

РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА В ПАТОЛОГИИ ОПОРНО-ДВИГАТЕЛЬНОГО АППАРАТА (ЧАСТЬ I)

*А.И. Дубиков, А.В. Череповский, Л.А. Белоголовых, Е.А. Медведь, С.В. Никулин
Владивостокский государственный медицинский университет*

Оксид азота (NO) претерпел в последние два десятилетия уникальную метаморфозу: из ядовитого газа-поллютанта окружающей среды он "превратился" в одну из самых фундаментальных молекул в физиологии животных и человека [22, 32, 42, 47]. Появление этого газа на биологической сцене было своеобразно отмечено журналом "Science": в 1992 г NO был назван "молекулой года". Огромное количество исследований, проведенных к настоящему времени, позволяют достоверно говорить о регулирующем влиянии NO на следующие процессы: транскрипцию факторов активации; мутагенез, апоптоз, гликолиз и перенос электронов в митохондриях; адгезию тромбоцитов и нейтрофилов, пролиферацию миелоидных прогенеторных клеток; функционирование Т-лимфоцитов, кератиноцитов, опухолевых клеток; выделение питуитарных гормонов; регуляцию тонуса бронхов и сфинктеров; сокращение мускулатуры желудка, кишечника, сердца, матки; опиоидную зависимость, толерантность и токсичность; нейродегенерацию; регуляцию артериального давления; иммунологические механизмы защиты [24, 38, 51, 58, 69].

Целью настоящего обзора является представить краткий взгляд на биохимию и физиологию NO и обратить особое внимание на его роль в развитии воспалительных и метаболических поражений опорно-двигательного аппарата.

В 1980 г R.F.Furchgott и J.V.Zavadzki установили, что расширение кровеносных сосудов под влиянием ацетилхолина происходит только при наличии эндотелия - эпителиоподобных клеток, выстилающих внутреннюю поверхность всех сосудов [23]. Вещество, выделяющееся в ответ не только на ацетилхолин, но и на многие другие внешние воздействия и приводящее к расширению сосудов, получило название "сосудорасширяющий эндотелиальный фактор" (EDRF). К 1987 г было установлено, что NO и EDRF совершенно идентичны по своим биологическим свойствам и доказана ответственность NO за все эффекты EDRF [53].

NO образуется в модифицированном цикле мочевины, который имеет две важные функции: инкреторную, смысл которой состоит в восстановлении L-аргинина для постоянного синтеза NO, и экскреторную, ответственную за выведение из организма избытка азота, одного из конечных продуктов клеточного метаболизма. Первый этап синтеза NO заключается в окислении аминокислоты аргинина с одновременным синтезом другой аминокислоты - цитруллина под влиянием фермента нитрооксидсинтазы (NOS) [55]. NOS - это сложно устроенный фермент, представляющий собой гомодимер, то есть состоящий из двух одинаковых белковых субъединиц, к каждой из которых присоединено несколько кофакторов, определяющих каталитические свойства фермента. Одним из важных кофакторов является внутриклеточный кальций, связывающий белок кальмодулин. При повышении содержания ионов кальция в клетке он присоединяется к молекуле NOS, что приводит к активации фермента и синтезу NO. Такое свойство фермента имеет

большое значение для клеток, поскольку ферментативная активность, а значит и синтез NO, прямо зависят от функционального состояния клетки, определяющегося во многом внутриклеточным уровнем ионов кальция - высокоактивных посредников, влияющих на многие процессы в клетке.

NO-синтазы (NOS) составляют группу ферментов, различающихся по аминокислотной последовательности белковой части молекулы и механизмам, регулирующим их активность, но тем не менее катализирующих одну и ту же реакцию превращения аминокислот с образованием NO. Синтезировать и выделять NO способно большинство клеток организма, но наиболее хорошо изучены три клеточные популяции: нейроны, макрофаги - клетки соединительной ткани, обладающие высокой фагоцитарной активностью, и эндотелий кровеносных сосудов. В связи с этим, традиционно выделяют три изоформы NOS: нейрональную, макрофагальную, эндотелиальную (соответственно NOS-1, NOS-2, NOS-3) [1]. Нейрональная и эндотелиальная изоформы фермента постоянно присутствуют в клетках и называются конститутивными, а макрофагальная изоформа является индуцибельной - фермент синтезируется в ответ на определенное внешнее воздействие на клетку. Активность конститутивных изоформ фермента прямо зависит от внутриклеточной концентрации ионов кальция и кальмодулина. Конститутивные изоформы NOS имеют преимущественно физиологическое значение, поскольку количество образуемого при их участии NO относительно невелико. Индуцибельная изоформа NOS проявляет активность через 6-8 часов после внешнего воздействия на клетку (время, необходимое для активации генов и начала синтеза фермента). При этом продуцируются огромные (в 100-1000 раз больше, чем при действии конститутивных форм фермента) количества NO. Поскольку высокие дозы NO токсичны для клеток, эта форма фермента NOS считается патологической. Активность NOS-2 не зависит от уровня внутриклеточного кальция или кальмодулина, поскольку кальмодулин постоянно и прочно связан с ферментом. В настоящее время показано, что не только макрофаги, но и многие другие клетки способны при определенных внешних воздействиях, в основном в условиях патологии, синтезировать индуцибельную форму NOS.

Низкомолекулярный газ NO легко проникает через клеточные мембраны и компоненты межклеточного вещества, однако время его полужизни (в среднем не более 5 сек) и расстояние возможной диффузии (в среднем 30 мкм) ограничиваются высокой реакционной способностью молекулы и ее взаимодействием со многими возможными субстратами. Действие, оказываемое NO на клетки, во многом зависит от количества газа. В небольших количествах, продуцируемых обычно конститутивными формами NOS, эффект NO в основном связан с влиянием на гемовую группу растворимой (цитозольной) формы гуанилатциклазы. Активированный фермент синтезирует циклический гуанозинмонофосфат (цГМФ) - активный внутриклеточный посредник, регулирующий работу мембранных ионных каналов, процессы фосфорилирования белков, активность фосфо-

дилэстеразы и другие реакции. В больших концентрациях, образуемых, как правило, индуцибельной формой NOS, NO может оказывать на клетки токсический эффект, связанный как с прямым действием на железосодержащие ферменты, так и с образованием сильного окислителя, очень реакционного и токсичного свободнорадикального соединения пероксинитрита. Пероксинитрит (ONOO_2^-) образуется при взаимодействии NO с радикальным супероксид-анионом (O_2^-): $\text{NO} + \text{O}_2^- = \text{ONOO}_2^-$.

Таким образом, пероксинитрит выступает в качестве интегрального звена, объединяющего две системы активных низкомолекулярных агентов, образующихся в клетках и тканях - NO и активных форм кислорода.

Токсический эффект NO проявляется, прежде всего, в ингибировании митохондриальных ферментов, что приводит к снижению выработки АТФ, а также ферментов, участвующих в репликации ДНК. Кроме того, NO и пероксинитрит могут непосредственно повреждать ДНК. Пероксинитрит легко проникает через липидный бислой мембраны и имеет значительно больше химических мишеней, чем NO. Повреждение ДНК под влиянием NO является одной из причин развития апоптоза, особого вида клеточной смерти, регулирующей геномом клетки [3].

Важные физиологические функции NO в здоровом организме объясняют участие этого радикала и в развитии патологических процессов. В настоящее время изучается широкий круг заболеваний, патогенез которых связан с изменением обмена NO: болезни сердечно-сосудистой системы (гипертония, инфаркт миокарда, атеросклероз, легочная гипертензия); инсульты и дегенеративные заболевания нервной системы; процессы острого и хронического воспаления различных органов и тканей (эндотоксемия); цирроз печени; онкологические заболевания; аутоиммунная патология (ревматоидный артрит, системная красная волчанка и др.). Мы остановимся на роли NO в развитии патологии опорно-двигательного аппарата.

Оксид азота и метаболизм хряща

Активированные цитокинами хондроциты продуцируют едва ли не самое большое в сравнении с остальными клетками организма количество NO. Этот факт свидетельствует о том, что NO играет весьма существенную роль в метаболизме хондроцитов. Практически все типы хрящевой ткани после стимуляции синтезируют повышенное количество NO [35, 36, 61]. Следует отметить, что хондроциты человека особенно выделяются в этом отношении в сравнении с хондроцитами экспериментальных животных [54]. В то же время G.A.C. Murrel с соавт. отмечают, что хрящ, выстилающий мениски, не обладает подобными свойствами [48]. В общем, исследователи отмечают, что в здоровой, неактивированной хрящевой ткани синтез NO не обнаруживается, а непременным условием появления NO должен быть патологический процесс или стимуляция культуры хондроцитов цитокинами [17]. Часто с этой целью используется интерлейкин-1 (IL-1), но хондроциты отвечают также и на воздействие фактора некроза опухоли (TNF), интерлейкина-17 [39, 57]. Интересно отметить, что, несмотря на то, что после инкубации эксплантов хряща с IL-1 снижается интенсивность синтеза сульфатированных протеогликанов, ультраструктура и жизнеспособность хондроцитов не изменяются [60]. Авторы делают вывод, что IL-1 участвует в метаболизме хрящевого матрикса, не оказывая токсического эффекта на хондроциты. Этот процесс регулируется антагонистами рецепторов IL-1 [70]. Активно противодействует катаболическому эффекту IL-1 трансформирующий фактор роста (TGF- β), обладающий самостоятельным анаболическим эффектом на метаболизм хрящевого матрикса [59]. По мере старения хряща, эффект нейтрализации исчезает, что может способствовать развитию дегенеративного процесса.

Недавно было показано, что экспрессия рецепторов TGF- β в человеческих хондроцитах (особенно TGF- β -1 рецепторов) модулируется уровнем синтеза NO [7].

Большинство авторов согласны, что хондроциты не экспрессируют конститутивные формы NOS, в отличие от индуцибельной формы. Молекулярный анализ не выявил иРНК, кодирующей конститутивные формы NOS в культуре хондроцитов, выделенных из здоровых суставов человека [15, 40]. A.R.Amin с соавт. представили данные о необычной форме NOS, выделенной из хондроцитов суставов, пораженных остеоартрозом (АО) [6]. Исследователи предположили, что это могла быть аномальная форма нейрональной NOS или же совершенно новая форма, так OA-NOS. Позже появилось сообщение об экспрессии NOS-3 и NOS-2 в покровном, стромальном слоях синовиальной оболочки при ревматоидном артрите (РА) и ОА [33]. Описывается феномен исчезновения экспрессии NOS-1 хондроцитами после инкубации с IL-1 [45]. Однако в других лабораториях не смогли воспроизвести эти результаты. Группа P.S.Grabowski идентифицировала только NOS-2 в культуре человеческих хондроцитов после стимуляции цитокинами [25]. Ими же была исследована архитектура экспрессии NOS-2 в тканях сустава при РА и ОА. При РА наиболее выраженная экспрессия наблюдалась в покровном и субпокровном слоях синовиальной оболочки, гладкомышечной мускулатуре сосудов, хондроцитах. В покровном слое синовии основным источником NOS-2 являлись CD68+ макрофаги и, в меньшей степени, фибробласты. Т- и В-лимфоциты, нейтрофилы не экспрессировали NOS-2. Аналогичный паттерн экспрессии был выявлен и в образцах, полученных от больных остеоартрозом, но интенсивность экспрессии была значительно меньшей. В образцах здоровых хряща и синовиальной оболочки (взятых у больных с переломом шейки бедра) признаков экспрессии NOS-2 вовсе не выявлялось [26]. Экспрессия конститутивных форм NOS не обнаружена в эксплантах или клеточных культурах из менисков. Синовиальная оболочка и капсула плечевого сустава человека, а также передняя, задняя крестообразные, латеральная и медиальная коллатеральные и собственная связки надколенника собак были негативны по всем изоформам NOS [50]. По данным других исследователей в тканях сухожильно-направляющей манжеты плечевого сустава человека определяется экспрессия всех трех изоформ NOS [67].

Изучение продукции NO передней и задней крестообразными и медиальной коллатеральной связками кролика показало, что в ткани и культуре клеток крестообразных связок в ответ на стимуляцию IL-1 определялось большое, в то время как в ткани коллатеральной связки - небольшое количество NO, а в культуре клеток он вообще не определялся [46]. Основываясь на полученных данных, авторы выдвигают концепцию, объясняющую известный в ортопедической практике факт о хороших репаративных возможностях медиальной коллатеральной связки и отсутствии таковых у крестообразных связок. Исследования на бычьем и человеческом хряще показали, что поверхностный слой хряща продуцирует значительно большие количества NO в сравнении с глубоким слоем в ответ на стимуляцию IL-1 [21, 28, 29]. Это согласуется с данными о том, что поверхностная зона хряща содержит большее количество рецепторов первого типа к IL-1.

К разряду необъяснимых следует отнести тот факт, что хондроциты экспрессируют NOS в ответ на обработку глюкокортикоидами [52]. Загадкой является и динамика продукции NO хондроцитами: она достигает максимума в течение 1-2 дней после инкубации, а затем быстро падает до минимального уровня [62, 63].

Существует мнение, что эндогенный NO супрессирует

синтез протеогликанов хондроцитами. Единственным исключением является бычий хрящ [66]. В остальных случаях при исследовании ответа хондроцитов кролика [68], крыс [34], мышей и человека [27] NO угнетал включение сульфат аниона в протеогликаны исследуемых образцов хряща. Отсутствие подобной реакции у хондроцитов, полученных от быка, не может быть объяснено отсутствием способности к синтезу NO: при их стимуляции NO появляется в больших количествах [63]. Механизм, с помощью которого NO ингибирует протеогликановый синтез, до конца не ясен. Во всяком случае, он не связан с синтезом гликозамингликанов [65]. Сообщается о том, что NO противодействует деградации протеогликанов лошадиного хряща, влияя на активность агреканызы [9].

Эндогенный NO снижает активность синтеза коллагена, в том числе, в хрящевой ткани менисков [13, 14]. При этом не выявлено влияния на иРНК, кодирующую α -цепи различных типов коллагена, что позволяет предполагать реализацию супрессорного эффекта NO на синтез коллагена на трансляционном и посттрансляционном уровнях. Получены данные, что NO ингибирует гидроксилазу, ключевой фермент посттрансляционного этапа синтеза коллагеновых волокон [14]. Вместе с тем появились данные о стимулирующем эффекте NO на синтез коллагена при культивировании дермальных фибробластов с донором NO [71]. При этом NO не влиял на экспрессию гена коллагеназы, что позволяет предполагать реализацию эффекта на посттрансляционном уровне.

Основываясь на установленных свойствах NO, многие исследователи предполагали, что NO скорее играет роль медиатора катаболизма хрящевого матрикса [44]. Однако тщательные исследования *in vitro* образцов суставного хряща, полученного от быка [63], а также культуры человеческих хондроцитов [28] показали неоднозначность метаболических эффектов NO [4]. Напротив, результаты исследований дали основание если и говорить о какой-либо роли NO, то защитной. Было наглядно продемонстрировано, что в условиях блокады синтеза NO в хряще резко возрастала концентрация матриксных металлопротеиназ (ММР). Это дает основание обсуждать хондротективный эффект NO, связанный с депрессией ММР. В тоже время работы других авторов показали, что NO активирует продукцию ММР [49]. Причины такой противоречивости не ясны, хотя следует отметить, что данные о снижении синтеза ММР под влиянием NO были получены на интактном хряще, а эффект стимуляции ММР выявлен в однослойных культурах хондроцитов. Известно, что хондроциты очень быстро подвергаются дедифференцировке в такого рода культурах. Сообщается, что NO непосредственно тормозит катаболические процессы в хряще, но опосредует катаболические эффекты интерлейкинов [12].

Всеми исследователями признается роль NO как аутокринного агента, активно включающегося в сетевое взаимодействие с другими аутокринными агентами. В частности, было выявлено ингибирующее влияние NO на продукцию IL-1 га [19, 56], IL-8 [31], IL-6 [19]. Значимость супрессии синтеза IL-6 трудно переоценить, поскольку известен двойственный характер эффектов цитокина [18].

Весьма противоречивы данные о влиянии NO на синтез простагландина E2 (PGE2). J.Stadler с соавт. продемонстрировали выраженное угнетение синтеза PGE2 хондроцитами кролика под влиянием NO [61]. Такой же результат был получен при работе с человеческими хондроцитами [19, 43]. A.R.Amin и соавт. подтвердили эти данные и высказали предположение о механизме супрессивного действия NO на продукцию PGE2 посредством предупреждения активации транскрипционного фактора NF-kB [5]. В двух работах приводятся данные о стимуляции синтеза PGE2 под влиянием

NO посредством активизации циклооксигеназы [11, 41]. Эти данные согласуются с аналогичными, полученными при работе с другими типами клеток. Что касается хондроцитов, то несовпадение результатов может быть объяснено особенностями используемой культуры: в случаях стимуляции синтеза PGE2 использовалась однослойная культура хондроцитов. Надо отметить, что этот вопрос не является чисто академическим, поскольку PGE2 может существенно влиять на метаболизм матрикса хряща и нести ответственность за депрессию хондроцитов при воздействии NO [10]. Последние работы в этой области позволяют по-новому взглянуть на этот вопрос. Так, приводятся данные, что интенсивный синтез PGE2 и экспрессия циклооксигеназы-2 (COX-2) в хондроцитах зависят от эпителиального фактора роста (постоянно присутствует в синовиальной жидкости при артритах), действующего через киназу активированного митогеном протеина MAP (ERK-1/-2 и p38) [30].

Нельзя не отметить противоречивость публикаций, посвященных взаимоотношениям NO и COX-2. Было показано, что NO (в присутствии или отсутствии цитокинов) усиливает экспрессию COX-2 и синтез PGE2 различными клетками, включая хондроциты. По данным одних авторов ингибиторы NOS-2 подавляют синтез как NO, так и PGE2, в то время как по данным других авторов, напротив, подавление синтеза NO приводит к увеличению спонтанной продукции PGE2, по крайней мере в культуре хрящевой ткани, полученной от больных ОА [2]. Интересная попытка "примирить" разрозненные данные предпринята известными специалистами в этой области R.Clancy и A.R.Amin. Они изучали влияние NO на обе изоформы COX, экспрессируемой в фибробластах и макрофагах в различных линиях мышей (дефицитных по COX-1 или COX-2) на фоне воздействия неселективных и селективных ингибиторов COX [16]. Авторы показали, что NO активирует COX-1-, но ингибирует COX-2-зависимый синтез PG. Предполагается, что активизация COX-1-зависимого пути синтеза простагландинов в присутствии повышенного количества NO является неотъемлемой частью процессов митогенеза и ангиогенеза при воспалении. Авторы считают, что ингибирование COX-2-зависимого синтеза PG происходит за счет нитролиза COX-2, а активизация COX-1-зависимого синтеза - за счет нитролиза внутриклеточного глутатиона. Этот феномен авторы назвали "нитрозативным" стрессом.

NO тормозит миграцию хондроцитов и снижает способность к адгезии с фибронектином [20]. Приводятся данные о влиянии NO на энергетический метаболизм хондроцитов: NO способствует выработке больших количеств молочной кислоты и снижает синтез АТФ [64]. Безусловно, это может быть составной частью факторов, ведущих к супрессии синтеза хрящевого матрикса, поскольку последний весьма чувствителен к энергетическому дефициту [8].

Присутствие NOS в образцах хряща, полученных от больных с ОА или РА, не свидетельствует автоматически о перманентном синтезе NO. В работах M. Stefanovic-Racic с соавт. *ex vivo* было показано, что продукция NO в хряще больных ОА повышена в сравнении с нормальными образцами, но составляет только 25% от уровня его продукции тем же хрящом после его инкубации с IL-1 [66]. Этот факт позволяет говорить о персистирующем синтезе NO в измененном хряще в слегка повышенных количествах с эпизодами активизации, зависящими от характера течения основного патологического процесса или других обстоятельств. Следовательно, экспрессия NOS не всегда может соответствовать интенсивности образования NO.

Некоторые авторы предлагают отойти от догматического деления на конститутивные и индуцибельные формы NOS и заново оценить роль NOS-2 с учетом её протективных эффектов [37].

ЛИТЕРАТУРА

1. Горрен А.К.Ф., Майер Б. Универсальная и комплексная энзимология синтазы оксида азота. Обзор. Биохимия, 1998, 63, 7, 870-880
2. Насонов Е.Л. Нестероидные противовоспалительные препараты (перспективы применения в медицине). М., Анко, 2000. 143 с
3. Сосунов А. А. Оксид азота как межклеточный посредник. Сорос. Образоват. журнал, 2000, 6, 12, 27-34
4. Abramson S.B., Amin A.R., Clancy R.M. et al. The role of nitric oxide in tissue destruction. *Best Pract. Res. Clin. Rheum.*, 2001, 15, 5, 831-845
5. Amin A.R., Attur M., Patel R.N. et al. Superinduction of cyclooxygenase-2 activity in human osteoarthritis affected cartilage. Influence of nitric oxide. *J. Clin. Invest.*, 1997, 99, 1231-1237
6. Amin A.R., DiCesare P.E., Vyas P. et al. The expression and regulation of nitric oxide synthase in human osteoarthritis-affected chondrocytes: evidence for up-regulated neuronal nitric oxide synthase. *J. Exp. Med.*, 1995, 182, 20097-20102
7. Ayache N., Boumediene K., Mathy-Hartert M. et al. Expression of TGF-betas and their receptors is differentially modulated by reactive oxygen species and nitric oxide in human articular chondrocyte. *Osteoarthritis Cart.*, 2002, 10, 5, 344-352
8. Baker M.S., Feigan J., Lauther D.A. The mechanism of chondrocyte hydrogen peroxide damage. Depletion of intracellular ATP due to suppression of glycolysis caused by oxidation of glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase. *J. Rheum.*, 1989, 16, 7-14
9. Bird J.L., May S., Bayliss M.T. Nitric oxide inhibits aggrecan degradation in explant cultures of equine articular cartilage. *Equine Vet. J.*, 2000, 32, 2, 133-139
10. Blanco F.J., Lotz M. IL-1-induced nitric oxide inhibits chondrocyte proliferation via PGE-2. *Exp. Cell Res.*, 1995, 218, 319-325
11. Blanco F.J., Ochs R.L., Schwartz H. et al. Chondrocyte apoptosis induced by nitric oxide. *Am. J. Pathol.*, 1995, 146, 75-86
12. Cai L., Suboc P., Hogue D.A. et al. Interleukin-17 induced nitric oxide suppresses matrix synthesis and protects cartilage from matrix breakdown. *J. Rheum.*, 2002, 29, 8, 1725-1736
13. Cao M., Stefanovic-Racic M., Georgesku H.I. et al. Generation of nitric oxide by lapine meniscal cells and its effects on collagen biosynthesis: stimulation of collagen production by arginine. *J. Orthop. Res.*, 1998, 16, 104-111
14. Cao M., Westerhausen-Larson A., Niyibizi C. et al. Nitric oxide inhibits the synthesis of type II collagen without altering Col2A1 mRNA abundance; prolyl hydroxylase as a possible target. *Biochem. J.*, 1997, 324, 305-310
15. Charles I.G., Palmer R.M., Hickery M.S. et al. Cloning, characterization and expression of a cDNA encoding an inducible nitric oxide synthase from the human chondrocyte. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, 90, 11419-11423
16. Clancy R., Varenika B., Huang Weiqing et al. Nitric oxide synthase/COX cross-talk: nitric oxide activates COX-1 but inhibits COX-2-derived prostaglandin production. *J. Immunol.*, 2000, 165, 1582-1587
17. Das P., Schurman D.J., Lane S.R. Nitric oxide and G proteins mediate the response of bovine articular chondrocytes to fluid-induced shear. *J. Orthop. Res.*, 1997, 15, 87-93
18. Dinarello C.A., Moldawer L.L. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in rheumatoid arthritis. A primer for clinicians. Amgen, 1999
19. Evans C.H., Oppliger L., Michel B.A. et al. Effect of nitric oxide on cytokine and prostaglandin synthesis by human articular cartilage. *Osteoarthr. Cart.*, 1994, 2 (suppl. 1), 51
20. Frenkel S.R., Clancy R.M., Ricci R.L. et al. Effects of nitric oxide on chondrocyte migration, adhesion and cytoskeletal assembly. *Arthr. Rheum.*, 1996, 39, 1905-1912
21. Fukuda K., Kumano F., Takayama M. et al. Zonal differences in nitric oxide synthesis by bovine chondrocytes exposed to interleukin-1. *Inflamm. Res.*, 1995, 44, 434-437
22. Furchgott R.F. Studies on endothelium-dependent vasodilation and the endothelium-derived relaxing factor. *Acta Physiol. Scand.*, 1990, 139, 257-270
23. Furchgott R.F., Zawadzki J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 1980, 288, 373-376
24. Hauselmann J. Glutamate, nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system. *Trends Neurosci.*, 1991, 14, 60-67
25. Grabowski P.S., Macpherson H., Ralston S.H. Nitric oxide production in cells derived from the human joint. *Br. J. Rheum.*, 1996, 35, 207-212
26. Grabowski P.S., Wright P.K., Van Hof R.J. et al. Immunolocalization of inducible nitric oxide synthase in synovium and cartilage in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Br. J. Rheum.*, 1997, 36, 651-655
27. Hauselmann H.J., Oppliger L., Michel B.A. et al. Nitric oxide and proteoglycan biosynthesis by human articular chondrocytes in alginate culture. *FEBS Lett.*, 1994, 352, 361-364
28. Hauselmann H.J., Stefanovic-Racic M., Michel B.A. et al. Differences in nitric oxide production by superficial and deep human articular chondrocytes: implications for proteoglycan turnover in inflammatory joint diseases. *J. Immunol.*, 1998, 160, 1444-1448
29. Hayashi T., Abe E., Yamata T. et al. Nitric oxide production by superficial and deep articular chondrocytes. *Arthr. Rheum.*, 1997, 40, 251-269
30. Huh Yun-Hyun, Kim Seon-Hee, Kim Song-Ja et al. Differentiation Status-dependent regulation of cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin E2 production by epidermal growth factor via mitogen-activated protein kinase in articular chondrocytes. *J. Biol. Chem.*, 2003, 278, 11, 9691-9697
31. Hukkanen M.J.J., Polak J.M., Hughes S.P.F. Nitric oxide in bone and joint disease. Cambridge, 1998
32. Ignarro L.J. Biosynthesis and metabolism of endothelium-derived nitric oxide. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 1990, 30, 535-560
33. Ishiuchi N., Yoshino S., Yokoyama M. et al. Expression of endothelial nitric oxide synthase and inducible nitric oxide synthase in synovium of rheumatoid arthritis. *Ryumachi*, 1999, 39, 5, 749-756
34. Jarvinen T.A.H., Moilanen T., Jarvinen T.L.N. et al. Nitric oxide mediates interleukin-1 induced inhibition of glycosaminoglycan synthesis in rat articular cartilage. *Med. Inflamm.*, 1995, 4, 107-111
35. Kang J.D., Georgesku H.I., McIntyre-Larkin L. et al. Herniated cervical intervertebral discs spontaneously produce matrix metalloproteinases, nitric oxide, interleukin-6, and prostaglandin E2. *Spine*, 1995, 20, 2373-2378
36. Kondo S., Ishiguro N., Iwata H. et al. The effects of nitric oxide on chondrocytes and lymphocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1993, 197, 1431-1437
37. Kubes P. Inducible nitric oxide synthase: a little bit of good in all of us. *Gut*, 2000, 47, 1, 6-9
38. Kubes P., Suzuki M., Granger D.N. Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, 88, 4651-4655
39. Lotz M., Bober L., Narula S. et al. IL-17 promotes cartilage degradation (abstract). *Arthr. Rheum.*, 1996, 39 (suppl.), 120
40. Maier R., Bilbe G., Rediske J. et al. Inducible nitric oxide synthase from human articular chondrocytes: cDNA cloning and analysis of mRNA expression. *Biochem. Biophys. Acta*, 1994, 1208, 145-150

41. Marfield L., Jang D., Murrell G.A.C. Nitric oxide enhances cyclooxygenase activity in articular cartilage. *Inflamm. Res.*, 1996, 45, 254-258
42. Marletta M.A. Nitric oxide: biosynthesis and biological significance. *Trends Biochem. Sci.*, 1989, 14, 488-492
43. Mathy-Hartert M., Deby-Dupont G.P., Reginster J.Y. et al. Regulation by reactive oxygen species of interleukin-1beta, nitric oxide and prostaglandin E(2) production by human chondrocytes. *Osteoarthritis. Cart.*, 2002, 10, 7, 547-555
44. Mazzetti I., Grigolo B., Pulsatelli L. et al. Differential roles of nitric oxide and oxygen radicals in chondrocytes affected by osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Clinical Sci.*, 2001, 101, 6, 593-599
45. Mendes A.F., Carvalho A.P., Caramona M.M. et al. Role of nitric oxide in the activation of NF-kappaB, AP-1 and NOS II expression in articular chondrocytes. *Inflamm. Res.*, 2002, 51, 7, 369-375
46. Min Cao, Stefanovic-Racic M., Georgescu H.I. et al. Does nitric oxide help explain the differential healing capacity of the anterior cruciate, posterior cruciate, and medial collateral ligaments? *Am. J. Sports Med.*, 2000, 28, 176-182
47. Moncada S., Palmer R.M.J., Higgs E.A. Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine: a pathway for the regulation of cell function and communication. *Biochem. Pharmacol.*, 1989, 38, 1709-1715
48. Murrell G.A.C., Dolan M.M., Jang D. et al. Nitric oxide: an important articular free radical. *J. Bone Joint Surg.*, 1996, 78A, 265-274
49. Murrell G.A.C., Jang D., Williams R.J. Nitric oxide activates metalloprotease enzymes in articular cartilage. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1996, 206, 15-21
50. Murrell G.A.C., Phil M.D., Dolan M.M. et al. Nitric oxide: an important articular free radical. *J. Bone Joint Surg.*, 1996, 78, 265-74
51. Nathan C.F., Hibbs J.B.Jr. Role of nitric oxide synthesis in macrophage antimicrobial activity. *Curr. Opin. Immunol.*, 1991, 3, 65-70
52. Palmer R.M.J., Andrews T., Foxwell N.A. et al. Glucocorticoids do not affect the induction of a novel calcium-dependent nitric oxide synthase in rabbit chondrocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1992, 193, 398-405
53. Palmer R.M.J., Ferrige A.G., Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium derived relaxing factor. *Nature*, 1987, 327, 524-526
54. Palmer R.M.J., Hickery M.S., Charles I.G. et al. Induction of nitric oxide synthase in human chondrocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1993, 193, 398-405
55. Palmer R.M.J., Rees D.D., Ashton D.S. et al. L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium dependent relaxation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1988, 153, 1251-1256
56. Pelletier J.P., Mineau F., Ranger P. et al. The increased synthesis of inducible nitric oxide inhibits IL-1ra synthesis by human articular chondrocytes: possible role in osteoarthritic cartilage degradation. *Osteoarthritis. Cart.*, 1996, 4, 199-206
57. Rediske J., Koehne C., Zhang B. et al. The inducible production of nitric oxide by articular cell types. *Osteoarthritis. Cart.*, 1994, 2, 199-206
58. Sajeew Ch., Sridhar N., Addepalli V. Nitric oxide: concepts, current perspectives, and future therapeutic implications. *Indian J. Pharmacol.*, 1998, 30, 351-366
59. Scharstuhl A., van Beuningen H.M., Vitters E.L. et al. Loss of transforming growth factor counteraction on interleukin-1 mediated effects in cartilage of old mice. *Ann. Rheum. Dis.*, 2002, 61, 12, 1095-1098
60. Stabellini G., De Mattei M., Calastrini C. et al. Effects of interleukin-1beta on chondroblast viability and extracellular matrix changes in bovine articular cartilage explants. *Biomed. Pharmacother.*, 2003, 57, 7, 314-319
61. Stadler J., Stefanovic-Racic M., Billiar T.R. et al. Articular chondrocytes synthesize nitric oxide in response to cytokines and lipopolysaccharide. *J. Immunol.*, 1991, 147, 3915-3920
62. Stefanovic-Racic M., Mollers M., Miller L.A. et al. Nitric oxide and proteoglycan turnover in rabbit articular cartilage. *J. Orthop. Res.*, 1997, 15, 422-429
63. Stefanovic-Racic M., Morales T.I., Taskiran D. et al. The role of nitric oxide in proteoglycan turnover by bovine articular cartilage organ cultures. *J. Immunol.*, 1996, 156, 1213-1220
64. Stefanovic-Racic M., Stadler J., Georgescu H.I. et al. Nitric oxide and energy production in articular chondrocytes. *J. Cell Physiol.*, 1994, 159, 274-280
65. Stefanovic-Racic M., Taskiran D., Hering T.M. et al. Nitric oxide inhibits synthesis of aggrecan core protein without altering RNA abundance. *Trans. Orthop. Res. Soc.*, 1998, 23, 300
66. Stefanovic-Racic M., Watkins S.C., Kang R. et al. Identification of inducible nitric oxide synthase in human osteoarthritic cartilage. *Trans. Orthop. Res. Soc.*, 1996, 21, 534
67. Szomor Z.L., Wang M.X., Wei A. et al. Nitric oxide synthase in human rotator cuff tendon. A sports medicine Odyssey - challenges, controversies and change. *Australian Conference of Science and Medicine in Sport. 2001*
68. Taskiran D., Stefanovic-Racic M., Georgescu H.I. et al. Nitric oxide mediates suppression of cartilage proteoglycan synthesis by interleukin-1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1994, 200, 142-148
69. Vanhoutte P.M. Endothelium and control of vascular function. *Hypertension*, 1989, 13, 658-667
70. Vuolteenaho K., Moilanen T., Hamalainen M. et al. Regulation of nitric oxide production in osteoarthritic and rheumatoid cartilage. Role of endogenous IL-1 inhibitors. *Scand. J. Rheumatol.*, 2003, 32, 1, 19-24
71. Witte M.B., Thornton F.J., Efron D.T. et al. Enhancement of fibroblast collagen synthesis by nitric oxide. *Nitric Oxide*, 2000, 4, 572-582

Поступила 28.01.04