

О.О. Мойбенко, В.Ф. Сагач, М.М. Ткаченко, О.В. Коркушко, В.В. Безруков,
О.К. Кульчицький, О.В. Стефанов, А.І. Соловійов, Л.Т. Мала, В.В. Фролькіс

Фундаментальні механізми дії оксиду азоту на серцево-судинну систему як основи патогенетичного лікування її захворювань

Рассматривается общая характеристика и механизмы действия оксида азота, роль его в развитии патологических процессов. Представлены данные об участии NO в регуляции кровообращения и сердечно-сосудистой системы; NO-зависимом механизме регуляции сосудистой реактивности в условиях дисфункции эндотелия; цГМФ-независимом механизме действия NO на кальциевый гомеостаз и чувствительность миофибрилл гладкомышечных клеток к ионам кальция; фармакологической коррекции нарушений метаболизма NO и сопряжённой с ним эндотелиальной дисфункции; роли возрастных изменений эндотелиальной функции в развитии сердечно-сосудистой патологии.

У 1987 р. групою науковців у складі R.F. Furchgott, J.V. Zavadzki і R.M.J. Palmer, A.G. Ferrige, S. Moncada було визначено біологічну роль оксиду азоту (NO) [76, 78, 84]. Це стало одночасно і кінцем, і початком подій світового масштабу в біологічній науці. Кінцем, тому що поставлено крапку в довгому, більш ніж 130-річному ланцюзі пошуків механізмів терапевтичної дії нітрогліцерину та інших нітровоазодилаторів. Починаючи з 1867 р., коли Thomas Lauder Brunton вперше використав аміннітрил для лікування грудної жаби, і аж до початку 80-х років минулого сторіччя, клітинні механізми дії терапевтичних нітровоазодилаторів залишалися невідомими, незважаючи на їх широке використання в клініці внутрішніх хвороб. До речі, в історії фармакології та медицини це не єдиний випадок. Аналогічною була доля іншого, не менш відомого препарату – аспірину, механізми дії якого також досить довго залишалися невідомими, що втім ніколи не заважало йо-

го великій популярності серед населення та лікарів. Пройшло більш ніж століття і лише тоді стало зрозумілим, що в основі вазодилаторної дії аміннітрилу та нітрогліцерину лежить звільнення молекули NO з наступною активацією нею ферменту гуанілатциклази судинних гладеньком'язових клітин, збільшенням внутрішньоклітинного вмісту циклічного гуанозинмонофосфату (цГМФ) і запуском складного комплексу внутрішньоклітинних процесів, які призводять до їх розслаблення.

Але одночасно відкриття NO як біологічного медіатора стало початком розвитку нового напрямку в регуляції клітинних функцій і комунікацій. Кількість публікацій з фізіології, фармакології, біохімії та патофізіології NO почала швидко збільшуватися і в 1992 р. NO назвали молекулою року, а в 1998 р. R.F. Furchgott, F. Murad і L.J. Ignarro було присуджено Нобелівську премію в галузі медицини та фізіології. Спочатку він був відкритий R.F. Furchgott і J.V. Zavadzki

© О.О. Мойбенко, В.Ф. Сагач, М.М. Ткаченко, О.В. Коркушко, В.В. Безруков,
О.К. Кульчицький, О.В. Стефанов, А.І. Соловійов, Л.Т. Мала, В.В. Фролькіс

як ендотеліальний фактор розслаблення (ЕФР), котрий визначає рівень тонічної напруги гладеньких м'язів судин [76], а надалі був ідентифікований як NO [78, 84]. Потім ця сама молекула була визнана як нейротрансмітер у центральній і периферичній нервовій системі, де вона, як виявилось, бере участь у регуляції цілої низки важливих біологічних функцій, включаючи процеси навчання та пам'яті. Механізми регуляції перистальтики кишок, ерекції та виділення гістаміну тучними клітинами також виявилися NO-залежними. Далі було встановлено, що при запаленні та рості пухлин клітини-кілери використовують NO для знищення бактерій і злоскісних клітин. Кількість відомих фізіологічних і патофізіологічних функцій, які проходять з участю NO, з кожним роком збільшується.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА І МЕХАНІЗМИ ДІЇ NO

NO є гідрофобним газом з хімічними властивостями, які роблять його надзвичайно доступним для ролі внутрішньо- і міжклітинного посередника. Він може існувати у вигляді відносно стабільного, нейтрально зарядженого радикала (NO^\bullet) з ліпофільними властивостями і значно вираженою тенденцією до взаємодії, перш за все, з молекулами, які мають неспарений електрон, такими, як супероксид-аніон, залізо та молекулярний кисень. NO може також підлягати одноелектроному відновленню з утворенням нітросил-аніона (NO^-) або, загубивши електрон, перетворюється на іон нітрозонію (NO^+).

Утворений NO^- – багатофункціональна ефекторна молекула. Основною його мішенню в клітині є розчинна гуанілатциклаза. NO зв'язується з залізом каталітичної субодиниці ферменту, що призводить до збільшення активності гуанілатциклази та накопиченню в середині кліти-

ни цГМФ. Розслаблюючий ефект цГМФ-залежних протеїназ на гладенькі м'язи реалізується, головним чином, через контроль концентрації Ca^{2+} у цитозолі завдяки їхньому впливу на продукцію інозитол-1,4,5-трифосфату, активність кальцієвих АТФаз і активації кальційзалежних калієвих каналів [81]. Є також дані про те, що NO може знижувати вхід Ca^{2+} у гладеньком'язові клітини через L-тип кальцієвих каналів [71]. Нещодавно було показано [79], що NO бере участь у процесах мобілізації внутрішньоклітинного кальцію за допомогою стимуляції продукції циклічної АДФ-рибози і наступної активації ріанодинових рецепторів.

Відкриття NO принципово змінило уявлення про механізми передачі інформації в центральній і вегетативній нервовій системі [77]. Класична картина, коли передача інформації між нейронами (або від нейрона до ефекторної клітини) здійснюється в строго визначених місцях (синапсах) і в одному напрямку, змінилася концепцією дифузної передачі сигналу. Дійсно, NO може розповсюджуватися від місця його утворення в усі боки, в тому числі і ретроградно, легко проникаючи через ліпідну і водну фази та взаємодіючи з нервовими, гліальними і судинними клітинами. З урахуванням його порогової концентрації (1 моль/л), кінетики активації й часу життя (близко 5 с), ефективний радіус дії NO становить не менш ніж 300 – 1000 мкм, що означає залучення в сферу активності NO мільйонів синапсів.

РОЛЬ NO В ПАТОЛОГІЧНИХ ПРОЦЕСАХ

Паралельно зі збільшенням числа клітинних функцій, які регулює NO, збільшується і число захворювань, пов'язаних з порушенням синтезу або виділення його: есенціальна гіпертонія, ішемічна хвороба серця та інфаркт міокарда, бронхіальна

астма, первинна легенева гіпертензія, невротична депресія, імпотенція, діабет – усе це далеко не повний список патологічних процесів тією чи іншою мірою пов'язаних зі змінами в метаболізмі NO.

Надзвичайно велике значення NO і його похідних у патогенезі так званих вазоспастичних станів (інфаркт міокарда та мозку, гіпертензія). Нині добре відомо, що порушення NO-залежної вазодилатації є одним з важливих механізмів, які лежать в основі розвитку гіпертонічної хвороби. Серед механізмів, що відповідають за ураження міокарда за умов ішемії – перфузії головну роль відіграє взаємодія NO з супероксид-аніоном і наступне утворення пероксинітриду (ONOO^-).

Що стосується суперечливої ролі NO і його похідних у розвитку ішемії мозку, то слід зазначити, що в останні роки загибель нейронів при нестачі кисню пов'язують з нейротоксичністю глутамату. Але взаємодія останнього з НМДА-рецепторами і наступний масивний вхід іонів кальцію є лише пусковим моментом у ланцюзі подій, які спричинюють пошкодження нейрона і його загибель при ішемії мозку. Збільшення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} призводить до активації NOS та інтенсивного утворення NO і ONOO^- , що є безпосередньою причиною смерті клітин. Це положення підтверджується тим фактом, що інгібітори NOS у деяких випадках є досить ефективними для попередження загибелі нейронів при ішемії.

Водночас існують і протилежні дані, коли NO має нейро- та кардіопротекторний ефект. Це протиріччя пояснюється тим, що ефект монооксиду азоту на клітину залежить від окисно-відновного стану його молекули: з NO легко утворюється токсичний ONOO^- , а NO^+ може нітрузувати НМДА-рецептори, блокуючи тим самим вхід позаклітинного Ca^{2+} і синтез NO [77]. Ідеальним терапевтичним агентом для лікування інсульту та інфаркту міокарда

був би такий препарат, який би попереджував появу NO, але водночас сприяв би накопиченню NO^+ .

Таким чином, вивчення фундаментальних механізмів NO на ефекторні елементи серцево-судинної та інших систем організму є, безумовно, пріоритетним напрямком сучасної медичної науки і буде сприяти розробці більш ефективних методів лікування основних захворювань людини і створенню принципово нових лікарських препаратів.

Авторами роботи:

- Встановлено, що рівень базального синтезу NO визначає ефективність фундаментального механізму регуляції скоротливої активності міокарда – механізму Франка – Старлінга та рівень насосної функції серця. Представлені експериментальні докази здатності NO впливати на рівень споживання кисню тканинами серця та на ефективність його використання. Показано існування прямого впливу NO на скорочувальний апарат судинних гладеньких м'язів, що призводить до зниження чутливості скорочувальних білків до іонів кальцію та розслаблення гладеньких м'язів судин.

- Система NO відіграє визначальну роль у реалізації депресорних і пресорних рефлексів з серця – кардіогенних рефлексів, які супроводжуються дилатацією та констрикцією периферичних судин. Доведено також, що участь системи NO в вазомоторних реакціях при кардіогенних рефлексах більш значуща, ніж при рефлексах з артеріальних барорецепторів. Виявлено протилежні зміни ферментів системи NO нітрооксидсинтаз (зниження активності) та аргіназ (посилення активності) при гострій ішемії – реперфузії міокарда, атеросклерозі, артеріальній гіпертензії, старінні. Це дало змогу визначити шляхи NO-залежної кардіопротекції. Розроблено та впроваджено в практику новий ефективний кардіопротектор – корвітин, який підви-

щує продукцію оксиду азоту в серці при ішемії – реперфузії міокарда.

- Представлено експериментальні докази існування механізму дії NO, що не пов'язаний з активацією розчинної гуанілатциклази та накопиченням внутрішньоклітинного цГМФ. Доведено можливість прямого впливу NO на скорочувальний апарат гладеньком'язових клітин, який призводить до зниження кальцієвої чутливості міофібрил внаслідок нітрузування скорочувальних і/або регуляторних білків та активації внутрішньоклітинних фосфатаз.

- У експериментальних і клінічних дослідженнях виявлено суттєву роль змін вмісту та обміну NO при старінні у функціонуванні серцево-судинної системи та розвитку її вікової патології. Показано, що з віком зменшуються вазодилаторні ендотеліозалежні впливи на судини, змінюється характер і спрямованість реакцій судин на фізіологічно активні речовини, створюються умови для частішого розвитку серцево-судинної патології у людей похилого віку. Розроблено нові підходи до первинної та вторинної профілактики та лікування хворих на серцево-судинну патологію.

- Отримано експериментальні дані щодо можливості використання ліпосом із фосфатидилхоліну для корекції порушень ендотеліозалежних судинних реакцій за умов оксидативного стресу. Показано, що фосфатидилхолінові ліпосоми спроможні відновлювати нормальну чутливість гладеньких м'язів судин до ендогенного NO та механізми його транспорту в судинній стінці.

РОЛЬ ОКСИДУ АЗОТУ В РЕГУЛЯЦІЇ КРОВООБІГУ

Дослідження останніх років свідчать, що вплив оксиду азоту на серцево-судинну систему реалізується як через його дію на насосну функцію серця, так і на судинний тонус.

Нами вперше показано, що рівень базального синтезу NO має істотний вплив на реалізацію фундаментального механізму регуляції скоротливої активності міокарда – механізму Франка – Старлінга. Зниження базального рівня оксиду азоту за допомогою пригнічення NO-синтазної активності або застосування його скавенджерів значно зменшувало ефективність механізму гетерометричної регуляції серця і супроводжувалося значно меншим приростом серцевого викиду у відповідь на збільшення кінцево-діастолічного тиску [85]. У разі зменшення у тканинах серця вмісту NO підвищувався тонус коронарних судин і знижувався коронарний кровотік. Водночас підвищення вмісту оксиду азоту через введення в перфузат його донора мало протилежний вплив на коронарний кровообіг та збільшувало приріст серцевого викиду у відповідь на підвищення кінцево-діастолічного тиску. Показано, що цей вплив NO зумовлений його здатністю підвищувати піддатливість серцевого м'яза та сприяти кращому наповненню кров'ю камер серця. Такий ефект NO може бути пояснений його здатністю знижувати чутливість скоротливих білків міокарда до іонів кальцію [68]. А з іншого боку, це збігається з даними, які свідчать, що рівень синтезу оксиду азоту в міокарді при навантаженні серця об'ємом збільшується на 46 % [37] і він має пульсуючий характер із підйомом у діастолу.

Це також важливо для прояву іншої показаної нами властивості NO – його здатності впливати на рівень споживання кисню тканинами серця та на ефективність його використання [37]. Підвищення вмісту NO в тканинах серця через введення в перфузат його попередника – L-аргініну чи його донора – нітропрусида натрію призводило до зниження споживання кисню на 29 % та зменшення кисневої вартості роботи серцевого м'яза. За умов

пригнічення NO-синтази та зниження синтезу оксиду азоту спостерігався протилежний ефект – збільшення споживання кисню та кисневої вартості роботи серця.

Таким чином, наведені дані свідчать, що оксид азоту є своєрідним регулятором споживання кисню тканинами і визначає кисневу вартість роботи міокарда. Разом із пульсуючим направленням рівня NO в міокарді це призводить до зменшення споживання кисню в діастолу й підвищення в систолу, коли потреби в ньому найбільші.

Велике значення для діяльності серця та судинного тону має зниження рівнів синтезу оксиду азоту при станах, що супроводжуються дисфункцією ендотелію. До таких станів відносяться атеросклероз, артеріальна гіпертензія, цукровий діабет, старіння та хвороба Паркінсона. Як показали результати наших дослідів на моделях згаданих патологічних станів, вони супроводжуються зниженням NO-синтазної активності й вмісту стабільного метаболіту оксиду азоту в різних тканинах тварин в 2–3 рази [38, 39, 61, 86]. Таке зниження вмісту NO, в тому числі в тканинах серця, супроводжувалося значним зниженням ефективності гетерометричного механізму регуляції скоротливої активності міокарда, яке значною мірою запобігало введення попередника та стимулятора синтезу NO – L-аргініну [33, 86].

З іншого боку, нами вперше було показано, що у мешканців високогір'я (2200 м над рівнем моря) значно збільшена концентрація стабільних метаболітів NO в плазмі й еритроцитах [41], що супроводжується більшим залученням до забезпечення насосної функції серця механізму Франка–Старлінга та підвищенням дилаторного резерву судин.

Одним із фундаментальних механізмів впливу NO на організм є його вазодилаторний ефект, який реалізується через активацію гуанілатциклази гладеньком'язових клітин і збільшення внутрішньо-

клітинного вмісту циклічного гуанозинмонофосфату. Наші дослідження показали також існування прямого впливу NO на скорочувальний апарат гладеньких м'язів, який призводить до зниження чутливості їх скорочувальних білків до іонів кальцію та до розслаблення [1, 36]. Механізми безпосередньої розслаблюючої дії NO на скорочувальний апарат досить стійкі до впливу пошкоджуючих факторів і зберігаються при різних патологічних станах. Показано, що при гіпертензії, атеросклерозі, паркінсонізмі та у старих тварин розслаблююча дія донорів NO зберігається [38, 39, 61], а реакція на ендотеліязалежні вазодилаторні впливи суттєво зменшується. Це вказує на те, що головною причиною зниження вазодилаторного резерву при згаданих патологічних станах є пригнічення синтезу NO в ендотеліальних клітинах, тобто розвиток дисфункції ендотелію.

Хоча різні ізоформи NO-синтаз знайдено в різних клітинах, ендотелій, поверхня якого в організмі людини перевищує 1100 м², є головним джерелом оксиду азоту, особливо в органах із густою сіткою капілярів. Рівень синтезу NO визначаються, перш за все, активацією конститутивних кальційзалежних NO-синтаз, тобто надходженням до них кальцію внаслідок збудження та електричних реакцій ендотелію. На моделі інтактного ендотелію кролів і морських свинок показано, що його мембранний потенціал спокою формується калієвою, натрієвою та кальцієвою провідностями. За умов даної моделі вперше продемонстровано, що першою фазою відповіді мембранного потенціалу інтактного ендотелію аорти на агоністи ацетилхолін та аденозинтрифосфат є швидка гіперполяризація ендотеліальної мембрани, яка зумовлена активацією кальційзалежних калієвих, кальцій – і натрійпровідних каналів [2, 66]. Вперше досліджено вплив зовнішньо- та внутрішньо-

клітинного рН на електричні реакції ендотелію. Зниження внутрішньоклітинного рН суттєво збільшувало АТФ-індуковану гіперполяризацію, яка залежить від надходження кальцію в ендотеліоцит [3].

Вперше показано, що підвищення внутрішньоклітинної концентрації циклічних нуклеотидів у цитозолі ендотеліальних клітин викликає деполяризацію мембрани – своєрідний механізм для виключення активації ендотелію. Він пов'язаний зі зменшенням вмісту внутрішньоклітинного циклічного аденозинмонофосфату та яскраво проявляється при впливі сполук із вазоконстрикторним ефектом [67] внаслідок їх активуючої дії на β -адренорецептори ендотеліальних клітин.

Також вперше встановлено, що порушення електричної реактивності ендотеліальних клітин можуть лежати в основі розвитку ендотеліальної дисфункції. При старінні та гіпертензії показано суттєве зменшення “негативності” мембранного потенціалу спокою (в середньому з $-43,6 \pm 3$ до $-28,0 \text{ мВ} \pm 9 \text{ мВ}$), величин гіперполяризації мембрани при активації клітин, передчасну деполяризацію або повернення до вихідних значень, а також явищ кластеризації ендотеліальних клітин [61]. Усі ці зміни свідчать про погіршення умов достатнього надходження іонів кальцію в клітини та зменшення тим самим його активуючої дії на активність NO-синтаз.

Іншим можливим механізмом, що веде до зменшення синтезу NO і який вперше показаний у відділі фізіології кровообігу є надмірна активність аргінази, тобто альтернативного шляху споживання L-аргініну й нестача його для достатнього синтезу NO [39]. Така ситуація спостерігається у тварин зі спонтанною гіпертензією і може бути скорегована застосуванням інгібіторів аргінази [40].

Таким чином, дослідження останніх років розкрили важливі фундаментальні механізми впливу оксиду азоту на сер-

цево-судинну систему за умов норми і патології.

РОЛЬ СИСТЕМИ ОКСИДУ АЗОТУ В РЕФЛЕКТОРНІЙ РЕГУЛЯЦІЇ КРОВООБІГУ ТА ПАТОГЕНЕЗІ ГОСТРОГО ІНФАРКТУ МІОКАРДА

Незважаючи на численні дослідження, які свідчать про важливу роль системи оксиду азоту в регуляторних реакціях організму та розвитку патологічних процесів, значна кількість питань з цієї проблеми лишається недостатньо вивченою або має дуже суперечливий характер. Зокрема, це відноситься до питань щодо ролі оксиду азоту в реалізації рефлекторних вазомоторних реакцій і особливо рефлекторних реакцій при подразненні рецепторів серця, так званих кардіогенних рефлексів, а також участі оксиду азоту в патогенезі порушень кровообігу при гострому інфаркті міокарда.

Останнім часом з'явилося лише декілька робіт, в яких у загальних рисах окреслено зміни рефлекторних кардіогенних реакцій при модуляції активності системи оксиду азоту; крім того, дані різних авторів суперечливі [69, 94, 95]. У наших дослідженнях вивчався вплив модуляції продукції оксиду азоту на розвиток кардіогенних вазомоторних рефлексів. Ми розробили та використали моделі дослідів на собаках і щурах, в яких за умов експериментів, максимально наближених до фізіологічних (природні умови дихання та кровообігу в грудній порожнині та катеризація й аутоперфузія коронарних артерій лівої половини серця), та дозволяли відтворювати кардіогенні рефлекси введенням фармакологічних речовин (вератрин, катехоламіни, серотонін) внутрішньокоронарно та раптово зупиняти кровообіг у коронарній судині. Показано, що депресорні компоненти кардіогенних рефлексів (розширення коронарних і перифе-

ричних артерій, зниження артеріального тиску та брадикардія) після внутрішньокоронарного введення вератрину та адреналіну, а також при короткочасній ішемії міокарда значно зменшуються або навіть зникають після пригнічення продукції оксиду азоту, за допомогою системного інгібітора нітроксидсинтази (L-NNA 30 – 50 мг/кг). У той же час пресорні компоненти кардіогенних рефлексів: підвищення артеріального тиску та звуження периферичних стегнових судин значно підсилювалось як в рефлексах на вератрин, так і при локальній ішемії міокарда. Якщо дані деяких праць [95] свідчили про можливість участі системи оксиду азоту в реалізації рефлекторної коронарної вазодилатації при подразненні рецепторів серця вератрином – депресорний ваго-вагальний рефлекс, то участь системи NO в рефлекторному розширенні периферичних стегнових судин, що реалізується як вагосимпатичний кардіогенних рефлекс, нами показана вперше. Це ж відноситься і до пресорного компоненту кардіогенних рефлексів, останні дані знайшли підтвердження в дослідках американських учених лише в 2001 р. [94], тоді як наші результати були опубліковані в 1999, 2000 рр. [28, 83]. Наші оригінальні відомості про включення системи NO в реалізацію кардіогенних вагосимпатичних рефлексів, безумовно, свідчили про те, що модуляція цих рефлексів при участі NO можлива на рівні центральних нервових структур регуляції кровообігу [6]. Нами були отримані результати щодо існування видових відмінностей відносно участі NO в розвитку кардіогенних рефлексів. На відміну від їх значного пригнічення у великих тварин – собак, після системної блокади NOS, у щурів, як показано нами вперше, депресорні рефлекси на подразнення рецепторів серця вератрином не тільки не зменшуються, а іноді навіть збільшуються або не змінюються. Зменшення цих рефлексів

у щурів відбувається тільки при специфічній блокаді нейрональної NOS, тобто шляхи реалізації NO-залежних рефлексів з серця мають чітко виражені видові відмінності: у собак більше задіяні cNOS, а у щурів – nNOS [25, 31].

Видові відмінності простежені нами і у відношенні розташування NO-залежних нейронів в ядрах серцево-судинного центру довгастого мозку: у великих тварин – собак – таких НАДФ-нейронів значно більше, ніж у щурів. Ще однією особливістю відрізняються кардіогенні вазомоторні рефлекси. Якщо модуляція продукції NO інтенсивно впливає на величину рефлексів з серця, то синокаротидні барорефлекси, які виникають при змінах тиску в ізольованих каротидних синусах (досліди на собаках), або при перетисканні сонних артерій на шиї (досліди на собаках і щурах) практично не залежать від активності системи оксиду азоту в організмі. Зміни синокаротидних вазомоторних рефлексів досить невеликі після блокади NOS [25].

Отримані результати дозволяють дійти висновку, що найважливішу роль система оксиду азоту в рефлекторній регуляції кровообігу відіграє при реалізації вазомоторних рефлексів, опосередкованих блукаючими нервами і особливо в реалізації кардіогенних рефлексів. Дуже важливе значення цих рефлексів при компенсації порушень діяльності серця при гострій ішемії міокарда, коли термінова рефлекторна компенсаторна вазодилаторна реакція – розвантаження ураженого, як правило, лівого шлуночка серця відбувається практично цілком за рахунок NO-залежних реакцій.

Спеціальна велика серія досліджень проведена для визначення ролі системи NO в патогенезі пошкодження серця та порушень гемодинаміки, а також судинного тону при гострій ішемії – реперфузії та інфаркті міокарда. Як показали наші дос-

лідження, ця проблема особливо важлива для української популяції. Нами виявлено значні генетичні зрушення: поліморфізм гена головного ферменту – продуцента оксиду азоту – ендотеліальної нітрооксидсинтази саме серед хворих на ішемічну хворобу серця в Україні. Ці генетичні вади вочевидь перевищували аналогічні генетичні зміни в популяціях Італії, Японії та Великої Британії. Обґрунтуванням такого напрямку наших досліджень були також окрім літературних даних результати наших власних дослідів, які показали, що NO разом з іншими ендогенними біорегуляторами [27] може відігравати суттєву роль у регуляції скоротливої активності міокарда та гладеньком'язових клітин, а також транспорту кальцію в цих клітинах [4, 47]. Крім того нами було показано, що за певних умов оксид азоту та його похідні (пероксинітрид) можуть викликати патологічні зміни в діяльності серця, зокрема значні порушення ритму [93]. Для проведення досліджень з вивчення ролі системи оксиду азоту в патогенезі гострої ішемії та реперфузії міокарда був розроблений метод створення гострої ішемії та інфаркту міокарда введенням у магістральну гілку лівої коронарної артерії штучного ембола і реперфузії міокарда за допомогою видалення цього ембола у тварин без відкриття грудної порожнини.

Комплексні функціональні, біохімічні та морфологічні дослідження дозволили встановити, що, по-перше, ішемія (1,5 год) та реперфузія (3 год) призводять до утворення некротичної ділянки в міокарді розміром 11% від об'єму лівого шлуночка. В ішемізованій і прилеглий до неї ділянках міокарда активність NOS та кількість продуктів NO (за вмістом NO_2) зменшується в декілька разів щодо вмісту в неішемізованих ділянках того самого лівого шлуночка, тоді як активність іншого ферменту системи NO аргінази та її про-

дукту (сечовини) різко підвищується [24, 29]. Як показано в спеціальній серії досліджень зменшення активності системи NO при ішемії міокарда відбувається ймовірніше внаслідок інгібування конститутивних форм NOS (сNOS), у той час як індукцйбельна NOS навіть активувалась при ішемії, а експресія білка іNOS, яка визначалася за допомогою методу Вестерн-блоттингу, збільшувалася [5]. Істотне зниження активності системи NOS при ішемії – реперфузії та інфаркті міокарда, а також дані дослідів з системною блокадою продукції NO за допомогою системного інгібітора NOS – L-NNA, які свідчили про значний негативний ефект такої блокади (коронарноконстрикція, підвищення загального периферичного судинного опору, значне зменшення хвилинного викиду серця та різке збільшення порушень серцевого ритму) [26] спонукали нас до проведення досліджень з активацією продукції NO під час розвитку ішемії міокарда.

Ці дослідження проводились у двох напрямках. По-перше, підвищення постачання організму субстратом для утворення NO – L-аргініном. У цих дослідях було встановлено позитивний вплив L-аргініну на перебіг гострої ішемії – реперфузії міокарда і відсутність констрикторних реакцій коронарних і периферичних судин, різке зменшення аритмій [26], більш як в два рази зменшення некротичного ураження міокарда.

Другим підходом до корекції змін у системі оксиду азоту при інфаркті міокарда була розробка нового препарату – першого в світі розчинного інгібітора оксидазних ферментів (зокрема ліпоксигенази) та антиоксиданта – корвітину [26, 27]. Як виявилось цей препарат виявляє інтенсивну коригуючу дію щодо змін у системі NO. Він підвищував активність NOS і вміст NO_2 в ураженому міокарді та зменшував активність аргінази. Разом з цим спостерігалось зменшення некротичної ді-

лянки міокарда більш як удвічі. Препарат пройшов доклінічні та клінічні випробування [32]. Таким чином, отримані результати дозволяють дійти висновку про суттєву роль системи NO в розвитку інфаркту міокарда. Ця роль вочевидь значною мірою зводиться до коригування порушень судинного тонуусу як в коронарному, так і в периферичному судинному руслі.

NO-ЗАЛЕЖНИЙ МЕХАНІЗМ РЕГУЛЯЦІЇ СУДИННОЇ РЕАКТИВНОСТІ ЗА УМОВ ДИСФУНКЦІЇ ЕНДОТЕЛІЮ

При різних патологічних станах (артеріальна гіпертензія, атеросклероз, ішемія, реперфузійні пошкодження, радіаційний вплив тощо) і в процесі старіння дисфункція ендотелію значною мірою пов'язана з абсолютним або відносним дефіцитом ендотеліального оксиду азоту (NO), який може бути зумовлений зниженням синтезу NO ендотеліальною NO-синтазою (eNOS), нестачею субстратів чи коферментів для синтезу NO, інактивацією NO вільними радикалами, синтезом ендогенних інгібіторів NO-синтаз, прискореним апоптозом і порушенням електричних реакцій ендотеліальних клітин. Усе це послаблює дію NO на гладенькі м'язи судин, а також призводить до змін співвідношення NO та ендотеліальних вазоконстрикторних факторів [22, 54, 55, 58, 60, 61].

Показано, що при тривалій експериментальній гіперхолестеринемії, хронічному дефіциті мезостріатного дофаміну, які характерні для старіючого організму, а також у процесі фізіологічного старіння порушуються міогенні механізми, що забезпечують зміну скорочувальної активності та жорсткості судинних гладеньких м'язів при збільшенні їх довжини та ендотеліозалежні вазодилаторні реакції [34, 35, 53, 59]. Залежність довжина – сила гладеньких м'язів – це здатність м'язів будь-

якого типу при розтягуванні збільшувати скоротливе напруження без додаткової активації процесів, які пов'язані зі збудженням і скороченням. І.М. Сеченов визначив цю здатність як “дорогоцінну властивість м'язів”. Зі збільшенням довжини гладеньких м'язів, сила скорочень, яку вони здатні розвивати, збільшується до максимуму при оптимальній довжині, а після перерозтягування гладеньких м'язів ця сила зменшується.

За умов гіперхолестеринемії зменшення скорочувальних реакцій гладеньких м'язів судин зумовлено пошкодженням ендотелію. Це підтверджує електронно-мікроскопічне дослідження різних типів судин [56, 57]. Причому в аорті (еластичний тип судин) зміни у внутрішній оболонці були більш виразні, ніж у ворітній вені (ємнісний тип). Скорочувальні реакції судинних гладеньких м'язів зменшувалися і в дослідах, де пригнічується синтетична активність ендотелію за допомогою інгібітора NO-синтази метилового ефіру N^o-нітро-L-аргініну (L-NAME). Водночас у тварин, які одночасно з атерогенною дієтою отримували L-аргінін, відзначався більший приріст амплітуди фазних скорочень судинних препаратів при тій самій силі дозованого розтягування, ніж у тварин атерогенної групи. Введення тваринам попередника біосинтезу NO L-аргініну на фоні гіперхолестеринемії призводить до активації функціональної діяльності ендотелію аорти, ворітної вени і кровоносних мікросудин міокарда [56, 57]. Свідченням цього є підвищення кількості структур, які синтезують білок (рибосом, полісом, каналців шорсткої ендоплазматичної сітки), секреторних гранул у цих тварин порівняно з кролями, що знаходилися тільки на атерогенній дієті. Відмічається також істотно менше пошкодження ендотеліального шару судин.

У процесі старіння і при хронічному дефіциті мезостріатного дофаміну пригнічу-

ються скорочувальні реакції та збільшується жорсткість судинних гладеньких м'язів. Показано, що пригнічення системи NO у молодих тварин призводить до змін судинної реактивності, які характерні і для судинних гладеньком'язових препаратів за умов фізіологічного старіння [35, 59, 61]. Визначено, що з віком істотно змінюється вміст активних форм кисню (супероксидний радикал, пероксид водню, гідроксильний радикал) та азоту (нітрит- та нітрат-аніони) у міокарді, аорті, плазмі крові й еритроцитах щурів, а також стан плазматичної мембрани еритроцитів [61]. Нітрит-аніон утворюється при окисненні NO в оксигенованих водних розчинах і є стабільним окисненим метаболітом NO. У міокарді старих щурів, а також в аорті та плазмі крові вміст NO_2^- достовірно знижувався. Нітрат-аніон утворюється в клітинах неферментативно при розпаді пероксинітриту, а також ферментативно при окисненні NO оксимиоглобіном, ксантиноксидазою та іншими ферментами. NO_3^- є кінцевою формою обміну NO в організмі. Слід відзначити, що у старих тварин вміст NO_3^- достовірно знижуються в міокарді, аорті, плазмі крові та в еритроцитах. Стимуляція синтетичної діяльності ендотелію за умов експериментальної гіперхолестеринемії, хронічного дефіциту мезостріатного дофаміну за допомогою L-аргініну, який є попередником біосинтезу NO, свідчить про недостатність системи NO, а також можливість його використання для корекції функціональних порушень ендотелію та судинних реакцій [34, 53, 55, 56, 57].

цГМФ-НЕЗАЛЕЖНІ МЕХАНІЗМИ ДІЇ ОКСИДУ АЗОТУ НА КАЛЬЦІЄВИЙ ГОМЕОСТАЗ І ЧУТЛИВІСТЬ МІОФІБРИЛ ГЛАДЕНЬКОМ'ЯЗОВИХ КЛІТИН ДО ІОНІВ КАЛЬЦІЮ

Відповідно до класичних уявлень, розслаблення гладеньких м'язів під впливом NO і його донорів реалізується за допо-

могою активації розчинної гуанілатциклази з наступним підвищенням вмісту внутрішньоклітинного цГМФ, що, у свою чергу, запускає процес релаксації через зниження внутрішньоклітинної концентрації кальцію [30, 80]. Водночас хімічні властивості оксиду азоту, зокрема його здатність до нітрозилування білків (у т.ч. білків іонних каналів, ферментів тощо), дозволяє припустити можливість існування цГМФ-незалежного, так званого прямого впливу NO на гладеньком'язову клітину [44]. Тим паче, що у фізіології кровообігу, все більше визнання одержує гіпотеза про те, що тонус кровоносних судин і сила скорочень серцевого м'яза залежить не тільки від концентрації іонів кальцію в міоплазмі, але й значною мірою може визначатися ступенем спорідненості скорочувальних білків до кальцію [7, 52].

Припущення про те, що NO здатний розслаблювати гладенькі м'язи за допомогою механізму, не пов'язаного зі зниженням внутрішньоклітинної концентрації кальцію, підтверджується тим фактом, що за умов *in vitro* він розслаблює так звані скіновані м'язи, тобто м'язи, плазматична мембрана клітин яких за допомогою спеціальної обробки детергентом чи стафілококовим α -токсиком зроблена надпроникною. У цих скорочувальних моделях для усунення дифузійного бар'єра у вигляді плазматичної мембрани, скорочувальний апарат стає легко доступним для будь-яких змін у зовнішньому розчині. При цьому концентрація внутрішньоклітинного кальцію фіксується (кальцієвий клемп) на постійному рівні за допомогою кальцієвого хелатора EGTA. Отже, всяка зміна тонічної напруги гладеньких м'язів за цих умов має трактуватися як залежна тільки від зміни ступеня спорідненості скорочувального апарату до іонів кальцію, але не від його концентрації.

Найбільш переконливі докази існування такого механізму отримано при синх-

ронній реєстрації скорочувальної функції гладеньких м'язів і вимірі внутрішньоклітинної концентрації кальцію флюоресцентним методом за допомогою кальцієвого індикатора Fura-2 AM [18, 49]. Найбільше (порівняно з донорами NO) ця властивість властива аутентичному оксиду азоту. При його додаванні до буферного розчину в концентрації 10^{-6} – 10^{-5} моль/л реєструється лише транзиторне зниження внутрішньоклітинної концентрації кальцію, у той час як рівень тонічної напруги гладеньких м'язів тривало і довгочасно знижується [80].

Нами було показано, що аутентичний NO і деякі прямі донори NO (SIN-1, нітропрусид натрію) мають здатність розслаблювати гладенькі м'язи судин за допомогою механізмів, не пов'язаних з нагромадженням цГМФ. Дослідження цього явища показало, що нагромадження останнього не задіяне в цьому процесі, оскільки блокатори розчинної гуанілатциклази (ODQ, LY 83583) не перешкождали розвитку релаксуючого ефекту аутентичного NO, водночас вони в тих же концентраціях (10^{-5} моль/л) цілком блокували дію непрямого донора NO, нітрогліцерину [80]. Дитіотреїтол і етилмалеїмід (5 ммоль/л), перешкождали NO-опосередкованому нітрозилюванню білків, вірогідно знижували амплітуду розслаблення гладеньких м'язів у відповідь на вплив NO.

Встановлено, що NO, крім класичного механізму релаксації гладеньких м'язів, пов'язаного з активацією розчинної гуанілатциклази, нагромадженням внутрішньоклітинного цГМФ і зниженням концентрації кальцію в міоплазмі, може розслабляти гладенькі м'язи внаслідок прямого впливу на скорочувальний апарат гладеньком'язових клітин і зниження спорідненості їхнього скорочувального апарату до іонів кальцію.

Механізм цього прямого впливу (крім можливого залучення до нього процесу

нітрозилювання поки ще не ідентифікованих внутрішньоклітинних білків) може бути пов'язаний з активацією внутрішньоклітинних фосфатаз. Нами було показано в експериментах на гладеньких м'язах судин скінованих α -токсидом або β -есцином, що циклічний гептапептид, мікроцистин, відомий як блокатор фосфатаз типу 1 і 2A, викликає стійке скорочення, рівень якого не змінюється під впливом аутентичного NO.

Слід відзначити, що $ONNO^-$, на відміну від NO, не здатний викликати розслаблення скінованих гладеньких м'язів. Навпаки, він призводить до розвитку транзиторного скорочення, тобто активує скорочувальний апарат гладеньком'язових клітин. Водночас $ONNO^-$ має чітко виражені дилататорні ефекти на інтактні гладенькі м'язи, тобто на гладеньком'язові клітини з функціонально дієздатною сарколемою. Однак при повторному його застосуванні він призводить до розвитку стійкої необоротної релаксації, у результаті якої гладенькі м'язи втрачають здатність реагувати на типові вазодилатори.

Деструктивний ефект $ONNO^-$ виявлений і в досвідах на серцевому м'язі за умов як *in vitro* і *in vivo*, так і *in situ*. Експерименти на ізольованих папілярних м'язах, ізольованому серці, а також на наркотизованих тваринах показали, що екзогенний $ONNO^-$ спричиняє появу виражених аритмій [93]. Детальний аналіз аритмогенної активності $ONNO^-$ показав, що вона пов'язана з ушкодженням фосфоліпідного оточення натрієвих і калієвих каналів сарколеми кардіоміоцитів. Таким чином, підтверджується точка зору, що $ONNO^-$ є першопричиною розвитку серцевих аритмій у реперфузійному періоді. Цікаво, що фосфатидилхолінові ліпосоми (ФХЛ), які містять антиоксидант кверцетин, здатні запобігати або мінімізувати аритмогенний ефект $ONNO^-$, підтверджуючи тим самим, що в основі його лежить активація в міо-

кардіоцитах вільнорадикальних процесів і перекисного окиснення ліпідів.

Можна зробити такий висновок: якщо NO є медіатором, що забезпечує регуляцію життєвих функцій за умов фізіологічної норми, то ONNO[•] відповідальний за розвиток патологічних змін, насамперед у тих випадках, коли спостерігається спільна гіперпродукція NO і супероксид-аніона.

ФАРМАКОЛОГІЧНА КОРЕКЦІЯ ПОРУШЕНЬ МЕТАБОЛІЗМУ ОКСИДУ АЗОТУ ТА СПОЛУЧЕНОЇ З НИМ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ

Однієї з актуальніших проблем сучасної медицини і фармакології є розробка лікарських засобів, які здатні ефективно захищати тканини організму від пошкоджувальної дії кисневих радикалів, значення яких у розвитку цілої низки патологічних процесів добре відоме. У зв'язку з з'ясуванням в останні роки ролі ендотелію та продукованого ним оксиду азоту як одного з основних ендогенних регуляторів міжклітинних комунікацій у системі кровообігу, з'явилися численні дані і про його участь у розвитку деяких патологічних процесів. Паралельно з відкриттям все нових клітинних функцій, регульованих NO, збільшується і список відомих захворювань, пов'язаних з порушенням синтезу і/або виділенням NO: есенційна ішемічна хвороба серця й інфаркт міокарда, бронхіальна астма, первинна легенева гіпертензія, невротична депресія, імпотенція, діабет – усе це далеко не повний перелік патологічних процесів тією чи іншою мірою пов'язаних зі змінами в метаболізмі NO [21, 23, 45]. Характерною рисою й основною ланкою патогенезу багатьох (якщо не всіх) з перерахованих вище захворювань є ендотеліальна дисфункція, активація вільнорадикальних процесів у тканинах і тісно пов'язаних з ними процесів перекисного окиснення ліпідів [22].

Таким чином, перед фармакологами постає нагальна потреба розробки теоретичної бази для створення нового класу лікарських препаратів, які разом з ендотеліотропним ефектом, мали б при цьому ще й антиоксидантними властивості.

Відносно недавно, вивчаючи зміни іонної проникності і скоротності гладеньких м'язів при гіпоксії [88], ми спробували відновити енергетичний статус і скоротність гладеньком'язових клітин судин за умов дефіциту кисню, використавши з цією метою ФХЛ, що містять креатинфосфат. Спроба виявилась успішною. Але ще більш дивовижними виявилися результати контрольних дослідів, у яких тестувалися так звані «порожні», тобто такі, які мають тільки фізіологічний розчин ФХЛ. Їх антигіпоксичний ефект був трохи менше вираженим, ніж у ФХЛ, які містять макроерг. Провівши скринінгові дослідження, ми виявили, що цей ефект найбільше властивий ліпосомам з фосфатидилхоліну, меншою мірою – ліпосомам із сфінгомеліну та практично відсутній у ліпосомах з кардіоліпіну і фосфатидилсерину.

Добре відомо, що при генетично детермінованій гіпертензії ендотеліязалежні судинні реакції виявляються пригніченими. Однак клітинні механізми цього явища довгий час залишалися невідомими. Використовуючи методи прямого виміру вмісту NO у перфузаті і метод *bioassay*, ми показали [89], що синтез і виділення оксиду ендотеліальними клітинами судин щурів з генетично детермінованою гіпертензією не знижуються. Водночас у них виявлено грубе порушення кореляції між показниками ввільнення NO, стимульованого введенням ацетилхоліну, і мірою розслаблення гладеньких м'язів. При цьому чутливість гладеньких м'язів судин щурів з гіпертензією до аутогенного NO виявилася зниженою.

Зважаючи на високу активність протеїнкінази C у тканинах судинної стінки

щурів з генетично детермінованою гіпертензією [52, 89], ми спробували використувати деякі блокатори цього ферменту (стауроспориї, челеретрин) для корекції ендотеліальної дисфункції при гіпертензії. Встановлено, що у щурів з гіпертензією блокатори протеїнкінази ефективно відновлювали до нормальних значень порушену кореляцію між кількістю синтезованого NO і ступенем розслаблення гладеньких м'язів, а також амплітуду ендотеліозалежного розслаблення.

Аналогічний, хоча і трохи менше виражений ефект виявлено при додаванні до буферного розчину ФХЛ у концентрації від 40 до 100 мкг/мл.

Таким чином, отримані дані дозволять дійти висновку, що пригнічення ендотеліозалежних судинних реакцій при генетично детермінованій гіпертензії можна пояснити зниженням чутливості гладеньких м'язів до NO внаслідок високої активності протеїнкінази С у судинній стінці, а ФХЛ мають здатність якимось чином нормалізувати активність протеїнкінази С і, тим самим, усувати наявну ендотеліальну дисфункцію.

Тривалий час вважався, що основним активатором протеїнкінази С є діацилгліцерол, джерелом якого в клітині є фосфатиділінозитодифосфат. У 1988 р. було продемонстровано можливість синтезу діацилгліцеролу з фосфатидилхоліну [70]. Пізніше було показано, що вміст фосфатидилхоліну в плазматичній мембрані гладеньком'язових клітин аорти щурів з генетично детермінованою гіпертензією знижується, а вміст лізофосфатидилхоліну збільшується [72]. Ці дані можуть бути теоретичним обґрунтуванням здатності ФХЛ впливати на активність протеїнкінази С у тканинах судин щурів з генетично детермінованою гіпертензією.

Недавно нами були отримані дані про те, що ФХЛ мають здатність нормалізувати ендотеліозалежні судинні реакції сегментів грудної аорти, отриманих від кро-

ликів, які зазнали впливу іонізуючої радіації в дозі до 6 Гр [92]. Подібний ефект було продемонстровано і для α -токоферолу [91]. Останні дослідження довели, що ліпосомальна форма α -токоферолу може бути також з успіхом використана для корекції гіпоксичного ушкодження легень [82].

Таким чином, відновлення патологічно порушених ендотеліозалежних судинних реакцій при дії ФХЛ може бути пов'язане з їх здатністю: 1) нормалізувати/відновлювати фосфоліпідний профіль патологічно змінених клітинних мембран і, тим самим, структуру ендотеліального моношару; 2) знижувати активність вільнорадикальних процесів у тканинах і відновлювати нормальні умови для метаболізму NO і його дифузії в судинній стінці.

РОЛЬ ВІКОВИХ ЗМІН ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ФУНКЦІЇ У РОЗВИТКУ СЕРЦЕВО-СУДИННОЇ ПАТОЛОГІЇ

Ендотелій – важливе джерело сполук, що визначають місцеву регуляцію судинного тону. Вікові зміни ендотеліального шару судинної стінки багато у чому визначають розвиток атеросклерозу та пов'язаних з ним патологічних станів – артеріальної гіпертензії, ішемічної хвороби серця, мозку тощо. Характер і спрямованість судинних реакцій значною мірою залежать від функціонального стану ендотелію. Дія багатьох фізіологічно активних речовин на судинну стінку опосередкована ендотелієм і здійснюється за участю ендотеліальних факторів, у тому числі NO. Серед багатьох етіопатогенетичних факторів розвитку та клінічної маніфестації атеросклерозу провідне місце відводиться порушенням взаємозв'язку рівня і співвідношення ліпопротеїнів крові (дисліпопротеїнемії) та змінами судинного тону.

Відомо, що порушення балансу між атерогенними та антиатерогенними ліпопро-

теїнами призводить до значних змін судинної стінки. Адекватна регуляція тону-су судин, у свою чергу, визначається співвідношенням констрикторних і дилаторних ендотелійзалежних факторів. Серед останніх провідне місце, згідно з сучасними уявленнями, відводиться ендотелінам та оксиду азоту [17, 22, 23, 55]. Механізм дії NO пов'язаний з активацією гуанілатциклази і збільшенням рівня цГМФ у гладеньком'язових клітинах судин, а також впливом на систему регуляції кальцію.

Нами було показано, що в процесі старіння, з одного боку, збільшується частота дисліпопротеїнемій, а з іншого, знижуються вазодилаторні та збільшуються вазоконстрикторні ендотелійзалежні впливи на судини [64, 74]. У наших дослідженнях розвиток експериментального атеросклерозу супроводжувався закономірними змінами вмісту ліпопротеїнів (ЛП), ендотеліну-1 та NO крові, виразність і спрямованість яких мають вікові відмінності. У дорослих тварин збільшення вмісту ЛП крові викликає підвищення вмісту ендотеліну-1 та зниження NO. Отже, спостерігається збільшення вмісту вазоконстрикторних і зниження вазодилаторних ендотелійзалежних факторів регуляції судинного тону-су [65].

Ендотеліальна дисфункція є інтегральною частиною атеросклеротичного процесу, який лежить в основі розвитку серцево-судинних захворювань. Дія гіпотензивних засобів, які широко застосовуються у клінічній практиці – нітрово-дилаторів, – пов'язана з вивільненням NO. Важливим є встановлення участі та співвідношення ендотелійзалежних та ендотелійнезалежних механізмів у змінах реактивності судинної стінки та реалізації вазоактивних ефектів лікарських засобів при старінні.

Нами було показано вплив на ізольовані сегменти грудної аорти дорослих і старих щурів ендотелійзалежних (ацетил-

холін) та ендотелійнезалежних (розчин NO та донори NO – натрію нітропрусид, нітрогліцерин) релаксантів [62, 73].

Нітрогліцерин та його пролонговані форми є найбільш поширеними препаратами для лікування серцево-судинних захворювань. Вазодилаторна дія нітрогліцерину зумовлена його здатністю утворювати NO у процесі метаболізму. Нітропрусид натрію є прямим донором NO і здатний відщеплювати його безпосередньо у розчині. Крім того, нами було застосовано також аутотентичний розчин NO. Встановлено, що при дії нітропрусиду натрію, нітрогліцерину та розчину NO на ізольовані сегменти грудної аорти вазодилаторна реакція не відрізняється у дорослих і старих тварин. Отже, механізм розслаблення судинних гладеньких м'язів, який реалізується через цГМФ і систему регуляції кальцію, у старому віці істотно не порушується.

Вазодилаторна реакція на ацетилхолін здійснюється за участю ендотелію через виділення NO. Нами встановлено, що реакція ізольованих сегментів грудної аорти на ацетилхолін достовірно зменшується у старих щурів порівняно з дорослими [62, 63]. Більше того, у частини старих щурів ацетилхолін замість розслаблення викликає протилежну реакцію – скорочення судинних препаратів. Скорочення ізольованих сегментів грудної аорти дорослих і старих щурів спостерігалось також після видалення ендотеліального шару. Застосування попередника синтезу NO L-аргініну відновлювало вазодилаторну реакцію на ацетилхолін у старих щурів. Таким чином, зменшення вазодилаторної реакції на ацетилхолін у старих щурів зумовлене пошкодженням ендотелію та порушенням синтезу та/або виділення NO.

Інсулін здійснює виразний ефект на метаболізм та функцію судинної стінки. Результати наших досліджень свідчать, що

у старих шурів зменшується вазодилататорна дія інсуліну [75]. Зазвичай того пов'язують з гіперполяризацією гладеньком'язових клітин судин. Цей механізм дії інсуліну на судинну стінку не залежить від наявності ендотелію, а зменшення вазодилататорної реакції у старих шурів пояснюється зменшенням реакційної здатності гладеньком'язових клітин при старінні.

Нами вперше встановлено, що при дії інсуліну на інтактні судинні препарати розвивається протилежна реакція – скорочення, яке було достовірно більше у старих шурів [73]. Інсулін здатний викликати виділення ендотелієм констрикторного фактора – ендотеліну. Отже, вазоконстрикторна реакція на інсулін є ендотелійзалежною. Важливим є те, що при старінні зменшується внесок у формування судинного тону ендотелійнезалежної вазодилататорної дії інсуліну, а чутливість судинної стінки до ендотелійзалежних констрикторних факторів збільшується. Водночас при дії ацетилхоліну спостерігається зменшення синтезу ендотелійзалежного релаксуючого фактора NO. Це призводить до того, що існуюча між ендотеліальними факторами різного знаку дії динамічна рівновага з віком порушується. Весь комплекс цих змін пояснює можливість виникнення у старому віці неадекватних реакцій серцево-судинної системи, що сприяє розвитку порушень гемодинаміки та вікової серцево-судинної патології.

Одержані нами експериментальні дані свідчать про те, що зміни судинної реактивності при старінні багато у чому пов'язані з порушенням синтезу ендотелійзалежних регуляторних факторів. Тому для лікування та попередження розвитку вікової серцево-судинної патології перспективним є пошук і створення засобів корекції ендотеліальної дисфункції у старому віці.

ЕНДОТЕЛІАЛЬНА ДИСФУНКЦІЯ ПРИ СТАРІННІ ТА ЇЇ РОЛЬ У РОЗВИТКУ СЕРЦЕВО-СУДИННОЇ ПАТОЛОГІЇ (КЛІНІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ)

Виконані клініко-фізіологічні дослідження свідчать про те, що вже при фізіологічному старінні внаслідок морфофункціональних змін ендотелію, змін у нейрогуморальній регуляції розвивається ендотеліальна дисфункція [14, 19, 21, 22, 43].

Показано, що з віком порушуються ендотелійзалежні судинні реакції: зменшується ендотелійзалежна вазодилатація та збільшується чутливість і вираженість відповіді при дії гуморальних вазоконстрикторів [15, 19, 43]. Встановлено, що така особливість судинних реакцій при старінні значною мірою зумовлена залежним від віку порушенням гормоносинтетичної функції ендотелію. Підтвердженням цього є виявлене в старшій віковій групі зниження вмісту NO і простагліцину при одночасному збільшенні вмісту ендотеліну-1 і тромбоксану A₂ [12].

Показано, що порушення функції ендотелію при старінні зумовлене морфологічними (структурними) і функціональними змінами ендотеліальних клітин, порушенням енергетичного обміну та репаративних процесів у них. Це підтверджується результатами вивчення ультраструктури ендотеліоцитів [43].

Як відомо, цілісний, непошкоджений ендотелій разом з судиноруховою функцією забезпечує тромборезистентні властивості судинної стінки, у зв'язку з чим має антиадгезивні, антиагрегантні, антикоагулянтні та фібринолітичні властивості. Водночас нами було встановлено, що зміни функціонального стану ендотелію, зумовлені процесом старіння, викликають порушення цих функцій. Так, при вивченні антитромботичної активності ендотелію у здорових людей різного віку

виявлено, що динаміка рівня спонтанної та індукованої агрегації тромбоцитів і вмісту стабільного метаболіту оксиду азоту, які дозволяють говорити про антиагрегантну активність ендотеліоцитів, після проведення судинного оклюзивного тесту у молодих і літніх людей, різні. Якщо у молодих здорових людей рівень спонтанної та індукованої агрегації знизився, а вміст NO_2^- імовірно збільшився, то в групі літніх здорових людей агрегаційна активність тромбоцитів після перетиснення підвищилась, а вміст NO_2^- практично не змінився. Ці дані свідчать про порушення антиагрегаційної функції ендотелію в старшій віковій групі. Не менш важливим показником зниженої антитромботичної активності ендотелію було достовірне збільшення вмісту фактора Віллебранда після проведення манжеточної (оклюзивної) проби у здорових літніх людей. При старінні відмічено також зниження антикоагуляційної активності стінки судин. Недостатність компенсаторних механізмів ендотелію у літніх людей особливо чітко проявляється при проведенні оклюзивної проби, жирового навантаження, психоемоційного тесту [15, 43].

Також встановлено, що проявом порушення захисної функції ендотелію у літніх людей є зниження його протизапальної активності. Про це свідчить зменшення вмісту протизапальних цитокінів (інтерлейкін 4) і збільшення вмісту туморнекротичного фактора та адгезивних молекул, що відображають ступінь взаємодії з лейкоцитами і тромбоцитами [15]. Виявлений взаємозв'язок вираженості ендотеліальної дисфункції та порушенням реологічних властивостей крові, стану мікроциркуляції, розвитку циркуляторної гіпоксії [14, 15].

Враховуючи визначальну роль ендотеліальної дисфункції у розвитку судинної патології, нами було також проведено вивчення функціонального стану ен-

дотелію у літніх людей з метаболічним синдромом Х, ішемічною хворобою серця, гіпертонічною хворобою [9, 10, 11, 13, 19, 20]. Виявлені порушення функціонального стану ендотелію (зниження антиадгезивної, антиагрегантної, антикоагуляційної та фібринолітичної функцій) при вказаних патологіях, встановлений взаємозв'язок функції ендотелію та вираженості ішемії міокарда, рівня артеріального тиску, розвитку гіпоксії, наявності супутніх факторів ризику раптової смерті. Встановлений зв'язок між станом ліпідного складу крові і розвитком дисфункції ендотелію (дисліпопротеїдемія призводить до зниження ендотеліальної функції).

Розроблені напрямки корекції ендотеліальної дисфункції у осіб похилого віку залежно від механізму пошкодження ендотелію та особливостей перебігу основного захворювання [8, 16, 19].

A.A. Moibenko, V.F. Sagach, M.N. Tkachenko, O.V. Korkushko, V.V. Bezrukov, O.K. Kulchitsky, A.V. Stefanov, A.I. Soloviev, L.T. Malaya, V.V. Frolkis

STUDY INTO BASIC MECHANISMS OF THE EFFECTS OF NITRIC OXIDE ON CARDIOVASCULAR SYSTEM AS A BASIS FOR PATHOGENETIC TREATMENT OF RELATED DISEASES

General characteristics and mechanisms of effects of nitric oxide (NO) and its role in the development of pathology are reviewed. Presented are the data about NO participation in the regulation of circulation and cardiovascular system; NO-dependent mechanism of regulation of cardiovascular reactivity against the background of dysfunction of endothelium; cGMP-independent mechanism of NO effect upon Ca homeostasis and the sensitivity of myofibrils of smooth muscle cells to Ca ions; pharmacological correction of disturbances of NO metabolism and related endothelial dysfunction; role of age changes of the endothelial function in the development of cardiovascular pathology.

*A.A. Bogomolets Institute of Physiology National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev
Institute of Gerontology Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kiev
Institute of Therapy Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kharkov
Institute of Pharmacology and Toxicology Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kiev*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андрухов О.Я., Сагач В.Ф. Механізм впливу оксиду азоту на чутливість скорочувального апарату гладеньких м'язів до Ca^{2+} // Фізіол. журн. – 2001. – **47**, № 5. – С. 41 – 46.
2. Бондаренко А.И., Сагач В.Ф. Кофеининдуцированные электрические ответы клеток интактного эндотелия // Нейрофизиология. – 1997. – **29**, № 3. – С. 198 – 204.
3. Бондаренко А.И., Сагач В.Ф. Модуляция мембранного потенциала эндотелиальных клеток аорты морской свинки при внутриклеточной алкализации // Там же. – 1998. – **30**, № 2. – С. 121 – 128.
4. Гарматина О.Ю., Азаров В.І., Мойбенко О.О. Вплив донора оксиду азоту SIN-1 на кальційтранспортну функцію саркоплазматичного ретикулула серця щура // Фізіол. журн. – 2001. – **47**, № 6. – С. 10 – 14.
5. Гарматина О.Ю., Портниченко А.Г., Мойбенко О.О. та ін. Експресія іNOS та активність іNOS та сNOS у лівому та правому шлуночках при ішемії – реперфузії ізольованого серця щурів // Там само. – 2003. – **49**, № 1. – С. 13 – 17.
6. Дужий Д.Е., Даценко В.В., Майский В.А., Пилявский А.И., Костоков А.И., Мойбенко А.А. Распределение NOS-содержащих нейронов в различных областях солитарного комплекса нормо- и гипертензивных крыс // Нейрофизиология. – 2001. – **33**, № 4. – С. 265 – 271.
7. Кізуб І.В., Павлова О.О., Сагач В.Ф., Соловйов А.І. Сучасні уявлення про механізми впливу гіпоксії на тонус кровоносних судин // Фізіол. журн. – 2002. – **48**, № 1. – С. 112 – 122.
8. Коркушко О.В., Саркисов К.Г., Лишневская В.Ю., Дужак Г.В. Влияние тиклопидина (тиклида) на микроциркуляцию и гемореологию у пациентов пожилого возраста с ишемической болезнью сердца // Укр. мед. часопис. – 1999. – № 6 (**14**). – С. 68 – 71.
9. Коркушко О.В., Саркисов К.Г., Забияка Л.К., Лишневская В.Ю. Влияние амлодипина на параметры центральной и периферической гемодинамики при гипертонической болезни у пациентов пожилого возраста // Укр. кардіол. журн. – 2001. – № 6. – С. 43 – 48.
10. Коркушко О.В., Забияка Л.К., Саркисов К.Г., Лишневская В.Ю. Состояние тканевого кислородного обмена у пациентов пожилого возраста с гипертонической болезнью // Укр. терап. журн. – 2001. – № 4. – С. 22 – 24.
11. Коркушко О.В., Орлов П.О., Лішневська В.Ю. Метаболічний синдром Х та вік // Експерим. та клін. фізіологія та біохімія. – 2001. – № 1. – С. 120 – 122.
12. Коркушко О.В., Лишневская В.Ю., Дужак Г.В. и др. Дисфункция эндотелия – фактор риска развития артериальной гипертензии у пожилых людей // Проблемы старения и долголетия. – 2002. – **11**, № 3. – С. 310 – 311.
13. Коркушко О.В., Лишневская В.Ю. Омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты в терапии больных ИБС пожилого возраста // Укр. кардіол. журн. – 2002. – **3**. – С. 34 – 40.
14. Коркушко О.В., Лишневская В.Ю. Значение изменения отдельных показателей внутрисосудистого гомеостаза в развитии циркуляторной гипоксии при старении // Успехи геронтологии. – 2002. – № 9. – С. 73 – 78.
15. Коркушко О.В., Саркисов К.Г., Лишневская В.Ю. Роль возрастных изменений сердечно-сосудистой системы в развитии гипоксии // Проблемы старения и долголетия. – 2002. – **11**, № 1. – С. 87 – 96.
16. Коркушко О.В., Лишневская В.Ю. Аклотин в лечении пациентов пожилого возраста со стабильным течением ИБС // Укр. мед. часопис. – 2002. – № 3. – С. 98 – 100.
17. Кульчицкий О.К. Эндотелиальная функция и процесс старения // Диагностика та лікування. – 2002. – № 4. – С. 6 – 9.
18. Легенький В.В., Зеленский В.Н., Стефанов А.В., Соловьев А.И. Влияние оксида азота на сократительную активность и содержание внутриклеточного кальция в гладких мышцах хвостовой артерии крысы. Функциональная роль монооксида азота и пуринов: Сб. статей участников конференции. Минск, 13 – 14 сентября 2001 г. – Минск: Бизнесофсет, 2001. – С. 87 – 89.
19. Лишневская В. Ю., Коркушко О. В., Саркисов К. Г., Дужак Г. В. Роль функционального состояния эндотелия и тромбоцитов в патогенезе ишемии миокарда у пациентов пожилого возраста с ишемической болезнью сердца // Укр. кардіол. журн. – 2001. – № 2. – С. 37 – 40.
20. Лішневська В.Ю., Коркушко О.В. Активация вільнорадикального окислення в умовах лікування нітропрепаратами хворих літнього віку з ішемічною хворобою серця // Експерим. та клінічна фізіологія та біохімія. – 2001. – № 1. – С. 67 – 70.
21. Малая Л.Т., Корж А.Н. Эндотелийзависимые механизмы в обосновании комбинированной терапии стенокардии ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента и нитратами // Журн. АМН України. – 1998. – **4**, № 4. – С. 621 – 629.
22. Малая Л.Т., Корж А.Н., Балковая Л.Б. Эндотелиальная дисфункция при патологии сердечно-сосудистой системы. – Харьков: Торсинг, 2000. – 428 с.
23. Малая Л.Т., Балковая Л.Б., Корж А.Н. Роль эндотелина-1 в патогенезе ИБС и хронической недостаточности кровообращения: специфика фармакотерапии (обзор литературы и собственных исследований) // Журн. АМН України. – 2000. – **6**, № 1. – С. 39 – 53.
24. Мойбенко А.А., Коцюруба А.В., Марченко Г.И. и др. О роли оксида азота в патогенезе острой ишемии миокарда – В кн.: Роль монооксида азота в

- процесах жизнедеятельности. – Минск, 1998. – С.133–135.
25. Мойбенко А.А., Павлюченко В.Б., Даценко В.В. Роль оксида азота в регуляторной саморегуляции кровообращения // *Достижения биологии та медицини.* – 2003. – 1, № 1. – С. 72–79.
 26. Мойбенко А.А., Юзьків М.Я., Азаров В.И. и др. Нарушение эндотелийзависимой регуляции сердечно-сосудистой системы как фактор патогенеза острого инфаркта миокарда. Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования: Тр. II междунар. науч.-практ. конф., 23–24 мая 2002 г. – Витебск, 2002. – С. 22–25.
 27. Мойбенко О.О. Роль нових ендогенних регуляторів в розвитку патологічних процесів у серцево-судинній системі // *Буковин. мед. вісник.* – 1998. – 2, № 2. – С.11–20.
 28. Мойбенко О.О., Павлюченко В.Б., Даценко В.В. та ін. Дослідження ролі ендотеліязалежних факторів у реалізації кардіогенних рефлексів за нормальних і патологічних умов // *Фізіол. журн.* – 2000. – 46, № 2. – С. 19–32.
 29. Мойбенко О.О., Юзьків М.Я., Коцюруба А.В. та ін. Зміни системи оксиду азоту при гострій ішемії та реперфузії міокарда // *Фізіол. журн.* – 2000. – 46, № 6. – С. 3–11.
 30. Моссе І.В., Тишкін С.М., Соловійов А.І. Порівняльна характеристика ефективності дії NO-донорів на коронарні артерії свині в нормі та при гіпоксії // *Ліки.* – 1998. – № 5. – С. 9–12.
 31. Павлюченко В.Б., Мойбенко О.О., Даценко В.В. Роль біологічно активних речовин у формуванні кардіогенних рефлекторних впливів на кровообіг // *Фізіол. журн.* – 2001. – 47, № 3. – С. 106–119.
 32. Пархоменко А.Н., Мойбенко А.А., Кожухов С.Н. и др. Первый опыт применения внутривенной формы ингибитора 5-липooксигеназы у больных с острым инфарктом миокарда: клинико-гемодинамические параллели, влияние препарата на размеры некроза // *Укр. кардіол. журн.* – 2000. – № 1–2. – С. 5–9.
 33. Сагач В.Ф., Шиманська Т.В. Вплив гіперхолестеринемії та стимуляції синтетичної активності ендотелію на реактивність серця до навантажень // *Буковин. мед. вісник.* – 1998. – 2, № 2. – С. 20–25.
 34. Сагач В.Ф., Ткаченко М.М., Шаповал М.В. Залежність довжина – сила судинних гладеньких м'язів та система оксиду азоту за умов хронічного дефіциту мезостріатного дофаміну // *Фізіол. журн.* – 1999. – 45, № 6. – С. 3–11.
 35. Сагач В.Ф., Ткаченко М.М., Шаповал М.В. Роль змін системи оксиду азоту в порушеннях скорочувальних реакцій судинних гладеньких м'язів при старінні // *Доп. НАН України.* – 2000. – № 12. – С. 194–198.
 36. Сагач В.Ф., Андрухов О.Я. Вплив оксиду азоту на скорочувальну активність скінованих препаратів гладеньких м'язів воротної вени щура // *Фізіол. журн.* – 2000. – 46, № 1. – С. 3–9.
 37. Сагач В.Ф., Шиманська Т.В., Надточій С.М. Вивчення ролі оксиду азоту у зміні споживання кисню та кисневої вартості роботи серцевого м'яза // *Там само.* – № 2. – С. 33–40.
 38. Сагач В.Ф., Базілюк О.В., Олешко М.М. та ін. Система оксиду азоту за умов хронічного дефіциту мезостріатного дофаміну: дія нітрогліцерину // *Там само.* – С. 55–63.
 39. Сагач В.Ф., Базілюк О.В., Коцюруба А.В., Буханевич О.М. Порушення ендотеліязалежних судинних реакцій, аргіназного та NO-синтазного шляхів обміну L-аргініну при артеріальній гіпертензії // *Там само.* – № 3. – С. 3–13.
 40. Сагач В.Ф., Коцюруба А.В., Базілюк О.В. та ін. Інгібітори аргіназного шляху метаболізму L-аргініну як новий клас антигіпертензивних сполук: дія карбаміду на окисний метаболізм ліпідів і судинний тонус при артеріальній гіпертензії // *Там само* – 2001. – 47, № 5. – С. 3–11.
 41. Сагач В.Ф., Доломан Л.Б., Коцюруба А.В. та ін. Збільшений вміст стабільних метаболітів оксиду азоту в крові мешканців високогір'я // *Там само.* – 2002. – 48, № 5. – С. 3–8.
 42. Сагач В.Ф., Шиманська Т.В., Надточій С.М. Попередження постреперфузійних порушень функції серця та неефективного використання кисню за допомогою інгібіторів мітохондріальної пори // *Там само.* – № 6. – С. 3–10.
 43. Саркисов К.Г., Коркушко О.В., Ступина А.С., Дужак Г.В. и др. Микроциркуляция и гемореология при старении человека // *Пробл. старения и долголетия.* – 1998. – 7, № 3. – С. 269–278.
 44. Соловійов А.І., Стефанов О.В. Терапевтичні донори оксиду азоту: клітинні механізми дії та перспективи клінічного застосування // *Ліки.* – 1996. – № 5. – 6. – С. 50–54.
 45. Соловьев А.И., Стефанов А.В. Фармакология и токсикология оксида азота // *Современные проблемы токсикологии.* – 1998. – № 1. – С. 35–38.
 46. Соловійов А.І., Легенький В.В., Зеленський С.М., Стефанов О.В. Вплив оксиду азоту та його донорів на скоротливу активність і вміст внутрішньоклітинного Ca²⁺ гладеньких м'язів кровеносних судин щурів // *Мед. хімія.* – 2000. – 2, № 4. – С. 9–12.
 47. Соловійов А.І., Легенький В.В., Зеленський С.М., Мойбенко О.О., Стефанов О.В. цГМФ незалежний вплив оксиду азоту на скоротливу активність і вміст внутрішньоклітинного Ca⁺² гладеньких м'язів хвостової артерії щура // *Фізіол. журн.* – 2001. – 47, № 3. – С.19–25.
 48. Соловійов А.І., Легенький В.В., Зеленський С.М., Стефанов О.В. Вплив нітрогліцерину на скоротливу активність та вміст внутрішньоклітинного Ca²⁺ гладеньких м'язів хвостової артерії щура за

- різних умов попередньої активації // Мед. хімія. – 2001. – 3, № 3. – С. 10 – 13.
49. Соловійов А.І., Легенський В.В., Стефанов О.В., Зеленський С.М. Метод дослідження скорочувальної активності та вмісту внутріклітинного Ca^{2+} гладких м'язів кровоносних судин для вивчення кальцієвої чутливості та скринінгу серцево-судинних лікарських засобів // Львів. мед. часопис. – 2001. – № 1. – С. 29 – 34.
50. Соловійов А.І., Тишкін С.М., Хромов А.С., Стефанов А.І. Скорочувальна функція судин при артеріальній гіпертензії різного генезу та її корекція за допомогою фосфатидилхолінових ліпосом // Фізіол. журн. – 2002. – 48, № 6. – С. 11 – 18.
51. Соловьёв А.И., Тишкин С.М., Паршиков А.В., Иванова И.В., Гарни А.М., Стефанов А.В. Механизмы развития эндотелиальной дисфункции при действии ионизирующей радиации: роль оксида азота и эндотелий-зависимого гиперполяризующего фактора // У кн.: Мікроциркуляція та її вікові зміни. – К.: ІВЦ Алкон. – 2002. – С. 284 – 286.
52. Соловьёв А.И. Клеточные механизмы артериальной гипертензии // Лікування та діагностика. – 2002. – № 1. – С. 9 – 13.
53. Ткаченко М.М. Скорочувальні реакції судинних гладеньких м'язів за умов гіперхолестеринемії та змін функціональної активності ендотелію // Фізіол. журн. – 1997. – 43, № 1 – 2. – С. 57 – 63.
54. Ткаченко М.Н., Сагач В.Ф. Влияние малых доз радиации на сократительные ответы сосудистых гладких мышц при растяжении // Биофизика. – 1997. – 42, вып. 3. – С. 729 – 732.
55. Ткаченко М.М. Оксид азоту та судинна регуляція // Журн. АМН України. – 1997. – 3, № 2. – С. 241 – 254.
56. Ткаченко М.М., Стеченко Л.О., Сагач В.Ф. Структурна організація ендотелію аорти за умов гіперхолестеринемії та впливу L-аргініну // Фізіол. журн. – 1998. – 44, № 5 – 6. – С. 59 – 64.
57. Ткаченко М.М., Стеченко Л.О., Сагач В.Ф. Вплив L-аргініну на структурну організацію ендотелію ворітної вени за умов експериментальної гіперхолестеринемії // Доп. НАН України. – 1998. – № 10. – С. 189 – 192.
58. Ткаченко М.Н., Зозуля І.С., Шаповал М.В., Сагач В.Ф. Паркинсонизм: современные представления о патогенезе и возможные пути коррекции // Укр. мед. часопис. – 2000. – № 3 (17). – С. 9 – 14.
59. Ткаченко М.Н., Сагач В.Ф. Система оксида азота и сократительные реакции сосудистых гладких мышц при старении. Функциональная роль монооксида азота и пуринов: Сб. статей участников конф., Минск, 13 – 14 сентября 2001 г. – Минск: Бизнесофсет, 2001. – С. 182 – 184.
60. Ткаченко М.М., Яроцький В.В., Марченко С.М., Сагач В.Ф. Вплив ацетилхоліну та аденозинтрифосфату на мембранний потенціал інтактного ендотелію аорти шурів за умов старіння // Фізіол. журн. – 2002. – 48, № 3. – С. 3 – 8.
61. Ткаченко М.М., Сагач В.Ф., Коцюрба А.В. та ін. Ендотелійзалежні скорочувальні реакції судинних гладеньких м'язів і вміст вільних радикалів кисню у шурів за умов старіння // Там само. – № 4. – С. 3 – 13.
62. Фролькіс В.В., Базилюк О.В., Сыкало Н.В. Роль эндотелия в возрастных изменениях реактивности сосудов к действию физиологически активных веществ и гипоксии // Проблемы старения и долголетия. – 1993. – 3, № 2. – С. 131 – 136.
63. Старение и экспериментальная патология сердечно-сосудистой системы. – К.: Наук. думка, 1994. – 248 с.
64. Фролькіс В.В., Сыкало Н.В., Кульчицкий О.К. и др. Липопротеиды крови и их влияние на сосудистый тонус у животных разного возраста // Доп. НАН України. – 1995. – № 5. – С. 133 – 135.
65. Фролькіс В.В., Кульчицкий О.К., Новікова С.М. та ін. Зміни концентрації ліпопротеїнів, ендотеліну-1 та NO_2 плазми крові при експериментальній гіперхолестеринемії у кролів різного віку // Журн. АМН України. – 2000. – 6, № 3. – С. 575 – 581.
66. Яроцький В.В., Сагач В.Ф., Марченко С.М. Електричні властивості інтактного ендотелію аорти кроля // Фізіол. журн. – 2001. – 47, № 1. – С. 9 – 16.
67. Яроцький В.В., Сагач В.Ф., Марченко С.М. Вплив агоністів адренорецепторів і циклічних нуклеотидів на мембранний потенціал ізольованного шару ендотеліальних клітин аорти кроля // Там само. – 2002. – 48, № 1. – С. 25 – 29.
68. Andruchov O.Y., Sagach V.F. Effect of nitric oxide on the contractile activity of the skinned rat portal vein and papillary muscle // Нейрофизиология/Neurophysiology. – 2000. – 32, № 3. – P. 242 – 243.
69. Araujo M., Baker L., Cabral A. et al. Inhibition of nitric oxide synthesis causes profound enhancement of the Bezold – Jarish reflex // Amer. J. Hypertens. – 1998. – 11. – P. 66 – 72.
70. Cabot M., Welsh C., Cao H., Chabbott H. The phosphatidylcholine pathway of diacylglycerol formation stimulated by phorbol diester occurs via phospholipase D activation // FEBS Lett. – 1988. – 233. – P. 153 – 157.
71. Clapp L., Garney A. Modulation of calcium movements by nitroprusside in isolated smooth muscle cells // Pflug. Arch. – 1991. – 418. – P. 462 – 470.
72. Cox R., Tulenko T. Altered excitation-contraction coupling in hypertension: role of plasma membrane phospholipids and ion channels. In: Regulation of smooth muscle contraction / Ed. R. Moreland. – 1991. – New York: Plenum Press. – P. 291 – 302.
73. Frolkis V.V., Bezrukov V.V., Kulchitsky O.K. The Aging Cardiovascular System. Physiology and Pathology. – New York: Springer Publishing Company. – 1996. – 238 p.

74. Frolkis V.V., Kulchitsky O.K., Novikova S.N. et al. Blood lipoproteins and their effect on contractile function of vessels in rats of different age // *Mech. Aging and Develop.* – 1997. – **97**. – P. 207 – 214.
75. Frolkis V.V., Bezrukov V.V., Kulchitsky O.K. O envelhecimento do sistema cardiovascular. – Andrei editora LTDA Sao Paulo. – Brazilia. – 1998. – 238 p.
76. 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.
77. Garthwaite J., Boulton C. Nitric oxide signalling in the central nervous system // *Ann. Rev. Physiol.* – 1995. – **57**. – P. 683 – 706.
78. Ignarro L.J., Byrns R.E., Buga G.M., Wood K.S. Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possesses pharmacological and chemical properties identical to those of nitric oxide radical // *Circulat. Res.* – 1987. – **61**, № 6. – P. 866 – 879.
79. Liu S., Beckman J.S., Ku D.D. Peroxynitrite, a product of superoxide and nitric oxide, produces coronary vasorelaxation in dogs // *J. Pharmacol. Exp. and Ther.* – 1994. – **268**. – P. 1114 – 1121.
80. Legen'kyi V., Zelensky S., Stefanov A., Soloviev A. Effects of nitric oxide donors on vascular smooth muscles depend on a type of vascular smooth muscle preactivation // *Cardiovasc. Toxicol.* – 2002. – **2**, № 2. – P. 151 – 160.
81. Lincoln T., Komanavilas S., Cornwell T. Pleotropic regulation of vascular smooth muscle tone by cyclic GMP-dependent protein kinase // *Hypertension*. – 1994. – **23**, № 2. – P. 1141 – 1147.
82. Minko T., Stefanov A., Pozharov V. Lung hypoxia: anti-oxidant and antiapoptotic effect of liposomal α -tocopherol // *J. Appl. Physiol.* – 2002. – **93**. – P. 1550 – 1560.
83. Moibenko A.A., Grabovskii L.A., Pavlyuchenko V.B. et al. Role of NO in coronary and systemic vasodilation following cardiogenic reflexes // *Neurophysiology*. – 1999. – **31**, № 1. – P. 5 – 9.
84. 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.
85. Prendergast B.D., Sagach V.F., Shah A.M. Basal release of nitric oxide augments the Frank-Starling response in the isolated heart // *Circulation*. – 1997. – **96**. – P. 1320 – 1329.
86. Sagach V.F., Bazilyuk O.V., Kotsyruba A.V., Shimanskaya T.V. Protective effect of L-arginine in atherosclerosis // *Cardiovasc. Drugs and Therapy*. – 1999. – **13**, № 1. – P. 27.
87. Sagach V.F., Scrosati M., Fielding J. et al. The water-soluble vitamin E analogue trolox protects against ischaemia/reperfusion damage in vitro and ex vivo. A comparison with vitamin E // *Pharmacol. Res.* – 2002. – **45**, № 6. – P. 435 – 439.
88. Soloviev A., Stefanov A., Bazilyuk J. et al. Changes in plasma membrane ionic permeability and related contractile responses in vascular smooth muscle at hypoxia // *Pathophysiology*. – 1996. – **3**. – P. 11 – 20.
89. Soloviev A., Parshikov A., Stefanov A. Evidence for the involvement of protein kinase C in depression of endothelium-dependent vascular response in spontaneously hypertensive rats // *J. Vasc. Res.* – 1998. – **35**. – P. 325 – 331.
90. Soloviev A., Tishkin S., Parshikov A., Stefanov A., Mosse I. Depression of endothelium-dependent relaxation despite normal release of nitric oxide in the aorta of spontaneously hypertensive rats: possible role of protein kinase C // In: *Endothelium-dependent hyperpolarizations* (ed. P. Vanhoutte). – Harwood Academic Publishers. The Netherlands, 1998. – P. 289 – 296.
91. Soloviev A., Tishkin S., Parshikov A., Mosse I., Stefanov A. et al. The EDHF-dependent but not the NO-dependent component of the acetylcholine-induced relaxation of the rabbit aorta is resistant to ionized radiation // In: *EDHF 2000* (ed. P. Vanhoutte). – London, Taylor and Francis, 2001. – P. 400 – 409.
92. Soloviev A., Stefanov A., Tishkin S. et al. Saline containing phosphatidylcholine liposomes possess the ability to restore endothelial function damaged resulting from γ -irradiation // *J. Physiol. Pharmacol.* – 2002. – **53**, № 4. – P. 701 – 712.
93. Soloviev A., Stefanov A., Parshikov A., Khromov A., Moibenko A. et al. Arrhythmogenic peroxynitrite-induced alterations in mammalian heart contractility and its prevention with quercetin-filled liposomes // *Cardiovasc. Toxicol.* – 2002. – **2**, № 2. – P. 129 – 140.
94. Tjen A., Looi S.C., Phan N.T., Longhurst J.C. Nitric oxide modulates sympathoexcitatory cardiac-cardiovascular reflexes elicited by bradykinin // *Amer. J. Physiol.* – 2001. – **281**. – P. H2010 – 2017.
95. Zhao G., Shen W., Xu X. et al. Selective impairment of vagally mediated, nitric oxide dependent coronary vasodilation in conscious dogs after pacing-induced heart failure // *Circulation*. – 1995. – **91**. – P. 2655 – 2663.

*Ин-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ;
 Ін-т геронтології АМН України, Київ;
 Ін-т терапії АМН України, Харків;
 Ін-т фармакології та токсикології АМН України, Київ*

Матеріал надійшов до редакції 1.12.2003