

УДК 579.017.7

В.И. ДУНАЙ, канд. биол. наук, доцент¹

А.С. ГУБЕЙКО

аспирант¹

¹Полесский государственный университет,
г. Пинск, Республика Беларусь

Статья поступила 9.10.2025 г.

ЭВОЛЮЦИЯ NO-СИНТАЗЫ В ПРОКАРИОТАХ И ЭУКАРИОТАХ: СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ДИВЕРСИФИКАЦИЯ

На основе комплексного анализа современных литературных источников обзор систематизирует данные об эволюции NO-синтазы (NOS) от прокариотических форм к специализированным эукариотическим изоформам. Показано, что по мере усложнения биологических систем NOS претерпела существенные структурные и функциональные модификации, трансформировавшись из неспецифического защитного фермента в многофункциональный регулятор, участвующий в нейросигналинге, сосудистой регуляции и иммунной модуляции.

Ключевые слова: NO-синтаза, прокариоты, эукариоты, геномный анализ.

DUNAI V.I., PhD in Biol. Sc., Associate Professor¹

GUBEYKO A.S., Graduate Student¹

¹Polesky State University, Pinsk, Republic of Belarus

EVOLUTION OF NITRIC OXIDE SYNTHASE IN PROKARYOTES AND EUKARYOTES: STRUCTURAL ORGANIZATION AND FUNCTIONAL DIVERSIFICATION

Based on a comprehensive analysis of current literature, this review systematizes data on the evolution of nitric oxide synthase (NOS) from prokaryotic forms to specialized eukaryotic isoforms. It demonstrates that, as biological systems became more complex, NOS underwent significant structural and functional modifications, transforming from a nonspecific protective enzyme into a multifunctional regulator involved in neuro-signaling, vascular regulation, and immune modulation.

Keywords: Nitric oxide synthase, prokaryotes, eukaryotes, genomic analysis

Введение. Оксид азота (NO) синтезируется ферментом NO-синтазой, относящимся к оксидоредуктазам, который катализирует превращение L-аргинина в NO и L-цитруллин с участием кислорода и кофакторов (NADPH, FAD, FMN, BH₄) [1]. NO-синтазы прокариот и эукариот различаются по доменной организации, механизмам регуляции и биологическим функциям, что отражает их эволюционную дивергенцию. Тем не менее, образование оксида азота во всех известных формах NOS осуществляется

посредством гем-зависимой двухэтапной реакции, в которой ключевым окислителем выступает активная пероксо-форма железа [2].

Цель работы – систематизировать современные представления о молекулярных механизмах и эволюционных закономерностях структурно-функциональной диверсификации NO-синтаз у прокариот и эукариот.

Материалы и методы. Анализ научной литературы проведен в научной электронной библиотеке «КиберЛенинка», электронном

научном журнале «Российская Академия Естествознания», базе данных PubMed и NIH, научно-информационной социальной сети ResearchGate за 2003-2023 гг.

Поиск осуществлялся по ключевым словам и их комбинациям, включая «Nitric oxide synthase», «NOS prokaryotes», «NOS eukaryotes», а также их русскоязычные эквиваленты.

В обзор включались оригинальные исследования, литературные обзоры и метаанализы, содержащие данные о структурных особенностях и функциональной роли NO-синтаз в различных таксонах организмов. В исследование не включались публикации без доступа к их полному тексту. Первоначально было отобрано 80 публикаций, из которых после оценки полноты данных, методологической прозрачности и релевантности теме обзора были включены 60 источников. Критическая оценка проводилась с учетом следующих критериев: наличие описаний доменной архитектуры и аминокислотных последовательностей, данных о филогенетических связях и эволюционных сценариях, сопоставления структурных особенностей с функциональной диверсификацией.

Строение NO-синтазы у эукариотических организмов

NO-синтазы млекопитающих являются наиболее полно охарактеризованными представителями класса NOS: именно для них впервые были получены трехмерные структуры методом рентгеноструктурного анализа, что позволило детально описать молекулярные механизмы биосинтеза оксида азота [3].

У млекопитающих выявлены три основные изоформы NO-синтазы (NOS), каждая из которых кодируется отдельным геном: нейрональная (nNOS), индуцируемая (iNOS) и эндотелиальная (eNOS) [4, 5]. Изоформы nNOS и iNOS представляют собой растворимые ферменты, локализующиеся преимущественно в цитозоле, тогда как eNOS ассоциирована с плазматической мембраной [6].

Все три изоформы NOS представляют собой гомодимерные мультимодульные белки, включающие оксидазный домен на N-конце, редуктазный домен на C-конце и кальмодулин-связывающий участок между ними [5]. Оксидазный домен катализирует превращение L-аргинина в NO и цитруллин, редуктазный – обеспечивает перенос электронов от

NADPH через FAD и FMN, а кальмодулин-связывающий участок регулирует Ca^{2+} -зависимую активацию фермента, за исключением iNOS, который связывает кальмодулин независимо от уровня кальция [4]. Нейрональная NO-синтаза содержит на N-конце PDZ-домен из 100 аминокислот, который обеспечивает её точную локализацию и участие в белок-белковых взаимодействиях, особенно в нейронах [7].

Прямая визуализация переходных состояний методом электронной микроскопии показала, что у конститутивных изоформ NOS (nNOS и eNOS) связывание кальмодулина (CaM) с α -спиралью инициирует освобождение FMN-домена от FAD/NADPH-домена, позволяя электронному потоку достигать оксидазного центра. CaM стабилизирует положение FMN-домена, ограничивая его подвижность и обеспечивая точное выравнивание с активным центром, что повышает каталитическую эффективность [6, 8]. В iNOS кальмодулин формирует комплекс с оксидазным доменом, фиксируя FMN-домен в активной конфигурации. Электронный поток в NOS реализуется асимметрично: активен лишь один редуктазный домен, что обеспечивает поочередную активацию и предотвращает избыточную продукцию оксида азота [7, 9].

Геномный анализ последовательностей NOS у птиц выявил наличие полноразмерных изоформ NOSI и NOSII у *Gallus gallus* и *Taeniopygia guttata*. NOSI характеризуется наличием PDZ-домена, тогда как NOSII отличается отсутствием тормозной петли, что отражает их структурную дифференциацию. У *Gallus gallus* обнаружены две укороченные последовательности NOS (233 а. и 138 а.), идентифицированные как NOSIII, поскольку они демонстрируют высокую гомологию с эндотелиальной NOS млекопитающих [10].

У представителей костистых рыб изоформы NOSI и NOSII были обнаружены исключительно у *Danio rerio* и *Oncorhynchus mykiss* [10-13]. У хрящевых рыб выявлены NOSI (*Callorhynchus milii*, *Squalus acanthias*) и NOSII (*Scyliorhinus canicula*). У миноги идентифицирован ген NOSA, обладающий признаками NOSI – наличием ингибирующей петли и сходством аминокислотной последовательности, но без PDZ-домена; а также ге-

ны NOSB и NOSC, гомологичные человеческой NO-синтазе [10, 11].

У представителей рептилий и амфибий была обнаружена только NOSIII. NOSIII характеризуется наличием ингибиторной петли, регулирующей каталитическую активность фермента, однако отсутствуют N-консенсусная миристоилированная последовательность и сайт пальмитоилирования на N-конце, что может указывать на изменённую мембранную локализацию [10, 12].

У головохордовых идентифицировано три гена NO-синтазы: NOSA, NOSB и NOSC. Изоформы NOSA и NOSC содержат PDZ-домен и ингибиторную петлю, что свидетельствует об их функциональном сходстве с нейрональной и эндотелиальной NOS (NOSI и NOSIII), в противоположность им, NOSB лишён обеих структур, что соответствует признакам индуцируемой NOSII [14].

У оболочников *Ciona intestinalis* и *Ciona savignyi* идентифицирован единственный ген NOS, демонстрирующий гомологию с изоформой NOSI млекопитающих.

У полухордовых была идентифицирована частичная последовательность NO-синтазы, лишённая ингибиторной петли, что указывает на ее сходство с индуцибельной изоформой NOSII [10, 15].

У иглокожих идентифицированы две последовательности NOS, обе из которых содержат ингибиторную петлю, характерную для кальций-зависимых конститутивных изоформ NOS [10].

У беспозвоночных животных (кольчатых червей, моллюсков и членистоногих) идентифицированы NOS-последовательности с ингибиторной петлей, характерной для конститутивных форм. Домен PDZ обнаружен только у моллюска *Lottia*. У других моллюсков и членистоногих выявлена ингибиторная петля [15].

У базальных многоклеточных животных выявлены разнообразные изоформы NOS, отражающие раннюю функциональную диверсификацию фермента. У книдарии *Nematostella vectensis* идентифицирован ген NOS, обладающий смешанными признаками NOSI/NOSII – наличием PDZ-домена и отсутствием ингибиторной петли. У другого представителя книдарий, *Discosoma striata*, отсутствуют оба элемента, что указывает на

возможную индуцибельную природу фермента. У плакозоя *Trichoplax adhaerens* обнаружены три NOS-последовательности с признаками конститутивной NOS. Частичные последовательности NOS, выявленные у гребневика *Pleurobrachia pileus* и губки *Oscarella carmela*, имеют признаки индуцируемой и конститутивной форм фермента [16]. Такая структурная неоднородность может свидетельствовать о том, что механизмы регуляции активности NOS начали формироваться уже на ранних этапах эволюции многоклеточных, еще до дивергенции *Bilateria*.

NOS-подобный фермент OtNOS, обнаруженный у водоросли *Ostreococcus tauri*, демонстрирует структурное и функциональное сходство с животной NO-синтазой [3]. OtNOS содержит оксидазный домен на N-конце и редуктазный домен, способен связывать кальмодулин и сохраняет значительную каталитическую активность даже в отсутствие Ca^{2+} -CaM, что сближает его с индуцибельной формой NOS (iNOS) [17]. Несмотря на отсутствие генов синтеза BH_4 , предполагается использование альтернативного кофактора – тетрагидрофолата (THF), характерного для растительных метаболических путей, что отражает адаптацию фермента к специфическим условиям окружающей среды [18].

У растения *Arabidopsis thaliana* был идентифицирован NOS-подобный белок AtNOS1, экспрессируемый преимущественно в корневой системе [19]. AtNOS1 демонстрирует высокую гомологию с NOS улитки *Helix pomatia* и признаки аргинин-зависимого синтеза NO [20]. Однако, структурный анализ выявил отсутствие PDZ-домена и ингибиторной петли – элементов, характерных для животной NO-синтазы [19]. При этом AtNOS1 активируется комплексом Ca^{2+} -кальмодулина по механизму, сходному с активацией eNOS, однако его каталитическая активность значительно ниже [21, 22].

NOS-подобные ферменты грибов отличаются от канонической NOS по строению: вместо одного белка, содержащего оксидазный и редуктазные домены, у грибов эти домены представлены отдельными белками (например, K2S718_MACP и EKG20706.1 у *Macrophomina phaseolina*), функционирующими независимо [23, 24]. Несмотря на модульную организацию, NOS-подобные фер-

менты грибов сохраняют зависимость от NADPH, Ca^{2+} и BH_4 , аналогично NO-синтазам животных [25].

Структура NOS-подобных ферментов у грибов и растений остается на сегодняшний день недостаточно охарактеризованной. Идентифицированные аминокислотные последовательности NOS демонстрируют лишь фрагментарное сходство с доменами животных NOS и не содержат таких ключевых структурных элементов, как PDZ-домен и ингибиторная петля. Эти особенности создают значительные трудности для таксономической классификации данных ферментов, а также для понимания молекулярных механизмов их регуляции у растений и грибов.

Строение NO-синтазы у прокариот

NO-синтаза, обнаруженная у *Rhodospirillaceae bacterium TMED140*, демонстрирует альтернативный редуктазный домен, лишённый классического SDR-мотива [26]. Некоторые бактериальные NO-синтазы отличаются отсутствием типичного PEF-регуляторного мотива. Так, у *Nuphomonas* sp. TMED17 вместо него выявлены нетипичные структурные компоненты, включая кинезин-ассоциированный домен и CAP-ED – эффекторный элемент, гомологичный доменам транскрипционных регуляторов семейства CAP [26, 27].

NO-синтаза *Bacillus subtilis* (bsNOS) лишена собственного редуктазного домена, но её активность поддерживается за счёт экзогенных электронтранспортных белков [28]. Исследование Чжицяна Вана и коллег показало, что флавопротеины YkuN и YkuP могут передавать электроны bsNOS через комплекс NADPH/FLDR/FLD, обеспечивая эффективный синтез NO из L-аргинина и промежуточного продукта NOHA [29]. Эти белки проявляют структурное сходство с NADPH-цитохром P450 редуктазой, что указывает на функциональную конвергенцию прокариотических и эукариотических систем электронного переноса [28, 29].

NO-синтаза радиорезистентной бактерии *Deinococcus radiodurans* (deiNOS) демонстрирует выраженное структурное сходство с оксидазным доменом NOS млекопитающих, достигающее 34% идентичности аминокислотной последовательности, однако при этом лишена $\text{Zn}(\text{Cys})_4$ -сайта [30]. deiNOS демон-

стрирует способность к спонтанной димеризации и самоорганизации, предположительно за счет N-концевой замены «крючков», что отражает архаичные механизмы стабилизации, предшествовавшие эукариотическим структурам [31-32]. Димеризация фермента происходит без участия кальмодулина, подчёркивая протозволюционную природу белка [31]. Согласно данным Мохаммада Адаке, гем deiNOS способен принимать электроны от эукариотического редуктазного домена NOS, иницируя синтез NO с высокой скоростью, зависящей от тетрагидробиоптерина или тетрагидрофолата, что сопровождается образованием гем-диоксикаталитического промежуточного состояния [30].

NO-синтаза *Streptomyces turgidiscabies* (stNOS) характеризуется наличием N-концевого расширения в оксидазном домене. Предполагается, что N-концевое расширение способствует удержанию модифицированного Zn^{2+} -сайта, в котором вместо одного цистеина присутствует гистидин. Этот модифицированный Zn^{2+} -сайт stNOS, вероятно, участвует в нитровании такстомина А – фитотоксического соединения, определяющего патогенность *Streptomyces turgidiscabies* [33].

NO-синтаза *Sorangium cellulosum* (scNOS) является единственной известной бактериальной формой NOS, сочетающей оксидазный и редуктазные домены в одной полипептидной цепи фермента [3, 34]. Её оксидазный домен демонстрирует более 48% сходства с эукариотическими NOS, а редуктазный компонент включает сайты связывания NADPH, FAD и FMN и локализован на N-конце, где также присутствуют FNR-подобные участки и сегмент, связывающий кластер $[2\text{Fe}-2\text{S}]$, гомологичный Bfd. Такая организация делает scNOS каталитически самодостаточной и функционально близкой к NOS млекопитающих [3, 35].

NO-синтазы у цианобактерий *Nostoc* sp., *Synechococcus* sp. и *Scytonema hofmanni* содержат два домена – оксидазный и редуктазный, однако лишены структурных элементов, характерных для эукариотических NOS, таких как CaM -связывающий мотив и $\text{Zn}(\text{Cys})_4$ -сайт. Вместо них присутствуют N-концевые расширения и глобиновый до-

мен, который, предположительно, выполняет буферирующую функцию по отношению к оксиду азота и участвует в регуляции активности фермента в зависимости от уровня кислорода, отражая экологическую адаптацию цианобактерий [26].

Гипотеза химерного происхождения NOS эукариот

Гипотетические корни эволюции NOS-синтазы восходят к ранним бактериальным формам жизни, существовавшим на Земле около двух миллиардов лет назад. У архетипических прокариот NOS представлена исключительно оксидазным доменом (bNOSoxu), что указывает на их зависимость от внешних доноров электронов [36]. Комплексный филогенетический анализ bNOSoxu выявил значительную структурную и функциональную гомологию с эукариотическими изоформами NOS, что позволяет предположить происхождение всех эукариотических форм от архетипического прокариотического предшественника, содержащего только оксидазный домен [37]. Примечательно, что современные представители прокариот, такие как *Bacillus subtilis*, *Streptomyces spp.* и *Sorangium cellulosum*, сохраняют аналогичные доменные структуры, что подтверждает консервативность архитектуры и функциональную значимость bNOSoxu в ранней эволюции NOS [36, 37].

Согласно гипотезе химерного происхождения NOS эукариот, в эпоху кислородной революции протерозоя прокариотический предшественник NO-синтазы подвергся функциональной адаптации, включив в свою структуру электрон-донорный редуказный домен, гомологичный флавопротеину сульфитредуктазы (SiR-FP) [38]. Структурный анализ подтвердил гомологию SiR-FP с редуказным доменом эукариотической NOS, включая цитохром P450-редуктазу (CPR). Таким образом, это слияние доменов привело к формированию химерного фермента, сочетающего бактериальный оксидазный домен с редуказным доменом, функционально сходным с CPR [39].

Гипотеза сериальных дупликаций генов NOS у позвоночных

Эволюционное разнообразие NOS у позвоночных – NOS1 (nNOS), NOS2 (iNOS) и NOS3 (eNOS) – сформировалось в результате

трех последовательных событий дупликации всего генома [40].

Первая дупликация произошла у общего предка хордовых и привела к образованию двух паралогов гена NOS. У бесчелюстных, таких как *Petromyzon marinus*, наблюдается независимая амплификация генов NOS, не связанная с последующими дупликациями у гнатоустомов, что отражает уникальный путь эволюции данной ферментной системы [8, 40].

Вторая дупликация произошла у челюстных позвоночных и привела к формированию трёх функциональных изоформ: двух конститутивных, регулируемых кальмодулином (NOS I/III), и одной индуцируемой (NOS II), функционально аналогичной iNOS у млекопитающих. У современных рыб эти изоформы представлены отдельными генами, чётко разграниченными по экспрессии и биологической функции [40].

Третья дупликация произошла после расхождения лучепёрых рыб и четвероногих. У костистых рыб произошло удвоение, однако сохранились лишь две копии – NOS I/III и NOS II, что может свидетельствовать о функциональной избыточности либо специфической утрате одной из копий. У четвероногих же копия NOS I/III подверглась дополнительной дупликации, что привело к формированию двух конститутивных изоформ: нейрональной NOS1 и эндотелиальной NOS3 [41, 42].

Эта трехступенчатая эволюция NO-синтазы сопровождалась процессами неофункционализации, субфункционализации и линейно-специфических потерь копий, что обеспечило формирование тканевой специфичности, функционального разнообразия и регуляторной гибкости.

Основные функции NO-синтазы у прокариот и эукариот

NO-синтазы симбиотических бактерий *Rhizobium spp.*, *Sinorhizobium meliloti* и *Bradyrhizobium japonicum* участвуют в регуляции взаимодействия с бобовыми растениями, такими как *Lupinus albus* и *Medicago truncatula*, координируя процессы инвазии, морфогенеза и адаптации к стрессу. Продуктуемый ими монооксид азота инициирует сигнальные каскады, способствующие формированию устойчивых межвидовых ассоци-

аций и поддержанию функциональной стабильности симбиоза [43]. Аналогичный механизм выявлен у морской бактерии *Silicibacter sp.* TrichCH4B, взаимодействующей с водорослью *Trichodesmium erythraeum*, где экспрессия гена NOS способствует биопленкообразованию и стабилизации симбиоза [44].

Монооксид азота, продуцируемый патогенами *Staphylococcus aureus* и *Bacillus anthracis*, защищает бактерии от действия антибиотиков посредством активации каталазы и ингибирования реакции Фентона, предотвращая образование гидроксильных радикалов [45]. При дефиците bNOS у *B. anthracis* нарушается экспрессия гена SodA, что повышает уязвимость к окислительному стрессу. Генетическая инактивация NOS у этого вида приводит к неспособности спор выживать внутри макрофагов вследствие отсутствия NO-зависимой антиоксидантной защиты, особенно каталазы, что критически снижает вирулентность [46].

В рамках нашего исследования впервые продемонстрирована NO-синтазная активность по отношению к триптофану у микроводоросли *Chlorella vulgaris* [47]. Ранее подобная способность считалась характерной исключительно для бактерий, включая пробиотическую *Bifidobacterium infantis* [48, 49].

У диатомовых водорослей реактивные альдегиды индуцируют NOS-подобную активность, что приводит к интенсивной продукции оксида азота (NO) и, как следствие, инициирует программируемую клеточную смерть на популяционном уровне. Этот процесс функционирует как механизм популяционного самоконтроля, предотвращая чрезмерный рост численности и истощение ресурсов [50].

У *Drosophila melanogaster* при обнаружении патогена энтероциты активируют синтез монооксида азота (NO) посредством NO-синтазы, что инициирует иммунный ответ. NO-сигналинг активирует гемоциты, которые индуцируют транскрипционные перестройки в жировом теле (аналог печени), обеспечивая системную адаптацию к инфекции [51].

Фермент NOS регулирует нейронные процессы, лежащие в основе пищевого поведения, включая оценку съедобности субстрата

и выбор подходящего пищевого стимула. У *Aplysia californica* оксид азота (NO) оказывает стимулирующее влияние на процесс откладки яиц [52].

У личинок *Crepidula fornicata* высокий уровень NO поддерживает активное движение (плавание, ползание), тогда как его снижение связано с переходом к метаморфозу [53].

У морских ежей и амфибий активность NOS ассоциирована с капациацией и мейозом [54].

Наши исследования выявили закономерную эволюционную перестройку системы синтеза оксида азота (NOS) у позвоночных: от локальной неспецифической регуляции к глубокой нейрофункциональной интеграции [55]. У лягушки озерной наблюдается повышение плотности NO⁺ нейронов (74–82 кл/мм²), преимущественно в сенсорных и лимбических областях, что отражает начальный этап вовлечения NO в контроль эмоционально-поведенческих реакций [58]. У карпа чешуйчатого (NO-позитивные нейроны регистрируются по всей ЦНС, но преимущественно в продолговатом мозге (48–64 кл/мм²); напротив, передний мозг характеризуется минимальной экспрессией (2–6 кл/мм²), что соответствует его автономно-вегетативной специализации [59, 60]. У домашних кур NOS-нейроны представлены в супраоптическом (280–400 кл/мм²) и дорсомедиальном (210–480 кл/мм²) ядрах гипоталамуса, демонстрируя усиление нейроэндокринной регуляции и начало функционального усложнения. У морских свинок и крыс отмечается значительное расширение зон NOS-активности: гипоталамус содержит от 140 до 820 кл/мм² NO⁺ нейронов, а преаммилярные ядра – более 1000 кл/мм²; дополнительная экспрессия нейрональной NOS идентифицирована в миндалевидном теле и префронтальной коре, что свидетельствует о вовлечённости NO в механизмы нейропластичности, эмоциональной регуляции и долговременной памяти [60].

В сосудистой системе eNOS, экспрессируемая в эндотелии, регулирует сосудистый тонус, препятствует тромбообразованию и участвует в ремоделировании [56]. В кардиомиоцитах nNOS контролирует сократимость посредством кальциевого обмена. В нервной системе nNOS обеспечивает синап-

тическую пластичность, модуляцию боли и когнитивные функции, тогда как при воспалении активируются астроциты и микроглия, экспрессирующие iNOS и инициирующие нейровоспаление [57]. В иммунной системе iNOS индуцируется в ответ на патогены и выполняет цитотоксическую функцию. В пищеварительной системе задействованы все три изоформы: nNOS регулирует перистальтику, eNOS кровоток, а iNOS активируется при воспалении. В дыхательной системе eNOS и iNOS участвуют в регуляции бронхиального тонуса и слизистого клиренса [55]. В почках все изоформы вовлечены в процессы гломерулярной фильтрации и водно-солевого баланса, при этом nNOS локализуется в юкстагломерулярном аппарате, а eNOS – в клубочковом эндотелии [57]. В репродуктивной системе eNOS участвует в овуляции и имплантации, nNOS – в нейроэндокринной регуляции, а iNOS активируется при воспалении. В эндокринной системе оксид азота регулирует секрецию гормонов, включая инсулин и кортизол, через сосудистые механизмы (eNOS) и нейроэндокринные пути (nNOS) [55].

Наши исследования выявили закономерную эволюционную перестройку системы синтеза оксида азота (NOS) у позвоночных: от локальной неспецифической регуляции к глубокой нейрофункциональной интеграции. У лягушки озерной наблюдается повышение плотности NO^+ нейронов (74–82 кл/мм²), преимущественно в сенсорных и лимбических областях, что отражает начальный этап вовлечения NO в контроль эмоционально-поведенческих реакций [58]. У карпа чешуйчатого (NO-позитивные нейроны регистрируются по всей ЦНС, но преимущественно в продолговатом мозге (48–64 кл/мм²); напротив, передний мозг характеризуется минимальной экспрессией (2–6 кл/мм²), что соответствует его автономно-вегетативной специализации [59, 60]. У домашних кур NOS-нейроны представлены в супраоптическом (280–400 кл/мм²) и дорсомедиальном (210–480 кл/мм²) ядрах гипоталамуса, демонстрируя усиление нейроэндокринной регуляции и начало функционального усложнения. У морских свинок и крыс отмечается значительное расширение зон NOS-активности: гипоталамус содержит от 140 до 820 кл/мм² NO^+ нейронов, а преаммилярные ядра –

более 1000 кл/мм²; дополнительная экспрессия нейрональной NOS идентифицирована в миндалевидном теле и префронтальной коре, что свидетельствует о вовлечённости NO в механизмы нейропластичности, эмоциональной регуляции и долговременной памяти [60].

Заключение. Эволюция NO-синтазы демонстрирует переход от простых бактериальных форм с ограниченной активностью к специализированным эукариотическим изоформам (nNOS, iNOS, eNOS), обладающим сложной структурой и строго определенными функциями. Усложнение доменной организации – включая флавиновые, гемовые и регуляторные элементы – сопровождало рост функциональной специализации. Обнаружение NOS-подобных белков у грибов и растений может свидетельствовать о независимых эволюционных путях.

Список использованных источников

1. Structure, distribution, regulation, and function of splice variant isoforms of nitric oxide synthase family in the nervous system / Curr. Protein Pept. Sci. – 2022. – Vol. 23. – P. 510–534.
2. Feng, C. Mechanism of nitric oxide synthase regulation: Electron transfer and interdomain interactions / C. Feng // Coordination Chemistry Reviews. – 2012. – Vol. 256, № 3–4. – P. 393–411.
3. Correa-Aragunde, N. Structure diversity of nitric oxide synthases (NOS): the emergence of new forms in photosynthetic organisms / N. Correa-Aragunde, N. Foresi, L. Lamattina // Frontiers in Plant Science. – 2013. – Vol. 4, № 232. – P. 1–6.
4. Wierońska, J.M. Nitric oxide-dependent pathways as critical factors in the consequences and recovery after brain ischemic hypoxia / J.M. Wierońska, P. Cieřlik, L. Kalinowski // Biomolecules. – 2021. – Vol. 11, No. 8. – P. 1–10.
5. Zhang, W. Nitric oxide synthase and its function in animal reproduction: an update / W. Zhang, S. Chen, L. Guo, Z. Zhang, J. Zhang, X. Wang, et al. // Future Journal of Physiology. – 2023. – Vol. 14, № 1288669. – P. 1–20.
6. Alderton, W.K. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition / W.K. Alderton, C.E. Cooper, R.G. Knowles // Biochemical

- Journal. – 2001. – Vol. 357, № 3. – P. 593–615.
7. Campbell, M.G. Molecular architecture of mammalian nitric oxide synthases / M.G. Campbell, B.C. Smith, C.S. Potter, B. Caragher, M.A. Marletta // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2014. – Vol. 111, № 33. – P. E3614–E3622.
 8. Förstermann, U. Nitric oxide synthases: Regulation and function / U. Förstermann, W.C. Sessa // *European Heart Journal*. – 2012. – Vol. 33, № 7. – P. 829–837.
 9. Smith, B.C. Nitric oxide synthase domain interfaces regulate electron transfer and calmodulin activation / B.C. Smith, E.S. Underbakke, D.W. Kulp, W.R. Schief, M.A. Marletta // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2013. – Vol. 110, № 38. – P. E3577–E3586.
 10. Foresi, N. Characterization of nitric oxide synthase (NOS)-like activity in *Arabidopsis thaliana* / N. Foresi, N. Correa-Aragunde, F. Parisi, R. Calo, L. Salerno, L. Lamattina // *Molecular Biology and Evolution*. – 2011. – Vol. 28, № 1. – P. 163–173.
 11. Poon, K.L. Expression pattern of neuronal nitric oxide synthase in embryonic zebrafish / K.L. Poon, M. Richardson, C.S. Lam, H.E. Khoo, V. Korzh // *Gene Expression Patterns*. – 2003. – Vol. 3. – P. 463–466.
 12. Lepiller, S. Comparative analysis of zebrafish *nos2a* and *nos2b* genes / S. Lepiller, N. Franche, E. Solary, J. Chluba, V. Laurens // *Gene*. – 2009. – Vol. 445. – P. 58–65.
 13. Wang, T. Molecular cloning, gene organization and expression of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) inducible nitric oxide synthase (iNOS) gene / T. Wang, M. Ward, P. Grabowski, C.J. Secombes // *Biochemical Journal*. – 2001. – Vol. 358. – P. 747–755.
 14. Godoy, L. S-Nitrosogluthathione reductase activity of amphioxus ADH3: insights into the nitric oxide metabolism / L. Godoy, R. González-Duarte, R. Albalat // *International Journal of Biological Sciences*. – 2006. – Vol. 2. – P. 117–124.
 15. Matsuo, R. Genomic structure of nitric oxide synthase in the terrestrial slug is highly conserved / R. Matsuo, K. Misawa, E. Ito // *Gene*. – 2008. – Vol. 415. – P. 74–81.
 16. Moroz, L.L. On the comparative biology of nitric oxide (NO) synthetic pathways: parallel evolution of NO-mediated signalling / L.L. Moroz, A.B. Kohn, B. Trimmer, B. Tota // In: *Nitric Oxide. Advances in Experimental Biology*. – Amsterdam ; Oxford : Elsevier, 2007. – P. 1–44.
 17. Foresi, N. Characterization of a nitric oxide synthase from the plant kingdom: NO generation from the green alga *Ostreococcus tauri* is light irradiance and growth-phase dependent / N. Foresi, N. Correa-Aragunde, G. Parisi, G. Calo, G. Salerno, L. Lamattina // In: *Plant Cell*. – 2010. – Vol. 22. – P. 3816–3830. – DOI: 10.1105/tpc.109.073510.
 18. Derelle, E. Genome analysis of the smallest free-living eukaryote *Ostreococcus tauri* unveils many unique features / E. Derelle, C. Ferraz, S. Rombauts, P. Rouzé, A.Z. Worden, S. Robbens [et al.] // In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2006. – Vol. 103. – P. 11647–11652. – DOI: 10.1073/pnas.0604795103.
 19. Guo, F. Q. Identification of a plant nitric oxide synthase gene involved in hormonal signalling / F. Q. Guo [et al.] // *Science*. – 2003. – V. 302. – P. 100–103.
 20. Guo, F. Q. *Arabidopsis* nitric oxide synthase 1 is targeted to mitochondria and protects against oxidative damage and dark-induced senescence / F. Q. Guo, N. M. Crawford // *Plant Cell*. – 2005. – V. 17. – P. 3436–3450.
 21. Hasanuzzaman, M. Physiological and biochemical mechanisms of nitric oxide induced abiotic stress tolerance in plants / M. Hasanuzzaman, M.A. Hossain, M. Fujita // In: *American Journal of Plant Physiology*. – 2010. – Vol. 5. – P. 295–324.
 22. Crawford N.M. Mechanisms for nitric oxide synthesis in plants / N.M. Crawford // *Journal of Experimental Botany*. – 2006. – Vol. 57, № 3. – P. 471–478.
 23. Arasimowicz-Jelonek, M. Nitric oxide in the offensive strategy of fungal and oomycete plant pathogens / M. Arasimowicz-Jelonek, J. Floryszak-Wieczorek // In: *Frontiers in Plant Science*. – 2016. – Vol. 7. – Article 252.
 24. Sarkar, T.S. Nitric oxide production by necrotrophic pathogen *Macrophomina phaseolina* and the host plant in charcoal rot disease of jute: complexity of the interplay between necrotroph–host plant interactions /

- T.S. Sarkar, P. Biswas, S.K. Ghosh, S. Ghosh // In: PLoS ONE. – 2014. – Vol. 9, № 9. – Article e107348.
25. Röszer T. NO synthesis in subcellular compartments of fungi / T. Röszer // In: The Biology of Subcellular Nitric Oxide / ed. T. Röszer. – New York : Springer Science Business Media B.V. – 2012. – P. 83–102.
26. Santolini, J. What does “NO-Synthase” stand for? / J. Santolini // In: Frontiers in Bioscience (Landmark Edition). – 2019. – Vol. 24, № 1. – P. 129–167.
27. Hannibal, L. Influence of heme thiolate in shaping the catalytic properties of a bacterial nitric-oxide synthase / L. Hannibal, R. Somasundaram, J. Tejero, A. Wilson, D.J. Stuehr // In: Journal of Biological Chemistry. – 2011. – Vol. 286, № 45. – P. 39224–39235.
28. Pant, K. Structure of a nitric oxide synthase heme protein from *Bacillus subtilis* / K. Pant, A.M. Bilwes, S. Adak, D.J. Stuehr, B.R. Crane // In: Biochemistry. – 2002. – Vol. 41, № 37. – P. 11071–11079.
29. Wang, Z.-Q. Bacterial flavodoxins support nitric oxide production by *Bacillus subtilis* nitric-oxide synthase / Z.-Q. Wang, R.J. Lawson, M.R. Buddha, C.-C. Wei, B.R. Crane, A.W. Munro, D.J. Stuehr // In: Journal of Biological Chemistry. – 2007. – Vol. 282, № 4. – P. 2196–2202.
30. Cloning, expression, and characterization of a nitric oxide synthase protein from *Deinococcus radiodurans* / S. Adak, A.M. Bilwes, K. Panda [et al] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2002. – Vol. 99, № 1. – P. 107–112.
31. Reaction intermediates of nitric oxide synthase from *Deinococcus radiodurans* as revealed by pulse radiolysis: evidence for intramolecular electron transfer from biopterin to $\text{Fe}^{2+}\text{-O}_2$ complex / Y. Tsutsui, K. Kobayashi, F. Takeuchi [et al] // Biochemistry. – 2018. – Vol. 57, № 10. – P. 1611–1619.
32. An unusual tryptophanyl tRNA synthetase interacts with nitric oxide synthase in *Deinococcus radiodurans* / M.R. Buddha, K.M. Kirsch, B.R. Crane [et al] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2004. – Vol. 101, № 45. – P. 15881–15886.
33. A bacterial nitric oxide synthase functions in oxidative stress defense / M.R. Buddha, K.M. Kirsch, B.R. Crane [et al] // Nature. – 2004. – Vol. 427, № 6977. – P. 153–156.
34. NO formation by a catalytically self-sufficient bacterial nitric oxide synthase from *Sorangium cellulosum* / T. Agapie, S. Suseno, J.J. Woodward [et al] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2009. – Vol. 106, № 38. – P. 16221–16226.
35. Complete genome sequence of the myxobacterium *Sorangium cellulosum* / S. Schneiker, R. Keller, A. Zähner [et al] // Nature Biotechnology. – 2007. – Vol. 25. – P. 1281–1289.
36. Evolutionary roots of arginase expression and regulation / J.M. Dzik, S. Mills, D.M. Mosser [et al] // Frontiers in Immunology. – 2014. – Vol. 5. – Article 544.
37. A bacterial nitric oxide synthase from *Bacillus subtilis*: a flavoprotein with nitric oxide synthase activity but no heme / S. Sudhamsu, K. Crane, D.J. Stuehr [et al] // FEBS Letters. – 2003. – Vol. 555, № 3. – P. 387–392.
38. In search of the prototype of nitric oxide synthase / T. Zemojtel, R.C. Wade, T. Dandekar [et al] // FEBS Letters. – 2003. – Vol. 554, № 1–2. – P. 1–5.
39. Solution structure of the sulfite reductase flavodoxin-like domain from *Escherichia coli* / N. Sibille, M. Blackledge, B. Brutscher [et al] // Biochemistry. – 2005. – Vol. 44, № 25. – P. 9086–9095.
40. Evolution of the nitric oxide synthase family in metazoans / N. Andreakis, S. D’Aniello, R. Albalat [et al] // Molecular Biology and Evolution. – 2011. – Vol. 28, № 1. – P. 163–179.
41. Evolution of the nitric oxide synthase family in vertebrates and novel insights in gill development / G. Annona, I. Sato, J. Pascual-Anaya [et al] // Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. – 2022.
42. NO modulation of myocardial performance in fish hearts / B. Tota, D. Amelio, D. Pellegrino, Y.K. Ip, M.C. Cerra // Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology. – 2005. – Vol. 142. – P. 164–177.
43. Умаров Б.Р. Ризобийные бактерии рода *Sinorhizobium fredii* и *Bradyrhizobium japonicum*, вступающие в симбиоз с растениями сои / Б.Р. Умаров // Universum: химия.

- мия и биология. – 2019. – № 4(58). – С. 1–3.
44. Nitric oxide mediates biofilm formation and symbiosis in *Silicibacter* sp. strain TrichCH4B / M. Rao, B.C. Smith, M.A. Marletta [et al.] // *mBio*. – 2015. – Vol. 6, № 3. – Article e00206-15.
45. Endogenous nitric oxide protects bacteria against a wide spectrum of antibiotics / I. Gusarov, K. Shatalin, M. Starodubtseva, E. Nudler // *Science*. – 2009. – Vol. 325. – P. 1380–1384.
46. Gusarov, I. NO-mediated cytoprotection: instant adaptation to oxidative stress in bacteria / I. Gusarov, E. Nudler // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. – 2005. – Vol. 102. – P. 13855–13860.
47. Губейко, А. С. Определение NO-синтазной активности у прокариот и эукариот непрямым методом / А.С. Губейко, Д.А. Слиж // *Молодежь в науке – 2024 : тезисы докладов XX Международной научной конференции молодых ученых, Минск, 29–31 октября 2024 г. : в 2 ч. / Нац. акад. наук Беларуси, Совет молодых ученых ; редкол.: В. Г. Гусаков (гл. ред.) [и др.]*. – Минск : Беларуская навука, 2024. – Ч.1. – С. 262-264.
48. Губейко, А. С. Оценка NO-синтазной активности у прокариот и низших эукариот / А. С. Губейко, О. Н. Жук, В. И. Дунай // *Пинские чтения : материалы II международной научно-практической конференции, приуроченной к 927-летию основания города Пинска, Пинск, 3 октября 2024 г. / Министерство образования Республики Беларусь [и др.] ; редкол.: В. И. Дунай (гл. ред.), И. Э. Бученков*. – Пинск : ПолесГУ, 2024. – С. 63-66.
49. Губейко, А. С. Способность пробиотических бактерий к NO-синтазной активности / А.С. Губейко; науч. рук. В. И. Дунай // *Научный потенциал молодежи – будущему Беларуси : материалы XVIII международной молодежной научно-практической конференции, Пинск, 19 апреля 2024 г. : в 2 ч. / Министерство образования Республики Беларусь [и др.] ; редкол.: В. И. Дунай [и др.]*. – Пинск : ПолесГУ, 2024. – Ч. 2. – С. 190-192.
50. Stress Surveillance System Based on Calcium and Nitric Oxide in Marine Diatoms / A. Vardi, F. Formiggini, R. Casotti [и др.] // *PLoS Biology*. – 2006. – Т. 4, № 3. – С. e60.
51. Droujinine, I.A., Perrimon, N. Interorgan communication pathways in physiology: focus on *Drosophila* / I.A. Droujinine, N. Perrimon // *Annual Review of Genetics*. – 2016. – Vol. 50. – P. 539–570.
52. Susswein, A.J. Nitric oxide as a regulator of behavior: new ideas from *Aplysia* feeding / A.J. Susswein, H.J. Chiel // *Progress in Neurobiology*. – 2012. – Vol. 97, № 3. – P. 304–317.
53. Pechenik, J.A. Nitric oxide inhibits metamorphosis in larvae of the marine gastropod *Crepidula fornicata* / J.A. Pechenik, T.R. Cochrane, K. Li, D. Pires // *The Biological Bulletin*. – 2007. – Vol. 213, № 2. – P. 160–171.
54. Tosti, E. Calcium and nitric oxide in the activation of gametes / E. Tosti, G. Boni // *Molecular Reproduction and Development*. – 2004. – Vol. 67, № 3. – P. 293–299.
55. Khan, A.U. Regulation of Inflammatory Mediators in Nitric Oxide Signaling and Its Role in Inflammatory Diseases / A.U. Khan, M. Alsahli, M. Rahmani [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 26, № 3. – Article 1204.
56. Nitric Oxide: Physiological Functions, Delivery, and Biomedical Applications / S.M. Andrabi, N.S. Sharma, A. Karan [et al.] // *Advanced Science*. – 2023. – Vol. 10. – Article e2303259.
57. Dysfunctional and Dysregulated Nitric Oxide Synthases in Cardiovascular Disease: Mechanisms and Therapeutic Potential / R. Roy, J. Wilcox, A.J. Webb [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24. – Article 15200.
58. Дунай, В. И. Распределение NO-позитивных нейронов в головном мозге у пойкилотермных организмов / В. И. Дунай // *Журнал Гродненского государственного медицинского университета: ежеквартальный научно-практический журнал*. – 2008. – № 2 (22). – С. 44-46.
59. Дунай, В. И. Филогенез NO-ергической системы головного мозга / В. И. Дунай, Б. В. Лысый, С. Б. Мельнов // *Весці БДПУ. Серыя 3. Фізіка. Матэматыка. Інфарматыка. Біялогія. Геаграфія: навукова-метадычны часопіс*. – 2007. – № 4 (54). – С. 40-43.

60. Дунай, В. И. Распределение NO-
ергической системы головного мозга по-
звоночных в процессе филогенеза / В. И.
Дунай // Доклады Национальной академии

наук Беларуси : научно-практический
журнал. – 2007. – Т. 51. – № 5. – С. 106-
109.

Received 9.10.2025