

# Nitrogén monoxid (NO) donorok és inhibitorok

Megyeri Attila

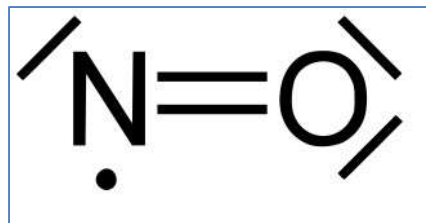
2017.10.10

# Nitrogén monoxid (NO) donorok és inhibitorok

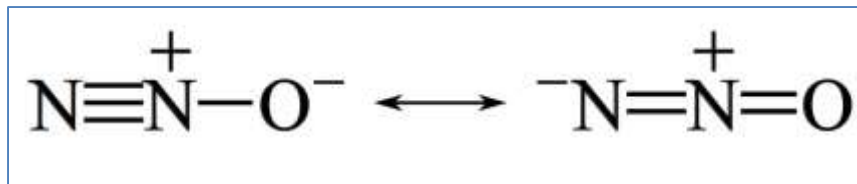
- **terápiás jelentőség ??? donorok ↔ inhibitorok**
  - nagy (nitrátok) ↔ intenzív kutatás alatt
- Hátér
  - fiziko-kémiai tulajdonságok
  - fiziológia – biológiai jelentőség
  - pathofiziológia – NO és betegségek
- NO a terápiában
  - direkt / donorok
  - (inhibitorok)

# Nitrogén monoxid (NO)

- nitrogén monoxid (NO)  $\neq$  dinitrogén oxid (N<sub>2</sub>O)
- mindkettő **gáz** !
- NO: **jelátviteli molekula** – N<sub>2</sub>O ált. anesthesia („kégáz”)
- membránokon keresztül könnyedén diffundál
- **labilis / reaktív** (szabadgyökök)
  - néhány mp élettartam
  - fémekkel és reaktív oxigén gyökökkel gyorsan reagál



NO

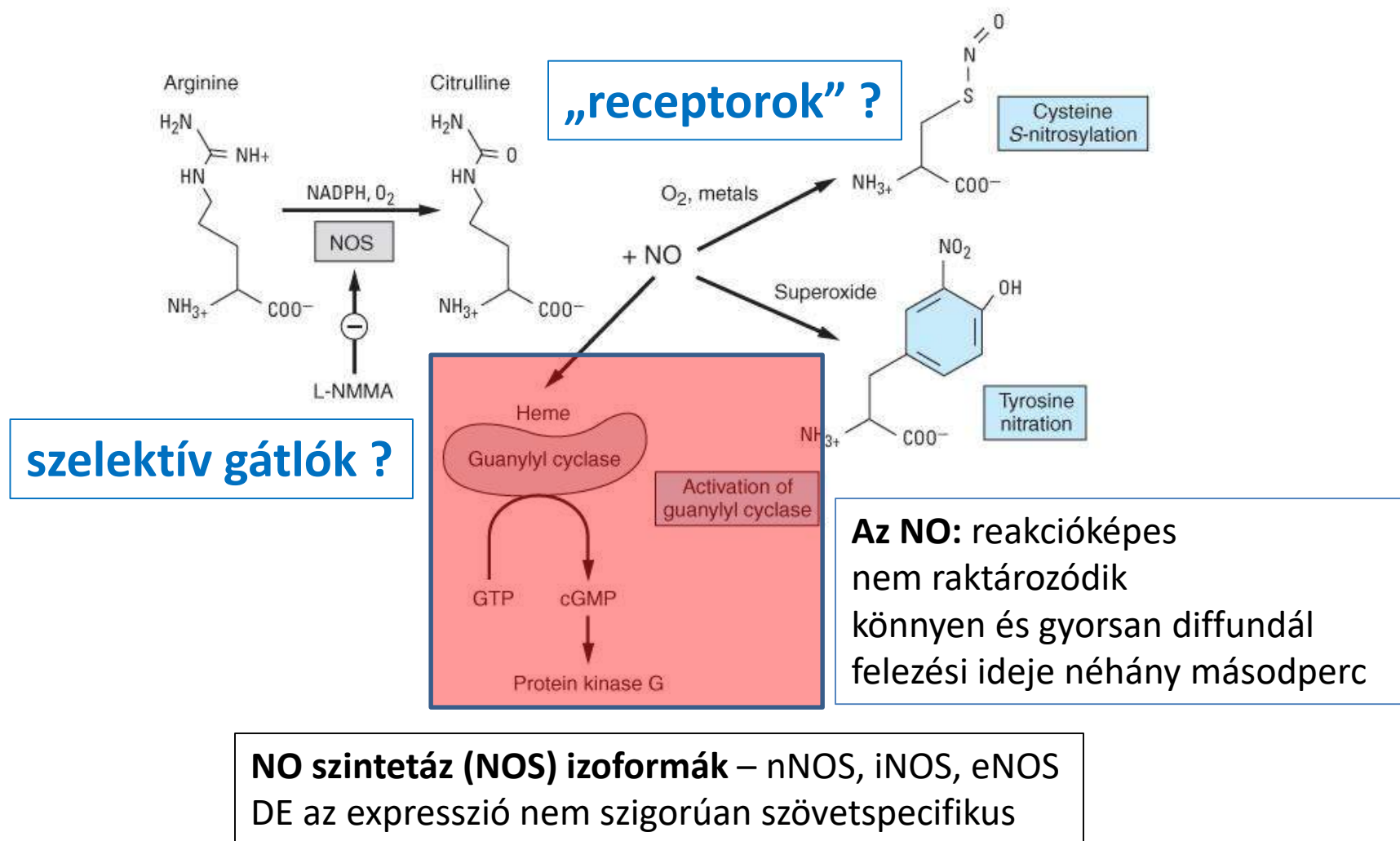


N<sub>2</sub>O

# NO biológiai jelentőségének felfedezése

- endotoxin hatásra
  - *in vitro* **nitritek** (RONO) /**nitrátok** (RONO<sub>2</sub>) felhalmozódása
  - *in vivo* emelkedett nitrit/nitrát a vizeletben
- ACh → nyúl aorta vasodilatatio DE csak ép endothel esetén
  - EDRF – “endothelium-derived relaxing factor” ≈ NO
    - Robert Furchgott (1979) → Furchgott – Ignarro (1988)
    - 1998 Nobel díj (Furchgott, Murad, Ignarro)
      - „a nitrogén monoxid cardiovascularis rendszerben betöltött szerepének megismeréséért”

# NO endogén szintézise és hatásai 1.



# Az NO endogén szintézise és hatásai 2.

## NO szintetáz izoformái

Név	NOS-1	NOS-2	NOS-3
Más név	nNOS (neuronalis NOS)	iNOS (indukálható NOS)	eNOS (endothelialis NOS)
Szövet	neuronok epithelialis sejtek	macrophagok simaizom sejtek	endothel sejtek
Expresszió	konstitutív	transzkripcionalis indukció	konstitutív
Ca <sup>2+</sup> szabályoz?	Igen	Nem	Igen
Kromoszóma	12	17	7
Molekulatömeg kb.	150-160 kDa	125-135 kDa	133 kDa

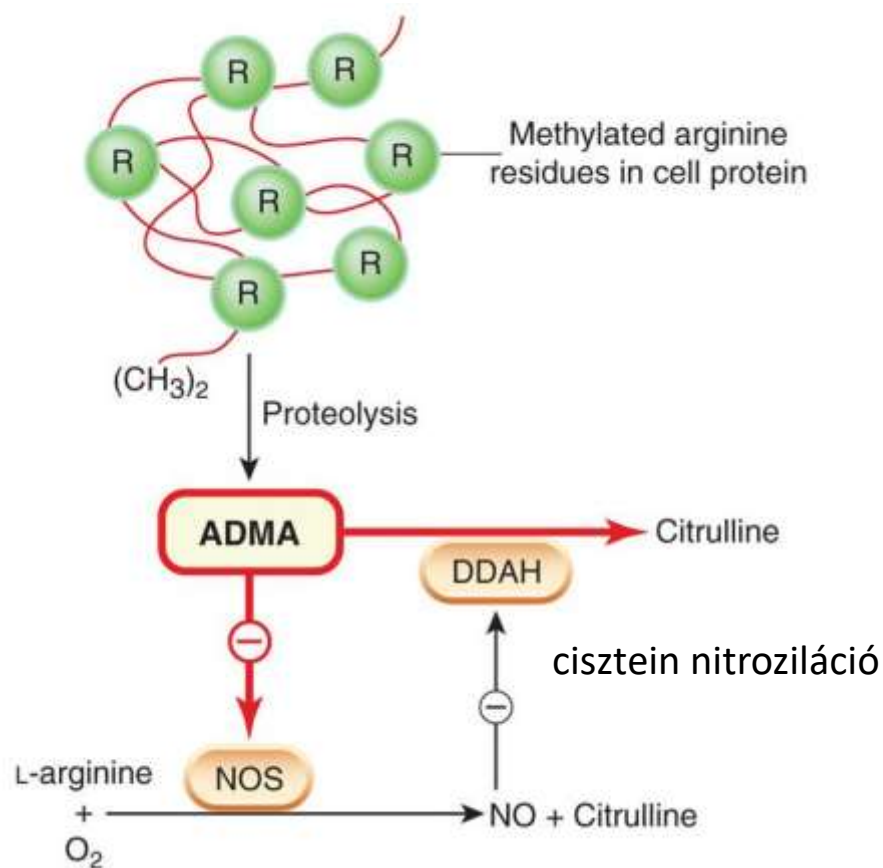
iNOS: **nagyobb NO mennyiség** / irreverzibilis kalmodulin kötés

# NOS aktivitás endogén szabályozása

*ADMA: aszimmetrikus dimetilarginin*  
endogen NOS inhibitor

ADMA plazmakoncentráció ↑

krónikus veseelégtelenség ~ mortalitás  
hypercholesterinemia



DDAH: dimetilarginin dimetilamino hidroláz

# Az NO molekuláris szintű hatásai

- fehérjék kovalens módosítása
  - metalloproteinek
    - **szolubilis guanilát cikláz – hem tartalmú – aktiválás**
      - citokróm oxidáz – gátlás
      - hem tartalmú cP450 enzimek – gátlás – pl. gyulladásos májbet.
  - cisztein S-nitroziláció (tiol  $\rightarrow$  nitrozotiol - poszttranszlációs modifikáció)
    - pl. H-ras – aktiváció
    - pl. gliceraldehid-3-foszfát-dehidrogenáz – gátlás
    - nitrozoglutathion / nitrozo Hgb – endogén stabil NO / szállító ?
  - tirozin nitrálás
    - **peroxinitrit** ( $O_2^- + NO \rightarrow ONOO^-$ ) képződésen keresztül
    - oxidatív stressz  $\rightarrow$  nitrotirozin  $\rightarrow$  fehérjék aktiválása / gátlása
    - ic. glutathion (scavanger)



# Az NO sejt szintű hatásai

- **simaizom relaxáció**
  - vasodilatatio – arteriola (basalis tónus) / erectio
    - eNOS inger: mediátorok (ACh, bradikinin ... ) / nyíróerő
  - egyéb simaizom (gastro. / bronchus / genitourin.)
- **sejt adhesio**
  - ↓thrombocytá aggregatio, ↓neutrophil adhesio
- **gyulladás** ↑ (mennyiség!)
- **idegrendszeri szerep**
  - perifériás (vegetatív): NANC neurotransmisszió
  - centrális
    - szinaptikus plaszticitás (retrográd transzmitter, LTP – pl. memória)
    - NMDA excitotoxicitás (nNOS inger: NMDA receptor aktiváció)

# Acetylcholin okozta vasodilatatio lépései

1. Endothelsejteken levő **nem innervált**  $M_3$  ACh receptorokhoz kötődik
2. aktiválódik a  $G_q$ -PLC- $IP_3$  útvonal
3.  **$Ca^{2+}$  mobilizáció**
4. az endotheliális  $Ca^{2+}$ -calmodulin dependens NO szintetáz (eNOS) aktivációja
5. NO termelés – diffúzió a **simaizom sejtekhez**
6. szolubilis guanilát cikláz aktiváció – cGMP  $\uparrow$
7. cGMP dependens **protein kináz (PKG)** aktivációja
  - a)  $Ca^{2+}$  influx  $\downarrow$
  - b) miozin könnyű lánc foszfatáz (MLCP) foszforilációja  $\rightarrow$  miozin könnyű lánc defoszforilációja
  - c) miozin könnyű lánc kináz (MLCK) foszforilációja  $\rightarrow$  MLCK gátlás ?
  - d) membrán  $K^+$  csatorna nyitás  $\rightarrow$  hiperpolarizáció
8. **simaizom relaxáció**

# NO szerepe betegségekben 1.

- **érrendszer**

- alapvető szerep az integritás/tónus fenntartásában
  - endothel dysfunctio → csökkent NO termelés
- **nincs elég NO**
  - **magas vérnyomás**
  - **thrombosis** – **atherosclerosis** / atherogenesis
    - simaizomsejt proliferáció
    - thrombocyta aggregáció
    - monocyta / leukocyta adhesio
  - pulmonalis hypertensio
    - NO gáz inhaláció kedvező (ld. újszülöttek)
- **túl sok NO** (nem endothel eredetű)
  - **szeptikus sokk**
    - endotoxin, citokinek → iNOS (túl sok NO) → sokk

# NO szerepe betegségekben 2.

- **gyulladásos betegségek**

- gyulladásos- / immunválaszban részt vesz
- DE túl hosszán vagy túl sok károsít

- **idegrendszer**

- központi idegrendszer
  - ha túl sok → **excitotoxicitás, neurodegeneratív betegségek**
- perifériás idegrendszer
  - **NANC** neuronok – neurotranszmitter
    - gyomorürülés
      - » idiopathias hypertrophias pylorus stenosis (↓ termelés)
    - erekció – corpus cavernosum simaizom relaxáció
      - » dysfunctio → impotencia (↓ termelés)

# NO terápiás jelentősége 1.

- **NO szintézis gátlása** — jelenleg klinikai felhasználás nincs
  - nem-izoform szelektív arginin analógok – eNOS is gátolt
  - fejlesztés alatt – **izoform szelektív gátlók**
    - kötőhely minimális különbségek / dimerizáció gátlása
    - gyulladás, sepsis – iNOS – BBS-2 ?
    - neurodegeneratív betegségek – nNOS – 7-nitroindazole
- **NO szintézis csökkenés (endotheldysfunctio) kivédése**
  - antioxidánsok, statinok, L-arginin (?)
  - **nebivolol** –  $\beta_1$  antagonistá + vasodilatátor (NO révén)

# NO terápia jelentősége 2.

- **NO donork** alkalmazása
  - **nitrátok** / nitritek
    - szerves nitrátok
      - **nitroglycerin**
      - izoszorbid dinitrát / izoszorbid-5-mononitrát
    - szerves nitritek – amyl nitrit
    - Na-nitroprusszid / molsidomine
  - hibrid NO donork – vizsgálat alatt
    - NO beépítése jelenleg elérhető CV gyógyszerekbe (aspirin, captopril, nitro-statinok)
  - NO gáz inhalációja
    - primer újszülöttkori pulmonalis hypertonia
- **NO „downstream” jelátviteli utak befolyásolása – PDE inhibitorok**
  - erectilis dysfunctio – pl. sildenafil (Viagra)

# Nitrátok / nitritek

- NO felszabadulás
  - **enzimreakció:** szerves nitrátok (pl. nitroglycerin)
    - mitochondrialis aldehyd dehidrogenáz ?
  - **„direkt” felszabadulás** (pl. molsidomine, nitroprusszid Na)
- **nitroglicerín**
  - akut angina – sublingualisan (csúcs ~ 4 perc,  $t_{1/2}$  ~ 1-3 perc)
  - tartós alkalmazás ? (pl. Nakamura, 1999; Tarkin, 2016)
  - preferenciálisan venodilatáció + epicardialis coronariák + atherosclerotikus stenosis + kollaterális keringés (nincs „coronary steal”)
  - thrombocytá aggregáció gátlás
- izoszorbid dinitrát / **izoszorbid-5-mononitrát** (pl. Olicard®)
- nicorandil
- molsidomine (Corvaton®) – akut terápiára nem
- natrium nitroprusszid
  - infúzióban, fényérzékeny,
  - arteriás  $\approx$  vénás

# Nitrátok / nitritek

- **tolerancia**

- mechanizmus ?

- kompenzatórikus neurohumoralis aktiváció, SH depléció, szabadgyökök, mitochondriális aldehyd dehidrogenáz inaktiváció ...

- csökkentésre: **intermittáló adagolás**

- **mellékhatások**

- ortosztatikus hipotonia

- tachycardia

- lüktető fejfájás

- ↑ koponyaűri nyomás (túladagolás esetén)

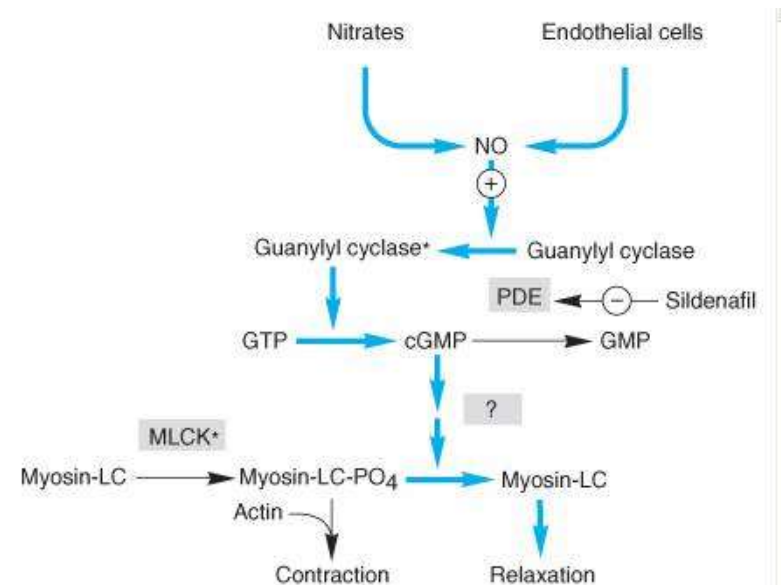


# NO gáz inhaláció

- nagy adagban toxikus (tüdőoedema, methemoglobinemia)
- a pulmonalis erek szelektív dilatációja (< 50 ppm)
- ↓ pulmonalis nyomás, ↑ oxigenizáció
- FDA: újszülöttek súlyos perzisztens pulmonalis hypertenziója
  - ↑ oxigenizáció
  - ↓ extracorporalis membrán oxigenizáció
- hosszú távú eredmény ???
  - ARDS
  - primer pulmonalis hypertenzió
  - tüdőembolia
  - tüdő transzplantáció

# Nitrátok és PDE5 inhibitorok interakciója

- az erectilis dysfunctio és coronaria betegség rizikófaktorai  $\approx$
- PDE5 gátlók
  - sildenafil (Viagra)
  - tadalafil (Cialis)
  - vardenafil (Levitra)
- jelentős cGMP  $\uparrow \rightarrow$  súlyos vérnyomásesés



PDE5 gátlók indikációi: **erectilis dysfunctio, pulmonaris hypertensio**

# Összefoglalás

- ma használt NO donorok  $\approx$  nitrátok
- de az NO szerepe sokkal kiterjedtebb
- inhibitorok még nincsenek, de
- jól alkalmazhatók lennének
  - gyulladásos és/vagy
  - neurodegeneratív betegségekben