetében – az NO termelés intenzív, mert ekkor a szubsztrátigény is megnő. Ezt csak részben fedezi az arginin-“recikláló” rendszer, amely a NOS-reakció egyik végtermékéből, a citrullinból aszparaginsavval, ATP terhére a fél urea-ciklus révén újratermeli az arginint (endotelben és makrofágban is működik). Makrofágban a “reciklált” arginin kivül mindenképpen szükséges exogén eredetű arginin felvétele is.

*A viszonylag kis affinitású transzportert teszik felelőssé az ún. arginin-paradoxonért is: ez azt jelenti, hogy intakt sejtekben, pl. szövetkultúrákban a NOS-aktivitás és ezzel az NO-termelés akkor is nő, ha mM-os nagyságrendben növeljük az arginin koncentrációját. Ennek további magyarázatára azt is feltételezik, hogy a sejtekben endogén NOS-inhibitorok képződnek (pl.  $\text{N}^G\text{-N}^G$ -dimetilarginin) és ezekkel versengene a magas koncentrációban adott exogén arginin.*

Fontos kérdés a kofaktor ellátottság is. A FAD és az FMN szorosan kötődik, koncentrációjuk nem limitálja a NOS-aktivitást. A NADPH a reakcióban szubsztrát, a megfelelő NADPH-szint fenntartásában a NADPH-termelő reakciók játszanak szerepet, a NOS esetében az almasav-enzim jelentősége nagy, egyes sejtekben vannak adatok a két enzim enzim-komplexben asszociált előfordulására is. Különösen érdekes kérdés a tetrahydrobiopterin kofaktor szerepe. Bár ez a kofaktor

redox reakciókban játszik szerepet és a NOS oxidoreduktáz enzim, az eddigi adatok szerint a kofaktor szerepe főleg a NOS aktív dimerjének kialakításában és annak fenntartásában van. A dimer kialakulásában a biopterinen kívül a megfelelően magas arginin-koncentrációnak is szerepe van; a két molekula erősíti egymás kötődését. Az L-argininnek és a tetrahydrobiopterinnek ez a hatása alloszterikus regulációként is felfogható.

*Számos újabb adat - főleg a NOS II esetében - arra mutat, hogy a tetrahydrobiopterinnek mégis van szerepe a redox folyamatban is. Ez a kofaktor venné át az enzimhez kötött N<sup>G</sup>-hidroxi-L-arginin köztiterméktől a hidrogént, amelyet oxigénre visz át és így hozzájárul a víz képződéséhez. Erre abból lehet következtetni, hogy az NO-szintáz reakció tetrahydrobiopterin hiányában nitroxil anion (NO<sup>-</sup>) keletkezéséhez vezet, mert így eggyel több elektron marad az arginin guanidinjéről leváló nitrogéneken. Az NO<sup>-</sup>-ion az oxigénnel izoelektromos biradikális, amely agresszív és számos szövetet károsíthatna. További adalék, hogy a 4-aminobiopterin csak a dimerizációt segíti elő, de nem aktiválja a reakciót. A tetrahydrobiopterin egyébként bonyolult reakció-sorozatban képződik, prekursora GTP.*

Az indukálható NOS esetén a regulációban megjelenik a más arginin-anyagcsere-utakkal kapcsolatos reciprok szabályozás is, amelyre később visszatérünk.

### **Az NO fontosabb fiziológiai hatásai és azok biokémiai hatásmechanizmusa**

A nitrogén-monoxid egyszerű diffúzióval kerül el a célsejtekhez és rövid életideje miatt spontán inaktiválódik, nincs szükség a hatás megszüntetéséhez külön enzimre. A kutatók egy része továbbra is úgy véli, hogy az NO, amely NO<sup>+</sup>-ionként képes fehérjék tiol-csoportjait nitrozilálni, S-nitroso adduktként, fehérjékhez kötve kering, de az NO ma ismert hatásaihoz nincs szükség arra, hogy hosszú ideig tartó transzportot feltételezzünk, a biológiai hatások lokálisak. Amint fentebb említettük, az NO jól kötődik vashoz, ezért célsejtjeiben a hatásokat elsősorban hemoproteidekhez és vas-kén fehérjékhez kötődve, azok aktivitásának, funkciójának módosításával fejti ki. A hatások másik csoportja a DNS-t közvetlenül éritő, károsító hatásoké.

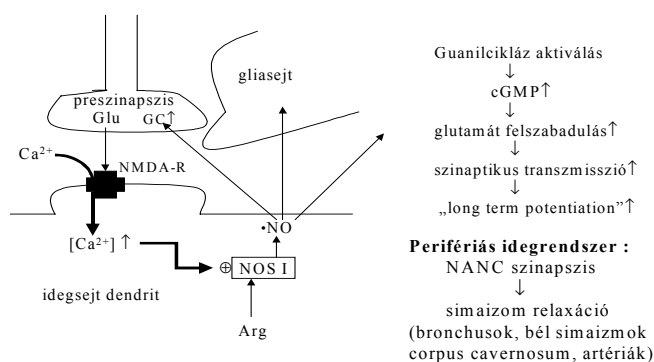
Neurális NOS: Az idegi NOS szerepéről sokat tudunk ugyan, de ez a tudás korántsem teljes. Az NO-t olyan neurotranszmitternek tekintik, amely a periférián a NANC (nem-adrenerg, nem kolinerg) szinapszisokban játszik szerepet, míg a központi idegrendszerben elsősorban a hosszú távú emlékezés (long term potentiation, LTP) agyi folyamataiban lenne nagy jelentősége. Az NO NANC-mediátor hatása harántcsíkolt izmokon is kimutatható.

*NOS I-knock out egérmodellen megállapították, hogy az ilyen egér nem képes a pylorus sphincter izom működtetésére, ami pylorus stenosishoz vezet.*

Az NOS I által termelt NO biokémiai hatásmechanizmusának kulcsa a célsejtben az oldható guanilcikláz aktiválása, amely az NO-hatás legfontosabb jelátviteli eleme számos sejtben. Az oldható guanilcikláz protoporfirin prosztetikus csoportot tartalmaz. Az enzim akkor aktiválódik, ha a porfirin síkjából a vasat valami kihúzza, ehhez az NO (de pl. a CO is) rendkívül jó ágens. Az immár "vastalanított" porfirint tartalmazó enzim aktiválódik, a GTP-ből ciklusos GMP-t termel, ennek hatására glutamát szabadul fel, amely további idegsejteket aktivál és készlet NO-termelésre. Amennyiben valamilyen módon ez a folyamat elszabadul, akkor súlyos patofiziológiai következményei vannak, de normál körülmények között az NO regulálja saját magát: feleslegben a NOS hem-csoportjához kötődve blokkolja az enzim aktivitását és ezzel

leállítja saját szintézisét. A periférián az NO hatására simaizomsejtek relaxációja következik be, ezt is a cGMP mediálja. A cGMP hatásmechanizmusa a célsejtekben nem egészen pontosan ismert. Szóba jöhet a cGMP-dependens proteinkinázok aktiválása és az általuk okozott foszforiláció, a cGMP-dependens foszfodiesterázok befolyásolása (ezek egyike a cAMP lebontását katalizálja, gátlása a cAMP-szintet emeli) valamint egyes sejtekben a cGMP által szabályozott ioncsatornákra gyakorolt hatás is.

*A cGMP hatása érvényesül a NO-val kapcsolatos, széles körben ismert impotencia elleni gyógyszer esetében is: a NO mint NANC mediátor, szerepet játszik a corpus cavernosum relaxációjában. A Viagra (sildenafil) az erektilis szövetekben a cGMP lebomlását katalizáló egyik izoenzim (foszfodiesteráz-5) szelektív gátlószere, ennek révén gátolja az erekció során termelődő cGMP túlgyors lebomlását és így segít az erekció fenntartásában, direkt simaizom-relaxáló hatása azonban nincs.*

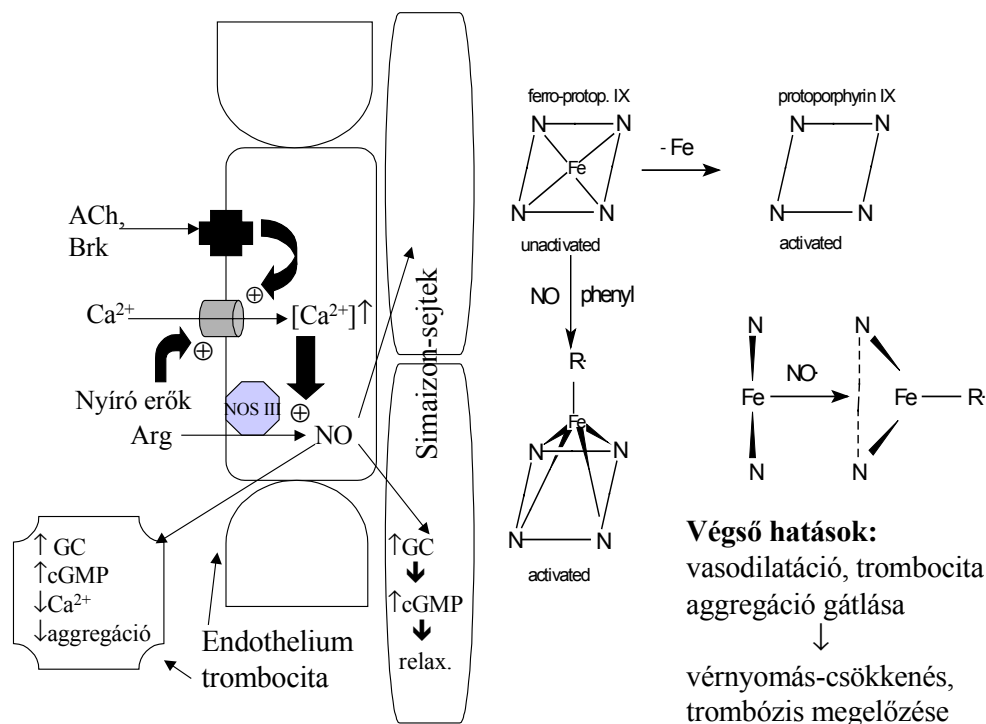


**3. ábra. A neurális NOS aktiválódása és ismert funkciói. GC = guanilcikláz**

**Endoteliális NOS:** Az endotelben történő NO-szintézis talán a legjobban ismert, legalaposabban vizsgált folyamat. Amint említettük, egyes transzmitterek, valamint a nyíró erők hatására aktiválódik a NOS III. A termelt NO ebben az esetben az érfal simaizomzatának sejtjeibe illetve a trombocitákba jut el, ahol a guanilcikláz az idegsejtekhez hasonlóan aktiválódik, a képződő cGMP pedig a simaizomsejtek relaxációját váltja ki ( ennek következménye a vazodilatáció), trombocitákban pedig azok aggregációját gátolja. Ennek következtében a fiziológiai hatás az értágítás nyomán létrejövő vérnyomás-csökkenés.

*A hatást ún. NO-donorokkal is el lehet érni: ezek olyan egyszerűbb szerves, vagy szervetlen vegyületek, amelyekből az érrendszerben spontán is felszabadul NO (nitroprusszid-nátrium, S-nitrozo-glutation, S-nitrozo-N-acetil-penicillamin stb.). Ezzel magyarázható számos régóta ismert értágító gyógyszer (pl. a nitroglicerín) hatása is. A hatásmechanizmus részleteit a 4. ábra mutatja. Bár a NOS III izoenzimet konstitutívnak tartják, ez csak in vitro egyértelmű; in vivo ösztrogének képesek - valószínűleg áttételesen - a NOS III-at indukálni. Ennek is tulajdonítják az ösztrogének kardiovaszkuláris protektív hatását.*

Indukálható NOS: A makrofágokban endotoxin (LPS) valamint  $\gamma$ -interferon hatására a NOS II transzkripciója sokszorosára fokozódik és az NO-szintézis mértéke ugrásszerűen, a konstitutív enzimet tartalmazó sejtekhez képest is többszörösre nő. A képződő NO a szomszédos sejtekre citotoxikus hatású és azok pusztulását okozza. A citotoxicitásban részben hem-tartalmú, részben Fe-S centrumú enzimek aktivitásának blokkolása játszik szerepet. Ilyenek a légzési lánc egyes enzimei, az akonitáz, a ribonukleotid-reduktáz. A célsejtek a respirációs enzimek gátlása miatt



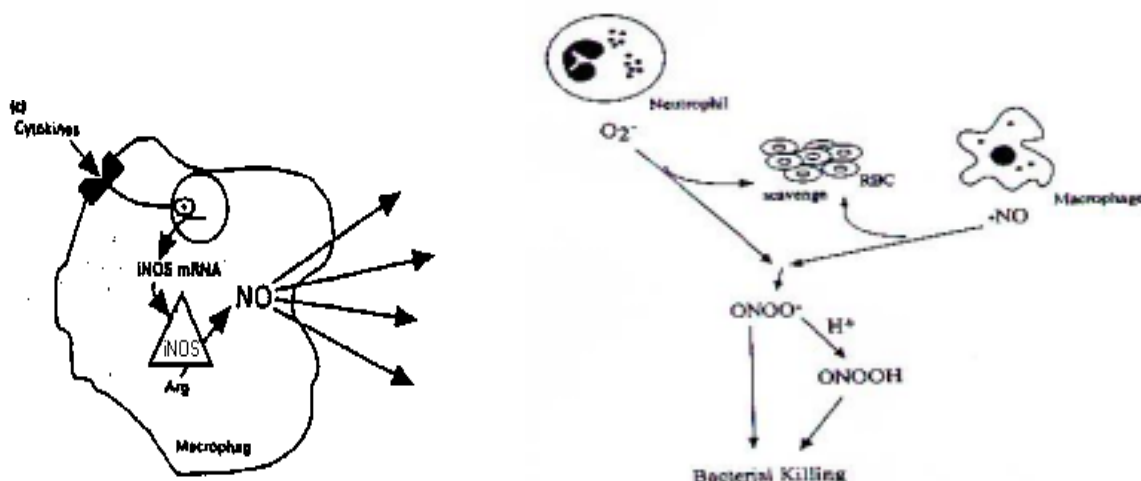
**4. ábra. A NOS III aktiválódása endothelben és főbb funkciói.** Ach = acetilkolin, Brk = bradikinin elpusztulnak, vagy – mint a ribonukleotid-reduktáz gátlásakor – a proliferációjuk válik lehetetlenné. Ez a mechanizmus részben tumorsejtekkel, részben az eukarióta parazitákkal szemben érvényesül.

Meg kell jegyezni, hogy ezt az immunológiai funkciót egyértelműen a rágcsálókön, mint modelleken sikerült bizonyítani, mivel az emberi monociták sokkal nehezebben aktiválhatók, mint a peritoneális makrofágok. Ennek ellenére, a modellt többé-kevésbé emberre is érvényesnek tartják és számos részadat is utal arra, hogy humán vonatkozásban is hasonló mechanizmusok érvényesülnek. A parazita célpontok közül az NO szerepe bizonyítottan tekinthető Trypanosoma illetve Leishmania fajokkal szemben, de érvényesül a májmétely lárvaformájával szemben is. Az NO antibakteriális hatása esetében a peroxinitritnek tulajdonítanak szerepet: ami NO és a szuperoxid-gyök reakciójával jön létre (5. ábra).

A NOS II indukcióját hypoxia is előidézhetheti, ez egy HIF-1 transzkripciós faktoron keresztül érvényesül, amely növeli a glikolitikus enzimek és a GLUT-1 transzporter szintézisét. A különböző Plasmodium fajok által okozott maláriák eltérő súlyosságának magyarázata is kapcsolatos ezzel a hatással.



A *P. falciparum* hypoxiás körülmények között is szaporodik, míg a *P. vivax* csak nagyobb oxigén-koncentráció mellett képes túlélni. Ennek következtében *P. falciparum* fertőzés esetén a NOS II és a hypoxia szinergisztikusan hat, az NO-termelés időben elnyújtott, túlzott mértékű lesz és ez károsítja a gazdaszervezet különböző szöveteit is. *P. vivax* esetén a keletkező NO mennyisége kontrollált és csak a parazita elleni hatása jelentkezik.

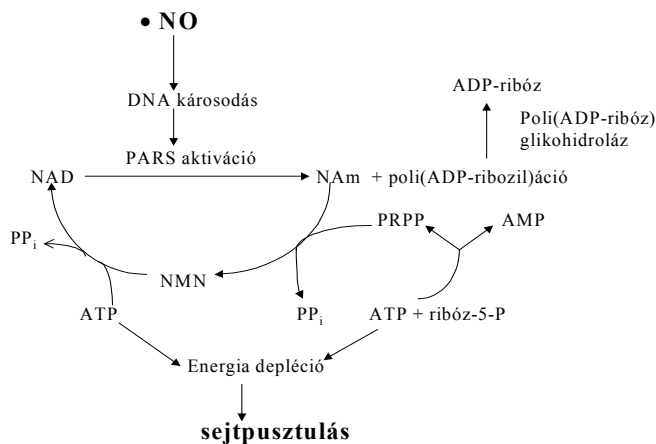


5. ábra. A NOS II indukciója és a peroxinitrit-képződés antibakteriális hatása.

#### Az NO patofiziológiai hatásai és azok hatásmechanizmusa

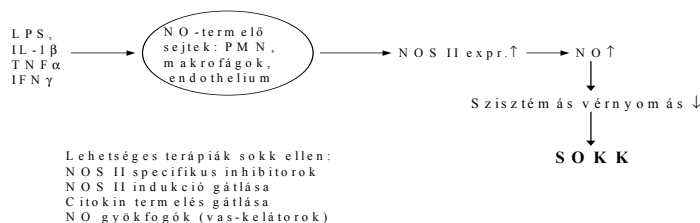
Az NO esetében a patofiziológiai hatások vagy a nem megfelelő mértékű NO-termelésben, vagy a túltermelésben jelentkeznek. Előbbi elsősorban a NOS III alacsony aktivitásával, vagy hiányával függ össze. Következménye a vérnyomás fokozódása, trombózis, egyéb érrendszeri károsodások. Különböző kórképekhez társuló érrendszeri károsodások (pl. diabetes) hozzájárulhatnak a NOS III károsodásához és ezzel további érkárosodások kialakulásához.

A NOS I túlprodukciója – neurocitotoxicitás: biokémiai háttere viszonylag jól ismert. Az NO által okozott DNS-károsodás hatására a poli(ADP-ribozil)szintetáz (PARS) aktiválódik és NAD felhasználásával különböző poli(ADP-ribozil)ációs folyamatok indulnak be. A  $\text{NAD}^+$  depléciója károsítja a mitokondriális redoxfolyamatokat, míg a NAD regenerációja a nikotinsavamid maradékból foszforibozil-pirofoszfátot (közvetve ATP-t) és közvetlenül ATP-t igényel, ezzel a sejt energiaháztartása felborul, ami a sejt pusztulásához vezet (6. ábra)



**6. ábra. Az NO-függő neurocitotoxicitás biokémiai mechanizmusa. NMN = nikotinsav-mononukleotid**

A NOS II által okozott NO túltermelés: Míg az immunrendszer sejtjei esetében az NO produkció védő hatású és viszonylag jól szabályozott, egyes egyéb sejtek indukálható NOS enzimének indukciója felesleges mennyiségű, kontrollálatlan NO-termeléshez vezet. A vérben található sejtek esetében ezt főleg a szisztémás bakteriális fertőzés (szepszis) idézi elő: az elpusztult baktériumokból kiszabaduló endotoxin az egész szervezetben indukálja a NOS II-t és ennek hatására feleslegesen sok NO képződik. Ez a teljes szervezetben értágításhoz és ezzel szisztémás vérnyomáseséshez vezet, amelynek végzetes következményei lehetnek. Ezért a korábban említett NOS II-re specifikus gátlószerek, illetve a NOS II indukcióját gátló szerek gyógyszerre fejlesztése igen jelentős eredmény lenne. Az NO patofiziológiai szerepét igazolták egyes gyulladásos kórképeknél is (retina degeneráció, uveitis, retinitis, bőrgyulladások) bár ezek az eredmények kevésbé egyértelműek.



**7. ábra. A szeptikus sokk létrejöttének modellje a NOS II indukciója alapján.**

Még fontosabb a NOS II indukciója az I. típusú, inzulin-dependens diabetes mellitus (IDDM) kialakulásában. Az IDDM-et autoimmun eredetű betegségnek tartják, ennek egyik elmélete alapul az NO termelésén. A pankreász szigetsejtjei NOS II-t tudnak szintetizálni, az indukció fő tényezője itt az interleukin-1 $\beta$ , de az IFN- $\gamma$  és TNF- $\alpha$  is szinergisztikus hatású az IL-1 $\beta$ -val. A szigetsejtben indukálódó NOS II jelentős mértékű NO-szintézist indít el és ez citotoxikus a  $\beta$ -sejtekre. Amennyiben a  $\beta$ -sejtek jelentős része elpusztul, a pankreász nem termel elegendő inzulint és így a beteg inzulin-adagolásra szorul. A citokín-szintézis kiváltó okai nem ismertek, nem ismert az sem, mely sejtek felelősek érte, de valószínűnek tartják, hogy a pankreász valamilyen gyulladása, fertőzése idézheti elő a makrofágok beáramlását, amelyek aztán IL-1 $\beta$  termeléssel hozzájárulhatnak a pankreatikus NOS II indukciójához. Feltételezik kémiai hatások szerepét is. Meg kell jegyezni, hogy ez az elmélet nem egyedüli magyarázata az IDDM autoimmun etiológiájának, de számos kísérleti bizonyíték támasztja alá állati modellen és emberi pankreászból kivett szigeteken is, tehát az egyik lehetséges ok lehet.

