

Указом президента України від 11 грудня 1996 р. за цикл наукових праць «Роль ендотелію та біологічно активних речовин ендотеліального походження в регуляції кровообігу і діяльності серця» присуджена Державна премія України в галузі науки і техніки 1996 року співробітникам Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України Мойбенку О.О., Сагачу В.Ф., Шаповал Л.М., Соловійову А.І., Базілюк О.В., Марченку С.М., Жуковій А.В., Ткаченку М.М.

Щиро вітаємо авторський колектив з високою відзнакою!

УДК 612.13:612.73:612:181:612.828

О.О.Мойбенко, В.Ф.Сагач, Л.М.Шаповал, А.І.Соловійов,
О.В.Базілюк, А.В.Жукова, М.М.Ткаченко, С.М.Марченко

РОЛЬ ЕНДОТЕЛІЮ ТА БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН ЕНДОТЕЛІАЛЬНОГО ПОХОДЖЕННЯ В РЕГУЛЯЦІЇ КРОВООБІГУ І ДІЯЛЬНОСТІ СЕРЦЯ

Рассматривается роль эндотелия и биологически активных веществ эндотелиального происхождения в центральной и местной регуляции кровообращения. Обсуждаются молекулярные и клеточные механизмы активации эндотелийзависимых реакций различного функционального значения, состояние эндотелиальных реакций в развитии и компенсации патологических процессов в сердечно-сосудистой системе.

Відкриття ключової ролі ендотелію в регуляції кровообігу, судинного тону та серцевої діяльності, без сумніву, є найбільш визначним досягненням фізіологічної науки другої половини нашого сторіччя. Воно дозволило не лише виявити сполуки, що синтезуються ендотелієм, але й з'ясувати їх визначну роль у регуляції інших систем організму, що докорінно змінило наші уявлення про регуляцію багатьох життєвих процесів і механізми розвитку чисельних захворювань. На початку наших досліджень у 1985 р. було з'ясовано, що ряд фізіологічно активних речовин (ацетилхолін, брадикінін, АТФ, субстанція Р, кальцієвий йонофор A23187 тощо) реалізують свій вазодилаторний вплив лише при збереженні внутрішнього шару судин – ендотелію [36-38]. Для забезпечення цих реакцій ендотелій синтезує та виділяє так званий ендотеліальний розслаблюючий фактор (ЕРФ). Пізніше встановлено його природу та механізм дії. Виявилося, що цей фактор, ідентифікований як оксид азоту (NO), синтезується з амінокислоти L-аргініну за участю Ca^{2+} - та кальмодулінзалежного ферменту NO-синтетази [40, 51, 60, 61]. З'ясовано, що NO-індукований релаксуючий ефект пов'язаний з підвищенням концентрації внутрішньоклітинної цГМФ [45, 50]. За сучасними даними, NO розглядають як один з головних факторів регуляції кровообігу [49, 50].

Інформація щодо існування інших факторів ендотеліальної природи на початковій стадії наших досліджень була малочисельна та суперечлива. Але згодом з'ясували, що ендотеліальні клітини синтезують субстанції не тільки дилататорної, але і констрикторної природи. У 1988 р. встановлено, що ендотеліоцити синтезують один з найсильніших вазоконстрикторних агентів - пептид ендотелін [70], який істотно впливає на судинний тонус і серцеву діяльність [63]. Завдяки динамічній рівновазі («балансу») між ендотеліальними факторами різного знаку дії зберігається оптимальний рівень судинного тонусу. Порушення цього балансу призводить до розвитку вазоспастичних станів, що мають місце, наприклад при артеріальній гіпертензії, спазму мозкових і коронарних артерій, гіпоксії. В цьому плані особливу увагу привертають констрикторні фактори ендотеліального походження. Серед потенційних ендогенних медіаторів вазоспазму найбільш відомий високоактивний фосфоліпід, який утворюється в ендотеліоцитах з фосфатидилхоліну під впливом фосфоліпази A2 та ацетилтрансферази - фактор активації тромбоцитів (ФАТ), ідентифікований як 1-алкіл-2-ацетил-гліцеро-3-фосфохолін. Оскільки синтез ФАТ є Ca^{2+} -залежним, то будь-який процес або фактор, що викликає мобілізацію внутрішньоклітинного Ca^{2+} , може активувати синтез і вивільнення ФАТ ендотеліоцитами.

З'ясувалося також, що NO синтезується та вивільнюється нейронами головного мозку [39]. Більше того, у нейронах різних рівнів центральної нервової системи є фермент його синтезу, NO-синтеза. Тому ми вважали правомірною гіпотезу про можливість участі цього фактора в діяльності нервових структур довгастого мозку, які беруть участь у регуляції системи кровообігу.

Важливе значення має вивчення функціональних і структурних ушкоджень ендотелію, характерних для патології серця, та пошук засобів їх корекції.

В Інституті фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України протягом 1985 - 1995 рр. провадилися комплексні дослідження ролі ендотелію та речовин ендотеліального походження в регуляції судинного тонусу та серцевої діяльності при фундаментальних судинних реакціях, супроводжуваних діяльністю організму: робочої та реактивної гіперемії, а також розвитку різних патологічних станів серцево-судинної системи: імунних та ішемічних пошкоджень серця і судин, шоках різного походження, атеросклерозної та артеріальної гіпертензії. В циклі оригінальних наукових праць наведені також результати комплексних функціональних електрофізіологічних і морфологічних досліджень механізмів активації ендотеліальних факторів та їх впливів на серцево-судинну систему за фізіологічних і патофізіологічних умов.

Вивчення ролі ендотеліальних механізмів регуляції кровообігу проведено на молекулярному, клітинному, органному та системному рівнях. Досліджено залучення «ендотеліальних» факторів до механізмів центральної нервової регуляції кровообігу та інших функцій організму.

ДОСЛІДЖЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ РОЛІ ЕНДОТЕЛІЮ В ЦЕНТРАЛЬНІЙ ТА МІСЦЕВІЙ РЕГУЛЯЦІЇ КРОВООБІГУ

Роль ендотелію в розвитку фундаментальних судинних реакцій. Проведене комплексне дослідження дозволило встановити роль судинного ендотелію в розвитку реактивної гіперемії на прикладі коронарних і стегнових судин і залежності довжина - сила судинних гладеньком'язових клітин (ГМ) [14, 16]. Реактивна гіперемія - це реакція збільшення кровотоку після його тимчасового припинення, яка притаманна різним ділянкам судин. Встановлено, що реактивна гіперемія значною мірою ендотеліозалежна та зумовлена дією гуморальних факторів, які синтезуються ендотелієм, що підтверджує кореляція ступеня реактивної гіперемії з величиною виділення біологічно активних речовин у кров, яке визначалося за допомогою біологічного тестування за реакцією розслаблення тест-препаратів судинної стінки стегнової артерії на відтікаючу кров. Зменшення виділення біологічно активних речовин дилататорної дії супроводжується зменшенням реактивної гіперемії. Джерелом утворення гуморальних факторів є ендотелій, тому що хімічна деендотелізація та пригнічення їх біосинтезу призводить до істотного зменшення виділення біологічно активних речовин з дилататорною дією в відтікаючу кров і зміни реактивної гіперемії при реперфузії тканин [18, 23, 55, 68]. У той же час інфузія попередника ЕРФ L-аргініну збільшує реактивну гіперемію та реакцію на ендотеліозалежні дилататори. Ефект L-аргініну реалізується лише при збереженому ендотелії. Показано, що діючою гуморальною речовиною у розвитку реактивної гіперемії як у коронарному руслі, так і в системі стегнових судин є ЕРФ - NO [14, 29, 33, 59]. Виявлено зворотну залежність між середнім внутрішньосудинним тиском у період оклюзії та значеннями реактивної гіперемії. Запобігання падінню тиску в період оклюзії призводить до зменшення виділення дилататорних речовин і реактивної гіперемії. Зменшення деформації ендотеліальних клітин димеризованим глутаровим альдегідом виявляє аналогічну дію при збереженні реакції на ацетилхолін, який реалізує свою дію через ендотелій. Встановлено, що запускаючим фактором для біосинтезу та виділення ендотелієм ендотеліального фактора розслаблення - оксиду азоту може бути падіння внутрішньосудинного тиску в період оклюзії [18, 55].

Виявлено, також участь ендотелію за допомогою виділення біологічно активних речовин, яким властива стимулююча дія на скорочення судинних ГМ, у розвитку активних міогенних реакцій судинних ГМ, що мають місце при розтягуванні судинної стінки. Встановлено, що під впливом ендотеліну-1 судинному ГМ треба менше розтягнення, щоб відповісти більшим скороченням [28, 69].

Показано, що фундаментальна судинна реакція - робочої гіперемії в міокарді і в судинному руслі скелетних м'язів є ендотеліозалежною і зумовлена дією NO, що звільнюється ендотеліоцитами при функціональному навантаженні [24, 26, 57]. Цей висновок ґрунтується на тому, що попередня деендотелізація судин міокарда чи скелетних

м'язів, пригнічення синтезу та звільнення ендотеліоцитами NO істотно зменшувало реакцію робочої гіперемії при ізометричних скороченнях скелетних м'язів і при навантаженні серця об'ємом. Аналогічну дію на розвиток цієї судинної реакції мало попереднє пригнічення ферменту гуанілатциклази, через який реалізується вплив ЕРФ на ГМ судин. Підтвердженням висновку про ключову роль ендотелію і розслаблюючого фактора, який він синтезував, у розвитку робочої гіперемії була стимуляція цієї реакції в м'язах судин і міокарда під впливом введення в організм попередника розслаблюючого фактора - L-аргініну, що стимулює синтез і вивільнення фактора ендотеліоцитами. В той же час показано, що простагландіни, які можуть бути синтезовані ендотеліоцитами, не мають істотного значення в розвитку цієї судинної реакції. Зміна (пригнічення чи стимуляція) функціональної активності ендотеліоцитів позначається на розвитку згаданої судинної реакції. При реперфузії міокарда чи при розвиткові шоків реакції, які супроводжуються порушенням синтетичної функції ендотеліоцитів, реакція робочої гіперемії міокарда суттєво пригнічується [26]. Відсутність повноцінної робочої гіперемії міокарда при його навантаженні призводила до меншого підвищення скоротливої і насосної функцій серця за умов навантаження, тобто до менш ефективної реакції серця на навантаження.

Роль ендотеліальних факторів у центральному нейрогенному контролі функції кровообігу. Незважаючи на те, що перші дані про синтез і вивільнення фактора розслаблення судинної стінки ендотеліальними клітинами датуються другою половиною 80-х років цього сторіччя, нині не викликає сумніву той факт, що цей фактор - оксид азоту - є головним вазодилататором у периферичному кровообігу. Після того, як з'ясувалося, що цей фактор може бути синтезований і вивільнений нейронами головного мозку [39], що ним є NO [40, 49, 51] і що у нейронах різних рівнів центральної нервової системи є фермент синтезу NO з амінокислоти L-аргінін - NO-синтетаза, ми вважали правомірною гіпотезу про можливість залучення цього фактора в діяльності нервових структур мозку, які беруть участь в регуляції системи кровообігу. На основі досліджень, розпочатих у 80-ті роки цього сторіччя, з'ясувалося, що нейрони вентролатерального відділу довгастого мозку відіграють важливу роль у механізмах центрального інтегративного контролю функції кровообігу [35], і порушення в їх активності призводять до таких розладів у діяльності серцево-судинної системи, як синдром раптової серцевої смерті, гіпертензія тощо.

Проведене нами дослідження показало, що NO має важливе значення не лише в регуляції периферичного кровообігу, але й у механізмах центрального нейрогенного контролю серцево-судинної діяльності [34, 62].

Доведено, що мікроін'єкції сполук, які спонтанно вивільнюють NO (нітрогліцерин, нітропрусид натрію), а також фізіологічного попередника його в організмі (амінокислота L-аргінін) у симпатоактивуючі ней-

рони ростральної частини вентролатерального відділу довгастого мозку (РВЛВ) викликали пригнічення функціональної активності останніх і супроводжувалися послабленням нисхідних симпатозактивуючих впливів на серце та судини, про що свідчило зменшення фоновій та рефлекторній імпульсній активності у нирковому (модель вазоконстрикторного нерва) та нижньому серцевому нервах. Після введення нітропрусиду натрію у нейронні структури відмічалася дозозалежне зменшення частоти залпів у периферичних нервах, зменшення амплітуди імпульсів і збільшення періодів міжімпульсного гальмування. Після його введення в нейронні структури, розташовані на рівні виходу корінців 12-ї пари черепномозкових нервів, імпульсна активність у цьому нерві гальмувалася повністю. Її пригнічення призводило до значного зниження артеріального тиску. Зменшення загального периферичного опору судин і скоротливої активності міокарда також було наслідком ін'єкцій NO в структури мозку.

Отримані дані про функціональну асиметрію локалізації кардіальних нейронів, відповідальних за регуляцію хроно- та інотропної функції серця та про гальмування рефлекторних реакцій системи кровообігу після пригнічення нейронів РВЛВ за допомогою NO. Пріоритетними є дані про те, що NO, ін'єкований до симпатогальмічних нейронів каудальної частини вентролатерального відділу довгастого мозку (КВЛВ), внаслідок гальмування функціональної активності останніх, розгальмовує симпатозактивуючі нейрони РВЛВ. Це призводить до посилення нисхідних симпатозактивуючих впливів, орієнтованих на серце і судини, підвищення рівня артеріального тиску та інших показників кардіо- та гемодинаміки. Вплив NO на нейрони РВЛВ і КВЛВ реалізується за рахунок клітинної гуанілатциклази і є цГМФ-залежним. Отримані дані свідчать про те, що оксид азоту відіграє істотну роль у центральній регуляції кровообігу в якості модулятора або трансмітера гальмівної дії. Вперше також отримано дані про те, що Ендотелін-1 (потужний вазоконстрикторний фактор ендотеліального походження) при його введенні до симпатозбудливих і симпатогальмічних нейронів вентролатерального відділу довгастого мозку викликає значні зміни у фоновій та рефлекторній імпульсній активності периферичних нервів, та показників гемо- та кардіодинаміки [27].

Отримані дані свідчать про те, що NO та ендотелін-1, виконують функцію центральних вазодилатора і вазоконстриктора, забезпечуючи оптимальний режим роботи серця та судин.

ДОСЛІДЖЕННЯ МОЛЕКУЛЯРНИХ І КЛІТИННИХ МЕХАНІЗМІВ АКТИВАЦІЇ ЕНДОТЕЛІЙЗАЛЕЖНИХ РЕАКЦІЙ РІЗНОГО ФУНКЦІОНАЛЬНОГО ЗНАЧЕННЯ

Електрофізіологічні властивості ендотелію інтактних судин. Дослідження електрофізіологічних властивостей ендотелію звичайно проводяться на культурах ендотелію або ізольованих ендотеліальних клітинах. Властивості ендотелію за цих умов значно відрізняються від

властивостей інтактного. Щоб вивчити електрофізіологічні властивості ендотелію за умов, близьких до природних, нами було розроблено методику «patch-clamp» реєстрації електричних реакцій в ендотелії інтактних ізольованих судин. Були виконані пріоритетні дослідження з вивчення електрофізіологічних властивостей інтактного ендотелію [41-44]. Виявлено, що ацетилхолін (АЦХ) і ряд інших ендотеліозалежних вазодилаторів викликають в ендотелії інтактної аорти несподівано складні електричні реакції, які в типовому випадку складаються з початкового гіперполяризаційного піку, за яким йде фаза гіперполяризаційного плато і глибока деполяризація. В деяких препаратах спостерігали осциляції мембранного потенціалу великої амплітуди. Вторинним месенджером, що опосередковує всі стадії реакції на АЦХ, є кальцій [43, 44]. Початковий гіперполяризаційний пік пов'язаний з виділенням кальцію з внутрішньоклітинних депо. Наступні фази залежать від входу кальцію із зовнішньоклітинного середовища, який стимулюється спорожненням останніх. Підвищення концентрації внутрішньоклітинного кальцію стимулює калієві канали, які активуються кальцієм, що призводить до гіперполяризації ендотелію і, в свою чергу, збільшує надходження кальцію в ендотелій. Це спричиняє подальше збільшення кальцію в ендотелії і посилює стимулювання кальцій-залежних процесів, таких як синтез NO, ендотеліну та зміну бар'єрних функцій ендотелію. Молекулярний механізм електричної реакції на АЦХ включає в себе активацію фосфоліпази С і синтез 1,4,5-трифосфата. Протеїнкіназа С не бере участі в цій реакції. Реакція на АЦХ розвивається в межах ендотелію, не потребує наявності ГМ і може бути повністю відтворена на ендотелії, ізольованому від глибше розташованих ГМ. Прямі вимірювання кількості внутрішньоклітинного кальцію підтвердили висновки електрофізіологічних досліджень. Знання мембранних і молекулярних механізмів реакцій ендотелію на вазодилатори дозволяє глибше пізнати фізіологічні процеси, що відбуваються в ендотелії і відкриває нові підходи для фармакологічного втручання в функції судин.

Роль факторів ендотеліального походження в регуляції реактивності гладеньких м'язів судин. Дослідження з цієї проблеми розпочаті нами у 1985 році. На той період було з'ясовано, що ендотелій судин може бути джерелом речовин з вазодилаторними властивостями. Інформація щодо існування ендотеліальних факторів іншого знаку дії була малочисельна та суперечлива. В наших дослідженнях на ізольованих препаратах грудної аорти щурів отримані докази того, що ендотелій бере участь у формуванні констрикторної фази реакції попередньо активованих ГМ на зниження рівня їх оксигенації до 30-40 мм рт.ст., і не впливає на її дилаторну фазу [1, 2]. Встановлено також, що ендотеліозалежна гіпоксична констрикторна реакція відтворюється в безкальцієвому середовищі та при блокаді Ca^{2+} -струму, отже вона реалізується за рахунок Ca із внутрішньоклітинних депо [1]. Більше того, як виявилось згодом, ця реакція характерна для

багатьох судин артеріального русла (коронарних, легеневих артерій то-що) людини і тварин різних видів (собаки, щури, кролі, свині). Нами отримані експериментальні докази гуморального впливу ендотелію на формування та розвиток констрикторної реакції ГМ при зниженні їх оксигенації. Проаналізовано можливі механізми, за допомогою яких реалізується ця реакція. Маючи на увазі, що при гіпоксії активується ряд мембранних фосфоліпаз, в тому числі і фосфоліпаза А2, виникло припущення, чи не є ЕРФ, що формує констрикторну реакцію, продуктом метаболізму фосфоліпідів. Однак використання інгібіторів синтезу різних ейкозаноїдів (індометацину, кверцетину, гід-рохінону) не усувало цю реакцію. Таким чином, отримані дані не підтвердили участь простагландинів, лейкотриєнів і вільних радикалів в її формуванні. Отримані експериментальні докази того, що серед найбільш ре-альних месенджерів у розвитку цієї реакції є цГМФ. Отже, за умов зниження оксигенації ендотелій артерій здатний синтезувати речовину, що здійснює констрикторний вплив на ГМ. З нашої точки зору, ймовірним є існування декількох факторів ендотеліального походження різної природи та механізму дії [3].

У дослідях на ізольованих препаратах коронарних артерій свині та грудній аорті щурів встановлено, що після вилучення ендотеліального шару ушкоджуються реакції розслаблення ГМ на АТФ, ацетилхолін і потенціюються дозозалежні констрикторні реакції ГМ на 5-гідрокситриптамін, L-норадреналін, електричну стимуляцію. Аналіз отриманих даних свідчить про здатність ендотелію обмежувати розвиток констрикторних впливів на гладеньком'язові клітини судин. Отже, отримано докази того, що модулююча роль ендотелію не лише сприяє підтриманню оптимального рівня тонічного напруження ГМ судин, але також і запобігає розвитку вазоспастичних реакцій [4].

Виявлено, що ця особливість ендотелію, а також, як уже вказу-валось, його участь у формуванні гіпоксичної констрикторної реакції ГМ, притаманна артеріальним судинам різних регіонів людини та тва-рин різних видів. Тобто, є підстави вважати, що ці властивості ен-дотелію мають загальнобіологічний характер.

У пріоритетних дослідженнях встановлено також, що з віком змен-шуються або навіть взагалі реверсують залежні від ендотелію дилата-торні реакції ГМ грудної аорти щурів на ацетилхолін. Отже, збільшується ризик формування вазоспазму. Штучна активація синтетичної функції ендотеліоцитів додаванням метаболічного поперед-ника ЕРФ L-аргініну значною мірою відновлює ушкоджені судинні ре-акції, котрі реалізуються через ендотелій. Більше того, у цих тварин, як виявилось, ушкоджується також і констрикторна фаза реакції ГМ на гіпоксію. За допомогою sandwich-експериментів з'ясовано, що при контакті лумінальних шарів судин дорослих і старих щурів у останніх спостерігається відновлення порушених ендотеліозалежних реакцій ГМ на ацетилхолін і гіпоксію. Разом з тим з віком не втрачається здатність ГМ реагувати розслабленням на ендотелійнезалежні агоністи. Аналіз отриманих даних свідчить про те, що з віком знижується

синтетична функція ендотелію. Отже, розвивається локальний дефіцит факторів ендотеліального походження (розслабляючого та констрикторного). Існуюча в нормі динамічна рівновага ("баланс") між цими факторами на старості порушується.

Ми встановили також, що ушкодження ендотелійзалежної регуляції судинного тонуусу мають місце і при артеріальній гіпертензії. Так, на ізольованих препаратах щурів з генетично детермінованою артеріальною гіпертензією (спонтанно гіпертензивні щури) встановлено, що найбільш ефективним засобом для відновлення порушеної синтетичної функції ендотеліоцитів є застосування L-аргініну, який розміщувався в порожнині фосфоліпідних везикул (ліпосом). На підставі отриманих даних слід вважати, що використання цієї амінокислоти може бути перспективним щодо профілактики та корекції вазоспастичних станів різного генезу. Ці дані мають пріоритетний характер. Ендотелій не завжди безпосередньо приймає участь у регуляції функціональної активності ГМ судин. Так, він не впливає на розвиток констрикторної реакції ритмічно активних ГМ судин на підвищення рівня їх оксигенації.

Таким чином, аналіз отриманих даних свідчить про те, що широкий спектр фізіологічно активних речовин ендотеліального походження дозволяє ендотелію виконувати виключно важливу загальнобіологічну функцію - локального регулятора судинного тонуусу в нормі та при різних патологічних станах.

Клітинні механізми дії ендотеліальних факторів констрикторної природи на ефекторні елементи серцево-судинної системи. Вивчено клітинні і молекулярні механізми дії ФАТ на ефекторні елементи серцево-судинної системи. Зацікавленість у цьому біологічно активному фосфоліпіді пов'язана з тим, що він має здатність викликати спазм не тільки ГМ судин, але й ГМ бронхів і шлунково-кишкового тракту. Поширене розповсюдження серцево-судинних захворювань робить вивчення механізмів дії ФАТ важливим не лише з теоретичної, але й з практичної точки зору. Знання цих механізмів буде сприяти розробці нових більш ефективних лікарських засобів з антиспастичними властивостями. Встановлено, що ФАТ може скорочувати ГМ ізольованих препаратів коронарних артерій людини та тварин, викликає двохфазну реакцію, що складається з транзиторного (фазного) та стійкого (тонічного) компонентів. Фазний компонент цієї констрикторної реакції зберігається в безкальцієвому середовищі, але повністю пригнічується прокаїном та рутенієвим червоним, які блокують вивільнення Ca^{2+} із саркоплазматичного ретикулюму ГМ. Тонічний компонент ФАТ-індукованого скорочення пригнічується інгібітором протеїнкінази С, Н-7 [66]. Слід зазначити, що ФАТ здатний викликати скорочення не тільки інтактних, але й скінірованих ГМ коронарних артерій, клітини яких стали надпроникливими завдяки обробці детергентом [65]. Досліди на скінірованих ГМ надають унікальну можливість оцінити чутливість скоротливих білків до Ca^{2+} .

Встановлено, що додавання ФАТ у буферний розчин призводить до зрушень кривої залежності «рСа-напруження» для скінерованих ГМ ліворуч, що свідчить про підвищення Са-чутливості скорочувального апарату ГМ під впливом ФАТ. Інгібітори протеїнкінази С майже повністю пригнічували цей ефект ФАТ [65, 66].

У дослідях на ізольованих ГМ клітинах коронарних артерій [66] та *taenia coli* [32] за умов фіксації мембранного потенціалу показано, що ФАТ спричинює значний приріст транзиторного та осциляторного компонентів Са-активованого K^+ вихідного струму, а також збільшує амплітуду та частоту спонтанних транзиторних вихідних струмів у ГМ. Цей ефект ФАТ пов'язується з індукованим інозитол 1,4,5-трифосфатом вивільненням Ca^{2+} з саркоплазматичного ретикулуму за участю G-білкового механізму. Це підтверджується тим, що додавання до піпеточного розчину іонів фтору та алюмінію пригнічує цю реакцію ГМ на ФАТ.

Таким чином, екзогенний ФАТ має здатність скорочувати ГМ, сприяє розвитку фазного і тонічного скорочення. Однак залишалося неясним питання про те, чи можлива така ситуація в реальних умовах, коли активація синтезу ендогенного ФАТ може спровокувати розвиток вазоспазму.

Вперше експериментально показано, що ФАТ, синтезований ендотеліоцитами, є основним ендогенним медіатором однієї з самих парадоксальних реакцій, що полягає в розвитку спазму ГМ епікардіальних коронарних артерій при недостатності кисню. Встановлено, що ФАТ викликає фазне і тонічне скорочення вінець артерій. Фазний компонент цієї констрикторної реакції зумовлений вивільненням внутрішньоклітинно депонованого Ca^{2+} із саркоплазматичного ретикулуму під впливом інозитол 1,4,5-трифосфату, а тонічний пов'язаний з підвищенням під дією ФАТ активності протеїнкінази С і спричинений цим збільшенням Ca^{2+} -чутливості міофібрил [64, 66]. Важлива роль ФАТ у розвитку гіпоксичного вазоспазму підтверджується тим, що специфічні блокатори рецепторів ФАТ, BN 52021 та WEB 2086, більш ніж на 70% пригнічують констрикторну реакцію ГМ при дефіциті кисню.

ФАТ також впливає на м'язи серця [67]. У цьому випадку напрямок скорочувальної реакції залежить від концентрації ФАТ у буферному розчині. В дослідях на ізольованих препаратах папілярних м'язів щурів показано, що ФАТ в концентрації нижчій, ніж 10^{-8} моль/л сприяє приросту амплітуди скорочень, викликаних електричною стимуляцією. Встановлено, що цей ефект ФАТ пригнічується на фоні дії антагоністів кальцію та іонів літію. В дослідях на ізольованих кардіоміоцитах показано, що низькі концентрації ФАТ збільшують силу скорочень внаслідок входу позаклітинного Ca^{2+} через потенціалзалежні Ca^{2+} -канали L-типу. На Ca^{2+} канали T-типу ФАТ впливу не має. ФАТ у концентраціях вищих за 10^{-7} моль/л призводить до пригнічення скорочувальної активності міокарда внаслідок неспецифічного пригнічення Ca^{2+} -каналів L-типу.

Встановлено, що однією з причин підтримання високого рівня артеріального тиску при генетично детермінованій гіпертензії є порушення синтезу і/або вивільнення ЕРФ, зумовленого порушенням фосфоліпідного складу плазматичних мембран ендотеліоцитів. Теоретично і практично обґрунтований метод відновлення порушених ендотеліозалежних судинних реакцій при гіпертензії за допомогою фосфатиділхолінових ліпосом.

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕНДОТЕЛІАЛЬНИХ РЕАКЦІЙ У РОЗВИТКУ ТА КОМПЕНСАЦІЇ ПАТОЛОГІЧНИХ ПРОЦЕСІВ У СЕРЦЕВО-СУДИННІЙ СИСТЕМІ.

Роль ендотелію та ендотеліальних аутокоїдів в розвитку розладів кровообігу при дії ряду екстремальних факторів. Нами було позано, що класичні вазодилататори ацетилхолін, АТФ і гістамін збільшують кровотік на 21-32% і знижують судинний опір коронарних судин на 23-32 % лише за наявності непошкодженого ендотелію. Периферичні судини (легеневі, наприклад) реагують на введення цих речовин таким саме чином [22]. За умов попередньої деендотелізації судин за допомогою сапоніну або модельованого атеросклерозу ці вазоактивні агенти викликають протилежний ефект - дозозалежну вазоконстрикцію.

На різноманітних моделях шоків (постоклюзійний - тимчасова оклюзія стегнової чи мезентеріальної артерій, септичний, геморагічний) встановлено, що судинні розлади є головними в ланцюгу подій, які призводять до прогресуючого падіння венозного повернення крові до серця (цифри центрального венозного тиску та кінцево-діастолічного тиску лівого шлуночка ставали негативними вже через 30 хв після відновлення кровопостачання ішемізованих тканин), далі різко погіршувалися насосна та скорочувальна функції міокарда, а артеріальний тиск досягав шоккових показників - 68 мм рт.ст. $\pm$ 6,1 мм рт.ст., іншими словами, розвивалася глибока системна гіпотензія [15]. Поглиблення розладів кардіо- та гемодинаміки супроводжувалося підвищенням рівня тромбосана A_2 і простагліну в крові тварин. Найбільш вагомою причиною такого перебігу подій є підвищення розтяжності венозних судин периферії майже в 5 разів і депонування в них значної кількості крові - 48,4 мл/кг $\pm$ 10 мл/кг. Попередня блокада рецепторів ФАТ за допомогою BN 52021 чи WEB 2086 [19, 21, 54], інгібіція цикло- та ліпоксигенази індометацином і кверцетином відповідно, щонайменше на деякий час (3 год) затримували розвиток шоку, зменшували рівень вазоактивних простаноїдів і кількість депонованої крові до 10-17 мл/кг та значно послаблювали тяжність розладів гемодинаміки [20]. З іншого боку, внутрішньовенне введення 500 нг/кг ФАТ призводило до системної гіпотензії, механізми розвитку якої були такі самі, як і в разі шоккових реакцій [21]. Тобто була продемонстрована участь похідних мембранних фосфоліпідів - ейкозаноїдів і ФАТ, найбільші кількості яких синтезуються і вивільнюються з ендотелію в розвитку шоку.

При більш детальному дослідженні з'ясовано, що депонування значної кількості крові в венозній частині судинного русла, яке за нашими даними є ведучим фактором в обмеженні повернення венозної крові до серця і наступного падіння серцевого викиду та артеріального тиску в шоківих станах, зумовлене, перш за все, прямою дією ФАТ на ГМ вен та збільшення їх розтяжності [53]. У дослідях з регіонарним введенням ФАТ у коронарне і легеневе судинне русло продемонстрована вторинність і опосередкованість ендотеліальними аутокоїдами ефектів ФАТ на судини цих регіонів [21]. За умов блокади біосинтезу простагландинів дилататорна реакція вінцевих судин на введення 100 нг ФАТ майже не відтворювалася, а на фоні кверцетину чи госіполу відбувалася реверсія коронародилататорної дії ФАТ на коронароконстрикторну, коронарний опір при цьому збільшувався на 38 %.

Внутрішньокоронарне введення малих доз ФАТ (50-200 нг) викликає зменшення опору коронарних судин на 12-25 % залежно від дози, підвищення вінцевого кровотоку і скорочувальної активності міокарда. Негативна іотропна дія ФАТ на серце виявляється тільки при використанні великих доз (більше 300 нг) або при пошкодженні чи блокуванні функції ендотелію. Попередня деендотелізація судин малого кола, вінцевого русла або басейну стегнової артерії призводить до зниження дилататорних відповідей судин на введення екзогенного ФАТ і потенціювання констрикторних реакцій [58]. Підвищення опору коронарних судин завжди супроводжувалося пропорційним зниженням скорочувальної активності серця, тобто негативним іотропним ефектом.

Така ж залежність між функціональним станом ендотелію вінцевих судин, кровотоком і скорочувальною функцією міокарда була продемонстрована на судинних реакціях іншого генезу. Так, при гіпоксичному навантаженні тварин після первинного зменшення тонуусу коронарних судин відбувалося підвищення опору більше ніж на 50% і зниження кровотоку в судинах серця, яке супроводжувалося поступовим зниженням його скорочувальної активності. Попередня деендотелізація вінцевих судин зводила нанівець першу дилататорну фазу реакції на гіпоксичне навантаження, а констрикторна відповідь у цьому випадку потенціювалася, тобто збільшувалася по амплітуді (підвищення опору вінцевих судин через 10 хв гіпоксичного навантаження досягало 145 %. [17]. Також показано, що дилататорні простаноїди, насамперед простациклін, а також ЕФР відіграють найістотнішу роль у підтриманні фізіологічного тонуусу коронарних і легених судин. Блокада їх синтезу і/або вивільнення за допомогою індометацину, кверцетину чи госіполу потенціювала констрикторні реакції вінцевих і легених судин різного генезу [15, 17].

Крім безпосереднього впливу на тонуус судин, нами виявлено вплив ендотеліальних факторів на еластичні властивості судин і міокарду. За різних експериментальних умов (попередня деендотелізація судин, блокада біосинтезу простацикліну та ЕФР) показано,

що порушення структури й функції судинного ендотелію вінцевих судин супроводжується підвищенням діастолічної жорсткості міокарда з подальшим пропорційним пригніченням скорочувальної функції серця і зменшенням серцевого викиду внаслідок різкого пригнічення фази розслаблення міокарда і тим самим затруднення заповнення порожнини серця. Підтвердження експериментальних даних ми знайшли в дослідях з різними моделями шоків: через 3 год після відновлення кровотоку в ішемізованих тканинах, коли ендотеліозалежна реакція реактивної гіперемії [14, 59] була значно пригнічена, коронарний кровотік був зменшений на 37 %, діастолічна жорсткість лівого шлуночка збільшувалася на 126 %, а його скорочувальна активність падала на 49 %.

Таким чином, у результаті проведених досліджень показано, що судинний ендотелій та синтезовані або вивільнені ним аутокоїди активно модулюють не лише тонус судин, але через його зміни впливають на еластичні властивості серцевого м'яза та ГМ судин.

Роль імунних пошкоджень ендотелію у патології серцево-судинної системи. Дослідження імунних механізмів у патогенезі захворювань серцево-судинної системи привертає останнім часом все більшу увагу патофізіологів та клініцистів. Активно вивчається роль аутоімунних процесів при атеросклерозі та ішемічній хворобі серця, детально досліджуються ураження серця при системних алергічних реакціях та імунодефіцитних станах [8]. Оскільки реалізація імунної реакції антиген-антитіло здебільше відбувається у судинному руслі, то першими клітинами, які повинні пошкоджуватись при розвитку цієї реакції безумовно є ендотеліоцити. Але в сучасній літературі є лише поодинокі публікації на цю актуальну тему [8, 10]. У представленому циклі наукових праць головну увагу було приділено комплексним (функціональним, біохімічним і морфологічним) дослідженням ендотеліальних клітин коронарних судин при розвитку імунопатологічних станів у серці.

Дослідження проведені нами на моделі імунного пошкодження серця цитотоксичного та анафілактичного генезу, а також на моделі гострого інфаркту міокарда у великих тварин [8, 11-13, 17].

Вперше встановлено принципові особливості структурних і функціональних пошкоджень ендотелію коронарних судин, характерних для імунної патології серця різного генезу, вивчені механізми їх розвитку та розроблені основні підходи до їх корекції. Виявлені швидконаступаючі пошкодження ендотелію коронарних судин у зонах первинної дії імунних факторів: набряк, активізація мікровезикулярного транспорту при анафілактичній реакції та значно більш сильні ураження ендотелію: виразна осмофілія цитоплазми, руйнування внутрішньоклітинних структур ендотеліоцитів, їх відшарування від внутрішньої еластичної мембрани, мозаїчна деендотелізація коронарних судин при цитотоксичній імунній реакції [8, 13, 46, 47, 52].

Поряд з цим спостерігалось різке (у кілька разів) зменшення вмісту основного маркера стану ендотелію коронарних судин і вазодилатора - простацикліну та збільшення кількості лейкотриєнів у відтікаючій від серця крові; пригнічення ендотелійзалежних вазодилаторних реакцій на ацетилхолін, прогресивне звуження судин серця та гіпоксія міокарда [8]. Подальше гальмування біосинтезу простаноїдів за допомогою інгібітора циклооксигенази викликало ще більш інтенсивні порушення коронарного кровообігу та діяльності серця імунного генезу [8, 9].

Гальмування біосинтезу лейкотриєнів за допомогою специфічного інгібітора ліпоксигенази, - лінолеїл гідроксамової кислоти або кверцетину, істотно змінювало імунні реакції, запобігало структурним змінам ендотелію та призводило до відновлення ендотелійзалежних реакцій судин серця [7]. Негативна дія лейкотриєнів на ендотелій судин серця вперше доведена нами у дослідях з внутрішньокоронарним введенням екзогенних лейкотриєнів, що призводило, поряд із звуженням коронарних судин, до порушень ультраструктури їх ендотеліального шару - розширенню міжендотеліальних контактів, активації мікровезикулярного транспорту, появи мікровезикул, які утворювали своєрідні грона, оточені одношаровою мембраною, витинаючись у просвіт судини [5]. Пошкоджуюча дія лейкотриєнів на ендотелій коронарних судин може виявлятися і при розвитку інших патологічних станів у серці, наприклад при гострій ішемії міокарда [6]. Оскільки інгібітори ліпоксигенази пригнічують вивільнення ендотелійзалежного розслаблюючого фактора, можна гадати, що простаноїди, а саме простациклін, що синтезується у ендотелії, певною мірою бере участь у розвитку та компенсації імуногенних порушень коронарного кровообігу.

Встановлено, що мембраностабілізатори (фосфокреатин) попереджають пошкодження ендотелію коронарних судин і пов'язані з останніми коронароконстрикторні реакції, а також відновлюють ендотелійзалежні вазодилаторні реакції [46]. Це відкриває нові шляхи для застосування даних препаратів у клініці імунних та ішемічних уражень серця [48].

Дослідження ролі системи біосинтезу NO та інших ендотелійзалежних речовин у регуляції діяльності серцево-судинної системи і розвитку в ній патологічних станів знаходиться в стадії бурхливого прогресу. Багато питань ще потрібно з'ясувати. Але вже отримані результати безумовно відкривають нові перспективи для фізіології, патології та терапії серцево-судинних захворювань.

*A.A.Moibenko, V.F.Sagach, L.N.Shapoval, A.I.Soloviev,
O.V.Bazilyuk, A.V.Zhukova, M.N.Tkachenko, S.M.Marchenko*

THE ROLE OF ENDOTHELIUM AND BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES OF ENDOTHELIAL ORIGIN IN THE CONTROL OF CIRCULATION AND HEART ACTIVITY

The role of endothelium and its biologically active derivatives in the central and local control of circulation is under consideration. Molecular and cellular mechanisms of the activation of the endothelium-dependent responses of different functional significance are being discussed,

as well as the state of endothelial responses in the development and compensation of pathological processes in the cardiovascular system.

A.A.Bogomolets Institute of Physiology,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Базилук О.В., Берштейн С.А., Соловьев А.И.* Роль эндотелия в развитии сократительных реакций сосудистых гладких мышц при снижении их оксигенации // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1986. - 101, № 6. - С. 134-141.
2. *Базилук О.В., Берштейн С.А., Соловьев А.И.* Роль эндотелия в развитии транзиторного повышения тонуса коронарных артерий при гипоксигенации // Физиол. журн. - 1987. - 33, № 4. - С. 16-22.
3. *Базилук О.В.* Механизмы эндотелийзависимого транзиторного сокращения гладких мышц коронарных артерий при гипоксигенации // Физиол. журн. им. И.М.Сеченова. - 1988. - 74, № 2. - С. 179-185.
4. *Базилук О.В., Берштейн С.А.* Модулирование эндотелием реакций гладких мышц артерий на биологические амины и электрическую стимуляцию // Там же. - 1989. - 75, № 6. - С. 819-824.
5. *Мойбенко А.А., Колчин Ю.Н., Булах В.Н., Сорочинский А.Е.* Влияние лейкотриена LTC₄ на коронарное сосудистое русло и сократительную функцию миокарда // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1991. - 111, № 2. - С. 120-123.
6. *Мойбенко А.А., Колчин Ю.Н., Коцюруба В.Н.* Лейкотриены и ишемия миокарда // Кардиология. - 1991. - 31, № 5. - С. 75-78.
7. *Мойбенко А.А., Коцюруба В.Н., Зражевская В.К., Сорочинский А.Е.* Соотношение между изменениями тонуса коронарных сосудов и образованием эйкозаноидов при иммунном воздействии на сердце // Физиол. журн. СССР им. И.М.Сеченова. - 1991. - 79, № 9. - С. 42-48.
8. *Мойбенко А.А., Сагач В.Ф.* Иммуногенные нарушения деятельности сердечно-сосудистой системы. К.: Наук. думка, 1992. - 203с.
9. *Мойбенко А.А., Грабовский Л.А., Коцюруба В.Н., Булах В.Н.* О механизмах изменений коронарного сосудистого сопротивления при анафилактическом шоке // Физиол. журн. им. И.М.Сеченова. - 1994. - 80, № 2. - С. 74-82.
10. *Сагач В.Ф.* Лейкотриены и сердечно-сосудистая система // Патол. физиология и эксперим. терапия. - 1986. - № 1. - С. 84-89.
11. *Сагач В.Ф.* О роли лейкотриенов при шоке иммунного генеза // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1986. - 101, № 2. - С. 151-153.
12. *Сагач В.Ф.* Влияние индометацина на развитие нарушений кардио- и гемодинамики при шоке иммунного генеза // Фармакология и токсикология. - 1987. - № 3. - С. 109-206.
13. *Сагач В.Ф.* Влияние блокады липо- и циклооксигеназы на развитие шока иммунного генеза // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1988. - 106, № 7. - С. 7-10.
14. *Сагач В.Ф., Ткаченко М.Н., Дмитриева А.В.* О роли эндотелия в реакции реактивной гиперемии коронарных сосудов // Докл. АН СССР. - 1989. - 307, № 3. - С. 765-769.
15. *Сагач В.Ф., Дмитриева А.В.* Кардио- и гемодинамика у собак при развитии постишемической шоковой реакции // Физиол. журн. - 1989. - 35, № 4. - С. 9-15.
16. *Сагач В.Ф., Ткаченко М.Н.* Роль эндотелия в развитии реактивной гиперемии // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1989. - 108, № 10. - С. 421-423.
17. *Сагач В.Ф., Дмитриева А.В.* Исследование роли эндотелия в развитии реакций коронарных сосудов различного генеза // Кардиология. - 1990. - 30, № 1. - С. 62-65.
18. *Сагач В.Ф., Ткаченко М.Н.* О механизмах вовлечения эндотелия в реакцию реактивной гиперемии // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1990. - 109, № 5. - С. 420-422.
19. *Сагач В.Ф., Дмитриева А.В.* Роль тромбоцит-активирующего фактора в развитии нарушений кровообращения при постишемическом шоке // Физиол. журн. - 1990. - 36, № 4. - С. 10-17.
20. *Сагач В.Ф., Жукова А.В.* Роль простагландинов в развитии нарушений кардио- и гемодинамики при постишемическом шоке // Там же. - 1991. - 37, № 2. - С. 25-30.
21. *Сагач В.Ф., Жукова А.В.* Влияние тромбоцит-активирующего фактора на кардио- и гемодинамику // Физиол. журн. СССР им. И. М. Сеченова. - 1991. - 79, № 9. - С. 166-172.
22. *Сагач В.Ф., Шиманська Т.В.* Участь простаноїдів у розвитку гемодинамічних зрушень при гіпертермії // Доп. АН України. - 1991. - № 11. - С. 155-158.
23. *Сагач В.Ф., Ткаченко М.Н., Коваленко Т.Н.* Участие гуморальных факторов, выделяемых эндотелием, в развитии реактивной гиперемии // Физиол. журн. СССР им. И.М.Сеченова. - 1991. - 77, № 6. - С. 20-27.

24. Сагач В.Ф., Киндыбалюк А.М. О роли эндотелия в развитии функциональной гиперемии скелетных мышц // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1991. - 112, № 11. - С. 453-456.
25. Сагач В.Ф., Фролькис И.В., Коваленко Т.Н., Диброва В.В. Возрастные особенности участия эндотелия в реакциях гладких мышц сосудов на действие гормонов. Роль ультраструктурных изменений // Физиол. журн. - 1991. - 37, № 3. - С. 36-44.
26. Сагач В.Ф., Киндыбалюк А.М., Жукова А.В. Влияние нарушения функциональной активности эндотелия на развитие рабочей гиперемии миокарда // Докл. АН Украины. - 1992. - № 9. - С. 151-157.
27. Сагач В.Ф., Шаповал Л.Н., Шевчук В.Г. и др. Гипертензивные реакции при воздействии эндотелина на структуры вентролатерального отдела продолговатого мозга // Физиол. журн. им. И.М.Сеченова. - 1993. - 79, № 8. - С. 111-115.
28. Сагач В.Ф., Ткаченко М.Н. Роль эндотелия во взаимоотношениях длина-сила сосудистых гладких мышц // Докл. АН Украины. - 1993. - № 12. - С. 138-141.
29. Сагач В.Ф., Ткаченко М.Н. Роль окиси азота в развитии реактивной гиперемии в коронарном русле // Физиол. журн. им. И.М.Сеченова. - 1994. - 80, № 2. - С. 98-104.
30. Сагач В.Ф., Ткаченко М.Н. Влияние L-аргинина на активные миогенные реакции сосудистых гладких мышц при гиперхолестеринемии // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1995. - 119, № 2. - С. 118-120.
31. Соловьев А.И., Базилюк О.В. Особенности сократительных реакций ритмически активных гладких мышц сосудов спонтанно гипертензивных крыс при гипероксигенации и роль эндотелия в их развитии // Физиол. журн. - 1989. - 35, № 4. - С. 109-112.
32. Соловьев А.И., Рекалов В.В., Сагач В.Ф. и др. Влияние фактора активации тромбоцитов на выходящие калиевые токи в изолированных гладкомышечных клетках // Биол. мембраны. - 1991. - 8, № 7. - С. 736-742.
33. Ткаченко М.Н., Сагач В.Ф. Эндотелийзависимый механизм развития реактивной гиперемии // Докл. АН Украины. - 1992. - № 5. - С. 147-149.
34. Шаповал Л.Н., Сагач В.Ф., Побегайло Л.С. Вазомоторные эффекты оксида азота при его введении в структуры вентролатеральной области продолговатого мозга // Докл. АН СССР. - 1991. - 317, № 6. - С. 1506-1509.
35. Шаповал Л.Н. Роль структур вентролатерального отдела продолговатого мозга в регуляции сердечно-сосудистой деятельности (обзор) // Нейрофизиология. - 1992. - 24, № 6. - С. 717-735.
36. Cherry P.D., Furchgott R.F., Zawadzki J.V., Jothinandan D. Role of endothelial cells in relaxation of isolated arteries by bradykinin // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. Biol. Sci. - 1982. - 79, № 6. - P. 2106-2110.
37. Furchgott R.F., Zawadzki J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine // Nature. - 1980. - 288, № 5789. - P. 373-376.
38. Furchgott R.F. Role of endothelium in responses of vascular smooth muscle // Circ. Res. - 1983. - 53, № 5. - P. 557-573.
39. Gartwaite T., Charles S.L., Chess-Williams R. Endothelium-dependent relaxing factor release on activation of NMDA receptors suggests role as intercellular messenger in the brain // Nature. - 1988. - 336. - P. 385-388.
40. Ignarro L.J., Byrns R.E., Buga G.M. et al. Pharmacological evidence that endothelium-derived relaxing factor is nitric oxide: use of pyrogallol and superoxide dismutase to study endothelium-dependent and nitric oxide-elicited vascular smooth muscle relaxation // J. Pharmacol. Exp. Ther. - 1988. - 244, № 1. - P. 181-189.
41. Marchenko S.M., Sagach V.F. Effect of methylene blue on potassium channels // Biol. Membr. - 1992. - 6, № 2. - P. 182-189.
42. Marchenko S.M., Sage S.O. Electrical properties of resting and stimulated endothelium in intact rat aorta // J. Physiol. - 1993. - 459. - P. 79P-80P.
43. Marchenko S.M., Sage S.O. Oscillation in endothelial membrane potential evoked by thapsigargin and ionomycin in isolated intact rat aorta // J. Physiol. - 1993. - 459. - P. 175P-176P.
44. Marchenko S.M., Sage S.O. Electrical properties of resting and acetylcholine-stimulated endothelium in intact rat aorta // Ibid. - 1993. - 462. - P. 735-751.
45. Martin W., Villani G.M., Yothianandan D., Furchgott R.F. Selective blockade of endothelium-dependent and glyceryl trinitrate-induced relaxation by hemoglobin and by methylene blue in the rabbit aorta // J. Pharmacol. Exp. Ther. - 1985. - 232, № 4. - P. 708-716.
46. Moibenko A.A., Marchenko G.I., Popovich L.F. et al. Mechanism of the protective action of phospho-creatine (PCr) in immune injury - In: Cardioprotection with phosphocreatine in cardiology and cardiac surgery. S. matteo, Pavia, 1989. - P. 121-135.

47. Moibenko A.A., Sagach V.F., Popovich L.F. Immune injury of heart muscle // *Sov. Med. Rev. Cardiol.* / Ed. A. Katz, V. N. Smirnov. London, Harwood Acad. Publ. Gmb. - 1989. - № 2. - P. 169-202.
48. Moibenko A.A., Marchenko G.I., Kotsyuruba V.N. et al. Effect of exogenous phosphocreatine on endothelium and endothelium dependent vascular reactions in immune cardiac injury // *Curr. Therap. Res.* - 1992. - 52, № 6. - P. 791-801.
49. Moncada S., Radomski M.W., Palmer R.M.J. Endothelium-derived relaxing factor. Identification as nitric oxide and role in the control of vascular tone and platelet function // *Biochem. Pharmacol.* - 1988. - 37, № 13. - P. 2495-2501.
50. Moncada S., Palmer R.M.J., Higgs E.A. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology // *Pharmacol. Rev.* - 1991. - 43, № 2. - P. 109-142.
51. 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, № 6122. - P. 524-526.
52. Popovich L.F., Sagach V.F., Moibenko A.A. Comparative study of morphological changes in myocardium after different types of allergic reaction in coronary vessels // *Exp. Pathol.* - 1988. - 33, № 2. - P. 109-117.
53. Sagach V.F., Dmitrieva A.V., P.Braquet. Mechanisms of hypotensive effect of platelet-activating factor in dogs // *J. Lipid Mediators.* - 1990. - 2, № 3-4. - P. 219.
54. Sagach V.F., Dmitrieva A.V., Braquet P. Influence of BN 52021 on the cardio- and hemodynamic change during development of the postschismic shock reaction// *Ginkgolides, Chemistry Biology, Pharmacology and Clinical Perspectives.* Barcelona, 1990. - Vol. 2. - P. 350-365.
55. Sagach V.F., Tkachenko M.N. On the mechanism of involvement of endothelium in reactive hyperemia // *Experientia.* - 1991. - 47, № 8. - P. 828-830.
56. Sagach V.F., Dmitrieva A.V., Braquet P. Pooling of blood in postschismic shock is modulated by platelet-activating factor // *Lipids.* - 1991. - 26, № 12. - P. 1400-1403.
57. Sagach V.F., Kindybaluk A.M., Kovalenko T.N. Functional hyperemia of skeletal muscle: role of endothelium // *J.Cardiovasc. Pharmacol.* - 1992. - 20, Suppl. 12.- P. S170-S175.
58. Sagach V.F., Zhukova A.V., Braquet P. Endothelium-dependent ejects of PAF in the coronary circulation // *Ibid.* - 1992. - 20, Suppl. 12. - P. S85-S89.
59. Sagach V.F., Tkachenko M.N. Role of nitric oxide in myocardial reactive hyperemia in a dog // *Pol. J. Pharmacol.* - 1994. - 46, № 6.- P. 609-614.
60. Sakuma I., Stuehr D.J., Gross S.S. et al. Identification of arginine as a precursor of endothelium-derived relaxing factor // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* - 1988.- 85, № 22. - P. 8664-8667.
61. Schmidt H.H.H.W., Nau H., Wittfoht W. et al. Arginine is a physiological precursor of endothelium-derived nitric oxide // *Eur. J. Pharmacol.* - 1988. - 154, № 2. - P.213-216.
62. Shapoval L.N., Sagach V.F., Pobegailo L.S. Nitric oxide influences ventrolateral medullary mechanisms of vasomotor control in the cat// *Neurosci. Lett.* - 1991. - 132. - P. 47-50.
63. Simonson M.S., Dunn M.J. Endothelin. Pathways of transmembrane signaling // *Hypertension.* - 1990. - 15, № 2, Suppl.. - P. I-5 - I-12.
64. Soloviev A.I., Braquet P. The role of PAF in mechanisms of isolated coronary arteries spasm under hypoxia and its inhibition by BN 52021 // *Ginkgolides-Chemistry, Biology, Pharmacology and Clinical Perspective.* - 1989. - Vol. 2. - P. 354-367.
65. Soloviev A.I., Braquet P. Platelet-activating factor (PAF) induced constriction of saponin-skinned smooth muscle of coronary artery // *Lipids* - 1991 - 26, № 12 - P. 1274-1276.
66. Soloviev A.I., Braquet P. Platelet-activating factor - a potent endogenous mediator responsible for coronary vasospasm // *NIPS.* - 1992 - 7, № 8 - P. 166-172.
67. Soloviev A.I., Naliwaiko E.D., Bazilyuk O.V. et al. Action of externally applied PAF on two types of calcium channels in single cardiomyocytes of isolated cardiac muscle. - In: *Recent Advances in Cell. Mol. Biology.* - Peeter Press, Belgium, 1992. - 4. - P. 191-198.
68. Tkachenko M.N., Sagach V.F., Bazilyuk O.V., Shapoval M.V. Involvement of endothelium in vasodilating effect of vintoperol // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* - 1992. - 20, Suppl. 12.- P. S90-S93.
69. Tkachenko M.N., Sagach V.F. Length-tension dependence in vascular smooth muscle: possible participation of endothelin // *Experientia.* - 1995. - 51, № 9-10. - P. 936-940.
70. Yanagisawa M., Kurihara H., Kimura S. et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells // *Nature.* - 1988. - 332, № 6163. - P.411-415.