

Міністерство охорони здоров'я України  
Державний вищий навчальний заклад  
“Тернопільський державний медичний університет  
імені І.Я. Горбачевського”

На правах рукопису

Дорохіна Анна Миколаївна

УДК 616.12–008.1-085.217.32-02:546.17-31]-055.8

Статеві особливості порушень холінергічної регуляції серця гонадектомованих  
щурів за зміненої активності системи оксиду азоту

14.03.04 – патологічна фізіологія

Дисертація  
на здобуття наукового ступеня  
кандидата медичних наук

Науковий керівник:  
Хара Марія Романівна  
доктор медичних наук,  
професор

Тернопіль – 2011

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	5
ВСТУП.....	7
РОЗДІЛ 1 РОЛЬ СИСТЕМИ ОКСИДУ АЗОТУ В ПАТОГЕНЕЗІ СЕРЦЕВО-СУДИННОЇ ПАТОЛОГІЇ. ОСОБЛИВОСТІ НЕЙРОГУМОРАЛЬНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ ДІЯЛЬНОСТІ СЕРЦЯ ЗА УМОВ ДЕФІЦИТУ СТАТЕВИХ ГОРМОНІВ (огляд літератури).....	17
1.1. Оксид азоту як ендogenous кардіоцитопротектор.....	17
1.2. Роль дефіциту жіночих та чоловічих статевих гормонів у розвитку серцево-судинної патології .....	32
РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ .....	43
2.1. Відбір і групування тварин для дослідження .....	43
2.2. Опис експериментальної моделі .....	43
2.3. Зміни функціональної активності системи оксиду азоту .....	45
2.4. Дослідження холінергічної регуляції діяльності серця .....	45
2.4.1. Математичний аналіз серцевого ритму .....	45
2.4.2. Вивчення чутливості серця до екзогенного ацетилхоліну .....	46
2.4.3. Дослідження чутливості серця до стимуляцію блукаючого нерва .....	46
2.4.4. Визначення вмісту ацетилхоліну в міокарді .....	47
2.4.5. Дослідження активності ферментативного гідролізу ацетилхоліну в міокарді .....	49
2.5. Визначення вмісту нітрит-аніону .....	50
2.6. Статистичний аналіз результатів досліджень .....	51
РОЗДІЛ 3 СТАТЕВІ ОСОБЛИВОСТІ АВТОНОМНОЇ РЕГУЛЯЦІЯ СЕРЦЯ ГОНАДЕКТОМОВАНИХ ЩУРІВ ЗА ЗМІНЕНОЇ АКТИВНОСТІ СИСТЕМИ ОКСИДУ АЗОТУ .....	52
3.1. Вплив гонадектомії на показники варіаційної кардіоінтервало-	

метрії .....	52
3.2. Підбір ефективної дози L-аргініну для визначення активності автономної регуляції серця .....	54
3.3. Вплив прекурсора синтезу оксиду азоту L-аргініну на показники варіаційної кардіоінтервалометрії тварин різної стат ....	60
3.4. Вплив неселективного блокатора синтезу оксиду азоту L-NAME на показники математичного аналізу серцевого ритму ...	63
<b>РОЗДІЛ 4 ЧУТЛИВІСТЬ СЕРЦЯ ГОНАДЕКТОМОВАНИХ ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ ДО ХОЛІНЕРГІЧНИХ ВПЛИВІВ ЗА ЗАСТОСУВАННЯ ПРЕКУРСОРА ТА БЛОКАТОРА СИНТЕЗУ ОКСИДУ АЗОТУ .....</b>	<b>69</b>
4.1. Статеві особливості реакції серця гонадектомованих щурів на подразнення блукаючого нерва та внутрішньовенне введення ацетилхоліну .....	70
4.2. Вплив прекурсора синтезу оксиду азоту L-аргініну на чутливість холінорецепторів серця гонадектомованих щурів різної статі .....	76
4.3. Зміни чутливості серця щурів з видаленими гонадами до екзогенного та ендогенного ацетилхоліну за застосування неселективного блокатора синтезу оксиду азоту L-NAME .....	83
<b>РОЗДІЛ 5 ВПЛИВ ПРЕКУРСОРА ТА БЛОКАТОРА СИНТЕЗУ ОКСИДУ АЗОТУ НА ВМІСТ ТА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГІДРОЛІЗУ АЦЕТИЛХОЛІНУ В МІОКАРДІ ГОНАДЕКТОМОВАНИХ ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ .....</b>	<b>90</b>
5.1. Зміни вмісту та активності ферментативного гідролізу ацетилхоліну в міокарді передсердь та шлуночків у гонадектомованих щурів різної статі .....	90
5.2. Вплив прекурсора синтезу оксиду азоту L-аргініну на вміст та інтенсивність ферментативного гідролізу ацетилхоліну в міокарді самців та самок щурів з видаленими гонадами .....	94
5.3. Ефекти неселективного блокатора синтезу оксиду азоту	

L-NAME на вміст та активність ферментативного гідролізу ацетилхоліну в міокарді гонадектомованих щурів різної статі .....	98
РОЗДІЛ 6 ВМІСТ НІТРИТ-АНІОНУ В КРОВІ ТА СЕРЦІ ГОНАДЕКТОМОВАНИХ ТВАРИН РІЗНОЇ СТАТІ ПРИ ЗМІНІ АКТИВОСТІ СИСТЕМИ ОКСИДУ АЗОТУ .....	104
6.1. Статеві особливості вмісту нітрит-аніону в крові та серці гонадектомованих щурів .....	104
6.2. Вплив прекурсора синтезу оксиду азоту L-аргініну на вміст нітрит-аніону в крові та серці гонадектомованих тварин різної статі .....	106
6.3. Динаміка вмісту нітрит-аніону в крові та серці щурів з видаленими гонадами за застосування неселективного блокатора синтезу оксиду азоту L-NAME .....	108
РОЗДІЛ 7 АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ .	111
ВИСНОВКИ .....	131
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ .....	134
ДОДАТКИ .....	165

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ,  
СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АДМА	– асиметричний диметиларгінін
АМо	– амплітуда моди
АНС	– автономна нервова система
АТФ	– аденозинтрифосфат
АХ	– ацетилхолін
ГЕ	– групи тварин, в яких проведено гонадектомію
ЕКГ	– електрокардіограма
eNOS	– ендотеліальна NO-синтаза
ЗГ	– тварини зі збереженими гонадами
ІБ <sub>n.v.</sub>	– інтенсивність брадикардії при подразненні блукаючого нерва
ІБ <sub>АХ</sub>	– інтенсивність брадикардії при введенні ацетилхоліну
ІН	– індекс напруження (за Р.М. Баєвським)
iNOS	– індучибельна NO-синтаза
Мо	– мода
mtNOS	– мітохондріальна NO-синтаза
NO	– оксид азоту (II)
NOS	– NO-синтаза
cNOS	– конститутивна NO-синтаза
L-NAME	– N-нітро-L-аргінін метиловий ефір
nNOS	– нейрональна NO-синтаза
NTS	– nucleus tractus solitaries
O <sup>2-</sup>	– супероксиданіон
ПКА	– протеїнкіназа А
ПС	– передсердя
RVLM	– rostral ventrolateral medulla
ТБ <sub>АХ</sub>	– тривалість брадикардії, що виникає при введенні ацетилхоліну
ФАД	– флавінаденіндинуклеотид
ФМН	– флавінмононуклеотид
ХЕАпс	– загальна холінеразна активність міокарда передсердь

- ХЕАшл – загальна холінестеразна активність міокарда шлуночків
- цАМФ – циклічний аденозинмонофосфат
- цГМФ – циклічний гуанозинмонофосфат
- ЧСС – частота серцевих скорочень
- ШЛ – шлуночки
- $\Delta X$  – варіаційний розмах величин кардіоінтервалів

## ВСТУП

На сьогоднішній день, незважаючи на значні успіхи медицини у зниженні кардіоваскулярного ризику, серцево-судинні захворювання все ще залишаються провідною причиною смертності в більшості країн світу. Згідно з даними Європейського товариства кардіологів, щорічно від хвороб системи кровообігу вмирає більше 4 млн. європейців, з яких 43 % складають чоловіки, а 55 % – жінки [48].

Численні фактори, що останніми роками спонукають вчених до вивчення статевої складової виникнення та перебігу патології серцево-судинної системи, ґрунтуються на оцінці таких положень: ризик гострого інфаркту міокарда в чоловіків вищий у молодшому віці; розвиток ішемічної хвороби серця у жінок приблизно на 10 років пізніший, ніж у чоловіків; раптова зупинка серця втричі частіше спостерігається у чоловіків, проте рівень відновлення та виживання – нижчий у жінок [10, 28, 29, 38, 63, 115, 122, 126, 135, 184, 206, 217, 220, 231].

Вважається, що серцево-судинна система молодих жінок перебуває під «естрогеновим захистом», який вони втрачають при настанні клімактерію. Особливої уваги заслуговує такий стан, як хірургічна менопауза, спричинена овари- та/чи гістеректомією. Адже у жінок з видаленими гонадами в 7 разів зростає ризик виникнення інфаркту міокарда та вдвічі підвищується рівень смертності від серцево-судинних захворювань [2, 43, 51, 65, 77, 108, 112, 119, 141, 174, 210, 236].

Незважаючи на поширеність і ранній маніфест хвороб органів кровообігу в чоловіків, роль андрогенів у патогенезі кардіальної патології вивчено мало. Хоча в представників чоловічої статі немає прямого аналогу жіночої менопаузи, у них вже з 30-35 років відмічається поступове зниження рівня вільного тестостерону та збільшення зв'язуючого статеві стероїди глобуліну. Аналіз літературних джерел засвідчує наявність чіткого зв'язку між низьким рівнем тестостерону та прогресуванням серцево-судинних захворювань [19, 26, 32, 38, 46, 89, 99, 170, 171, 237].

Таким чином, на даному етапі розвитку та досягнень медицини не викликає сумнівів взаємозв'язок статі, гормонального статусу та ризику виникнення кардіальної патології. Вивчення механізмів, що лежать в основі цього, залишаються надзвичайно актуальними та важливими.

В етіології та патогенезі серцево-судинних захворювань, таких як серцева недостатність, інфаркт міокарда, чільне місце посідає порушення регуляції серця автономною нервовою системою (АНС). Нещодавні дослідження показали, що ступінь симпато-парасимпатичного дисбалансу є потужним і незалежним індикатором прогнозу. Дисфункція автономної нервової системи характеризується посиленням активності симпатичної ланки та прямо впливає на клінічний перебіг захворювання. Механізми, завдяки яким порушення вегетативної регуляції серця призводить до негативних ефектів, залишаються недостатньо з'ясованими. Особлива роль у кардіопротекції належить холінергічній ланці автономної нервової системи, помірне переважання активності якої зменшує ступінь метаболічних, функціональних та структурних порушень в міокарді при гострій гіпоксії, ішемії чи реперфузії [1, 3, 20, 50, 52, 67, 84, 90, 94, 95, 111, 175, 193, 256].

Статеві гормони є одними з основних модуляторів активності систем організму, що здатні обмежувати чи потенціювати патогенні впливи. Експериментально доведено зв'язок гормонального статусу з автономною регуляцією серця. Зокрема, естрогенодефіцит викликає підвищення кількості бета-адренорецепторів в міокарді, що призводить до більш вираженого ефекту від застосування бета-адреноблокаторів у жінок з таким станом. З іншого боку, концентрація ацетилхоліну та активність холінестерази знижуються після оваріектомії та підвищуються при замісній терапії естрогенами [28, 29, 126, 132, 174, 241]. Окрім того, естрогенам притаманний протизапальний, вазодилатуючий та позитивний дромотропний ефекти [17, 55, 69, 126, 132, 203, 226].

Думка вчених щодо впливу андрогенів на серцево-судинну систему залишається не до кінця зрозумілою. У чоловіків тестостерон позитивно впливає на стан судинної стінки, обмін ліпідів, вуглеводів та



інсулінорезистентність [19, 46, 89, 99, 237]. У жінок більшість досліджень, спрямованих на вивчення ролі андрогенів, зосереджені на гіперандрогенних станах, таких як синдром полікістозних яєчників [180]. Тому, на думку Калінченко С.Ю. (2009), андрогенам у жіночому організмі безпідставно приписують цілий спектр негативних метаболічних ефектів, головним чином обумовлених гіперінсулінемією, що спостерігається при даному синдромі [14, 68, 250]. На сьогоднішній день з'явилися дослідження, які доводять факт зниження рівня андрогенів у жінок. Найпоширенішими причинами андрогенної недостатності є білатеральна оофоректомія та старіння. Все це доводить необхідність подальших досліджень для з'ясування ролі чоловічих статевих гормонів у розвитку серцево-судинної патології.

Нещодавні дослідження показали, що газоподібній молекулі оксиду азоту належить роль важливого медіатора в контролі серця автономною нервовою системою. За допомогою гістохімічних методів було ідентифіковано популяції нейронів, що містять синтази оксиду азоту в межах медулярної кардіорегуляторної ділянки та їхні периферичні автономні шляхи. Речовини, що регулюють активність системи оксиду азоту (введені парентерально чи в центральну нервову систему), викликають зміни на пре- та постгангліонарному рівнях симпатичної нервової системи. Вільнорадикальний газ модулює і вагусний контроль серця, підвищуючи активність центральних мотонейронів блукаючого нерва, викликаючи брадикардію у відповідь на стимуляцію n. vagus, посилюючи вивільнення ацетилхоліну з депо, а також бере участь у реалізації явища «акцентуйованого антагонізму» [45, 97, 98, 145, 183, 189, 191, 194, 207, 214, 215, 224, 225]. Механізми реалізації зазначених ефектів залишаються не з'ясованими.

Оксид азоту – це надзвичайно реакційна сполука, тому поряд з регуляторними властивостями, залежно від концентрації, він може викликати порушення функції білкових та ліпідних структур як вільний радикал, і, вступаючи в реакцію з іншими радикалами, утворювати токсичні продукти. Тому на сьогоднішній день відсутня чітка інтерпретація ролі оксиду азоту в реалізації тих чи інших фізіологічних і патологічних процесів [16, 98, 120, 139].

Система оксиду є основною мішенню та ініціатором серцево-судинних змін, пов'язаних зі зниженням рівня статевих гормонів. В умовах дефіциту статевих стероїдів відбувається не лише зниження синтезу, а й біодоступності оксиду азоту. Окрім того, естрогени зменшують рівень циркулюючого асиметричного диметиларгініну – ендogenous конкурентного інгібітора синтаз оксиду азоту [69, 71, 72, 77, 88, 99, 118, 121, 169, 186].

Таким чином, питання ролі системи оксиду азоту та дефіциту статевих гормонів у холінергічній регуляції серця потребує додаткового з'ясування, як і можливості підтримання балансу функціонування різних ланок АНС за допомогою модуляторів синтезу оксиду азоту.

**Актуальність теми.** На сьогодні не встановлено статеві особливості вегетативної регуляції серцевого ритму за застосування прекурсора та блокатора синтезу оксиду азоту. Не досліджено статевий аспект впливу модуляторів синтезу оксиду азоту на активність ланок автономної нервової системи та їх вплив на діяльність серця за відсутності гормонопродукуючої функції гонад. Залишається нез'ясованою статева відмінність чутливості холінергічних рецепторів серця в умовах модулюючого впливу прекурсора синтезу оксиду азоту чи неселективного блокатора його утворення при збереженій та відсутній гормонопродукуючій функції гонад. Не вивченими залишаються особливості метаболізму ацетилхоліну в міокарді залежно від статі та активності гормонопродукуючої функції гонад в умовах стимуляції чи блокування утворення оксиду азоту. Не вивчено вплив модуляторів активності системи оксиду азоту на вміст нітрит-аніону в крові та міокарді залежно від статі та рівня статевих гормонів.

Проведення таких досліджень допоможе визначити механізми впливу дефіциту як чоловічих, так і жіночих статевих гормонів, змін активності системи оксиду азоту на холінергічні процеси в серці залежно від статі, з'ясувати ефективність застосування модуляторів синтезу оксиду азоту з метою корекції порушень регуляції серця автономною нервовою системою на тлі білатеральної гонадектомії.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Дисертаційна робота є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи Навчально-наукового інституту моделювання та аналізу патологічних процесів Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського на тему „Медико-інформаційне дослідження експериментальної патології внутрішніх органів при різних функціональних умовах та її корекція” (номер державної реєстрації 0107U004462). Дисертант є співвиконавцем названої теми. Тема дисертації затверджена Проблемною комісією „Патологічна фізіологія та імунологія” МОЗ та АМН України (протокол № 63 від 31 січня 2008 р).

**Мета дослідження.** З'ясувати роль системи оксиду азоту в холінергічній регуляції серця щурів різної статі в умовах відсутності гормонопродукуючої функції гонад.

**Завдання дослідження:**

1. Дослідити вплив дефіциту статевих гормонів, спричиненого білатеральною гонадектомією, на автономну регуляцію серця, чутливість міокардіальних холінорецепторів, вміст та ферментативний гідроліз ацетилхоліну в міокарді, вміст нітрит-аніону в міокарді та крові в щурів різної статі.
2. Вивчити вплив прекурсора синтезу оксиду азоту L-аргініну на автономну регуляцію та чутливість холінорецепторів серця, обмін ацетилхоліну в міокарді, вміст нітрит-аніону в крові та серці самців і самок щурів на тлі збереженої функціональної активності гонад.
3. З'ясувати вплив неселективного блокатора синтаз оксиду азоту L-NAME на автономну регуляцію серця, чутливість холінорецепторів, обмін ацетилхоліну в міокарді, вміст нітрит-аніону в крові та серці щурів різної статі зі збереженими гонадами.
4. Дослідити статеві особливості автономної регуляції серця, чутливості холінорецепторів та обміну ацетилхоліну в серці, вмісту нітрит-аніону в міокарді й крові за застосування прекурсора синтезу оксиду азоту L-аргініну в гонадектомованих щурів.

5. Вивчити статеві особливості вегетативної регуляції та обміну ацетилхоліну в серці, чутливості міокардіальних холінорецепторів, вмісту нітрит-аніону в серці й крові за застосування неселективного блокатора синтаз оксиду азоту L-NAME у щурів з видаленими гонадами.

*Об'єкт дослідження.* Холінергічна регуляція серця за відсутності гормонопродукуючої функції гонад.

*Предмет дослідження.* Статеві відмінності вегетативної регуляції, чутливості холінорецепторів та метаболізму ацетилхоліну в серці за змінених умов функціонування системи оксиду азоту.

*Методи дослідження:* електрофізіологічні (дослідження чутливості холінорецепторів синусового вузла до електричної стимуляції п. vagus та внутрішньовенного введення ацетилхоліну, реєстрація кардіоінтервалограми для оцінки адрено-холінергічного балансу активності автономної нервової системи); біологічний (визначення вмісту ацетилхоліну в міокарді); біохімічні (визначення вмісту нітрит-аніону в міокарді та крові, активності ферментативного гідролізу ацетилхоліну в міокарді); математичні (математичний аналіз серцевого ритму, обробка цифрових даних методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента).

**Наукова новизна одержаних результатів.** Уперше показано відсутність змін адрено-холінергічного балансу вегетативної регуляції серця за застосування різних доз L-аргініну (75 мг/кг, 150 мг/кг, 300 мг/кг, 500 мг/кг), які використовуються з метою депонування оксиду азоту, при 7-денному їх уведенні. Обґрунтовано необхідність застосування прекурсора синтезу оксиду азоту L-аргініну в дозі 600 мг/кг для вивчення вегетативної регуляції серцевого ритму.

Уперше доведено наявність чіткого зв'язку статі, активності гормонопродукуючої функції гонад, стану системи оксиду азоту та холінергічної регуляції серця. Встановлено, що за збереженої активності статевих залоз у щурів обох статей прекурсор синтезу оксиду азоту L-аргінін в дозі 600 мг/кг сприяє посиленню холінергічних та обмеженню адренергічних впливів на синусовий вузол з боку автономної нервової системи, підсиленню

вивільнення ацетилхоліну пресинаптичними терміналами без зміни чутливості постсинаптичних міокардіальних холінорецепторів, викликає нагромадження медіатора в міокарді при посиленні його гідролізу в передсердях та зменшенні в шлуночках, збільшення рівня стабільного метаболіту оксиду азоту нітрит-аніону в крові та міокарді.

Уперше з'ясовано, що застосування L-аргініну (600 мг/кг) в щурів після двосторонньої гонадектомії не відновлює балансу активності ланок автономної нервової системи, притаманного щурам зі збереженими статевими залозами. Натомість, виникає гіперактивація холінергічної ланки зі зменшенням адренергічного контролю, особливо в оваріектомованих самок. Застосування L-аргініну в дозі 600 мг/кг сприяє відновленню, втраченої внаслідок дефіциту статевих гормонів, чутливості постсинаптичних холінорецепторів серця в самців і реакції серця на стимуляцію блукаючого нерва – у самок. У перших зазначена доза ефективніше, ніж у особин протилежної статі, збільшує вміст нітрит-аніону. Донатор синтезу оксиду азоту за відсутності гонад збільшує вміст ацетилхоліну лише в міокарді шлуночків шляхом зменшення активності його гідролізу.

Уперше показано, що застосування L-NAME у щурів обох статей зі збереженими статевими залозами викликає активацією адренергічного та пригніченням холінергічного контролю серцевої діяльності, різке напруження регуляторних механізмів. Інтенсивність зазначених процесів є суттєвішою в самок. L-NAME зменшує чутливість серця тварин обох статей до внутрішньовенного введення ацетилхоліну та стимуляції блукаючого нерва, підвищує вміст медіатора за рахунок метаболічної фракції на тлі різкого посилення його ферментативного гідролізу в передсердях та пригнічення – в шлуночках. За застосування блокатора синтезу оксиду азоту вміст нітрит-аніону в крові та серці зменшується.

Уперше доведено, що білатеральна гонадектомія не впливає на характер реакції автономної нервової системи та холінорецепторів на введення блокатора синтезу оксиду азоту L-NAME. Пригнічення активності холінергічної ланки за таких умов є суттєвішим у самок тварин. L-NAME

незалежно від статі поглиблює зміни, виникликані гонадектомією, різко зменшує чутливість серця до стимуляції блукаючого нерва та внутрішньовенного введення ацетилхоліну. У самців з дефіцитом андрогенів блокада синтезу оксиду азоту призводить до збільшення вмісту ацетилхоліну за рахунок медіаторної фракції при зменшенні активності його гідролізу в серці, в оварієктомованих самок холінестеразна активність як передсердь, так і шлуночків зменшується, не впливаючи на вміст ацетилхоліну. За застосування L-NAME вміст нітрит-аніону в крові та серці гонадектомованих самців зменшується суттєвіше і є нижчим, ніж у гонадектомованих самок.

**Практичне значення одержаних результатів.** Отримані дані поглиблюють знання про роль дефіциту як жіночих, так і чоловічих статевих гормонів, а також активності системи оксиду азоту в холінергічній регуляції серця. Результати проведених досліджень доводять, що гонадектомія суттєво впливає на холінергічні процеси в серці, змінює вегетативну його регуляцію, чутливість міокардіальних холінорецепторів та метаболізм парасимпатичного медіатора. Оцінка стану холінергічних процесів у серці гонадектомованих тварин при змінній активності системи оксиду азоту показує, що застосування прекурсора синтезу оксиду азоту призводить до активації парасимпатичних впливів з боку автономної нервової систему тварин обох статей, тоді як блокатор поглиблює адренергічно-холінергічний дисбаланс, що виникає внаслідок гонадектомії. Отримані дані можуть бути використані при подальших дослідженнях механізмів взаємодії статевих гормонів, системи оксиду азоту та холінергічної ланки автономної нервової системи, а також для створення нового аспекту терапевтичного впливу – модуляції активності системи оксиду азоту. Такі лікувальні впливи можуть бути ефективними при патології серцево-судинної системи, коли на смертність та ризик виникнення аритмій можна впливати шляхом корекції автономної дисфункції.

Результати роботи впроваджено в практику наукових досліджень та навчальний процес на кафедрах фармакології та патологічної фізіології Буковинського державного медичного університету, на кафедрі патологічної фізіології імені В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного

університету, на кафедрі патологічної фізіології ДВНЗ “Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського”, Донецького національного медичного університету імені М. Горького, Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова, ДЗ “Луганський державний медичний університет”, Кримського державного медичного університету імені С.І. Георгієвського, Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького, ДВНЗ “Українська медична стоматологічна академія”.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертантом самостійно здійснено пошук та аналіз вітчизняних і зарубіжних наукових джерел відповідно до теми дослідження, опановано методи запланованих досліджень, самостійно проведено усі експерименти, статистичний та науковий аналіз отриманих результатів Біохімічні дослідження було проведено спільно з працівниками центральної науково-дослідної лабораторії Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, за що автор висловлює їм щире подяку. Спільно з науковим керівником були сформульовані мета, завдання досліджень та висновки. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належать результати експериментальних досліджень, їх статистичний та науковий аналіз і теоретичне узагальнення фактичного матеріалу. У тій частині актів впровадження, що стосується науково-практичної новизни, викладено дані, отримані автором при виконанні дисертаційного дослідження.

**Апробація результатів дисертації.** Результати експериментальних досліджень і основні положення дисертації оприлюднені на підсумкових науково-практичних конференціях: XIII Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 2009), V науково-практичній конференції „Наукові дослідження – теорія і експеримент 2009” (Полтава, 2009), науково-практичній конференції „Здобутки клінічної та експериментальної медицини” (Тернопіль, 2009), 2-й науково-практичній конференції „Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм” (Тернопіль, 2009), 6-й науково-практичній конференції „Наукові

дослідження – теорія і експеримент 2010” (Полтава, 2010), ІХ читаннях імені В.В. Підвисоцького (Одеса, 2010), 3-й науково-практичній конференції „Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм”, присвяченій 100-річчю з дня народження проф. Е.Н. Бергера (Тернопіль, 2010).

**Публікації.** Результати дисертаційного дослідження викладено в 13 наукових працях, з яких 6 опубліковано у фахових виданнях, 7 – у матеріалах і тезах наукових конгресів, з’їздів і конференцій.



## РОЗДІЛ 1

## РОЛЬ СИСТЕМИ ОКСИДУ АЗОТУ В ПАТОГЕНЕЗІ СЕРЦЕВО-СУДИННОЇ ПАТОЛОГІЇ. ОСОБЛИВОСТІ НЕЙРОГУМОРАЛЬНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ ДІЯЛЬНОСТІ СЕРЦЯ ЗА УМОВ ДЕФІЦИТУ СТАТЕВИХ ГОРМОНІВ

(огляд літератури)

## 1.2. Оксид азоту як ендogenous кардіоцитопротектор

Велика кількість досліджень присвячена з'ясуванню ролі оксиду азоту в регуляції функцій серцево-судинної системи в нормальних та патологічних умовах. На сьогоднішній день відомо, що в серці експресовано всі три ізоформи синтаз оксиду азоту – nNOS, eNOS та iNOS [97, 98, 128, 129, 191, 221, 225, 230]. З конститутивними ізоформами NO-синтаз (nNOS, eNOS) зазвичай пов'язують такі його протекторні властивості як вазодилатація, пригнічення процесів агрегації та адгезії формених елементів крові, відкриття  $K_{ATP}$ -каналів, покращення коронарної циркуляції, захист організму від гіпертензії, вільнорадикального пошкодження [5, 6, 16, 80, 97, 98, 127, 128, 129, 178, 223], хоча останнім часом отримано нові дані стосовно можливої участі eNOS у прогресуванні атеросклерозу. iNOS та утворений нею NO посідають чільне місце в пригніченні активності бактеріальних та атипових кітин, у розвитку та прогресуванні артеріальної гіпертензії, порушенні процесів перекисного окиснення ліпідів [98, 121, 139].

Результати, які отримали при вивченні ролі оксиду азоту в нервовій системі, радикально змінили розуміння синаптичної нейротрансмісії. Оксид азоту як лабільний вільнорадикальний газ не нагромаджується в синаптичних везикулах, а вільно дифундує з нервового закінчення. Якщо звичайні нейротрансмітери зв'язуються з рецепторами, то NO утворює ковалентні зв'язки з різноманітними внутрішньоклітинними мішенями, наприклад гуанілатциклазою чи іншими небілковими молекулами. Дія звичайних «класичних» нейротрансмітерів обмежується пресинаптичним зворотнім

захопленням чи ферментативною деградацією. На відміну від них, дія оксиду азоту визначається довжиною шляху дифузії до внутрішньоклітинних мішеней чи утворенням ковалентних зв'язків з активними формами кисню чи білковими сполуками, що містять тіолові групи [98]. Разом з тим встановлено, що оксид азоту є нейротрансмітером неадренергічно-нехолінергічної нервової системи – нітринергічної, яка поряд із симпатичною та парасимпатичною ланками автономної нервової системи забезпечують іннервацію судинної та несудинної гладкої мускулатури серця, шлунково-кишкового тракту та дихальних шляхів [121].

Отже, оксид азоту – це аутокринний та паракринний медіатор, оскільки синтезуючись в одних клітинах, він здатний впливати на метаболічні процеси як у цих клітинах, так і в сусідніх [98, 139, 221, 225, 230].

На сьогоднішній день відомо два основні шляхи утворення ендogenous оксиду азоту: NO-синтазний та нітритредуктазний, які утворюють цикл оксиду азоту [5, 79, 98]. У першому випадку NO синтезується *de novo* в результаті окиснення L-аргініну з одночасним утворенням іншої амінокислоти L-цитруліну під впливом NO-синтаз. Нітритредуктазний шлях передбачає утворення NO шляхом реутилізації за участю гемоглобінової, ксантиноксидазної, циклооксигеназної та цитохром P-450 нітритредуктазних систем [5, 121].

Синтази оксиду азоту (NOS) – це група АТФ-незалежних ферментів, які належать до класу гемумісних циторедуктаз і відрізняються амінокислотною послідовністю у білковій частині молекули та механізмами, що регулюють їх активність. Традиційно розрізняють три ізоформи NO-синтаз, які кодуються різними генами та отримали свої назви відповідно до типу клітин, де їх вперше було ідентифіковано: NOS-1 – нейрональна або мозкова (nNOS), NOS-2 – індуцибельна або макрофагальна (iNOS) та NOS-3 – ендотеліальна (eNOS) [5, 16, 80, 97, 98, 121, 127, 128, 129, 221, 225, 230, 234, 247, 264]. Інколи виділяють ще й мітохондріальну NOS (mtNOS), яку з огляду на спорідненість амінокислотної послідовності відносять до підтипу nNOS ( $\alpha$ -ізоформа) [98, 128, 129, 183, 221, 223, 230].

Залежно від фізіологічного значення перераховані ізоформи поділяються на конститутивну (cNOS) та індукцибельну (iNOS) синтази оксиду азоту, які відрізняються каталітичними та кінетичними властивостями. Відомо, що конститутивні NO-синтази, до яких належать дві ізоформи – nNOS та eNOS – експресовані постійно та забезпечують базальне вивільнення невеликої кількості оксиду азоту. Активність цих ензимів залежить від концентрації кальцію та кальмодуліну, а також регулюється кальцій-незалежними механізмами: рівнем ендогенних інгібіторів NOS (зокрема асиметричного диметиларгініну), фосфорилуванням серину та дефосфорилуванням треоніну. iNOS (макрофагальна, індукцибельна) з'являється в клітинах після індукції їх бактеріальними ендотоксинами та деякими медіаторами запалення (наприклад інтерлейкін-1, інтрелейкін-2,  $\gamma$ -інтерферон, фактор некрозу пухлин), а також при нестачі кисню. Ця розповсюджена думка, що зазначена ізоформа ензиму активується лише патологічними стимулами, на сьогоднішній день спростована. Експериментально було встановлено, що iNOS експресується в тканинах організму і конститутивно, тобто без впливів будь-яких пошкоджуючих факторів на серце та кровоносні судини. iNOS продукує величезну кількість оксиду азоту (в 100-1000 разів більше, ніж синтезують конститутивні форми), який у таких дозах є токсичним для клітин. Налічується 6 важливих кофакторів, які регулюють процес утворення оксиду азоту синтазами: нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат (НАДФ), флавінаденіндинуклеотид (ФАД), флавінмононуклеотид (ФМН), тетрагідробіоптерин ( $\text{H}_4\text{B}$ ), гем і кальмодулін [5, 16, 80, 98, 121, 139, 145, 221, 225, 230, 234, 245].

Одними з основних продуктів метаболізму оксиду азоту є іони  $\text{NO}_2^-$  та  $\text{NO}_3^-$ . Перші в організмі савців перетворюються в NO та  $\text{NO}_3^-$ , а останні як правило виводяться з організму. Утворення оксиду азоту в процесі нітритредуктазної реакції в 1000 разів вище інтенсивності NO-синтазної реакції. За фізіологічних умов значення низької активності шляху L-аргінін–NO полягає в лімітуванні надходження субстрату  $\text{NO}_2^-$  до сильнішого нітритредуктазного компоненту циклу оксиду азоту. Основним чинником, який

забезпечує активну роботу нітритредуктазних систем з геммісними білками – гемоглобіном, міоглобіном, цитохромоксидазою та цитохромом P-450, є дефіцит кисню. Кисень пригнічує нітритредуктазну активність геммісних білків, а гіпоксія/ішемія та функціональне навантаження активують цикл оксиду, за рахунок впливу на “сильніший” нітритредуктазний компонент [5, 61, 79, 98, 173, 254]. Враховуючи, що вміст гемоглобіну в 250 разів більший, ніж цитохромів, гемоглобінова та міоглобінова редуктазні системи несуть основне навантаження в циклі NO, а потужна нітритредуктазна активність гемоглобіну крові робить його вразливим по відношенню до метгемоглобін утворюючої дії іонів  $\text{NO}_2^-$  [121].

NO може вступати в реакцію з гемічною групою гемоглобіну та іншими геммісними протеїнами і ферментами, утворюючи при цьому метгемоглобін, який можна розглядати як транспортну сполуку оксиду азоту. Серед численних продуктів перетворення оксиду азоту чільне місце посідають нітрозотіоли, гемові та негемові нітрозильні комплекси, які здатні виділяти оксид азоту. Тому на сьогоднішній день зазначені сполуки розглядають як депо оксиду азоту в організмі [5, 16, 60, 80, 91, 98, 106, 225, 230].

Внесок кожної з синтаз оксиду азоту в контроль за серцево-судинною системою, перш за все, визначається місцем локалізації [98]. Ralph A. Kelly стверджує, що більшість нейрональної NO-синтази розміщено в передсердях, вздовж епікардіальних вінцевих артерій та у провідній тканині серця, зокрема в синоатріальному та атріовентрикулярному вузлах, і знаходиться не лише в нервових волокнах та нейронах, а й у саркоплазматичному ретикулумі та мітохондріях кардіоміоцитів [225]. Neil Herring вказує, що розташовуючись у клітинах серцевих гангліїв та нервових волокнах, які іннервують синоатріальний вузол, nNOS одночасно локалізована з ацетилхолінтрансферазою [214]. Таким чином NOS-вмісні нейрони належать і до холінергічної ланки автономної нервової системи, а їхня кількість становить близько 15 %.

Оксид азоту в кардіоміоцитах синтезується мітохондріальною NOS. Рівень його утворення визначається станом електротранспортного ланцюга

мітохондрій. Тому NO, відіграючи регуляторну роль у мітохондріальному метаболізмі [128, 129], здатний ініціювати розвиток мітохондріальних дисфункцій, результатом яких є апоптична загибель клітин чи некроз [16, 128, 129, 197, 198, 201, 223]. На думку Andrea L. Fellet у фізіологічній кількості в міокарді NO, головним чином, продукується двома ізоформами: mtNOS, яка синтезує 55-62 % метаболіту, та цитозольною фракцією eNOS, яка продукує 38-45 % від загальної його кількості [207].

Роль нейрональної синтази оксиду азоту в серці вивчено недостатньо та інтенсивно досліджується. Внутрішньоклітинна локалізація nNOS в органелах, що беруть участь у регуляції внутрішньоклітинного  $Ca^{2+}$ , дає підстави вважати, що оксид азоту, синтезований зазначеною NOS, може регулювати скорочення серця та змінювати функцію іонних каналів [98, 230, 247, 260, 264]. Sears C. та співдослідники експериментально довели, що генетична чи фармакологічна блокада nNOS викликає достовірне збільшення скоротливої функції як ізольованих кардіоміоцитів, так і серця *in situ* у мишей, що може бути обумовлено посиленням у таких тварин кальцієвого току в мембранах кардіоміоцитів – підвищенням рівня внутрішньоклітинного кальцію та більшим наповненням цими іонами саркоплазматичного ретикулуму [246]. На думку авторів нейрональну синтазу оксиду азоту слід вважати детермінантою базальної скоротливості міокарда.

Важливість значення nNOS при патології серця та судин підтверджує той факт, що за умов обмеження доступності субстрату (L-аргініну) зазначений ензим легко переходить до утворення супероксиданіону ( $O^{2-}$ ), замість оксиду азоту. У кінцевому результаті повністю виключається механізм NO-ергічної регуляції функціонування серцево-судинної системи та підвищується утворення вільних радикалів [16, 225, 230].

Експресія iNOS визначається в макрофагах та фагоцитах (переважна локалізація), а в серці – у фіброблестах, ендотеліоцитах та гладком'язових клітинах коронарних судин, ендокарді та самих кардіоміоцитах. У останніх індукційна синтаза оксиду азоту розміщена вздовж скоротливих волокон, плазматичних мембран, включаючи Т-трубочки, ядерну оболонку, мітохондрії

та апарат Гольджі. Така особливість розташування обумовлює участь оксиду азоту, синтезованого саме цією ізоформою, в регуляції енергетичних процесів та скорочення серця [62, 98, 225, 230]. Вітчизняним вченим Мойбенко О.О. [97, 98] вперше було встановлено особливості експресії та активності iNOS у міокарді правого та лівого шлуночків. Було доведено, що як у вихідному стані, так і при ішемії та реперфузії, експресія індукцибельної NO-синтази в правому шлуночку більша, ніж у лівому. При ішемії активність iNOS у міокарді обох досліджуваних камер підвищувалась, тоді як активність cNOS у лівому шлуночку різко падала, а в правому – зростала. Цими виявленими відмінностями і пояснюють більшу здатність правого шлуночка долати наростаюче підвищення судинного опору та меншу схильність до ішемічних пошкоджень [98].

iNOS відіграє важливе значення при вірусних та бактеріальних ендо-, міо- і панкардитах, ревматичній хворобі серця, інфаркті міокарда, серцевій недостатності. У даному випадку роль оксиду азоту не однозначна. З одного боку ця молекула чинить захисний антибактеріальний ефект, а з іншого, синтезуючись у великій кількості, зменшує скоротливість міокарда, індукує апоптоз різних типів клітин серця, у тому числі й кардіоміоцитів, сприяючи таким чином виникненню та прогресуванню серцевої недостатності. Підвищення утворення NO в судинах на тлі інфекції може завершуватись розвитком інфекційно-токсичного шоку з розвитком стійкої вазодилатації, гіпотензії та гіпореактивності до судиннозвужуючих середників [16, 120, 121, 225, 230].

Ендотеліальна синтаза оксиду азоту постійно присутня в клітинах ендокарду, ендотелії артерій, вен, капілярів, у нирковому епітелії, скелетних м'язах, синоатріальному та атріовентрикулярному вузлах серця, так само, як і в деяких клітинах крові: моноцитах та тромбоцитах. Існують літературні дані про присутність eNOS в кардіоміоцитах передсердь та шлуночків [89, 121, 225, 230]. Особливістю цієї ізоформи є її здатність перебувати як у розчинному стані, так і зв'язаною з мембраною. У більшості кардіоміоцитів та ендотеліоцитів eNOS знаходиться в кавеолах мембрани. Початково кавеоли

вважались ділянками транс-та ендоцитозу, проте дослідження останніх років довели їхню роль у передачі сигналів. На сьогоднішній день вважають, що кавеолін (характерний структурний білок плазмолемі кавеоли) відіграє центральну роль у сигнальній трансдукції та регулюванні активності eNOS. Клітини ендотелію містять ізоформу кавеоліну – кавеолін-1, тоді як серцеві міоцити – кавеолін-3; в обох типах клітин eNOS безпосередньо взаємодіє з кавеоліном, що призводить до значних змін ферментативної активності ензиму. Окрім eNOS, кавеоли містять також G-протеїни та їх рецептори, рецептори до фактору росту, протеїнкінази та різноманітні білки, які беруть участь у забезпеченні кальцієвого гомеостазу. Встановлено два типи G-протеїнзв'язаних рецепторів, що стимулюють утворення NO – V<sub>2</sub>-брадикінінові та M<sub>2</sub>-мускарिनхолінергічні [37, 113, 121, 225].

Примембранне розташування eNOS робить її чутливою до змін фосфоліпідного складу мембран. Так, переважання омега-3 поліненасичених жирних кислот у складі мембрани обумовлює менш виражене гальмування активності eNOS при ішемії-реперфузії міокарда, тоді як жирні кислоти омега-6 можуть пригнічувати активність даного ензиму. Експериментально доведено гальмівний вплив на активність eNOS арахідонової кислоти [98].

Важлива роль у регуляції активності eNOS належить білкам теплового шоку, зокрема HSP 90. У досліджах на культурі ендотеліальних клітин аорти було показано, що під впливом брадикініну фосфорилується та утворюється білок шаперон – так-званий асоційований з eNOS протеїн-1. До його функцій входить контроль синтезу білку eNOS на трансляційному та посттрансляційному рівнях, а також участь у цитопротекції та формуванні механізмів сигнальної трансдукції. Цей білок було ідентифіковано як кардіопротекторний протеїн теплового шоку, захисний ефект якого проявляється зменшенням двох основних показників реперфузійного пошкодження міокарда – зони інфаркту та дисфункції міокарда. Взаємодія HSP 90 з eNOS призводить до підвищення продукції оксиду азоту. Зазначений механізм реалізується при дії естрогенів, гістаміна, статинів. Таким чином HSP

90 можна розглядати як одну із спільних ланок впливу статевих гормонів (саме естрогенів) та системи оксиду азоту на серце та судини [98, 225, 230].

Неможливо не відмітити той факт, що ген ендотеліальної синтази оксиду азоту людини містить у своїй структурі нуклеотидні послідовності (так звані регуляторні елементи), на які здатні впливати естрогени та стресорні агенти. Так, експериментально був продемонстрований позитивний вплив  $17\beta$ -естрадіолу на рівень утворення оксиду азоту в головному мозку, нирках, серці та скелетних м'язах морських свинок. Це відбувається шляхом посилення експресії мРНК конститутивних NOS у ЦНС та клітинах ендотелію. Цікаво, що інкубація клітин ендотелію з  $17\beta$ -естрадіолом протягом 16-24 годин призводить також до дозозалежного збільшення вмісту мРНК NOS та концентрації оксиду азоту у відповідь на застосування ацетилхоліну [121, 143, 208, 229, 242].

Із викладеного вище стає зрозумілим, що оксид азоту продукується практично всіма типами клітин, що знаходяться в серці, і здійснює регуляцію діяльності цього органу як судинно-залежним, так і незалежним шляхом. До першого належить регуляція тонуусу вінцевих судин, тромбоутворення, пригнічення проліферативних та запальних процесів, а інший передбачає прямий вплив NO на скоротливість кардіоміоцитів: від тонкої регуляції поєднання збудження зі скороченням до модулювання (пре- та постсинаптичної) передачі сигналу в автономній нервовій системі [5, 16, 80, 98, 121, 127, 128, 129, 139, 221, 225, 230, 234].

Оксиду азоту притаманна здатність регулювати антиоксидантні властивості кардіоміоцитів, зокрема через послаблення активності глутатіонпероксидази. Проте, у великій кількості NO діє на клітину токсично, що пов'язано як з прямою дією на залізовмісні ферменти, так і з утворенням високореактивної вільнорадикальної сполуки – пероксинітриту. Останній утворюється в реакції з супероксид аніоном [16]. Токсичний ефект оксиду азоту полягає в інгібуванні мітохондріальних ферментів, що призводить до зниження утворення АТФ, а також ферментів, які беруть участь у синтезі ДНК. Далі активуються захисні механізми, зокрема, стимуляція полі-АДФ-рибози-синтази ще більше знижує рівень АТФ, і в кінцевому результаті клітина гине. Саме таке



пошкодження ДНК під впливом NO є одним із механізмів розвитку апоптозу (особливого типу клітинної смерті, що регулюється геномом самої клітини) [16, 92, 98, 128, 129, 197, 198, 223].

Особливої уваги заслуговує стан «роз'єднаної NO-синтази», коли сама ендотеліальна NOS здатна утворювати супероксиданіон. Це спостерігається за умов низької концентрації L-аргініну чи тетрагідробіоптерину і не є раннім механізмом утворення  $O^{2-}$ , оскільки зменшення кількості субстрату та кофактору до критичних рівнів вимагає значних змін в судинному руслі. Проте нещодавно стало відомо, що роз'єднання eNOS може бути і результатом тонких змін у біохімічному функціонуванні ензимів [16, 234].

Вплив оксиду азоту на контрактильну функцію серця є двояким, і, знову ж таки, залежить від кількості утвореного NO. Так, у малих кількостях цій молекулі притаманний позитивний інотропний ефект, а у великих – негативний [80]. При сепсисі великі концентрації NO пригнічують серцеву діяльність через цГМФ- та протеїнкіназа G-залежне зменшення чутливості серцевих міофіламентів [230]. Увесь ланцюг дії оксиду азоту в серці обумовлений взаємодією з активними формами кисню чи скевенджерами, такими як міоглобін, якого досить багато у кардіоміоцитах [16, 27, 98].

Описані ефекти характерні і для аутокринного NO, синтезованого eNOS кардіоміоцитів при стимулюванні  $M_2$ -холінергічних чи  $\beta_3$ -адренергічних рецепторів (кавеоларна локалізація останніх не встановлена), чи iNOS, стимульованою цитокінами, і для паракринного NO, синтезованого тими ж двома ізоформами в ендотеліальних клітинах вінцевих судин [200, 247, 264].

Нещодавно дослідники показали, що nNOS здатна специфічним чином пригнічувати кальцієвий потік через канали L-типу за відсутності  $\beta$ -адренергічної стимуляції [191, 194, 214, 260]. Оксид азоту, синтезований конститутивними формами NOS (eNOS та nNOS) в симпатичній та парасимпатичній ланках автономної нервової системи, зменшує вивільнення норадреналіну, та потенціює ацетилхоліну, таким чином підсилюючи антиадренергічне модулювання на пресинаптичному рівні [194, 207, 214, 215, 224, 247, 264].

Існують дані, що оксид азоту модулює активність симпатичної та парасимпатичної ланок автономної нервової системи на різних рівнях. В анестезованих щурів введення L-NAME у шлуночки мозку призводить до зростання артеріального тиску та частоти серцевих скорочень, що блокується введенням атенололу. Зростання артеріального тиску є також результатом введення в шлуночки мозку та цистерну інгібіторів NOS у кроликів та щурів, цей ефект нівелюється перерізанням спинного мозку на шийному рівні [194, 207, 215, 224].

Дослідникам вдалось встановити місце розташування можливих ділянок центральної нервової системи, що відповідають за нітринергічну модуляцію симпатичної активності. Це – nucleus tractus solitarius (NTS, перша ділянка, де переключаються імпульси на аферентні волокна барорецепторного механізму) та rostral ventrolateral medulla (RVLM, кінцева ділянка симпатичної ланки в стовбурі головного мозку). У наркотизованих щурів введення N<sup>G</sup>-монометил-L-аргініну (L-NMMA) у NTS призводить до підвищення артеріального тиску та активності ренальних симпатичних нервів у барорецептор-інтактних та барорецептор-денервованих тварин. І навпаки, стимуляція утворення ендogenous оксиду азоту шляхом введення L-аргініну в NTS викликає зниження артеріального тиску і зменшення симпатичної активності [194, 224].

Незважаючи на дослідження, що демонструють можливість оксиду азоту модулювати рівень базальної активності симпатичної нервової системи, нітринергічна регуляція барорефлекторного контролю симпатичної активності залишається незрозумілою. Вчені показали, що введення інгібіторів синтаз NO безпосередньо в шлуночки мозку притомних кроликів викликає зростання активності ланцюга барорецептор–активність ренальних симпатичних нервів, тоді як донатори NO викликають його зниження. Інші дослідження, проведені на анестезованих кроликах, не показали значного впливу ендogenous NO на барорефлекторний контроль активності ні прегангліонарних (шийних), ні постгангліонарних (ниркових) симпатичних нервів [194]. Така невідповідність частково може бут пояснена відмінностями між притомними та

наркотизованими тваринними моделями та методологічними відмінностями у вивченні барорефлекторного ланцюга.

Уперше дані, що вказують на здатність NO зменшувати серцеву відповідь на симпатичну стимуляцію, були отримані в дослідях на культивованих щурячих міоцитах *in vitro*. Застосування оксигемоглобіну, метиленового синього та L-NMMA призводило до пригнічення передачі сигналу NO. Зазначені речовини викликали послаблення інотропної відповіді культури міоцитів щура на тлі  $\beta$ -адренергічної стимуляції [194, 224, 234].

Дослідження *in vivo* на культурах міоцитів показали, що саме eNOS відповідальна за пригнічення серцевої відповіді на тлі симпатичної стимуляції [194]. Очевидно, зазначений механізм реалізується через гуанілатциклазу та протеїнкіназу G та призводить до зменшення  $\beta$ -адренергічних впливів наступним чином: 1) оксид азоту через зростання кількості цГМФ стимулює фосфодіестеразу II типу, що призводить до зниження рівня цАМФ (екзогенний оксид азоту може викликати стимулювання фосфодіестерази III типу, яка призводить до протилежного ефекту - зростання цАМФ); 2) NO активує протеїнкіназу G, яка викликає з одного боку пригнічення  $Ca^{2+}$ -току через канали L-типу, а з іншого – фосфорилування тропініну-1, що призводить до зменшення чутливості кардіальних міофіламентів до  $Ca^{2+}$ . За таких умов довжина волокон у діастолу збільшується. На рівні цілого органу зазначений механізм призводить до формування діастолічного резерву і стає частиною механізму Франка-Старлінга – збільшення переднавантаження через збільшення розтягнення кардіоміоцитів. Саме цей позитивний вплив оксиду азоту лежить в основі компенсації втрачених інотропних можливостей на початкових стадіях серцевої недостатності [98, 225, 230]. Окрім того, NO здатний пригнічувати потенціал-чутливі кальцієві канали L-типу, зменшуючи таким чином вхідний кальцієвий тік, що бере участь у відповіді на адренергічну стимуляцію. Це зменшує тривалість кардіального потенціалу дії та доступ до «тріггерного кальцію», що є основним у поєднанні збудження зі скороченням [194].

Наступним механізмом обумовленого оксидом азоту пригнічення серцевої відповіді на симпатичну стимуляцію може бути зменшення пресинаптичного вивільнення норадреналіну в симпатичних нервових терміналях. У серцях інтактних щурів інгібітори NOS посилюють, тоді як донатори NO послаблюють, вивільнення норадреналіну в серці на тлі стимуляції симпатичної нервової системи. Дослідники прийшли до висновку, що відповідальним за ці ефекти є нейрональний NO. Адже на тлі хімічного пошкодження ендотелію вплив N<sup>G</sup>-нітро-L-аргініну (L-NNA) на вивільнення норадреналіну зберігався [98, 191, 194, 215].

Вважається, що існує постсинаптичний зв'язок між оксидом азоту та норадреналіном, адже L-NAME більшою мірою посилює вазоконстрикцію, викликану норадреналіном, ніж ангіотензином II. На додаток до постсинаптичної дії з'явилися дані додаткового пресинаптичного інгібіторного впливу оксиду азоту: екзогенний NO зменшує вихід радіоактивно міченого норадреналіну в легневих судинах та мезентеріальних судинах собак під час трансмуральної нервової стимуляції [194, 225, 230].

Отже, оксид азоту зменшує вазоконстрикцію судин на тлі симпатичної стимуляції не лише як вазодилататор, а й шляхом інгібування норадреналінової трансмісії в симпатичній ланці автономної нервової системи на пре- та постгангліонарному рівнях.

На сьогоднішній день надзвичайно мало літературних даних щодо впливу NO на вагусний контроль серця. Відсутня інформація про можливу зміну активності еферентної ланки вагуса на тлі системного чи центрального (ін'єкції в ЦНС) застосування донаторів та блокаторів синтезу оксиду азоту. Серед доведеного варто звернути увагу на те, що оксиду азоту може модулювати мускаринову активність («прямий» вагусний ефект) та мускариновий антагонізм нервового контролю серця симпатичної ланки автономної нервової системи («непрямий» вагусний ефект) [194, 207, 214, 215, 240, 246, 264].

Дослідження впливу оксиду азоту на вагусну частину барорефлекторного ланцюга показують, що гостре введення інгібіторів NOS посилює чутливість рефлексу барорецептори–серцевий ритм. Так, у притомних щурів інтравенозне

введення L-NAME (а у інших дослідженнях L-NNA) викликає посилення чутливості рефлексу барорецептори–серцевий ритм. Зазначений ефект нівелюється інфузією натрію нітропрусиду, тоді як атропін запобігає зростанню чутливості барорефлекторного контролю. Отже, NO чинить важливий вплив на артеріальний барорефлекторний контроль серцевого ритму, зменшуючи чутливість рефлекторного ланцюга. Інші дослідники показали відсутність змін чутливості рефлексу барорецептор–серцевий ритм на тлі гострої інфузії L-аргініну чи L-NMMA у анестезованих кролів, що може бути результатом дії анестетика. На відміну від гострого інгібування NOS, хронічне пероральне введення L-NAME щурам у більшості досліджень призводило до зменшення чутливості рефлексу барорецептор–серцевий ритм [191, 194].

Точне знаходження місця у ЦНС, що обумовлює інгібіторний вплив NO на барорецепторний механізм, залишається не встановленим. Виявилось, що NO підвищує активність нейронів NTS у відповідь на відповідний рівень барорецепторної аферентної стимуляції, створюючи таким чином унікальне місце для нітрергічного інгібування барорецепторних впливів, а також підсилює активність нейронів у межах дорзального рухового ядра вагуса. Останнє було продемонстровано безпосередньо виміряним зростанням рівня електричного заряду мотонейронів, спричиненого введенням донаторів оксиду азоту та L-аргініну *in vitro* [194, 215]. Зменшення оксидом азоту чутливості барорефлекторного ланцюга пов'язують головним чином з nNOS. Нещодавні дослідження показали, що стимуляція eNOS у нейронах NTS посилює гольмівні ГАМК-ергічні впливи, які пригнічують вагусні серцеві барорефлекси [215].

Згідно даних літератури NO здатний впливати на пейсмейкерні клітини та посилювати брадикардію, спричинену стимуляцією правого блукаючого нерва [246]. У подальших дослідженнях на ізольованих предсердно-вагусних препаратах дорослих гвінейських свинок було доведено, що блокатори nNOS зменшують серцеву відповідь на електричну стимуляцію *n.vagus*, а донатори синтезу NO та аналоги цГМФ навпаки – посилюють брадикардію [214].

Більшість дослідників вважає, що nNOS відіграє провідну роль у автономному контролі серцевого ритму. Генетична делеція чи селективне

інгібування саме nNOS призводить до зменшення вагусного пригнічення серцевого ритму, зменшення його варіабельності. Методом радіоактивного мічення синаптичних холінергічних везикул було показано, що оксид азоту посилює вивільнення ацетилхоліну при стимуляції передсердь через механізм прямого вагусного впливу холінергічної ланки автономної нервової системи [215].

Результати фармакологічних досліджень вказують на наявність впливу базальної активності пресинаптичної системи цАМФ-протеїнкінази А на вивільнення нейротрансмітерів, що контролюється N- та P-типами кальцієвих каналів. Підсилення вивільнення ацетилхоліну, очевидно, пов'язано зі стимуляцією оксидом азоту (синтезованим nNOS) розчинної гуанілатциклази та підвищенням рівня внутрішньоклітинного цГМФ, що зумовлює інгібування фосфодіестерази-3 та зростання цАМФ- та PKA-залежного фосфорилування кальцієвих каналів N-типу. Зазначені механізми забезпечують підтримку ефекту посилення вагусної передачі під впливом nNOS на пресинаптичному рівні, особливо в серцевих гангліях, де експресія цієї ізоформи є найбільш вираженою [191, 194, 207, 214, 225, 230].

Важливим компонентом впливу парасимпатичної нервової системи на серце вважається інгібування  $\beta$ -адренергічної відповіді та навпаки. Це явище отримало назву «непрямого вагусного ефекту» на серце чи «акцентуйованого антагонізму» та є результатом перехресних адренергічно-холінергічних впливів. Останні пов'язані зі змінами стану постсинаптичної мембрани пейсмейкерних клітин. Аналіз літературних джерел показує, що eNOS модулює відповідь на стимуляцію холінергічних мускаринових рецепторів саме на постсинаптичному рівні кардіоміоцитів. Механізм впливу NO на непрямі вагусні ефекти залишається недостатньо вивченим, хоча можна думати про певну роль цГМФ-залежного пригнічення потоку  $\text{Ca}^{2+}$  фосфодіестеразою II типу, яка в свою чергу призводить до розщеплення цГМФ після  $\beta$ -адренергічної стимуляції. Це підтверджено проведеними *in vitro* на ізольованих клітинах синоатріального вузла кроликів дослідженнями, які показали, що застосування

NOS-інгібіторів запобігає холінергічному пригніченню посиленого симпатичними впливами  $I_{Ca}$  [194, 214].

Останнім часом у дослідженнях причин розвитку та прогресування серцево-судинних захворювань увага дослідників прикута до асиметричного диметиларгініну (АДМА), підвищення рівня якого вважають новим маркером та фактором ризику появи ендотеліальної дисфункції. Походження АДМА остаточно не встановлено. Існує гіпотеза, що даний субстрат є результатом метилювання внутрішніх залишків аргініну протеїнметилазою I [98, 121, 186].

Дані експериментальних та клінічних досліджень підтверджують, що ферментативна активність ендотеліальної синтази оксиду азоту регулюється співвідношенням концентрації L-аргініну (ендогенного субстрату синтезу оксиду азоту) та концентрації АДМА (ендогенного інгібітора синтезу NO). Фізіологічна регуляція здійснюється таким чином, що за звичайного рівня L-аргініну будь-яке підвищення концентрації АДМА може стати причиною відносного дефіциту субстрату на тлі збереження оптимальної активності синтази NO. Навіть невеликі зміни рівня циркулюючого АДМА суттєво впливають на продукцію NO, судинний тонус та системний судинний опір. Оскільки АДМА є конкурентним інгібітором eNOS, його пригнічуючий синтез оксиду азоту ефект купується підвищенням концентрації основного субстрату – L-аргініну. Тому додаткове введення зазначеної амінокислоти сприяє відновленню фізіологічного стану синтезу NO, шляхом нормалізації співвідношення L-аргінін–АДМА. Підвищений рівень АДМА може пояснити «аргініновий парадокс» – факт покращення *in vivo* NO-опосередкованих судинних функцій за застосування екзогенного L-аргініну, незважаючи на концентрацію останнього, що в 25 разів перевищує константу Міхаеліса ізольованої очищеної eNOS *in vitro* [118, 120, 121, 186].

Підвищений рівень АДМА спостерігається при гіперхолестеринемії, гіпергомоцистеїнемії, цукровому діабеті, облітеруючих захворюваннях периферичних артерій, артеріальній гіпертензії, хронічній серцевій недостатності, ішемічній хворобі серця (ІХС), гестаційній гіпертензії та

пreekлампсії, еректильній дисфункції [14, 21, 33, 37, 44, 46, 47, 54, 57, 98, 121, 186].

Існують відомості, що естрогени впливають на метаболізм та вивільнення АДМА. В одному з досліджень було продемонстровано зниження рівня циркулюючого АДМА на тлі проведення естрогензамісної терапії в жінок постменопаузального віку. Окрім того, естрогени зменшують вивільнення АДМА з ендотеліальних клітин та стимулюють активність диметиларгініндиметиламіногідролази – ензиму, який метаболізує АДМА (у дослідях *in vivo*) [118].

Отже, NO – це універсальний внутрішньоклітинний месенджер у багатьох системах і автономна нервова система серця не є виключенням. Існують чіткі гістохімічні свідчення присутності синтаз оксиду азоту в нейронах автономної нервової системи серця. Оскільки оксид азоту може посилювати вагусні та зменшувати симпатичні впливи на серцево-судинну систему, то модулювання системи NO/цГМФ – це новий аспект терапевтичного впливу при певних патологічних станах, таких як вроджена серцева недостатність та інфаркт міокарда, коли на рівень смертності та ризик виникнення аритмій можна впливати шляхом корекції автономної дисфункції.

1.2. Роль дефіциту жіночих та чоловічих статевих гормонів у розвитку серцево-судинної патології

У загальній структурі смертності країн Європи та Північної Америки питома вага серцево-судинних захворювань становить 40-50 %, а в Україні – більше 65 %. Щорічно в нашій країні від зазначеної патології помирає близько 500 тисяч осіб. За даними Американської колегії кардіологів за період з 1995 по 2005 рік смертність від хвороб органів кровообігу у США, як і в економічно розвинувених країнах Європи, знизилась на 26,4 %, тоді як в Україні за період 1995-2009 років даний показник зріс на 14,5 % [48].

У структурі смертності патологія серцево-судинної системи у жінок становить 55 %, а у чоловіків – 43 %. У 50 % випадків жінка може померти від



першої коронарної події, а в 38 % - помирає протягом першого року, тоді як у чоловіків ці цифри значно нижчі та становлять 30 і 25 % відповідно [26, 28, 29]. Після перенесеного інфаркту міокарда 46 % жінок стають непрацездатними в результаті виникнення серцевої недостатності, у чоловіків цей показник становить лише 22 % [29]. ІХС у жінок виникає в середньому на 10-15 років пізніше, ніж у чоловіків. На сьогоднішній день це пояснюють кардіопротективною дією жіночих статевих гормонів, переважно естрогенів, в пременопаузальному періоді. Непрямим доказом цієї гіпотези є те, що у жінок після овари- та/чи гістеректомії (передчасна хірургічна менопауза) у 7 разів збільшується ризик виникнення інфаркту міокарда і вдвічі підвищується рівень смертності від серцево-судинних захворювань [ 2, 43, 51, 65, 77, 101, 108, 112, 119, 133, 135, 136, 141, 174, 210, 235, 236].

Незважаючи на високу захворюваність на ІХС, гіпертонічну хворобу, роль дефіциту андрогенів у виникненні та перебігу кардіальної патології у чоловіків досліджена надзвичайно мало. Епідеміологічні дослідження засвідчують збільшення частоти виникнення серцево-судинних захворювань з віком у осіб чоловічої статі, одночасно відмічається і паралельне зниження вироблення андрогенів. Відомо, що низький рівень тестостерону, вираженість атеросклерозу та прогресування серцево-судинної патології тісно пов'язані між собою [21, 26, 32, 46, 49, 170, 171, 184, 217, 218, 220, 237].

Сучасні уявлення про механізми виникнення клімактеричних розладів ґрунтуються на фундаментальному положенні вікового послаблення ендокринної функції яєчників та пов'язаного з ним прогресуючого зниження продукції естрогенів, а відповідно, зменшенням впливу цих гормонів на організми. Особливої уваги заслуговує хірургічна менопауза, при якій ендокринна перебудова організму проходить у менші терміни та часто супроводжується більш швидкими та вираженими порушеннями здоров'я. Розвиткові гіпогонадізму сприяє також порушення гормональної функції яєчників внаслідок хронічних запальних процесів та впливу радіоактивного випромінювання [28, 58, 65, 71, 87, 108, 112, 116, 119, 252, 253, 261].

Збільшення ризику серцево-судинних захворювань у період природної чи хірургічно індукованої менопаузи обумовлено кількома групами факторів, які можна розділити на метаболічні та неметаболічні впливи. До перших відносять зміни ліпідного обміну, метаболізму інсуліну та вуглеводів, а також гемостазу і фібринолізу, до других – ендотеліальну дисфункцію, зміни функції серця та гемодинаміки [112, 115, 116, 117, 119, 122, 125, 132, 133, 134, 135].

Відомо, що ефекти естрогенів реалізуються через специфічні до них рецептори двох типів –  $\alpha$ - та  $\beta$ -. Вони активуються шляхом зв'язування з естрогенами, проте можуть активуватися і фактором росту при нестачі статевих стероїдів. Останній механізм активації притаманний жінкам після оваріектомії чи в постменопаузальному періоді, коли концентрація естрогенів у сироватці крові низька [69, 116, 125, 126, 232].

Ендотеліальним та гладком'язовим клітинам судин притаманна висока спорідненість до естрогенів.  $\alpha$ -естрогенові рецептори локалізовані у зазначених вище структурах судин і у чоловіків, і у жінок, так само як і в клітинах міокарда. Проте рівні експресії  $\alpha$ - та  $\beta$ -естрогенових рецепторів у різних судинних ложах у здорових чоловіків та жінок, а також у осіб із судинною патологією, залишаються не з'ясованими [188, 235, 236, 242, 252].

Одне з досліджень за участю жінок пременопаузального періоду показало, що у жінок з атеросклеротичним ураженням коронарних артерій кількість  $\alpha$ -рецепторів менша, ніж у осіб з нормальними вінцевими судинами, і зменшується в період постменопаузи. При цьому не встановлено, що є первинним: зниження кількості рецепторів до естрогенів чи розвиток атеросклеротичного ураження [228, 233].

$\beta$ -естрогенові рецептори розміщені у людських артеріях та венах, так само як і в кровоносних судинах звичайних мишей та щурів, а також мишей з видаленими генами  $\alpha$ -естрогенових рецепторів. Функціонуючі  $\beta$ -естрогенові рецептори присутні в міокардіальних клітинах, де вони регулюють експресію синтази оксиду азоту [221, 226, 227, 228, 229, 235]. Необхідно зазначити, що естрогени продовжують здійснювати захист від пошкодження навіть у мишей з видаленими генами цих структур, а експресія  $\beta$ -естрогенових рецепторів (але не

α-) стимулюється після пошкодження судин у самців-щурів [228]. Це свідчить з одного боку проте, що кожен з двох відомих типів естрогенових рецепторів достатній для захисту від пошкодження судин, а з іншого вказує на втягнення невідомого шляху передачі сигналу [228, 243].

На сьогоднішній день серце та судинне русло, як і органи репродуктивної системи, кістки, печінка та мозок, визнано важливими мішенями дії естрогенів. Вони здатні впливати на обмін ліпідів та ліпопротеїнів, антиоксидантну систему, гемостаз, обмін глюкози та інсуліну, а також на продукцію деяких вазоактивних молекул, таких як оксид азоту, простагландини [125, 126, 231, 232].

У багатьох дослідженнях було задокументовано, що при лікуванні естрогенами постменопаузальних жінок знижується рівень загального холестерину плазми та ліпопротеїнів низької густини, зростає вміст ліпопротеїнів високої густини та тригліцеридів, С-реактивного білка [2, 8, 15, 126, 219, 227, 235, 236, 243, 253, 261].

17β-естрадіол *in vitro* проявляє й антиоксидантні властивості. У близьких до фізіологічної концентраціях він пригнічує *ex vivo* оксидацію ліпопротеїнів низької густини. Цей ефект пов'язаний з опосередкованими через естрогенові рецептори змінами в експресії генів ензимів, які регулюють локальну продукцію та деградацію супероксиду [120, 126, 168, 175, 232]. Описане вище показує, що естрогени пригнічують розвиток атеросклерозу, який є головною причиною ІХС та некрозу міокарда.

Естрогени через свої рецептори також впливають і на експресію генів, що кодують синтез білків коагуляції та фібринолізу. Ці ефекти слід віднести до негативних впливів на серцево-судинну систему. Адже естрогени, підвищуючи рівень протромбіну та зменшуючи антитромбіну III, сприяють таким чином підвищенню ризику венозних тромбоемболій [28, 122, 126, 169].

Деякі дослідження вказують на наявність впливу статевих стероїдів на ниркові механізми контролю артеріального тиску, зокрема на ренін-ангіотензинову систему. Так, естрадіол інгібує вивільнення ангіотензину та

ангіотензинконвертуючого ензиму, запобігаючи появі ангіоспазму та зменшуючи ризик виникнення серцево-судинних подій [208].

Естрогени викликають короточасну вазодилатацію естрогензалежним та естрогеннезалежним шляхами через так звані негеномні механізми. Останні належать до швидких вазодилаторних ефектів, що реалізуються шляхом впливу на роботу іонних каналів чи систему оксиду азоту [28, 126, 229].

Естрогени інгібують входження позаклітинного кальцію в гладком'язові клітини шляхом впливу на потенціалзалежні T- та L-тип кальцієвих каналів, що призводить до гіперполяризації мембрани, а відповідно – послаблення серцевої та судинної скоротливості. Естрадіол також послаблює скоротливу відповідь на дію ангіотензину II та норадреналіну – агентів, які підвищують вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  з внутрішньоклітинних депо [28, 132, 133].

В інтактних самок щурів іберіотоксин, блокатор  $\text{Ca}^{2+}$ -залежних калієвих каналів, викликає сильнішу вазоконстрикцію коронарних артерій, ніж у гонадектомованих, з огляду на стимуляцію зазначених каналів при наявності естрадіолу [195]. Це є доказом здатності естрадіолу підвищувати продукцію/вивільнення та біодоступність оксиду азоту, що призводить в свою чергу до збільшення циклічного гуанозинмонофосфату та наступної активації протеїнкінази G, яка і забезпечує фосфорилування та стимуляцію  $\text{Ca}^{2+}$ -залежних калієвих каналів [176, 229].

Естрогени здатні посилювати експресію ендотеліальної синтази оксиду азоту без впливу на геном клітини [28, 31, 33, 126, 242]. Зв'язуючись зі своїми рецепторами, естрогени збільшують утворення інозитолтрифосфату, який у свою чергу посилює вивільнення кальцію з ендоплазматичного ретикулуму.  $\text{Ca}^{2+}$  формує комплекс з кальмодуліном, активуючи таким чином конститутивні форми синтаз оксиду азоту. Підтвердженням наявності описаного механізму є зменшення синтезу оксиду азоту в ендотеліальних клітинах за застосування специфічних антагоністів естрогенових рецепторів [231, 250, 252].

Естрадіол також посилює регенерацію ендотеліальних клітин та впливає на ангіогенез. У дослідях *in vivo* та *in vitro* показано, що естрадіол посилює неоваскуляризацію шляхом підвищення міграції, проліферації та диференціації

ендотеліальних клітин судин. Він також стимулює продукцію фактору росту фібробластів, судинного фактору росту та фактору некрозу пухлин. Естрогени викликають швидку вінцеву вазодилатацію *ex vivo* та *in vivo* у оварієктомованих годованих холестерином приматів та інших тварин [133, 228]. Відновлення фізіологічного рівня жіночих статевих гормонів також підсилює ацетилхолінову вазодилатацію плечових та коронарних артерій у пері- та постменопаузальних жінок [126].

Естрогени викликають підвищення експресії генів, що кодують одні з найважливіших вазодилаторних ензимів, таких як синтаза простагліцину та синтаза оксиду азоту [126, 248]. Ці гормони здатні також підвищувати і біодоступність оксиду азоту в судинах шляхом посилення експресії гена індукційної синтази оксиду азоту. Руйнування гену  $\alpha$ -рецепторів до естрогенів у мишей призводить до зниження рівня оксиду азоту [229].

Існування естрогенових рецепторів в міокарді було неодноразово доведено та підтверджено, проте їх біологічна роль на сьогоднішній день залишається не повністю з'ясовано [28, 108, 203, 217, 227]. Відомо, що естрогени здатні впливати на провідну систему серця, подібно до антагоністів кальцію групи верапамілу, відома також здатність цих стероїдів сповільнювати апоптоз кардіоміоцитів, регулювати функцію мітохондрій та проявляти протизапальну активність [126, 175, 196, 222, 226]. Структурою естрогени подібні до дигіталісу, тому, взаємодіючи з рецепторами останнього, здатні чинити позитивний іотропний вплив [126].

Естрогени також беруть участь у підтримці симпато-парасимпатичного балансу функціонування автономної нервової системи. Доказом впливу естрогенів на симпатичну її ланку є зниження активності тирозингідроксилази – ензиму, що бере участь у синтезі катехоламінів. Експериментально доведено здатність естрогенів збільшувати щільність та чутливість  $\alpha_2$ -адренорецепторів. У клінічних дослідженнях було показано, що в жінок менопаузального віку значно вищі рівні норадреналіну в крові порівняно з пацієнтками репродуктивного періоду. Окрім того, у перших більше виражене стресіндуковане підвищення норадреналіну, що нівелюється на фоні лікування

естрадіолом [41, 134]. В експериментальних роботах продемонстровано зв'язок між гормональним станом та щільністю  $\beta$ -адренергічних рецепторів. Показано, що в умовах естрогенодефіциту підвищується кількість  $\beta$ -адренорецепторів у міокарді. Це, в свою чергу, призводить до більш вираженого негативного хронотропного ефекту від застосування  $\beta$ -адреноблокаторів у жінок з таким станом [29, 241, 259]. Свідченням впливу естрогенів на парасимпатичну ланку АНС є зниження кількості ацетилхоліну та активності ацетилхолінтрансферази після оваріектомії та підвищення після корекції естрогенами. Лікування естрогенами також посилює гальмівні впливи блукаючого нерва на вивільнення норадреналіну в експерименті [41, 126, 176, 190].

Прогестерон, як і естрадіол, реалізує свої ефекти, шляхом зв'язування зі специфічними рецепторами типу А та В. Необхідно зазначити, що ці форми по-різному активують експресію генів, залежно від типу тканини, де вони розташовані, та субстрату. При цьому А-прогестеронові рецептори можуть пригнічувати ефекти В-прогестеронових рецепторів. У зв'язку з цим, зміна співвідношення рецепторів типу А та В призводить до різних біологічних ефектів цього гормону. Експериментально виявлено, що зазначене співвідношення у жінок змінюється залежно від фази менструального циклу. Кількість рецепторів до прогестерону в серцево-судинній системі модулюється естрогеном. З огляду на це, доцільним вважається вивчення ефектів прогестерону лише в комбінації з естрогеновими впливами. Відомо, що прогестерон пригнічує викликану естрадіолом ендотелій-залежну вазодилатацію. Зазначене визначає ефективність первинної профілактики розвитку ІХС та доводить необхідність застосування не естрогено-, а комбінованої естроген/прогестин замісної гормонотерапії [28, 40, 70, 82, 236, 238, 243, 250, 252, 253].

Літературних даних про наслідки дефіциту андрогенів у жінок надзвичайно мало. Більшість досліджень ролі чоловічих статевих стероїдів у жіночому організмі присвячені полікістозу яєчників та супутньої гіперандрогенемії. Грунтуючись на факті підвищення рівня андрогенів на тлі зазначеного захворювання, їм приписують цілу низку негативних метаболічних

ефектів, які, як відомо на сьогоднішній день, зумовлені гіперінсулінемією. Найрозповсюдженішими причинами андрогенної недостатності у жінок є хірургічне видалення яєчників та старіння [68, 180]. Білатеральна овариєктомія призводить не лише до різкого зменшення рівня статевих гормонів у крові, а й до якісних змін. Основним естрогеном, що циркулює у крові оперованих жінок, стає естрон [77]. Останній утворюється в результаті периферичної конверсії (в печінці, жировій тканині, шкірі) андростендіону, синтезованого корою наднирників. У жировій тканині ці процеси можуть посилюватися з огляду на стимуляцію активності ароматази жирових клітин підвищеним рівнем фолікулостимулюючого гормону, кількість якого після гонадектомії зростає у 10-15 разів [74, 77, 86, 119, 142]. Встановлено, що в жінок репродуктивного віку 25 % тестостерону синтезується в корі наднирників, 50 % утворюється в наслідок периферичної конверсії з інших стероїдних попередників і 25 % виробляється яєчниками. Останні продукують близько 50 % андростендіону та 10 % дегідроепіандростендіону. Білатеральна овариєктомія, проведена до настання природної менопаузи, призводить до зниження циркулюючих андрогенів у середньому на 50 %. Зниження рівня тестостерону в основному обумовлено падінням рівня андростендіону [77].

Розглянемо тепер проблему дефіциту статевих гормонів та серцево-судинних захворювань у чоловіків. Найвищий рівень тестостерону у чоловіків відмічається в 25-30 років, після чого він починає знижуватися на 1-3 % за рік. У 80-річному віці середній рівень загального тестостерону знижується на 40 % порівняно з 20-річними, а вільного – аж на 80 %. На сьогоднішній день для визначення стану зниженої продукції андрогенів найкоректнішим вважається застосовувати термін, запропонований робочою групою Австрійського урологічного товариства, – синдром PADAM – часткова андрогенна недостатність у чоловіків похилого віку або ж віковий гіпогонадізм [32, 38, 46, 49].

Частка набутого дефіциту тестостерону у чоловічій популяції становить близько 7 %, збільшуючись до 20 % у осіб, старших 60 років. Вік виникнення нестачі андрогенів обумовлений конституційно, проте суттєвий внесок

належить тяжким соматичним захворюванням, які пришвидшують час настання гіпогонадизму. Серед них основне значення належить артеріальній гіпертензії, ІХС, цукровому діабету та хронічним обструктивним захворюванням легень [14, 46, 49, 142]. Ще в 1930 році було показано, що гіпертонічна хвороба частіше виникає у чоловіків зі зниженою статевою функцією, а лікування тестостероном сприяє вираженому гіпотензивному ефекту [171, 261].

На сьогоднішній день доведено, що у чоловіків з коронарним атеросклерозом достовірно нижчий рівень вільного тестостерону, а його концентрація в крові знаходиться у зворотньому співвідношенні зі збільшенням товщини «інтима-медіа» сонної артерії [46]. Згідно з даними інших літературних джерел, гіпогонадизм діагностується у кожного четвертого чоловіка, хворого на інфаркт міокарда, і зазначений «тандем» асоціюється з гіршим прогнозом захворювання [21, 26, 32].

Окрім того, у чоловіків, які страждають на гіпертонічну хворобу, ІХС та цукровий діабет, вміст тестостерону на 10-15 % нижчий, ніж у здорових осіб, не зважаючи на те, що швидкість зниження концентрації стероїду однакова. Це пов'язано зі зменшенням кількості клітин Лейдіга, що обумовлено погіршенням забезпечення кров'ю тестикулярної тканини, а також зменшенням на їх поверхні рецепторів до лютеїнізуючого гормону та їх десенситизація, підвищеною ароматизацією тестостерону в естрадіол в жировій тканині. Описане доводить наявність порушення в даному випадку зворотнього зв'язку регуляції гіпоталамо-гіпофізарно-гонадної осі [46].

Чільне місце у виникненні андрогенодефіциту на тлі хронічних захворювань займають і лікарські препарати. Наприклад, відомий усім та широко розповсюджений атенолол викликає погіршення сексуальної активності. Одним із можливих механізмів виникнення сексуальних розладів при застосуванні бета-адреноблокаторів є пригнічення симпатичної нервової системи, яка бере участь у виникненні ерекції, емісії та еякуляції, в регуляції секреції лютеїнізуючого гормону та стимуляції вироблення тестостерону. З іншого боку, в одному з досліджень було продемонстровано, що анаприлін та атенолол значно знижували плазменні рівні тестостерону та підвищували



концентрацію тригліцеридів. Виникненню гіпогонадізму сприяє застосування й інших медикаментозних середників, зокрема, інгібіторів ангіотензинконвертуючого ферменту, системні стероїди, спіронолактон, циметидин, опіати [89, 99, 125, 172].

Біологічна дія тестостерону визначається не лише його абсолютним значенням в крові, а й рівнем чутливості тканин, органів-мішеней. Окрім зниження рівня вільного тестостерону з віком спостерігається зростання концентрації зв'язуючого статеві стероїди глобуліну, останньому належить додатковий внесок у зниженні біодоступної фракції тестостерону [46, 99].

Узагальнюючи літературні дані Дедов І.І. та Калінченко С.Ю. у своїй фундаментальній монографії константували, що низький рівень тестостерону в чоловіків необхідно розглядати як один із компонентів метаболічного синдрому, який є одним із основних факторів ризику серцево-судинної патології [46].

Отже, в статевому аспекті роль андрогенів є неоднозначною. Гіпоандрогенемія у чоловіків та гіперандрогенемія у жінок збільшують ризик виникнення коронарної хвороби серця та асоціюються з вісцеральним ожирінням, резистентністю до інсуліну, зменшенням рівня ліпопротеїдів високої густини, збільшенням рівня тригліцеридів, ліпопротеїдів низької густини та активатора плазміногену [170, 180, 184, 237]. У чоловіків кардіо- та вазопротекторні ефекти андрогенів реалізуються шляхом впливу на систему гемостазу. Андрогени знижують рівень фібриногену та підвищують кількість антитромбіну III, що було доведено у дослідженнях із залученням чоловіків з лабораторно підтвердженим гіпогонадізмом. Поряд із цим, ряд дослідників вказують на наявність у тестостерону проагрегаційних властивостей відносно тромбоцитів, які реалізуються через зниження активності циклооксигенази, і в результаті – зниження антиагрегаційних ефектів простагландинів [46]. Роль тестостерону є неоднозначною [46, 180, 184]. Йому притаманний антицитокініновий ефект, він пригнічує активацію запалення, інгібує формування атероми [32, 89, 237]. Крім того, тестостерон перешкоджає реалізації механізмів скорочення гладком'язових клітин за участі  $Ca^{2+}$  і

білкових кіназ. У цілому, тестостерон активує ендотелій та інгібує механізми скорочення гладком'язових клітин міокарда [46, 89, 126].

На сьогоднішній день існують суперечливі дані про вплив жіночих статевих гормонів на серцеву діяльність чоловіків. Відмічається ріст смертності від гострих форм ІХС та тромбоемболічних ускладнень у чоловіків, які отримують естрогени з приводу раку простати. Деякі автори звертають увагу на підвищення рівня сироваткових естрогенів при інфаркті міокарда та стенокардії як у чоловіків, так і в жінок менопаузального періоду. Зазначене вище свідчить про відсутність чіткої межі між адаптивним та патологічним значенням збільшення рівня статевих гормонів у патогенезі серцево-судинної патології [72].

Нещодавно були отримані дані стосовно здатності прогестерону та естрогенів активувати протеїни теплового шоку, яким притаманна кардіопротективна роль. У тестостерону такого ефекту виявлено не було. Проте, необхідно зазначити, що андрогени – це основне джерело естрогенів у чоловічому організмі, і гіпоандрогенія має наслідком зниження вмісту естрогенів, а як результат – зниження кардіопротекції у чоловіків з дефіцитом статевих гормонів [46].

Отже, існуючі на сьогоднішній день дослідження доводять важливість контролю серця автономною нервовою системою, а також роль оксиду азоту та статевих стероїдів у модулюванні активності її різних ланок, хоча механізми остаточно не з'ясовано. Існує критична недостатність базових знань щодо впливу як фізіологічного рівня, так і дефіциту статевих гормонів, більшою мірою чоловічих, на серцево-судинну систему. Крім того, гендерний/статевий аналіз ефектів від застосування тих чи інших медикаментозних середників, нажаль, не проводиться, а відтак, і не використовується на практиці. Це стосується й прекурсора (L-аргініну) та блокатора (L-NAME) синтезу оксиду азоту. Взагалі відсутні літературні дані стосовно регуляції серця автономною нервовою системою при зміні активності системи оксиду азоту на тлі збереження та видалення гонад. Зазначене обумовлює актуальність проведення досліджень у цьому напрямку.

## РОЗДІЛ 2

### ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1. Відбір і групування тварин для дослідження

Для вивчення впливу дефіциту статевих гормонів на холінергічну регуляцію діяльності серця за зміненої активності системи оксиду азоту дослідження проводили на білих лабораторних статевозрілих самцях та самках щурів з масою тіла 180-210 г та віком 4-6 місяців, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Для виконання роботи було використано 245 тварин, з них 106 самців (♂) та 139 самок (♀).

Усі експерименти та евтаназію щурів проводили відповідно до „Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) [56] та узгоджених з положеннями “Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (Страсбург, 1986) [205], Комісією з питань біоетики Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського.

Піддослідних тварин розподілили на 6 груп: I – інтактні; II – тварини зі збереженими статевими залозами, яким вводили L-аргінін; III – тварини зі збереженими статевими залозами, яким вводили N-нітро-L-аргінін метиловий ефір; IV – гонадектомовані; V – гонадектомовані, яким вводили L-аргінін; VI – гонадектомовані, яким вводили N-нітро-L-аргінін метиловий ефір. У кожній з груп виділяли підгрупи, залежно від статі.

#### 2.2. Опис експериментальної моделі

В якості експериментальної моделі було використано гонадектомованих тварин. Видалення статевих залоз у щурів обох статей проводили за методикою [66] з використанням кетамінового наркозу (80 мг/кг маси). У самців кастрація полягала у видаленні обох сім'яників. Попередньо звільнену від шерсті та

оброблену 5 % спиртовим розчином йоду шкіру калитки покривали стерильною серветкою з розрізом для операційного поля. Шкіру калитки відсепаровували від піхви оболонки сім'яника, а останній з оболонками витискали в розріз. Захопивши пінцетом піхвову оболонку, робили невеликий розріз і витискали сім'яник на стерильну марлю. Шовкову нитку підводили під проксимальну частину сім'яного канатика з оточуючими оболонками та перев'язували до повного перетискання судин, після чого ножицями перерізували сім'яний канатик, видаляючи при цьому сім'яник. Перев'язаний кінець заправляли в калитку. Аналогічно видаляли другий сім'яник. Після чого шкіру калитки зшивали шовковою ниткою суцільним швом і обробляли спиртовим розчином йоду. Тварину утримували в звичайних умовах. Загоєння рани відбувалося через кілька днів.

Методика гонадектомії самок включала видалення обох яєчників (оварієктомія в операційному доступі зі спини). У поперековій ділянці голили шкіру та обробляли спиртовим розчином йоду, після чого покривали стерильною серветкою з розрізом для операційного поля. Розріз шкіри довжиною 1-1,5 см робили вздовж хребта. Відтягнувши з одного боку край шкірного розрізу, пінцетом захоплювали тканину над яєчником в місці найтоншого м'язового шару (де просвічувався жир). Гострим кінцем іншого пінцету проколювали мінімальний отвір і витягували захоплений сальник з яєчником, яйцеводом і верхньою частиною рога матки. На ріг матки з оточуючим жиром міцно накладали шовкову лігатуру, не торкаючись яєчника. Після чого відрізували яєчник з яйцеводом і верхньою частиною рога матки, та кінці ниток. Отвір у м'язовій стінці зашивали одним швом. Аналогічну маніпуляцію здійснювали з протилежного боку. Шкірний розріз зашивали шовковими нитками та обробляли спиртовим розчином йоду. Тварину утримували в звичайних умовах. Рана загоювалась через кілька днів.

Експерименти на гонадектомованих тваринах проводили не раніше, ніж через 4 тижні після видалення статевих залоз. Зазначений термін згідно літературних даних потрібен для виникнення значного дефіциту статевих гормонів та розвитку гормонального дисбалансу [163].

### 2.3. Зміна функціональної активності системи оксиду азоту

Активність системи оксиду азоту змінювали шляхом застосування попередника та блокатора синтезу NO.

Прекурсор синтезу оксиду азоту L-аргінін ("Sigma", США) вводили в черевну порожнину з розрахунку 600 мг/кг і наступні дослідження проводили через 30 хвилин після ін'єкції [158].

N-нітро-L-аргінін метиловий ефір (Acros Organics, Бельгія), який є неселективним блокатором синтаз оксиду азоту і проявляє меншу активність стосовно iNOS порівняно з конститутивними ізоформами [194]), вводили в черевну порожнину з розрахунку 25 мг/кг [251], основні дослідження починали через 30 хвилин після цього.

### 2.4. Дослідження холінергічної регуляції діяльності серця

Для вивчення особливостей холінергічної регуляції серцевої діяльності в умовах дефіциту статевих гормонів та зміненої активності системи оксиду азоту застосували методи, що дозволили оцінити ступінь холінергічного контролю роботи серця з боку автономної нервової системи, чутливість міокардіальних холінорецепторів та метаболізм ацетилхоліну.

2.4.1. Математичний аналіз серцевого ритму. Математичний аналіз варіабельності серцевого ритму є класичною методикою оцінки співвідношення впливу симпатичної та парасимпатичної ланок АНС на функціональний стан синусового вузла [1, 3, 4, 9]. Електрокардіограму (ЕКГ) реєстрували у II стандартному відведенні при швидкості руху стрічки 50 мм/с за допомогою комп'ютерного кардіографу «Кардіолаб SE+» (виробництво ХАІ «Медика») у попередньо наркотизованих тіопенталом натрію (40 мг/кг) щурів. За допомогою комп'ютерного комплексу «Кардіолаб-SE», після попереднього видалення артефактів (не більше 10 %), проводили математичний аналіз 1000 послідовно розміщених кардіоінтервалів.

Обраховували такі показники:

- частоту серцевих скорочень (ЧСС), виражали в уд./хв.;
- величину моди – тривалість інтервалу R-R, що зустрічався найчастіше в аналізованому динамічному ряді, виражали в секундах ( $M_0$  вказувала на домінуючий рівень функціонування синусового вузла);
- амплітуду моди – кількість кардіоінтервалів у %, що відповідали значенню  $M_0$  ( $AM_0$  відображала ступінь мобілізуючого впливу адренергічної ланки автономної нервової системи);
- варіаційний розмах кардіоінтервалів ( $\Delta X$ , відображає активність блукаючого нерва у формуванні ритму серця) – різниця між максимальним та мінімальним значеннями тривалості інтервалів R-R у виборці, виражали в секундах;
- індекс напруження регуляторних механізмів (ІН, відображав ступінь централізації управління серцевим ритмом) розраховується за формулою:  $ІН = AM_0 / (2 \cdot \Delta X \cdot M_0)$ .

2.4.2. Вивчення чутливості серця до екзогенного ацетилхоліну. Зазначене дослідження дозволяє визначити чутливість постсинаптичних холінорецепторів міокарда до ацетилхоліну, введеного ззовні. Хірургічним шляхом здійснювали доступ до зовнішньої яремної вени тварини, після чого струминно вводили розчин ацетилхоліну хлориду („Мосмедпрепараты”, Росія), виготовлений (ex tempore) на основі 0,9 % розчину хлориду натрію з розрахунку 50 мкг/кг в об’ємі не більше 0,5 мл [163]. Хронотропний ефект оцінювали за інтенсивністю та тривалістю брадикардії, яка виникала при цьому. Інтенсивність брадикардії ( $ІБ_{AX}$ ) обчислювали за формулою:  $ІБ_{AX} = L_1 / L_0$ , де  $L_0$  – середнє значення величини кардіоінтервалів на електрокардіограмі до введення ацетилхоліну,  $L_1$  – максимальне значення величини кардіоінтервалу після введення ацетилхоліну. Тривалість брадикардії ( $ТБ_{AX}$ ) відповідала часовому відрізьку (в секундах) між появою та зникненням негативного хронотропного ефекту.

2.4.3. Дослідження чутливості серця до стимуляцію блукаючого нерва.

Методика полягає в аналізі негативних хронотропних реакцій серця у відповідь на електричне подразнення блукаючого нерва, інтенсивність яких

обумовлена з одного боку резервами ацетилхоліну в холінергічних терміналях синоатріального вузла, а з іншого – чутливістю холінорецепторів та інтенсивністю гідролізу парасимпатичного медіатора в синапсах міокарда.

Методика передбачає проведення електричної стимуляції периферичного відрізка *nervus vagus* [161]. Для цього розріз проводили по серединній лінії шиї і виділяли правий блукаючий нерв; зафіксувавши його шовковою ниткою, перерізали на рівні нижнього хряща гортані та поміщали на мідні електроди, міжполюсна відстань останніх становила 4 мм. Електричну стимуляцію проводили приладом ЭСЛ-2 протягом 60 с електричними імпульсами тривалістю 1 мс, частотою 50 Гц, амплітудою 5 В, затримка імпульсів становила 1 мс. Ефективним вважали подразнення, що зменшувало частоту серцевих скорочень не менше, ніж на 20 ударів за 1 хв. Хронотропний ефект оцінювали за інтенсивністю брадикардії ( $IB_{n.v.}$ ), величину якої обраховувалась за формулою:  $IB_{n.v.} = R - R_{\max} / R - R_{\text{вих.}}$ , де  $R - R_{\text{вих.}}$  – середня величина кардіоінтервалів, реєстрованих на електрокардіограмі до електричного подразнення блукаючого нерва, а  $R - R_{\max}$  – максимальне значення кардіоінтервалу, що реєструвався при стимуляції блукаючого нерва.

Окрім того, визначали величину максимального кардіоінтервалу на кожному 10-секундному проміжку ЕКГ для оцінки швидкості десенситизації постсинаптичних холінорецепторів. Для цього знаходили найбільше значення інтервалу R-R на кожному часовому проміжку (10, 20, 30, 40, 50 та 60 сек) і вираховували його відношення до вихідного значення R-R ( $R - R_{\max} / R - R_{\text{вих.}}$ ).

2.4.4. Визначення вмісту ацетилхоліну в міокарді. Важливою характеристикою стану холінергічних процесів у серці є зміна концентрації ацетилхоліну в міокарді, а також активність ферментів, що беруть участь у його метаболізмі.

Вміст ацетилхоліну визначали біологічним методом у міокарді передсердь і шлуночків [13]. Після декапітації розкривали грудну порожнину тварини, забирали серце та переносили його в чашку Петрі з охолодженим розчином Рінгер-езерину, виготовленим *ex tempore*, що мав такий склад: KCl 10 % – 1,4 мл, CaCl<sub>2</sub> 10 % – 1,2 мл, NaHCO<sub>3</sub> 5 % – 4 мл, NaCl – 6,5 г, езерин

саліциловокислий – 60 мг, бідистильована вода – до 1 л. У зазначеному розчині серце відмивали від крові, відділяли передсердя та шлуночки, просушували на фільтрувальному папері й зважували на торзійній вазі.

Гомогенати тканин виготовляли на основі охолодженого безбікарбонатного розчину Рінгера (рН 3,8) з езериним і молярною концентрацією  $6 \cdot 10^{-5}$  моль/л. Пропорція тканини й розчину Рінгера була такою: для передсердь – 0,4 мл розчину на 10 мг тканини, для шлуночків – 1 мл розчину на 100 мг тканини. Центрифужну пробірку з гомогенатом 5 хв. витримували в киплячій водяній бані, далі охолоджували під проточною водою і 2 год. екстрагували при кімнатній температурі. Екстракт центрифугували 30 хв. при 3000 об./хв., відбирали надосадову рідину пастерівською піпеткою та зберігали її в холодильнику. Безпосередньо перед тестуванням екстракти розводили Рінгер-фосфатним розчином в 5 (для шлуночків) і 10 разів (для передсердь).

Тестування екстрактів проводили на прямому м'язі живота жаби не пізніше, ніж на другу добу. Для цього жабу децеребрували, руйнували спинний мозок і обережно розрізали шкіру черевної стінки, щоб не пошкодити прямий м'яз живота. Прошивали ниткою краніальний (разом з мечеподібним відростком грудини) та каудальний кінці прямого м'яза живота, відрізали його разом з мечеподібним відростком і переносили в чашку Петрі, заповнену Рінгер-фосфатним буфером. Цей препарат фіксували в скляній камері, заповненій Рінгер-фосфатним буфером і залишали на 1 год. для розслаблення при аерації кімнатним повітрям зі швидкістю 60 пухирців повітря за 1 хв.

Спочатку визначали чутливість м'яза до виготовлених *ex tempore* стандартних розчинів ацетилхоліну. М'яз реагував скороченням, що реєстрували у вигляді кімограми на барабані кімографа. Максимум скорочення спостерігали через 2,5 хв. Після 3 хвилинного контакту м'яза зі стандартним розчином ацетилхоліну рідину в камері заміняли свіжим розчином Рінгера для відмивання та розслаблення м'яза, що тривало 5 хв. Пробу повторювали 4-6 разів до появи постійного за амплітудою скорочення. Використовували м'яз, що був чутливий до концентрації ацетилхоліну не менше  $1 \cdot 10^{-8}$  моль/л. Для



визначення концентрації медіатора вимірювали величину скорочення м'яза під дією екстракту і два суміжних скорочення на стандартні концентрації ацетилхоліну за допомогою стереоскопічного мікроскопа МБС-9 з окулярною сіткою та точністю до 0,1 мм, на основі чого будували графік. Досліджувана величина була проекцією на осі абсцис точки, що знаходилася на прямій, яка з'єднувала відомі величини. Кількість речовини виражали в мкмоль/кг свіжої тканин передсердь або шлуночків.

2.4.5. Визначення активності ферментативного гідролізу ацетилхоліну в міокарді. Активність ферментативного гідролізу ацетилхоліну визначали в міокарді передсердь та шлуночків, оцінюючи загальну холінестеразну активність (ХЕА) [123]. Метод ґрунтується на взаємодії ацетилхоліну з лужним розчином гідроксиламінхлориду з утворенням ацетилгідроксамової кислоти, яка в кислому розчині дає з хлорним залізом кольорову реакцію. Інтенсивність забарвлення залежить від концентрації ацетилхоліну. 10 % гомогенат, приготований на основі фосфатного буфера (рН 7,2), екстрагували 1 год. при кімнатній температурі, 30 хв. центрифугували при 3000 об./хв., використовували надосадову рідину. Контрольна та дослідна пробірки містили по 0,8 мл бідистильованої води та 0,2 мл екстракту при дослідженні шлуночків, по 0,6 мл бідистильованої води та 0,4 мл екстракту при дослідженні передсердь. У дослідну пробірку додавали ще 1 мл 0,1 % розчину ацетилхоліну хлориду, приготованого на основі фосфатного буферу, що містив 5,5 мкмоль ацетилхоліну. Проби інкубували 1 год. в термостаті при температурі 38 °С. Далі в дослідну пробірку для припинення реакції додавали 4 мл лужного гідроксиламіну, ретельно перемішуючи, а вміст контрольної переливали в заготовлену пробірку з сумішшю 4 мл лужного гідроксиламіну і 1 мл 0,1 % розчину ацетилхоліну хлориду. Через 3 хв. послідовно вилили по 2 мл НСІ та FeCl<sub>3</sub>, а ще через 10 хв. фільтрат фотоколориметрували при довжині хвилі 540 нм. Контроль на колір реактивів містив усі реагенти додані в зворотньому порядку. Спочатку розраховували відсоток гідролізу ацетилхоліну за формулою:

$$(E_K - E_D/E_K) \cdot 100,$$

де  $E_K$  – екстинція контролю,

$E_D$  – екстинція дослідної проби.

Потім визначали кількість гідролізованого ацетилхоліну в ммоль/кг·год, що була пропорційною активності гідролізу, знаючи, що 1 мл 0,1 % розчину ацетилхоліну хлориду, приготованого на основі фосфатного буфера, містив 5,5 мкмоль ацетилхоліну.

## 2.5. Вивчення вмісту нітрит-аніону

Оскільки нітрит-аніон є стабільним метаболітом оксиду азоту, то за його кількістю можна зробити висновок щодо вмісту останнього в танинах організму.

Вміст нітрит-аніону визначали в сироватці крові, гомогенатах передсердь і шлуночків за методом Гріса [177].

Сироватку крові та 10 % гомогенати (передсердь і шлуночків) депротейнізували додаванням до 0,4 мл досліджуваного розчину 0,8 мл 0,5 N розчину NaOH і 0,8 мл 10 % розчину сульфату цинку. Вміст пробірки перемішували протягом 30 с, далі центрифугували 15 хв. при 9000 об./хв. Після цього 1,5 мл надосадової рідини змішували з однаковим об'ємом реактиву Гріса (складається з суміші розчинів: 1 % сульфаніламід, 0,1 % нафтілендіаміну, 2,5 % фосфорної кислоти) та інкубували 10 хв. при кімнатній температурі. Інтенсивність забарвлення вимірювали на фотоелектроколориметрі (КФК-2) при довжині хвилі 546 нм у порівнянні зі стандартним розчином нітрит-натрію (1 мл розчину містив 0,001125 г нітрит-натрію). Вміст нітрит-аніону розраховували за формулою:

$$X = E_{546} \cdot 0,067 \cdot 10^{-3},$$

де  $X$  – вміст нітрит-аніону;

$E_{546}$  – екстинція дослідної проби;

$0,067 \cdot 10^{-3}$  – коефіцієнт молярної екстинції. Величину концентрації нітрит-аніону отримували у мкмоль/л (кров) чи мкмоль/кг (гомогенат).

## 2.6. Статистичний аналіз результатів досліджень

Статистичний аналіз отриманих даних проводили за допомогою методів варіаційної статистики [36], визначаючи середнє арифметичне ( $M$ ), стандартну похибку середнього арифметичного ( $m$ ), критерій Ст'юдента ( $t$ ) та показник достовірності різниці між середніми величинами за таблицею Вебера ( $p$ ). Відмінність між середніми арифметичними величинами вважали достовірною при значенні  $p \leq 0,05$ . Для розрахунків використовували комп'ютерну програму Microsoft Excel 2007 (США).

### РОЗДІЛ 3

## СТАТЕВІ ОСОБЛИВОСТІ АВТОНОМНОЇ РЕГУЛЯЦІЯ СЕРЦЯ ГОНАДЕКТОМОВАНИХ ЩУРІВ ЗА ЗМІНЕНОЇ АКТИВНОСТІ СИСТЕМИ ОКСИДУ АЗОТУ

Білатеральна гонадектомія призводить до радикальних нейрогормональних та метаболічних змін, викликаючи порушення вегетативної регуляції серцево-судинної системи. Ступінь дисфункції автономної нервової системи – є потужним і незалежним предиктором перебігу кардіальної патології. Холінергічна ланка (через блукаючий нерв) здатна обмежувати проаритмогенні впливи підвищеного тону симпатичної нервової системи. Згідно з останніми дослідженнями, оксид азоту відіграє роль важливого медіатора в контролі серця вегетативною нервовою системою, посилюючи активність парасимпатичної та послаблюючи симпатичної ланки автономної нервової системи. Статеві гормони, в свою чергу, з одного боку визначають активність синтезу оксиду азоту в організмі, а з іншого – здатні впливати на симпато-парасимпатичний баланс. Не вивченими, а відтак, і не зрозумілими, залишаються особливості автономної регуляції серцевої діяльності в умовах дефіциту жіночих та чоловічих статевих гормонів за зміненої активності системи оксиду азоту. Для вирішення поставленого завдання провели математичний аналіз кардіоінтервалограм гонадектомованих щурів обох статей, а також на тлі введення прекурсора синтезу оксиду азоту – L-аргініну та неселективного блокатора NO-синтаз – L-NAME.

#### 3.1. Вплив гонадектомії на показники варіаційної кардіоінтервалометрії

Ще в інтактних групах тварин спостерігали статеві особливості адренергічно-холінергічного балансу. У самок значення амплітуди моди та індексу напруження були меншими на 10 % та 25 % відповідно, а величина варіаційного розмаху – на 12 % більшою, ніж аналогічні показники у самців (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

**Показники варіаційної кардіоінтервалометрії у щурів різної статі  
до та після проведення білатеральної гонадектомії  
та за застосування модуляторів синтезу оксиду азоту (n=6, M±m)**

Група тварин	Аналізований показник				
	ЧСС, хв <sup>-1</sup>	Мо, 10 <sup>-3</sup> с	Амо, %	ΔX, 10 <sup>-3</sup> с	ІН
Самці ЗГ	443±12 1	136±4 13	36,1±1,1 25	5,8±0,2 37	22879± 675 <sub>49</sub>
Самки ЗГ	416±12 2	145±4 14	32,7±0,6 26	6,5±0,2 38	17453± 605 <sub>50</sub>
Самці ЗГ L – аргінін	401±4 3	150±2 15	31,4±0,9 27	6,8±0,3 39	15594± 916 <sub>51</sub>
Самки ЗГ L – аргінін	359±11 4	168±5 16	27,9±0,3 28	7,7±0,2 40	10916± 477 <sub>52</sub>
Самці ЗГ L – NAME	464±12 5	130±3 17	41,5±0,5 29	4,5±0,3 41	36258± 1898 <sub>53</sub>
Самки ЗГ L – NAME	438±13 6	138±4 18	44,2±1,0 30	4,2±0,2 42	38903± 2092 <sub>54</sub>
Самці ГЕ	439±10 7	137±3 19	35,9±0,8 31	5,2±0,2 43	25453± 829 <sub>55</sub>
Самки ГЕ	410±14 8	148±5 20	35,9±0,4 32	5,2±0,2 44	23680± 747 <sub>56</sub>
Самці ГЕ L – аргінін	397±10 9	152±4 21	25,6±0,4 33	6,7±0,2 45	12788± 543 <sub>57</sub>
Самки ГЕ L – аргінін	347±12 10	173±5 22	26,3±1,3 34	7,7±0,2 46	10035± 763 <sub>58</sub>
Самці ГЕ L – NAME	469±13 11	128±3 23	41,5±0,8 35	4,2±0,2 47	39077± 2245 <sub>59</sub>
Самки ГЕ L – NAME	465±15 12	130±4 24	50,1±2,0 36	4,2±0,2 48	46708± 2217 <sub>60</sub>
Примітка. P <sub>1-3</sub> <0,01; p <sub>2-4</sub> <0,01; p <sub>7-9</sub> <0,02; p <sub>8-10</sub> <0,01; p <sub>8-12</sub> <0,01; p <sub>13-15</sub> <0,02; p <sub>14-16</sub> <0,01; p <sub>19-21</sub> <0,01; p <sub>20-22</sub> <0,01; p <sub>20-24</sub> <0,02; p <sub>25-27</sub> <0,01; p <sub>25-29</sub> <0,002; p <sub>26-28</sub> <0,001; p <sub>26-30</sub> <0,001; p <sub>26-32</sub> <0,002; p <sub>27-33</sub> <0,001; p <sub>30-36</sub> <0,01; p <sub>31-33</sub> <0,001; p <sub>31-35</sub> <0,001; p <sub>32-34</sub> <0,001; p <sub>32-36</sub> <0,001; p <sub>37-39</sub> <0,02; p <sub>37-41</sub> <0,01; p <sub>37-43</sub> <0,02; p <sub>38-40</sub> <0,001; p <sub>38-42</sub> <0,001; p <sub>38-44</sub> <0,001; p <sub>43-45</sub> <0,001; p <sub>43-47</sub> <0,01; p <sub>44-46</sub> <0,001; p <sub>44-48</sub> <0,01; p <sub>49-50</sub> <0,001; p <sub>49-51</sub> <0,001; p <sub>49-53</sub> <0,001; p <sub>49-55</sub> <0,05; p <sub>50-52</sub> <0,001; p <sub>50-54</sub> <0,001; p <sub>50-56</sub> <0,001; p <sub>51-57</sub> <0,05; p <sub>54-60</sub> <0,05; p <sub>55-57</sub> <0,001; p <sub>55-59</sub> <0,001; p <sub>56-58</sub> <0,001; p <sub>56-60</sub> <0,001.					

Зазначені відмінності варіаційної кардіоінтервалометрії тварин різної статі відображали превалювання тонусу парасимпатичної ланки автономної нервової системи у самок та симпатичної – в самців.

Після видалення статевих залоз щурі різної статі статистично достовірно не відрізнялись між собою за жодним з аналізованих показників. Таким чином, білатеральна гонадектомія призвела до повного нівелювання статевих особливостей функціонування вегетативної нервової системи.

Після видалення гонад у самців варіаційний розмах кардіоінтервалів зменшився на 10 %, а індекс напруження зріс на 11 %; у самок - на 21 та 36 % відповідно. Крім того, в останніх зріс і показник амплітуди моди на 10 %. Отримані нами зміни варіаційної кардіоінтервалометрії свідчили про підвищення напруження регуляторних механізмів внаслідок дефіциту чоловічих та жіночих статевих гормонів, спричиненого дефіцитом статевих гормонів, у тварин обох статей. Проте, у самців зміни симпто-парасимпатичного балансу проявилися лише в обмеженні холінергічних впливів на функціонування синусового вузла, тоді як у самок спостерігали послаблення парасимпатичного та посилення симпатичного контролю за серцевою діяльністю.

### 3.2. Підбір ефективної дози L-аргініну для визначення активності автономної регуляції серця

Проаналізувавши численні літературні джерела, звернули увагу на «різномаїття» доз L-аргініну, якими користуються експериментатори [78, 79, 80, 91, 98, 127, 128, 129]. Одні науковці віддають перевагу вивченню ефектів депо NO, створеного тривалим введенням L-аргініну [91, 100], інші досліджують вплив зазначеної амінокислоти в умовах її одномоментного застосування [98, 127, 128, 129]. Разом з тим, згадування про застосування L-аргініну з метою дослідження вегетативної регуляції серця відсутні. Тому, на першому етапі дослідження було вивчено вплив на холінергічну регуляцію серцевого ритму наявних в літературних джерелах доз амінокислоти, які

використовуються з метою депонування оксиду азоту,. Для цього протягом 7 днів щоденно одномоментно тваринам (самкам) вводили L-аргінін в черевну порожнину з розрахунку 75 мг/кг, 150 мг/кг, 300 мг/кг, 500 мг/кг маси тварини. На 4-й та 7-й дні експерименту проводили запис ЕКГ з подальшим математичним аналізом кардіоінтервалографії для вивчення вегетативної регуляції серцевого ритму

Отримані результати дослідження на 4-й день наведено в таблиці 3.2.

Таблиця 3.2

**Показники варіаційної пульсометрії щурів на 4-й день  
введення L-аргініну (n=6, M±m)**

Показник	Контроль	75 мг/кг	150 мг/кг	300 мг/кг	500 мг/кг
ЧСС, хв <sup>-1</sup>	448±10	467±14	458±12	429±18	431±9
Мо, 10 <sup>-3</sup> с	134±3	129±4	131±3	141±6	140±3
АМо, %	46,3±2,4	46,5±0,7	45,5±1,1	46,8±1,0	44,1±0,4
ΔХ, 10 <sup>-3</sup> с	5,0±0,4	6,0±0,2	6,0±0,4	5,4±0,4	6,1±0,3
ІН	32850±3503	32125±16187	30615±2834	31859±2858	28465±2196
Примітка. Усі порівнювані значення достовірно не відрізняються між собою (p>0,05).					

Отримані дані показали, що жоден із аналізованих показників у тварин, яким вводили L-аргінін, достовірно не відрізнявся від аналогічних у контрольних тварин. На 7-й день експерименту закономірність була аналогічною, про що свідчила відсутність різниці порівнюваних значень (табл. 3.3).

Відсутність змін у автономній регуляції серцевого ритму на тлі вищезазначених доз оксиду азоту довела, що вивільнення оксиду азоту з депо найімовірніше має значення і виникає при захворюваннях чи патологічних станах, які супроводжуються гіпоксією/ішемією, суттєвим збільшенням функціонального навантаження. За фізіологічних умов (як у нашому випадку) кисень інгібує нітритредуктазну активність гемумісних білків, лімітуючи таким чином надходження субстрату (тобто NO<sup>2-</sup>) до нітрит-редуктазного компоненту

циклу синтезу оксиду азоту, активність якого у 1000 разів перевищує інтенсивність L-аргінін – NO-синтазної реакції [5].

Таблиця 3.3

**Показники варіаційної пульсометрії щурів на 7-й день  
введення L-аргініну (n=6, M±m)**

Показник	Контроль	75 мг/кг	150 мг/кг	300 мг/кг	500 мг/кг
ЧСС, хв <sup>-1</sup>	448±10	477±12	439±17	417±20	416±15
Мо, 10 <sup>-3</sup> с	134±3	126±3	137±5	145±6	145±5
АМо, %	46,3±2,4	43,3±0,6	47,2±0,8	45,8±0,8	45,4±1,2
ΔХ, 10 <sup>-3</sup> с	5,2±0,4	5,0±0,4	6,3±0,2	6,1±0,2	6,0±0,2
ІН	32850±3503	32716±3406	31424±2816	27472±2087	27188±1006
Примітка. Усі порівнювані значення достовірно не відрізняються між собою (p>0,05).					

З огляду на викладене вище, було зроблено висновок, що вивчення впливу депо оксиду азоту на стан автономної регуляції серця може мати місце лише за умов пошкодження останнього, моделювання його патології.

Наступним етапом стало вивчення ефектів амінокислоти в дозах, які найчастіше зустрічаються в літературі: 150 мг/кг [239], 300 мг/кг [102, 192], 500 мг/кг [53] та 600 мг/кг [62, 100, 192]. Аналіз кардіоінтервалограм проводили у тварин після реєстрації ЕКГ через 10, 20, 30 та 40 хв після введення L-аргінін.

За застосування L-аргініну в дозі 150 мг/кг та 300 мг/кг статистично достовірних відмінностей аналізованих показників автономної регуляції синусового вузла не було (табл. 3.4 та 3.5).

При введення L-аргініну в дозі 500 мг/кг змін частоти серцевих скорочень та моди не було (табл. 3.6). Проте, відмічали певну динаміку амплітуди моди, варіаційного розмаху та індексу напруження. Амплітуда моди на 10-й хвилині зменшилась на 13 %, на 20-й – повернулась до вихідного рівня з наступним підвищенням на 30-й та 40-й хвилинах на 51 % та 44 % відповідно, порівняно з контролем. Варіаційний розмах кардіоінтервалів був меншим на 46 % на 30-й хвилині та на 40 % – на 40-й. Динаміка індексу напруження регуляторних



механізмів була аналогічною до амплітуди моди: показник зменшився на 10-й хвилині на 23 % з поверненням до контрольних цифр на 20-й, та подальшим зростанням у 2,8 та 2,4 раза на 30-й та 40-й хвилинах досліду відповідно.

Таблиця 3.4

**Показники варіаційної кардіоінтервалометрії у щурів за застосування L-аргініну в дозі 150 мг/кг (n=6, M±m)**

Час після введення препарату	Аналізований показник				
	ЧСС, хв <sup>-1</sup>	Мо, 10 <sup>-3</sup> с	Амо, %	ΔХ, 10 <sup>-3</sup> с	ІН
Контроль	424±14	142±5	32,5±1,2	6,5±0,2	17906±1600
10 хв	426±17	142±6	32,9±1,1	6,8±0,3	17746±1550
20 хв	421±15	143±5	31,9±1,1	7,0±0,5	17013±956
30 хв	421±11	143±4	30,8±1,0	6,5±0,2	16684±519
40 хв	420±11	143±4	33,2±1,1	6,0±0,3	18581±1328

Примітка. Усі порівнювані значення достовірно не відрізняються між собою (p>0,05).

Таблиця 3.5

**Показники варіаційної кардіоінтервалометрії у щурів за застосування L-аргініну в дозі 300 мг/кг (n=6, M±m)**

Час після введення препарату	Аналізований показники				
	ЧСС, хв <sup>-1</sup>	Мо, 10 <sup>-3</sup> с	Амо, %	ΔХ, 10 <sup>-3</sup> с	ІН
Контроль	416±12	146±5	33,7±1,2	6,3±0,2	18344±808
10 хв	408±16	148±6	33,1±0,5	6,5±0,2	17352±637
20 хв	400±13	151±5	34,1±0,8	6,0±0,3	19112±1061
30 хв	408±11	147±4	32,4±1,0	6,0±0,3	18655±1105
40 хв	405±13	149±5	34,1±0,8	6,2±0,3	18954±1792

Примітка. Усі порівнювані значення достовірно не відрізняються між собою (p>0,05).

Таким чином, на тлі внутрішньоочеревинного введення L-аргініну з розрахунку 500 мг/кг маси тіла тварини, виникало спочатку зменшення активності симпатичної ланки автономної нервової системи з наступною її гіперактивацією, порівняно з вихідним станом.

Таблиця 3.6

**Показники варіаційної кардіоінтервалометрії у щурів за застосування L-аргініну в дозі 500 мг/кг (n=6, M±m)**

Час після введення препарату	Аналізований показник				
	ЧСС, хв <sup>-1</sup>	Мо, 10 <sup>-3</sup> с	Амо, %	ΔХ, 10 <sup>-3</sup> с	ІН
Контроль	408±11 1	147±4 2	33,1±1,0 3	6,3±0,2 4	17885±989 5
10 хв	383±13 6	157±5 7	28,9±0,8 8	6,8±0,3 9	13710±1084 10
20 хв	392±7 11	153±2 12	33,4±0,8 13	5,8±0,2 14	18995±1142 15
30 хв	406±13 16	148±5 17	49,9±1,2 18	3,4±0,2 19	50526±3995 20
40 хв	411±18 21	147±6 22	47,6±2,7 23	3,8±0,2 24	43671±4413 25
Примітка. P <sub>3-8</sub> <0,01; p <sub>3-18</sub> <0,001; p <sub>3-23</sub> <0,001; p <sub>4-19</sub> <0,001; p <sub>4-24</sub> <0,001; p <sub>5-10</sub> <0,02; p <sub>5-20</sub> <0,001; p <sub>5-25</sub> <0,001.					

Збільшення дози L-аргініну до 600 мг/кг призвело до більш вираженого ефекту. Показники варіаційної кардіоінтервалометрії наведено в таблиці 3.7. Вже на 10-й хвилині від початку дослідження ми спостерігали негативний хронотропний вплив прекурсора синтезу оксиду азоту: частота серцевих скорочень була на 16 % меншою, порівняно з контролем, на 20-й – на 21 %, на 30-й – на 25 %, а на 40-й – на 20 %. Амплітуда моди на 10-й хвилині зменшилась на 13 %, на 20-й – на 24 %, на 30-й та 40-й – на 43 %. Динаміка варіаційного розмаху була протилежною: на 10-й хвилині показник збільшився

на 24 %, на 20-й – на 29 %, на 30-й – у 2 рази, а на 40-й – на 77 % порівняно з контролем. Індекс напруження знизився на 40 % на 10-й хвилині експерименту, в 2 рази – на 20-й, у 4,6 рази – на 30-й та в 3,5 рази – на 40-й.

Таблиця 3.7

**Показники варіаційної кардіоінтервалометрії у щурів за застосування  
L-аргініну в дозі 600 мг/кг (n=6, M±m)**

Час після введення препарату	Аналізований показник				
	ЧСС, хв <sup>-1</sup>	Mo, 10 <sup>-3</sup> с	Амо, %	ΔХ, 10 <sup>-3</sup> с	ІН
Контроль	402±14 1	151±5 2	33,0±0,8 3	6,2±0,2 4	18003±1066 5
10 хв	338±14 6	179±8 7	28,7±0,9 8	7,7±0,5 9	10831±980 10
20 хв	316±11 11	194±11 12	24,98±0,8 13	8,0±0,4 14	8443±920 15
30 хв	303±14 16	198±10 17	18,68±2,9 18	13,0±1,0 19	3903±1139 20
40 хв	322±21 21	191±15 22	18,95±0,9 23	11,0±1,0 24	5088±744 25
Примітка. P <sub>1-6</sub> <0,01; p <sub>1-11</sub> <0,001; p <sub>1-16</sub> <0,001; p <sub>1-21</sub> <0,02; p <sub>2-7</sub> <0,02; p <sub>2-12</sub> <0,01; p <sub>2-17</sub> <0,01; p <sub>2-22</sub> <0,05; p <sub>3-8</sub> <0,01; p <sub>3-13</sub> <0,001; p <sub>3-18</sub> <0,001; p <sub>3-23</sub> <0,001; p <sub>4-9</sub> <0,02; p <sub>4-14</sub> <0,01; p <sub>4-19</sub> <0,001; p <sub>4-24</sub> <0,001; p <sub>5-10</sub> <0,001; p <sub>5-15</sub> <0,001; p <sub>5-20</sub> <0,001; p <sub>5-25</sub> <0,001.					

Збільшення значення моди та зменшення амплітуди моди за застосування L-аргініну в дозі 600 мг/кг відображало послаблення адренергічного контролю за серцевою діяльністю. Одночасне збільшення варіаційного розмаху кардіоінтервалів характеризувало посилення холінергічних впливів на функціональний стан синусового вузла, що підтверджувалось розвитком брадикардії. Максимальні зміни автономної регуляції серцевого ритму спостерігали на 30-й хвилині від введення препарату та зберігалися до 40-ї хвилини досліду. Цей час, очевидно, необхідний для реалізації цілого каскаду

метаболічних процесів, викликаного застосуванням прекурсора синтезу оксиду азоту.

Отримані результати показали, що L-аргінін у дозі 600 мг/кг викликав зміни активності обох ланок автономної нервової системи, що характеризувалося зменшенням активності адренергічної та посиленням холінергічної регуляції серцевого ритму.

Отже, прекурсор синтезу оксиду азоту L-аргінін, введений внутрішньоочеревинно, виявляв максимальний вплив на активність автономної нервової системи в дозі 600 мг/кг, що дозволило визнати дану дозу як таку, що варто використовувати для подальших досліджень. Найбільш ефективні зміни показників кардіоінтервалографії виявлялися на 30-й хвилині спостереження.

### 3.3. Вплив прекурсора синтезу оксиду азоту L-аргініну на показники варіаційної кардіоінтервалометрії тварин різної статі

Абсолютні значення показників варіаційної кардіоінтервалометрії щурів зі збереженими та видаленими гонадами за застосування L-аргініну наведено вище (див. табл. 3.1). Зміни частоти серцевих скорочень наочно зображена на рисунку 3.1.

На тлі попереднього застосування L-аргініну в щурів зі збереженою функціональною активністю гонад отримали такі зміни: у самців частота серцевих скорочень зменшилась на 9 %, а в самок – на 14 %. Уведення прекурсора синтезу оксиду азоту гонадектомованим тваринам також викликало негативний хронотропний ефект. Частота серцевих скорочень у самців зменшилась на 10 % порівняно з кастрованими тваринами, а у самок – на 15 % (рис. 3.1).

Аналіз моди, зображений на рисунку 3.2, показав, що на тлі L-аргініну спостерігалось збільшення зазначеного показника у тварин обох статей, як зі збереженими, так і видаленими статевими залозами. Величина моди у некастрованих самців збільшилась на 10 %, у самок – на 16 %, у гонадектомованих – на 11 та 17 % відповідно.

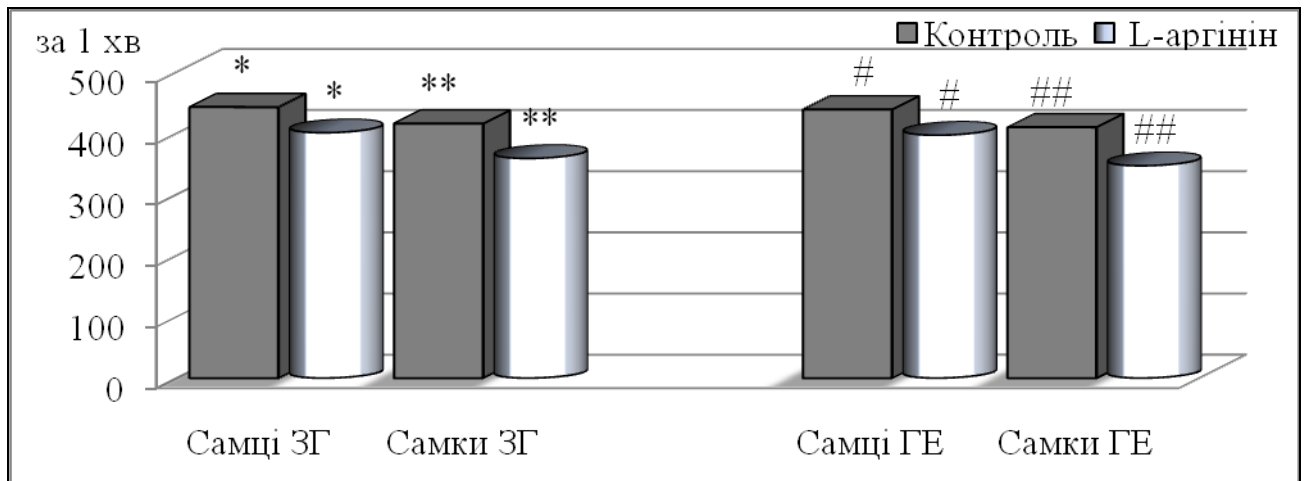


Рис. 3.1 Негативний хронотропний ефект у тварин різної статі зі збереженими та видаленими гонадами за застосування L-аргініну. (Примітка: на цьому та наступних рисунках \*, \*\*, # та ## - достовірна відмінність показників при порівнянні тварин однієї статі без та на тлі введення L-аргініну)

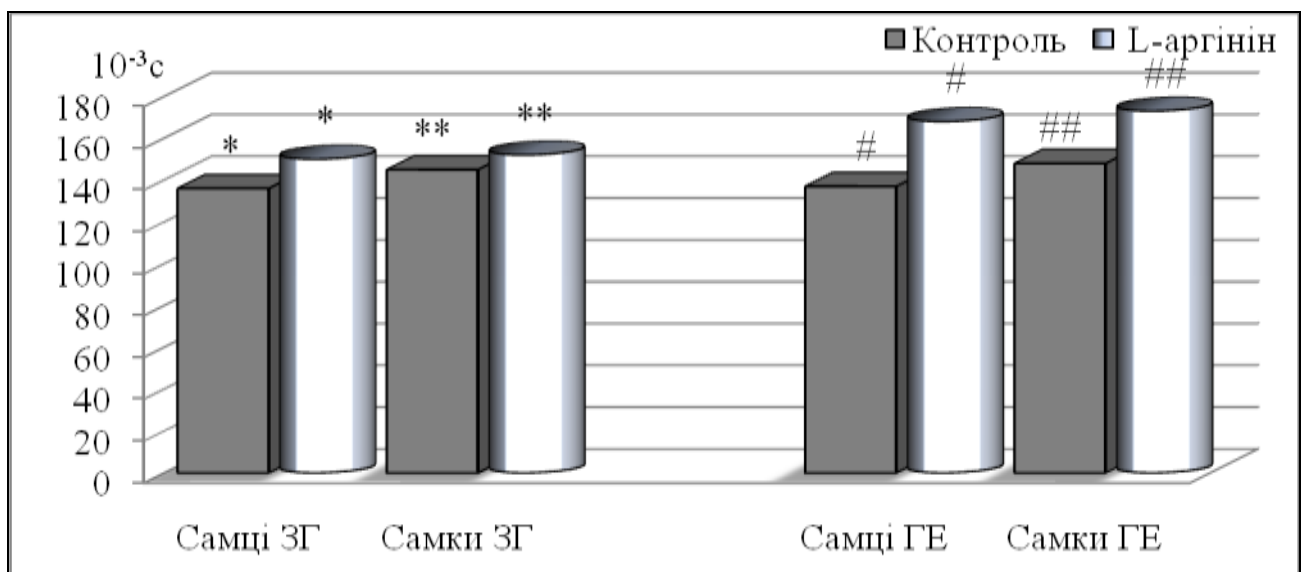


Рис. 3.2. Порівняння величини моди у тварин різної статі зі збереженими та видаленими гонадами за застосування L-аргініну.

Зміна амплітуди моди за застосування L-аргініну була аналогічною в тварин обох статей (рис. 3.3). У контрольній групі самців показник амплітуди моди зменшився на 13 % у самців та 15 % у самок, а в кастрованих – на 29 та 27 % відповідно.

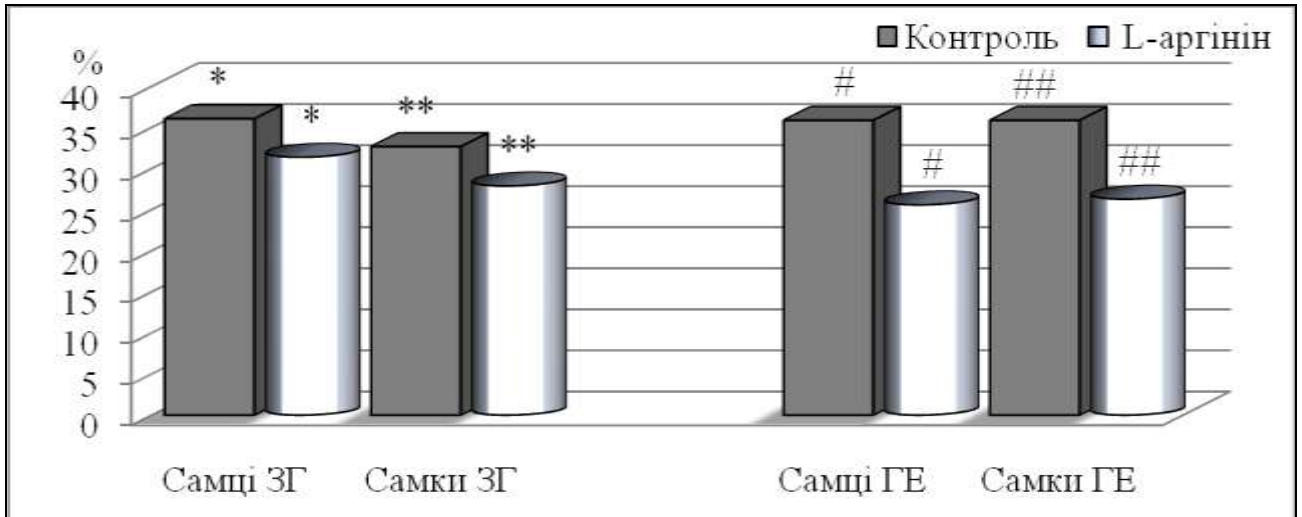


Рис. 3.3. Динаміка величини амплітуди моди у тварин різної статі зі збереженими та видаленими гонадами за застосування L-аргініну.

Внутрішньочеревне введення прекурсора синтезу оксиду азоту L-аргініну призвело до збільшення варіаційного розмаху послідовно розміщених кардіоінтервалів у самців на 17 %, у самок – на 18 %. У тварин після гонадектомії величина аналізованого показника зросла на 29 % у самців та на 48 % у самок (рис. 3.4).

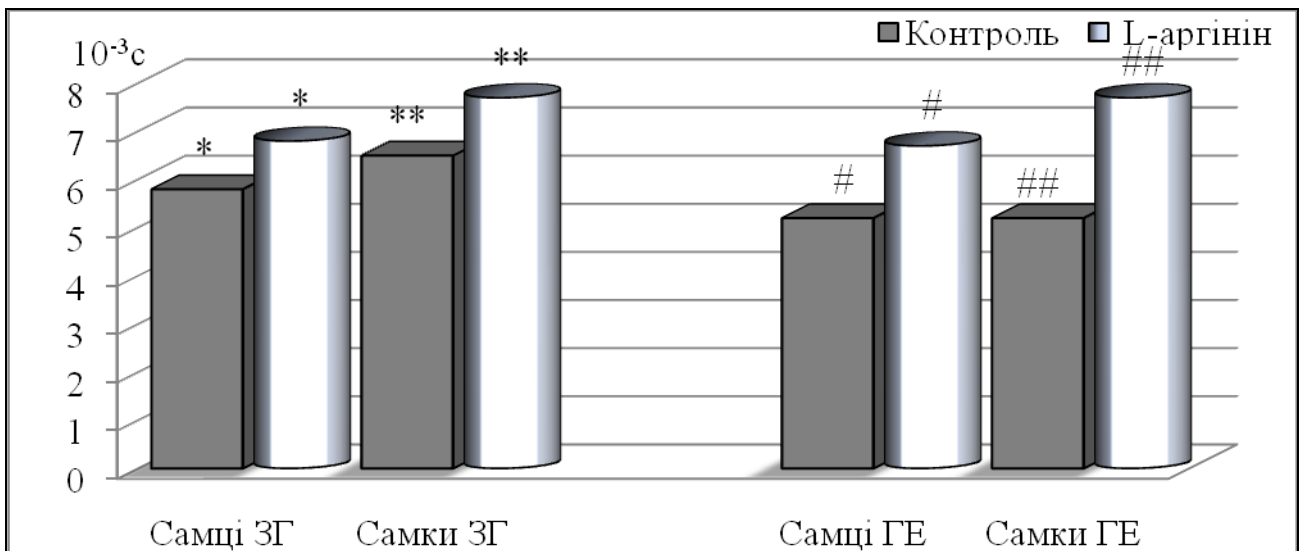


Рис. 3.4. Варіаційний розмах кардіоінтервалів у тварин різної статі зі збереженими та видаленими гонадами за застосування L-аргініну.

Аналіз динаміки індексу напруження у тварин зі збереженими та видаленими гонадами зображено на рисунку 3.5.

При порівнянні тварин різної статі зі збереженою функціональною активністю гонад встановили, що індекс напруження зменшився практично однаковою мірою у щурів обох статей – на 32 % у самців та 38 % у самок.

Дефіцит статевих гормонів, спричинений кастрацією, викликав різке зменшення величини індексу напруження у самців на 50 % та у самок на 58 %.

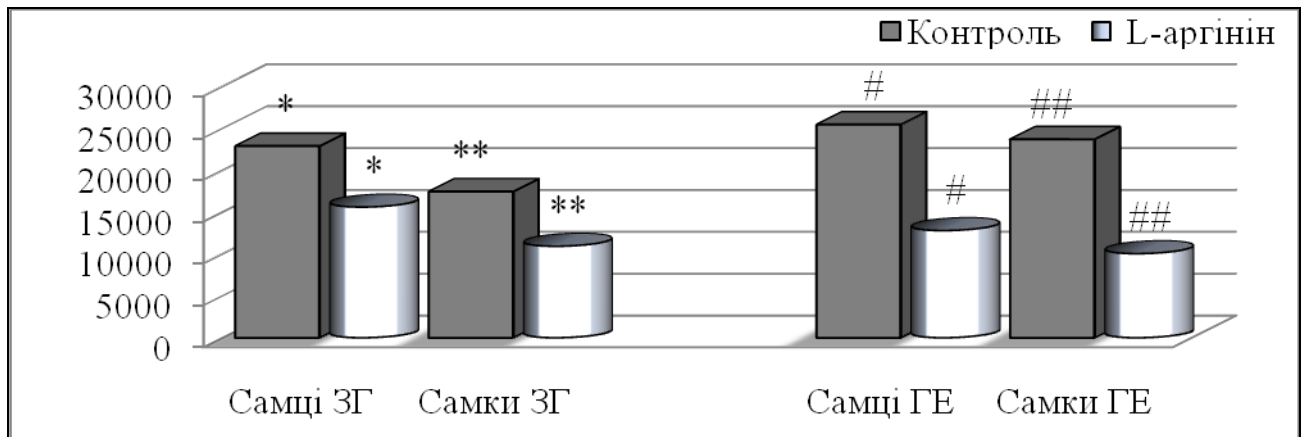


Рис. 3.5. Динаміка величини індексу напруження в тварин різної статі зі збереженими та видаленими гонадами за застосування L-аргініну.

Таким чином, застосування L-аргініну, як попередника синтезу оксиду азоту, в щурів обох статей на тлі збереженої функціональної активності гонад призводить до зменшення напруження регуляторних систем. Це характеризується послабленням симпатичних впливів та посиленням холінергічного контролю діяльності серця. Тенденція змін симпатично-парасимпатичних взаємовідносин у гонадектомованих щурів була аналогічною, проте більше вираженою в самок з видаленими яєчниками.

3.4. Вплив неселективного блокатора синтезу оксиду азоту L-NAME на показники математичного аналізу серцевого ритму

Враховуючи отримані нами зміни автономної регуляції синусового вузла за застосування прекурсора синтезу оксиду азоту, наступним етапом дослідження стало вивчення зміни частоти серцевих скорочень та математичного аналізу серцевого ритму при блокаді синтаз оксиду азоту. З

цією метою використовували L-NAME, якому притаманна менша активність стосовно індуцибельної синтази оксиду азоту порівняно з конститутивними її ізоформами [194].

Абсолютні значення показників варіаційної кардіоінтервалометрії подано вище (див. табл. 3.1).

Блокада синтаз оксиду азоту при збереженій функціональній активності статевих залоз не вплинула на частоту серцевих скорочень у тварин обох статей. Білатеральна оваріектомія призвела до збільшення чутливості серця самок до дії L-NAME, що проявилось позитивним хронотропним ефектом. Частота серцевих скорочень зросла на 13 % порівняно з кастрованими тваринами. У гонадектомованих самців не зареєстрували статистично достовірних змін частоти серцевих скорочень.

Аналогічну до змін частоти серцевих скорочень отримали й динаміку показника моди, про що свідчила відсутність статистично достовірної відмінності моди у тварин обох статей зі збереженими гонадами та у кастрованих самців. Самки на тлі дефіциту статевих гормонів відреагували зменшенням аналізованого показника на 12 %.

Динаміка амплітуди моди у тварин обох статей зі збереженими та видаленими гонадами зображена на рисунку 3.6. Проведений аналіз зміни величини амплітуди моди показав, що застосування L-NAME на тлі збереженого фізіологічного рівня статевих гормонів призводив до збільшення зазначеного показника у тварин обох статей. Проте, у самців амплітуда моди збільшилась на 15 %, а в самок – на 35 %. Таким чином самки виявились чутливішими до блокади синтаз оксиду азоту, що проявилось у них більшою, ніж у особин протилежної статі, активацією адренергічної ланки автономної нервової системи.

Білатеральна гонадектомія не вплинула на тенденції змін амплітуди моди: у самців показник зріс на 16 %, а в самок – на 40 %. Незважаючи на дефіцит статевих гормонів, самки щурів на застосування неселективного блокатора синтезу оксиду азоту L-NAME реагували більшою активацією симпатичної нервової системи, аніж самці.



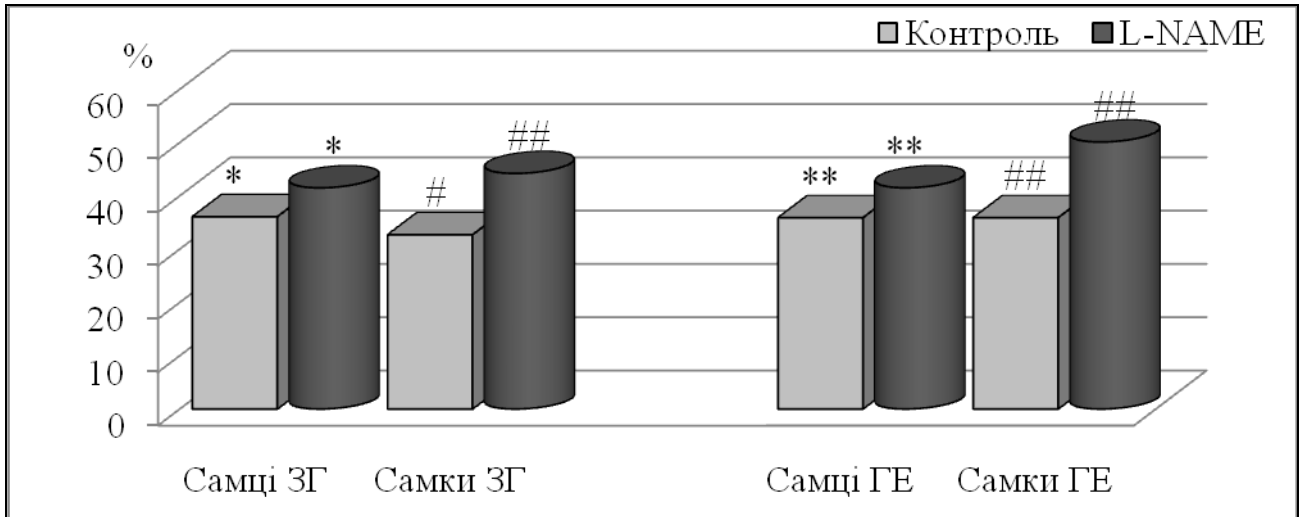


Рис. 3.6. Динаміка величини амплітуди моди у тварин різної статі зі збереженими та видаленими гонадами за застосування L-NAME.

Аналіз змін варіаційного розмаху у тварин різної статі зі збереженими та видаленими гонадами за застосування L-NAME, зображений на рисунку 3.7, показав зменшення зазначеного показника в тварин обох статей, зокрема на 22 % у самців та на 35 % у самок. На тлі дефіциту статевих гормонів характер реакції на застосування L-NAME не змінився. Величина варіаційного розмаху зменшилась однаковою мірою – на 19 % у тварин обох статей.

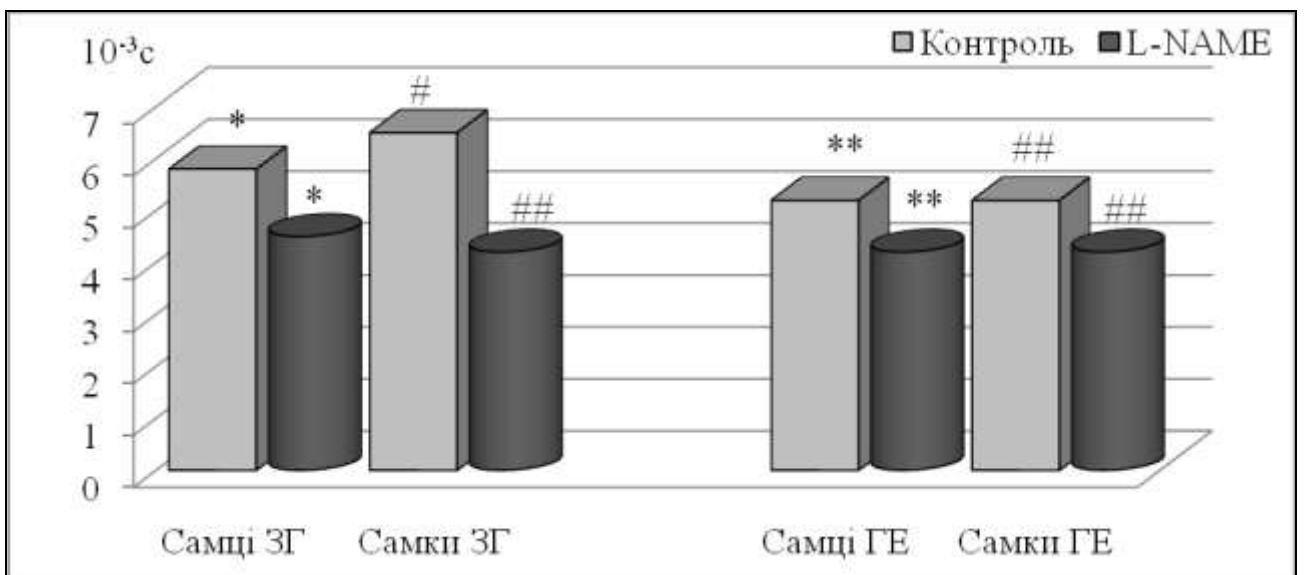


Рис. 3.7. Варіаційний розмах кардіоінтервалів у тварин різної статі зі збереженими та видаленими гонадами за застосування L-NAME.

Отже, як у контрольній групі, так і в гонадектомованих щурів обох статей блокада NO-синтаз призвела до обмеження холінергічних впливів на діяльність серця. Чутливішими до дії L-NAME виявились самки зі збереженою функціональною активністю статевих залоз.

Введення контрольним тваринам L-NAME призвело до різкого зростання індексу напруження, що показано на рисунку 3.8, у тварин обох статей. При цьому, у самців індекс напруження зріс у 1,6 раза, в самок – в 2,2 раза, а в гонадектомованих у 1,5 та 2,0 раза відповідно.

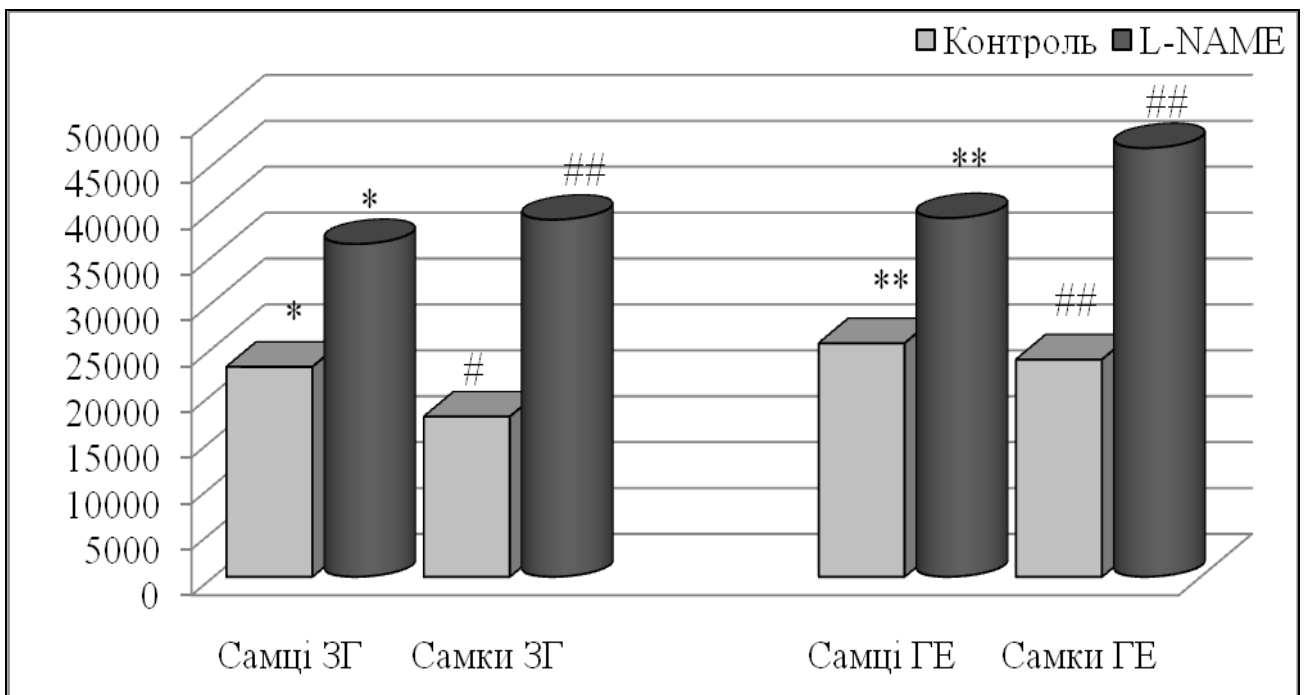


Рис. 3.8. Динаміка величини індексу напруження в тварин різної статі зі збереженими та видаленими гонадами за застосування L-NAME.

Загалом, описана динаміка частоти серцевих скорочень та проаналізованих показників математичного аналізу серцевого ритму відображали різке підвищення напруження регуляторних механізмів у відповідь на застосування неселективного блокатора синтезу оксиду азоту L-NAME. Зсув симпато-парасимпатичного балансу характеризувався активацією адренергічних та обмеженням холінергічних впливів на функціональну активність синусового вузла у тварин обох статей зі збереженими та видаленими статевими залозами.

## Резюме

У даному розділі наведено результати дослідження особливостей регуляції серцевого ритму автономною нервовою системою в щурів різної статі на тлі відсутності гормонопродукуючої функції статевих залоз за застосування прекурсора синтезу оксиду азоту L-аргініну або неселективного блокатора L-NAME. Критеріями оцінки балансу активності адренергічної та холінергічної ланок автономної нервової системи було взято частоту серцевих скорочень та основні показники математичного аналізу кардіоінтервалограм: мода, амплітуда моди, варіаційний розмах кардіоінтервалів та інтегральний показник стану регуляторних механізмів – індекс напруження.

На підставі описаних вище змін можна стверджувати наступне:

1. Прекурсор синтезу оксиду азоту L-аргінін, введений в черевну порожнину, в дозі 600 мг/кг є ефективним для визначення активності автономної регуляції серця; дослідження необхідно починати на 30-й хвилині від введення, коли реєструються максимально інтенсивні зміни.
2. У результаті білатеральної гонадектомії самців та самок щурів виникає посилення напруження регуляторних механізмів та нівелювання статевих особливостей симпато-вагального балансу регуляції серцевої діяльності. Нестача андрогенів у самців проявляється зменшенням впливу парасимпатичної ланки на діяльність серця, дефіцит естроген-прогестеронового фону у самок має наслідком активацію адренергічних та пригнічення холінергічних впливів на функціональний стан синусового вузла.
3. Стимулювання системи оксиду азоту, шляхом введення прекурсора його синтезу – L-аргініну, за умов збереженої функціональної активності гонад сприяє зниженню напруження регуляторних механізмів через обмеження симпатичних та посилення парасимпатичних впливів на регуляцію серця, що притаманне тваринам обох статей.

Застосування L-аргініну в щурів після білатеральної гонадектомії не відновлює балансу активності різних ланок автономної нервової системи, притаманного щурам зі збереженими статевими залозами. Натомість,

виникає надмірна активація холінергічної ланки зі зменшенням адренергічного контролю, особливо в гонадектомованих самок.

4. Застосування L-NAME у щурів обох статей зі збереженими статевими залозами супроводжується активацією адренергічного, пригніченням холінергічного контролю серцевої діяльності, різким зростанням напруження регуляторних механізмів. Самки є чутливішими до блокади синтаз оксиду азоту, що проявляється більшою, ніж в особин протилежної статі, інтенсивністю зазначених змін.

Білатеральна гонадектомія не змінює характеру відповіді автономної нервової системи на введення L-NAME, зменшує лише її інтенсивність, що є суттєвішим у самок.

Результати досліджень, наведені в даному розділі, опубліковано в роботах автора [114, 150, 151, 156, 158].

## РОЗДІЛ 4

ЧУТЛИВІСТЬ СЕРЦЯ ГОНАДЕКТОМОВАНИХ ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ ДО  
ХОЛІНЕРГІЧНИХ ВПЛИВІВ ЗА ЗАСТОСУВАННЯ МОДУЛЯТОРІВ  
СИНТЕЗУ ОКСИДУ АЗОТУ

У попередньому розділі було продемонстровано наявність відмінностей показників варіаційної кардіоінтервалометрії в тварин залежно від статі та гормонального фону. Отримані результати можуть бути обумовлені різною чутливістю міокардіальних холінорецепторів синусового вузла. Тому для з'ясування механізмів описаних змін вирішили дослідити чутливість серця до стимуляції блукаючого нерва та ацетилхоліну, введеного ззовні. Це дозволить оцінити резерви медіатора в холінергічних терміналях, які підходять до кардіоміоцитів синоатріального вузла, чутливість постсинаптичних холінорецепторів та, опосередковано, активність ферментативного гідролізу парасимпатичного медіатора ацетилхоліну.

Регуляторний вплив холінергічної ланки автономної нервової системи на роботу серця значною мірою залежить від функціонального стану холінорецепторів міокарда. Тому наступним етапом наших досліджень було дослідження чутливості серця тварин до екзогенного ацетилхоліну, який вводили внутрішньовенно. Ефекти аналізували за результатами змін показників інтенсивності та тривалості брадикардії, що виникала після парентерального застосування ацетилхоліну.

Далі оцінювали чутливість холінорецепторів синусового вузла до подразнення блукаючого нерва за інтенсивністю брадикардії, що виникала у відповідь на електричну його стимуляцію. Оскільки максимальне вивільнення ацетилхоліну з холінергічних терміналей, що контактують із кардіоміоцитами синоатріального вузла, у відповідь на електричну стимуляцію *n. vagus* спостерігається протягом першої хвилини, було окремо проаналізовано максимальний ступінь брадикардії на кожному 10-секундному інтервалі від початку подразнення. Це дозволяє отримати додаткові дані про запаси ацетилхоліну в пресинаптичних терміналях та ефект зміни функціональної

чутливості холінорецепторів в умовах тривалої стимуляції n. vagus з метою збереження хвилинного об'єму крові. Негативна хронотропна реакція на перших секундах електростимуляції периферичного відрізка блукаючого нерва обумовлена раптовим та значним вивільненням ацетилхоліну з пресинаптичних везикул. Запас медіатора у нервових терміналях зменшується протягом подальшої електростимуляції, це призводить до зменшення його робочої концентрації у синаптичній щілині та має наслідком менше виражені негативні хронотропні ефекти, тривалість яких залежить з одного боку від активності гідролізу медіатора, а з іншого – від функціональної десенситизації холінорецепторів.

4.1. Статеві особливості реакції серця гонадектомованих щурів на подразнення блукаючого нерва та внутрішньовенне введення ацетилхоліну

Отримані результати вивчення чутливості серця до холінергічних впливів у тварин різної статі зі збереженими гонадами, а також за застосування прекурсора та блокатора синтезу оксиду азоту наведено в таблиці 4.1.

Таблиця 4.1

**Чутливість щурів різної статі зі збереженими гонадами до ендogenous та екзогенного ацетилхоліну за застосування прекурсора та блокатора синтезу оксиду азоту ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )**

Показ- ник	Самці ЗГ			Самки ЗГ		
	Інтактні	L-аргінін	L-NAME	Інтактні	L-аргінін	L-NAME
ІБ <sub>n.v.</sub>	3,98±0,20 1	5,21±0,45 2	3,20±0,11 3	5,40±0,45 4	9,59±0,95 5	3,65±0,41 6
ІБ <sub>АХ</sub>	3,01±0,12 7	2,96±0,11 8	2,38±0,06 9	3,88±0,11 10	3,70±0,43 11	2,68±0,32 12
ТБ <sub>АХ,с</sub>	21,16±0,62 13	21,55±0,30 14	14,26±0,85 15	22,08±1,27 16	21,13±0,48 17	14,85±0,50 18
Примітка. $P_{1-2} < 0,05$ ; $p_{1-3} < 0,01$ ; $p_{1-4} < 0,02$ ; $p_{2-5} < 0,002$ ; $p_{4-5} < 0,01$ ; $p_{4-6} < 0,02$ ; $p_{7-9} < 0,001$ ; $p_{7-10} < 0,001$ ; $p_{10-12} < 0,01$ ; $p_{13-15} < 0,001$ ; $p_{16-18} < 0,01$ .						

В інтактних щурів (за збереженої гормонопродукуючої функції гонад) спостерігали такі статеві особливості функціонування холінергічної системи: у самок інтенсивність брадикардії при введенні ацетилхоліну та електричному подразненні блукаючого нерва була більшою за аналогічні показники самців у 1,3 та 1,4 раза відповідно.

Наступний етап досліджень даного спрямування провели на тваринах з видаленими гонадами для вивчення впливу дефіциту статевих гормонів, як чоловічих, так і жіночих, на здатність синусового вузла реагувати брадикардією у відповідь на електричне подразнення блукаючого нерва та внутрішньовенне введення ацетилхоліну. Результати дослідження чутливості серця до ендogenous та екзогенного ацетилхоліну в гонадектомованих тварин різної статі за застосування прекурсора та блокатора синтезу оксиду азоту подано в таблиці 4.2.

Таблиця 4.2

**Чутливість гонадектомованих щурів різної статі до ендogenous та екзогенного ацетилхоліну за зміненої активності системи оксиду азоту**

Показ- ник	Самці GE			Самки GE		
	Контроль	L-аргінін	L-NAME	Контроль	L-аргінін	L-NAME
ІБ <sub>n.v.</sub>	2,73±0,09 19	5,61±0,16 20	1,54±0,19 21	4,15±0,27 22	5,36±0,12 23	2,93±0,14 24
ІБ <sub>АХ</sub>	2,50±0,08 25	3,33±0,16 26	2,23±0,11 27	3,10±0,16 28	5,28±0,14 29	1,80±0,08 30
ТБ <sub>АХ,С</sub>	19,56±0,62 31	25,00±0,90 32	12,36±1,11 33	14,13±1,04 34	25,10±0,75 35	12,00±0,64 36

Примітка. Значення p з 1 по 18 взято з таблиці 4.1.  $p_{1-19} < 0,001$ ;  $p_{1-20} < 0,001$ ;  $p_{3-21} < 0,001$ ;  $p_{4-22} < 0,05$ ;  $p_{5-23} < 0,002$ ;  $p_{7-25} < 0,01$ ;  $p_{10-28} < 0,01$ ;  $p_{10-29} < 0,001$ ;  $p_{11-29} < 0,01$ ;  $p_{12-30} < 0,05$ ;  $p_{13-32} < 0,01$ ;  $p_{14-32} < 0,01$ ;  $p_{16-34} < 0,001$ ;  $p_{17-35} < 0,002$ ;  $p_{18-36} < 0,01$ ;  $p_{19-20} < 0,001$ ;  $p_{19-21} < 0,001$ ;  $p_{19-22} < 0,001$ ;  $p_{21-24} < 0,001$ ;  $p_{22-23} < 0,001$ ;  $p_{22-24} < 0,001$ ;  $p_{25-26} < 0,001$ ;  $p_{25-28} < 0,01$ ;  $p_{26-29} < 0,001$ ;  $p_{27-30} < 0,02$ ;  $p_{28-29} < 0,001$ ;  $p_{28-30} < 0,001$ ;  $p_{31-32} < 0,001$ ;  $p_{31-33} < 0,001$ ;  $p_{31-34} < 0,002$ .

Вивчення чутливості серця до ендogenous та екзогенного ацетилхоліну тварин різної статі з видаленими гонадами показало, що інтенсивність брадикардії при електричній стимуляції блукаючого нерва в самок в 1,7 раза перевищувала аналогічний показник самців, тоді як за іншими параметрами, що вивчалися, достовірної різниці не було.

Аналізуючи наведені у таблицях показники помітили, що гонадектомія мала наслідком зменшення чутливості серця до введеного ацетилхоліну ззовні в щурів обох статей. Це проявлялося зниженням інтенсивності негативних хронотропних реакцій у відповідь на дане втручання на 17 % у самців та на 20 % у самок порівняно з показниками тварин контрольних груп. Тривалість брадикардії в самців, незважаючи на гонадектомію, залишилась попередньою, а в овариєктомованих самок зменшилась на 36 %.

В умовах дефіциту чоловічих та жіночих статевих гормонів серце самців реагувало в 1,5 раза меншою порівняно з інтактними тваринами інтенсивністю брадикардії у відповідь на електричну стимуляцію блукаючого нерва, а самок – в 1,3 раза.

Наступним кроком стало проведення аналізу показників інтенсивності брадикардії на кожному 10-секундному інтервалі подразнення блукаючого нерва, яке спостерігали протягом однієї хвилини у тварин зі збереженими та видаленими гонадами. Отримані результати наведено у таблиці 4.3.

Як показано на рисунку 4.1, у самців зі збереженими гонадами інтенсивність брадикардії була найбільш вираженою протягом перших 10-ти секунд від початку подразнення блукаючого нерва. У процесі електростимуляції спостерігалось достовірне зменшення інтенсивності брадикардії, яке на 20-й секунді, порівняно з першим 10-секундним інтервалом, становило 1,2 раза, на 30-й – 1,3 раза, на 40-й – 1,5 раза, на 50-й – 2 рази, на 60-й – 4 рази.

У самок зі збереженими гонадами максимальну інтенсивність брадикардії спостерігали протягом перших 20-и секунд електростимуляції блукаючого нерва, адже статистично достовірної відмінності між 10-ю та 20-ю секундами від початку досліду не було (рис. 4.1). На 30-й секунді експерименту



інтенсивність брадикардії зменшилася в 1,3 раза, порівняно з першим 10-секундним інтервалом, на 40-й – у 1,9 раза, 50-й – у 2,5 раза, 60-й – у 3,3 раза.

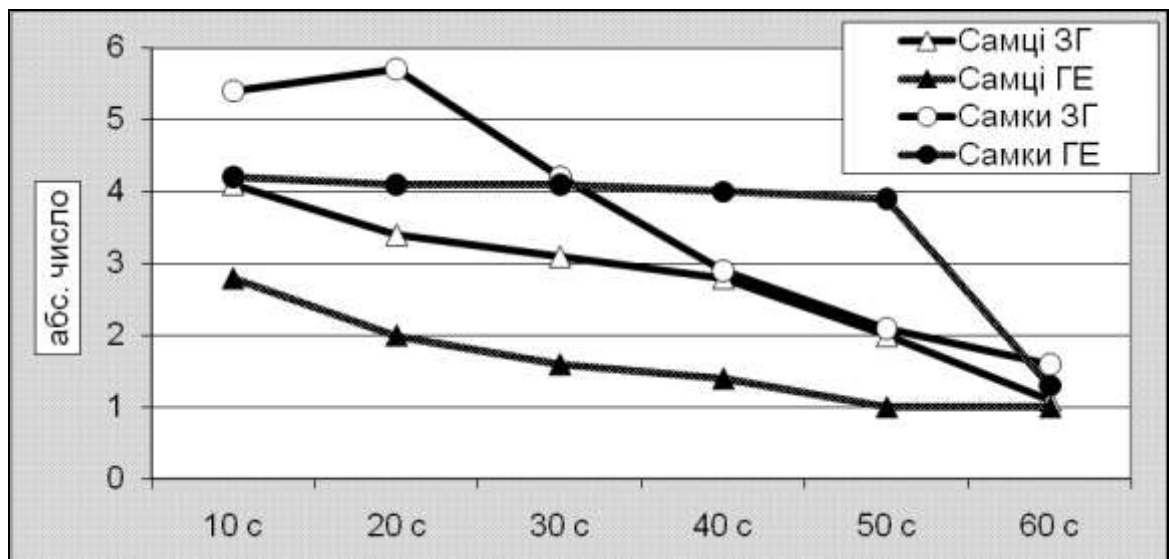


Рис. 4.1. Динаміка інтенсивності брадикардії протягом 60-секундної електростимуляції блукаючого нерва у щурів різної статі до та після білатеральної гонадектомії.

Порівняння величин інтенсивності вагусної брадикардії на 60-секундному відрізку часу в тварин різної статі зі збереженими статевими залозами показало, що на 10-й секунді досліджуваного показника у самців був меншим, ніж у самок у 1,3 раза, на 20-й – у 1,7 раза, на 30-й – у 1,4 раза, а на 40-й, 50-й та 60-й секундах від початку подразнення блукаючого нерва статистично достовірної відмінності між досліджуваними групами не було. Це є свідченням того, що у самок зі збереженими гонадами більші, ніж у самців, запаси ацетилхоліну в пресинаптичних терміналях.

Гонадектомія самців щурів не змінила динаміки показників вагусної брадикардії (табл. 4.3 та рис. 4.1). Максимальна негативна хронотропна реакція спостерігалася також, як і в інтактних, перші 10 секунд впливу. Упродовж хвилини її інтенсивність зменшувалася і достовірно меншою була вже на 20-й секунді, зокрема в 1,4 раза, на 30-й – в 1,8 раза, 40-й – в 2 рази, 50-й та 60-й – в 2,7 раза. При цьому статистично достовірної відмінності між 30-ю та 40-ю секундами, а також 50-ю та 60-ю не було.

Таблиця 4.3

**Зміни інтенсивності брадикардії протягом 60-секундної електростимуляції  
блукаючого нерва у щурів різної статі зі збереженими та видаленими  
гонадами за застосування прекурсора та блокатора синтезу оксиду азоту  
(n=6, M±m)**

Група тварин	Інтенсивність брадикардії, абс. число					
	10-а с	20-а с	30-а с	40-а с	50-а с	60-а с
Самці ЗГ	4,1±0,20 1	3,4±0,10 2	3,1±0,1 3	2,8±0,10 4	2,0±0,14 5	1,1±0,03 6
Самки ЗГ	5,4±0,40 7	5,7±0,38 8	4,2±0,18 9	2,9±0,40 10	2,1±0,20 11	1,6±0,32 12
Самці ЗГ L-аргінін	3,5±0,06 13	4,1±0,17 14	5,2±0,46 15	4,5±0,22 16	3,8±0,01 17	3,8±0,06 18
Самки ЗГ L-аргінін	9,6±0,89 19	7,1±0,30 20	5,9±0,14 21	5,1±0,30 22	4,3±0,17 23	3,5±0,30 24
Самці ЗГ L-NAME	3,2±0,11 25	2,7±0,11 26	2,1±0,11 27	1,6±0,08 28	1,3±0,06 29	1,0±0,01 30
Самки L-NAME	3,7±0,41 31	1,2±0,06 32	1,0±0,03 33	1,0±0,03 34	1,0±0,03 35	1,0±0,03 36
Самці GE	2,8±0,09 37	2,0±0,12 38	1,6±0,12 39	1,4±0,06 40	1,0±0,04 41	1,0±0,02 42
Самки GE	4,2±0,24 43	4,1±0,22 44	4,1±0,27 45	4,0±0,20 46	3,9±0,25 47	1,3±0,06 48
Самці GE L-аргінін	5,6±0,16 49	3,1±0,19 50	2,3±0,11 51	1,5±0,11 52	1,3±0,04 53	1,0±0,03 54
Самки GE L-аргінін	5,4±0,12 55	1,6±0,06 56	1,9±0,09 57	1,6±0,06 58	1,7±0,06 59	1,7±0,06 60
Самці GE L-NAME	1,5±0,17 61	1,5±0,19 62	1,5±0,17 63	1,4±0,12 64	1,3±0,11 65	1,0±0,05 66
Самки GE L-NAME	2,9±0,14 67	1,8±0,22 68	1,5±0,19 69	1,3±0,08 70	1,3±0,08 71	1,3±0,08 72

Примітка.  $p_{1-2}<0,02$ ;  $p_{1-3}<0,01$ ;  $p_{1-4}<0,001$ ;  $p_{1-5}<0,001$ ;  $p_{1-6}<0,001$ ;  $p_{1-7}<0,02$ ;  $p_{1-13}<0,02$ ;  $p_{1-25}<0,01$ ;  $p_{1-37}<0,001$ ;  $p_{1-49}<0,001$ ;  $p_{2-8}<0,001$ ;  $p_{2-14}<0,01$ ;  $p_{2-26}<0,01$ ;  $p_{2-38}<0,001$ ;  $p_{3-9}<0,001$ ;  $p_{3-15}<0,002$ ;  $p_{3-27}<0,001$ ;  $p_{3-39}<0,001$ ;  $p_{3-51}<0,002$ ;  $p_{4-16}<0,001$ ;  $p_{4-28}<0,001$ ;  $p_{4-40}<0,001$ ;  $p_{4-52}<0,001$ ;  $p_{5-17}<0,001$ ;  $p_{5-41}<0,001$ ;  $p_{5-53}<0,001$ ;  $p_{6-18}<0,001$ ;  $p_{7-9}<0,05$ ;  $p_{7-10}<0,002$ ;  $p_{7-11}<0,001$ ;  $p_{7-12}<0,001$ ;  $p_{7-19}<0,002$ ;  $p_{7-31}<0,02$ ;  $p_{7-43}<0,05$ ;  $p_{8-20}<0,02$ ;  $p_{8-32}<0,001$ ;  $p_{8-44}<0,01$ ;  $p_{8-56}<0,001$ ;  $p_{9-21}<0,001$ ;  $p_{9-33}<0,001$ ;  $p_{9-57}<0,001$ ;  $p_{10-22}<0,002$ ;  $p_{10-34}<0,002$ ;  $p_{10-46}<0,05$ ;  $p_{10-58}<0,02$ ;  $p_{11-23}<0,001$ ;  $p_{11-35}<0,001$ ;  $p_{11-47}<0,001$ ;  $p_{12-24}<0,002$ ;  $p_{13-14}<0,01$ ;  $p_{13-15}<0,01$ ;  $p_{13-16}<0,001$ ;  $p_{13-17}<0,001$ ;  $p_{13-18}<0,001$ ;  $p_{13-19}<0,001$ ;  $p_{13-49}<0,001$ ;  $p_{14-20}<0,001$ ;  $p_{14-50}<0,01$ ;  $p_{15-51}<0,001$ ;  $p_{16-52}<0,001$ ;  $p_{17-23}<0,02$ ;  $p_{17-53}<0,001$ ;  $p_{18-54}<0,001$ ;  $p_{19-20}<0,05$ ;  $p_{19-21}<0,01$ ;  $p_{19-22}<0,002$ ;  $p_{19-23}<0,001$ ;  $p_{19-24}<0,001$ ;  $p_{19-55}<0,001$ ;  $p_{20-56}<0,001$ ;  $p_{21-57}<0,001$ ;  $p_{22-58}<0,001$ ;  $p_{23-59}<0,001$ ;  $p_{24-60}<0,001$ ;  $p_{25-26}<0,01$ ;  $p_{25-28}<0,001$ ;  $p_{25-29}<0,001$ ;  $p_{25-30}<0,001$ ;  $p_{25-61}<0,001$ ;  $p_{26-32}<0,001$ ;  $p_{26-62}<0,001$ ;  $p_{27-33}<0,001$ ;  $p_{27-63}<0,02$ ;  $p_{28-34}<0,001$ ;  $p_{29-35}<0,002$ ;  $p_{31-32}<0,001$ ;  $p_{31-33}<0,001$ ;  $p_{32-68}<0,05$ ;  $p_{33-69}<0,05$ ;  $p_{34-70}<0,01$ ;  $p_{35-71}<0,01$ ;  $p_{36-72}<0,01$ ;  $p_{37-38}<0,001$ ;  $p_{37-39}<0,001$ ;  $p_{37-40}<0,001$ ;  $p_{37-41}<0,001$ ;  $p_{37-42}<0,001$ ;  $p_{43-48}<0,001$ ;  $p_{37-49}<0,001$ ;  $p_{37-61}<0,001$ ;  $p_{38-50}<0,001$ ;  $p_{39-51}<0,002$ ;  $p_{41-53}<0,001$ ;  $p_{41-65}<0,05$ ;  $p_{43-55}<0,002$ ;  $p_{44-56}<0,001$ ;  $p_{45-57}<0,001$ ;  $p_{46-58}<0,001$ ;  $p_{47-59}<0,001$ ;  $p_{48-60}<0,001$ ;  $p_{49-50}<0,001$ ;  $p_{49-51}<0,001$ ;  $p_{49-52}<0,001$ ;  $p_{49-53}<0,001$ ;  $p_{49-54}<0,001$ ;  $p_{55-56}<0,001$ ;  $p_{55-57}<0,001$ ;  $p_{55-58}<0,001$ ;  $p_{55-59}<0,001$ ;  $p_{55-60}<0,001$ ;  $p_{56-57}<0,02$ ;  $p_{61-66}<0,02$ ;  $p_{61-67}<0,001$ ;  $p_{66-72}<0,01$ ;  $p_{67-68}<0,002$ ;  $p_{67-69}<0,001$ ;  $p_{67-70}<0,001$ ;  $p_{67-71}<0,001$ ;  $p_{67-72}<0,001$ .

Порівняння інтенсивності брадикардії, що спостерігалася впродовж 60-секундної електростимуляції блукаючого нерва, у самців щурів до та після гонадектомії показало, що в самців з дефіцитом андрогенів вона була меншою в 1,5 раза на першому 10-секундному відрізку, ніж у щурів зі збереженим гормональним фоном у аналогічний часовий проміжок (див. табл. 4.3 та рис. 4.1). Така відмінність між тваринами зберігалась і надалі. У когорті самців з видаленими гонадами  $I_{n.v.}$  була меншою, ніж у самок, на 20-й секунді в 1,6 раза, на 30-й – у 1,9 раза, на 40-й та 50-й - у 2 рази. Видалення гонад у самців викликало зниження чутливості серця до ендогенного ацетилхоліну, що, очевидно, обумовлено зменшенням запасів ацетилхоліну та зниженням чутливості холінорецепторів.

На тлі дефіциту статевих гормонів у самок максимальну інтенсивність брадикардії реєстрували на 10-й секунді досліду і спостерігали утримання її на одному рівні ще наступних 40-к секунд, адже достовірної різниці між величинами  $I_{n.v.}$  між 10-ю, 20-ю, 30-ю, 40-ю та 50-ю секундами експерименту не було (див. табл. 4.3 та рис. 4.1). І лише на 60-й секунді, порівняно з першим 10-секундним інтервалом, інтенсивність вагусної брадикардії різко зменшилась у 3,2 раза.

Білатеральна оваректомія в самок, як і у самців, мала також наслідком зменшення чутливості серця до подразнення блукаючого нерва. Зокрема, значення  $I_{n.v.}$  у когорті кастрованих самок на 10-й секунді було в 1,3 раза меншим за аналогічний показник тварин зі збереженими яєчниками, на 20-тій – у 1,4 раза, на 30-тій секунді дослідження інтенсивність брадикардії була однаковою в обох групах, на 40-вій та 50-тій секундах – більшою в щурів з видаленими гонадами у 1,4 та у 1,9 раза відповідно, та знову зрівнялись на 60-й секунді. Такі зміни могли бути наслідком більш швидкого виснаження запасів везикулярного ацетилхоліну в пресинаптичних терміналях, спричиненого нестачею жіночих статевих гормонів.

#### 4.2. Вплив прекурсора синтезу оксиду азоту L-аргініну на чутливість холінорецепторів серця гонадектомованих щурів різної статі

Наступним етапом дослідження стало вивчення впливу дефіциту статевих гормонів на чутливість серця щурів до стимуляції блукаючого нерва та екзогенного ацетилхоліну за застосування L-аргініну – попередника синтезу оксиду азоту.

В умовах збереження функціональної активності гонад введення L-аргініну призвело лише до збільшення інтенсивності вагусної брадикардії в тварин обох статей, тоді як показники інтенсивності та тривалості брадикардії, спричиненої введенням ацетилхоліну залишились без змін (див. табл. 4.1).

У самців при введенні прекурсора синтезу оксиду азоту  $IB_{n.v.}$  збільшилась у 1,3 раза, а в самок – у 1,8 раза порівняно з інтактними щурами відповідної статі. У кінцевому результаті на тлі L-аргініну інтенсивність брадикардії в самок у 1,8 раза перевищувала аналогічний показник самців, що могло бути зумовлене більшими запасами ацетилхоліну в нервових терміналях та більшою чутливістю холінорецепторів саме в самок, що дозволяє їм краще, ніж самцям, обмежувати негативні впливи підвищеного тонуусу симпатичної ланки автономної нервової системи.

Застосування прекурсора синтезу оксиду азоту L-аргініну в самців з видаленими статевими залозами призвело до посилення вагусної брадикардії в 2,1 раза,  $IB_{AX}$  на 33 %,  $TB_{AX}$  на 28 %, а в самок – в 1,3 раза, 1,7 раза та 1,8 раза відповідно. Необхідно зазначити, що гонадектомовані тварини різної статі, яким вводили L-аргінін, відрізнялися між собою лише за інтенсивністю брадикардії від застосування екзогенного ацетилхоліну. У самок вона була в 1,6 раза більшою за аналогічний показник у самців (див. табл. 4.2).

Після застосування L-аргініну серце гонадектомованих щурів порівняно з інтактними в 1,4 раза інтенсивніше реагувало брадикардією у відповідь на електричну стимуляцію блукаючого нерва та на 18 % тривалішою була у них і брадикардія при введенні ацетилхоліну (див. табл. 4.2). Це свідчить, що застосування L-аргініну в самців з видаленими статевими залозами сприяло

відновленню зменшеної внаслідок гонадектомії чутливості серця до екзогенного ацетилхоліну, адже величина  $IB_{AX}$  даної когорти достовірно не відрізнялась від значення аналізованого показника інтактних тварин.

Аналіз змін інтенсивності брадикардії протягом 60-секундної електростимуляції блукаючого нерва (див. табл. 4.3) показав, що застосування прекурсора синтезу оксиду азоту в самців зі збереженими гонадами призводило до поступового наростання інтенсивності брадикардії починаючи з 10-ї секунди дослідження до 30-ї, коли реєструвався максимальний негативний хронотропний ефект, та наступного його зниження до 50-ї секунди. Так, величина  $IB_{n.v.}$  на 20-й секунді, порівняно з першим 10-секундним інтервалом, була більшою в 1,2 раза, на 30-й – у 1,5 раза, на 40-й – в 1,3 раза, на 50-й та 60-й – в 1,1 раза (рис. 4.2).

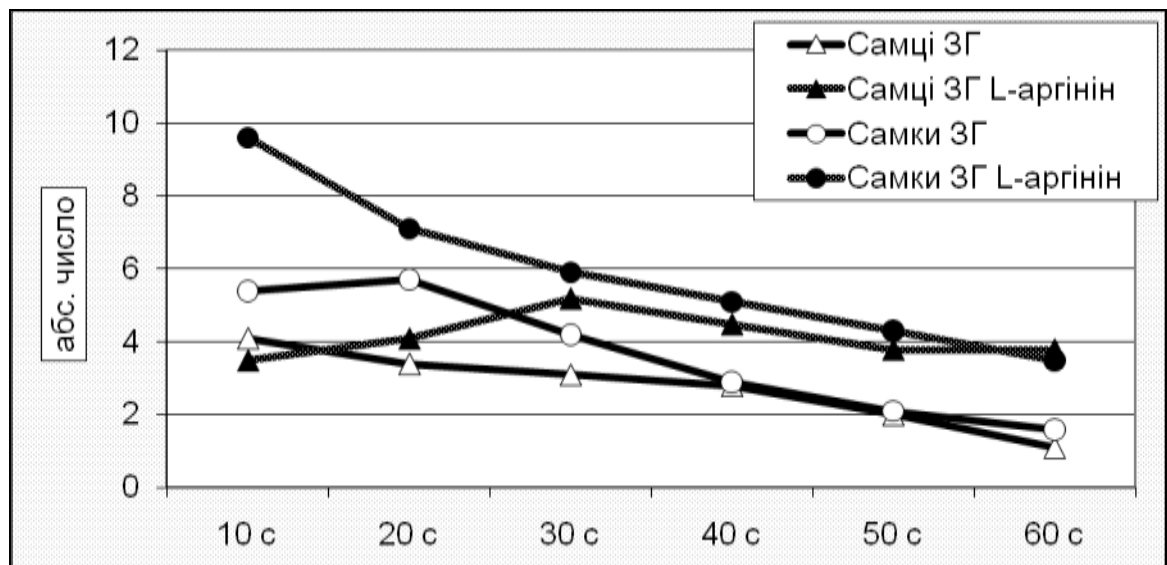


Рис. 4.2. Динаміка інтенсивності брадикардії від електричного подразнення блукаючого нерва у щурів різної статі зі збереженими гонадами за застосування L-аргініну.

Порівняльний аналіз динаміки інтенсивності вагусної брадикардії інтактних самців та тварин, яким вводили L-аргінін, показав, що  $IB_{n.v.}$  останніх на 10-й секунді була в 1,2 раза меншою, ніж в групі контролю, а в подальшому – на 20-й, 30-й, 40-й, 50-й та 60-й секундах аналізована величина була більшою в 1,2 раза, в 1,7 раза, в 1,6 раза, в 1,9 раза та в 3,5 раза відповідно. Відрізнялись аналізовані групи і часом виникнення максимальної брадикардії. У самців за

застосування прекурсора синтезу оксиду азоту максимальну по величині інтенсивність брадикардії спостерігали на 30-и секундному від різку часу, тоді як у інтактних тварин – на перших 10-и секундах досліджу.

Таким чином, прекурсор синтезу оксиду азоту L-аргініну в самців зі збереженими статевими залозами підвищував чутливість серця до ендogenous ацетилхоліну, головним чином, за рахунок впливу на холінорецептори постсинаптичної мембрани.

У самців на тлі дефіциту статевих стероїдів спостерігали іншу, ніж у щурів зі збереженими гонадами, динаміку реакції серця на тривалу стимуляцію п. vagus при введенні L-аргініну (рис. 4.3). Максимальне значення інтенсивності брадикардії було зареєстровано вже на 10-й секунді подразнення блукаючого нерва, що свідчило про посилення вивільнення везикулярного ацетилхоліну на тлі стимулювання синтезу оксиду азоту. У процесі електростимуляції спостерігалось достовірне зменшення інтенсивності брадикардії, яке на 20-й секунді порівняно з першим 10-секундним інтервалом становило 1,8 раза, на 30-й – 2,4 раза, на 40-й – 3,7 раза, на 50-й – 4,4 раза, на 60-й – 5,7 раза.

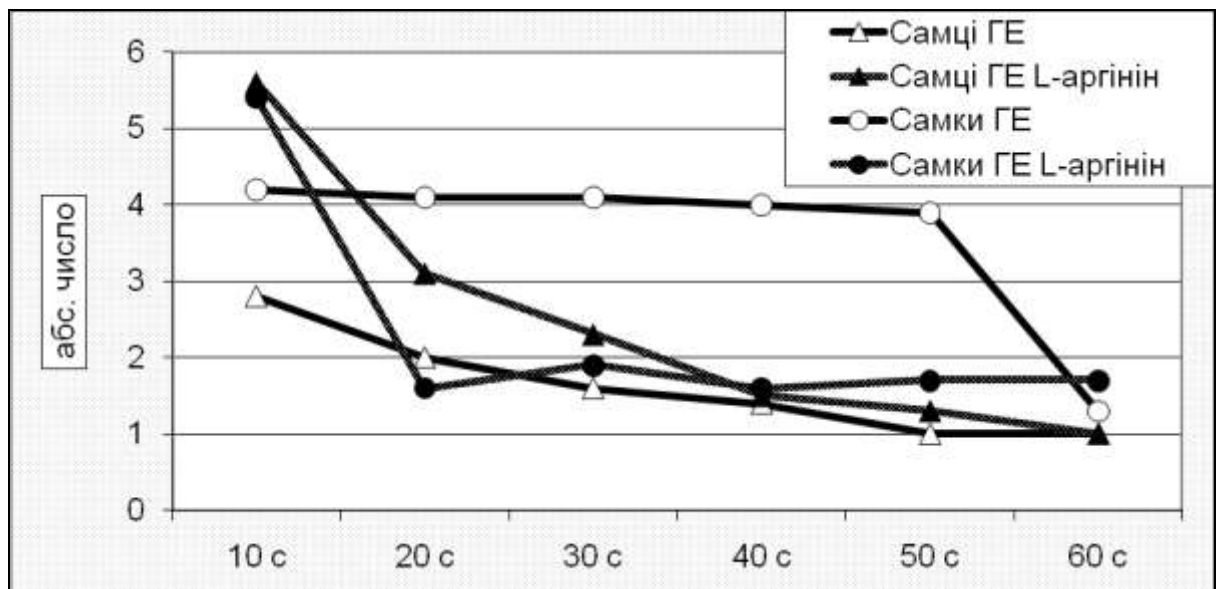


Рис. 4.3. Зміни інтенсивності брадикардії, спричиненої електростимуляцією блукаючого нерва, у щурів різної статі після білатеральної гонадектомії при введенні L-аргініну.

Застосування прекурсора синтезу оксиду азоту в гонадектомованих самців мало наслідком посилення чутливості серця до ендogenous ацетилхоліну. Так, інтенсивність брадикардії у самців, яким попередньо вводили L-аргінін, на 10-й секунді була в 2 рази більшою, ніж у гонадектомованих особин, на 20-й – в 1,6 рази, на 30-й – в 1,4 рази, на 50-й – в 1,3 рази, на 40-й та 60-й секундах достовірної відмінності не було (див. рис. 4.3). Таким чином, L-аргінін у самців з видаленими гонадами сприяв вивільненню ацетилхоліну з пресинаптичних терміналей.

Динаміка інтенсивності вагусної брадикардії за застосування L-аргініну в самців зі збереженими та видаленими статевими залозами була різною, хоча й за величиною максимального показника достовірної відмінності між тваринами порівнюваних когорт не було. У кастрованих щурів найбільш виражений негативний хронотропний ефект спостерігали на 10-й секунді стимуляції, тоді як у тварин зі збереженими гонадами – на 30-й. Лише на першому 10-ти секундному проміжку інтенсивність брадикардії гонадектомованих самців переважала аналогічний показник щурів зі збереженими статевими залозами в 1,6 рази, а на 20-й, 30-й, 40-й, 50-й та 60-й секундах була меншою в 1,3 рази, 2,3 рази, 3 рази, 2,9 рази та 3,5 рази відповідно.

Таким чином, у самців зі збереженою функціональною активністю гонад L-аргінін сприяв посиленню вивільнення ацетилхоліну та забезпечив тривалу підтримку чутливості постсинаптичних холінорецепторів. Останній з ефектів, очевидно, переважав, з огляду на наростання інтенсивності брадикардії до 30-ї секунди. На тлі дефіциту чоловічих статевих гормонів посилення вагусних реакцій серця за застосування прекурсора синтезу оксиду азоту забезпечувалось головним чином за рахунок збільшення вивільнення медіатора. Гонадектомія призвела до втрати притаманної самцям зі збереженими статевими залозами особливості функціонування холінорецепторів при збільшенні активності системи оксиду азоту.

Порівняння інтенсивності брадикардії, спричиненої електростимуляцією *n. vagus*, гонадектомованих самців, при попередньому введенні L-аргініну, та інтактних щурів, показало: тварини обох груп реагували максимальною

брадикардією на першому 10-секундному проміжку, проте величина  $I_{B_{n.v.}}$  у кастрованих була у 1,4 раза більшою. На наступному 20-и секундному відрізьку часу статистично достовірної відмінності між двома групами не було ( $p > 0,05$ ). На 30-й, 40-й та 50-й секундах досліду вираженість брадикардитичного ефекту в когорті інтактних самців була більшою в 1,3 раза, 1,9 раза та 1,5 раза відповідно. На 60-й секунді електричного подразнення блукаючого нерва відмінності між величинами інтенсивності брадикардії в тварин аналізованих груп не було ( $p > 0,05$ ).

Таким чином, холінергічна ланка автономної нервової системи в умовах нестачі чоловічих статевих гормонів за застосування прекурсора синтезу оксиду азоту L-аргінін підтримує регуляцію активності синусового вузла головним чином через посилення вивільнення медіатора пресинаптичними терміналями на тлі збільшення швидкості його гідролізу та пришвидшення процесу десенситизації холінорецепторів.

Від інтактних особин гонадектомовані самки, яким вводили прекурсор синтезу оксиду азоту, відрізнялись лише інтенсивністю брадикардії, спричиненої введенням ацетилхоліну, яка була в 1,4 раза більшою в останніх. Це свідчить, що L-аргінін введений оваріектомованим самкам у дозі 600 мг/кг сприяв відновленню зменшеної внаслідок дефіциту статевих гормонів чутливості серця до ендogenous ацетилхоліну.

У самок зі збереженими яєчниками при дочеревному введенні L-аргініну на 20-й секунді подразнення  $I_{B_{n.v.}}$  достовірно зменшилася в 1,4 раза, на 30-й секунді – в 1,6 раза, на 40-й секунді – в 1,9 раза, на 50-й – в 2,3 раза, на 60-й – в 2,7 раза порівняно з першим 10-секундним інтервалом (див. рис. 4.2).

Порівняння вираженості негативно-хронотропних ефектів у аналогічні періоди часу при подразненні блукаючого нерва у інтактних самок та тварин, яким вводили L-аргінін, показало, що прекурсор синтезу оксиду азоту викликав посилення інтенсивності брадикардії. Так, на 10-й секунді  $I_{B_{n.v.}}$  у тварин, яким попередньо вводили L-аргінін, переважала аналогічний показник інтактних особин в 1,8 раза, на 20-й – в 1,2 раза, на 30-й – в 1,4 раза, на 40-вій – в 1,8 раза, на 50-й – в 2,0 раза та на 60-й – в 2,2 раза (див. рис. 4.2). Як у інтактних, так і у



самок, яким вводили прекурсор синтезу оксиду азоту, максимальне значення інтенсивності брадикардії при електричній стимуляції блукаючого нерва спостерігали на першому 10-секундному проміжку.

Отже, на тлі введення L-аргініну в самок за збереженої функціональної активності яєчників спостерігалось посилення активності холінергічної ланки автономної нервової системи, що проявлялося збільшенням вивільнення везикулярного ацетилхоліну, зменшенням швидкості його гідролізу та тривалим підтриманням функціональної активності постсинаптичних холінорецепторів.

При введенні прекурсора синтезу оксиду азоту самкам після білатеральної гонадектомії спостерігали наступне: найбільша інтенсивність брадикардії реєструвалась у перші десять секунд електростимуляції блукаючого нерва. На 20-й секунді виникло різке у 3,3 раза зниження  $I_{B_{n.v.}}$  порівняно з першими 10-а секундами, на 30-й – у 3,4 раза менше, на 40-й – у 3,3 раза, а на 50-тій та 60-тій – у 3,2 раза. Останніх два десяти секундних інтервали за величиною інтенсивності брадикардії між собою не відрізнялися, а на 30-секундному аналізованому відрізку відбувалося збільшення  $I_{B_{n.v.}}$  відносно 20-секундного інтервалу в 1,2 раза (див. рис. 4.3). Такі зміни свідчили про зменшення на тлі оваріектомії запасів ацетилхоліну в холінергічних синапсах самок та компенсаторну підтримку холінергічної регуляції серця через підвищення чутливості чи кількості холінорецепторів.

При проведенні порівняльного аналізу інтенсивності брадикардії гонадектомованих самок та особин, яким вводили L-аргінін, виявили наступне: в оваріектомованих самок за застосування прекурсора синтезу оксиду азоту на першому 10-секундному інтервалі  $I_{B_{n.v.}}$  була в 1,3 раза більшою порівняно з показником кастрованих тварин. Далі ситуація змінилась на протилежну. Інтенсивність брадикардії оваріектомованих самок, яким вводили L-аргінін, на 20-й, 30-й, 40-й та 50-й секундах була в 2,6, 2,2, 2,5 та 2,3 раза меншою, а на 60-й – в 1,3 раза більшою, ніж у кастрованих (див. рис. 4.3). У гонадектомованих самок прекурсор синтезу оксиду азоту з одного боку

посилював вивільнення ацетилхоліну на тлі зменшення чутливості постсинаптичних холінорецепторів.

Порівняння  $IB_{n.v.}$  у самок щурів зі збереженими та видаленими яєчниками на тлі введення L-аргініну показало, що максимум значення інтенсивності брадикардії припадав на перший 10-и секундний інтервал, проте був у 1,8 раза більшим у когорті тварин зі збереженими гонадами, надалі тенденція збереглася і на 20-й секунді вираженість брадикардії була більшою в 4,4 раза, на 30-й – у 3,1 раза, на 40-й – у 3,2 раза, на 50-й – у 2,5 раза і на 60-й – у 2,1 раза порівняно з показниками кастрованих в аналогічні часові проміжки. Це свідчило про низькі запаси ацетилхоліну в оваріектомованих самок та нижчу, ніж у тварин зі збереженими статевими залозами, чутливість постсинаптичних холінорецепторів серця.

Далі було проведено порівняльний аналіз реакції серця на тривалу стимуляцію блукаючого нерва інтактних та оваріектомованих самок за застосування L-аргініну. На першому 10-и секундному відрізку часу в обох групах спостерігали максимальну інтенсивність брадикардії, при цьому аналізовані величини статистично не відрізнялись між собою ( $p > 0,05$ ). У подальшому значення  $IB_{n.v.}$  інтактних самок переважало аналогічний показник оваріектомованих на 20-й секунді в 3,6 раза, на 30-й – в 2,2 раза, на 40-й – в 1,8 раза, на 50-й та 60-й хвилинах достовірних відмінностей не було ( $p > 0,05$ ). Таким чином, L-аргінін у гонадектомованих самок сприяв відновленню зменшеної внаслідок дефіциту статевих гормонів чутливості серця до стимуляції блукаючого нерва, лише за рахунок полегшення вивільнення везикул ацетилхоліну.

Порівняння величин  $IB_{n.v.}$  тварин різної статі зі збереженими гонадами за застосування L-аргініну, показало значне переважання аналізованого показника в когорті самок на початку 60-секундної стимуляції блукаючого нерва (див. табл. 4.3). На першому 10-секундному інтервалі  $IB_{n.v.}$  у самок була більшою у 2,7 раза, ніж у самців, на 20-й секунді – в 1,7 раза, на 50-й – на 13 %. На 30-й, 40-й та 60-й секундах статистично достовірної відмінності між

порівнюваними групами не було. Отримані результати показали, що в самок запаси ацетилхоліну в пресинаптичних терміналях є більшими, ніж у самців.

4.3. Зміни чутливості серця щурів з видаленими гонадами до екзогенного та ендогенного ацетилхоліну за застосування неселективного блокатора синтезу оксиду азоту L-NAME

Наступним кроком у проведенні досліджень стало вивчення впливу дефіциту статевих гормонів на чутливість холінорецепторів серця щурів різної статі до функціональних впливів в умовах блокади синтаз оксиду азоту.

Введення L-NAME призвело до зменшення всіх аналізованих показників у тварин обох статей. У самців  $IB_{n.v.}$  зменшилася на 20 %, а в самок – на 34 %. Показник  $IB_{AX}$  у самців зменшився в 1,3 раза, у самок – у 1,4 раза. Тривалість брадикардії, викликані внутрішньовенним введенням ацетилхоліну, зменшилась в 1,5 раза як у самців, так і у самок (див. табл. 4.1).

Порівняння тварин різної статі між собою показало відсутність будь якої статистично достовірної відмінності за величинами  $IB_{n.v.}$ ,  $IB_{AX}$  та тривалості останньої при застосуванні L-NAME.

Введення неселективного блокатора синтезу оксиду азоту L-NAME гонадектомованим самцям викликало зниження інтенсивності вагусної брадикардії в 1,8 раза та тривалості брадикардії, спричиненої екзогенним ацетилхоліном, в 1,6 раза, тоді як  $IB_{AX}$  залишилась без змін.

В оваріектомованих самок за застосування L-NAME динаміка була іншою. Інтенсивність брадикардії, спричиненої електростимуляцією блукаючого нерва, зменшилась в 1,4 раза,  $IB_{AX}$  – в 1,7 раза, тоді як тривалість брадикардії достовірно не відрізнялась від аналогічного показника тварин з видаленими статевими залозами.

На тлі зменшеної введенням L-NAME активності системи оксиду азоту гонадектомовані тварини відрізнялись чутливістю серця як до ендогенного, так і екзогенного ацетилхоліну наступним чином:  $IB_{n.v.}$  у самок була в 1,9 раза більшою, а  $IB_{AX}$  – в 1,2 раза меншою, ніж аналогічні показники у самців, тоді як

тривалість брадикардії від внутрішньовенного введення ацетилхоліну була однаковою у тварин обох статей (див. табл. 4.2).

Динаміка інтенсивності брадикардії впродовж 60-секундної стимуляції блукаючого нерва у самців зі збереженими гонадами на тлі введення L-NAME показало, що максимальну інтенсивність брадикардії реєстрували протягом перших 10-ти секунд дослідження, після чого спостерігалось достовірне зменшення даного показника на 20-й секунді в 1,2 раза, на 30-й – у 1,5 раза, на 40-й – у 2 рази, на 50-й – у 2,4 раза і на 60-й – у 3,2 раза (рис. 4.4).

Порівняно з інтактними щурами самці, яким було введено L-NAME, відреагували меншою інтенсивністю брадикардії на всіх аналізованих часових проміжках.  $I_{B_{n.v.}}$  на 10-й та 20-й секундах була в 1,3 раза меншою, 30-й – в 1,5 раза, 40-й – в 1,7 раза. Починаючи з 50-ї секунди дослідження показники в аналізованих групах достовірно не відрізнялися (рис. 4.4).

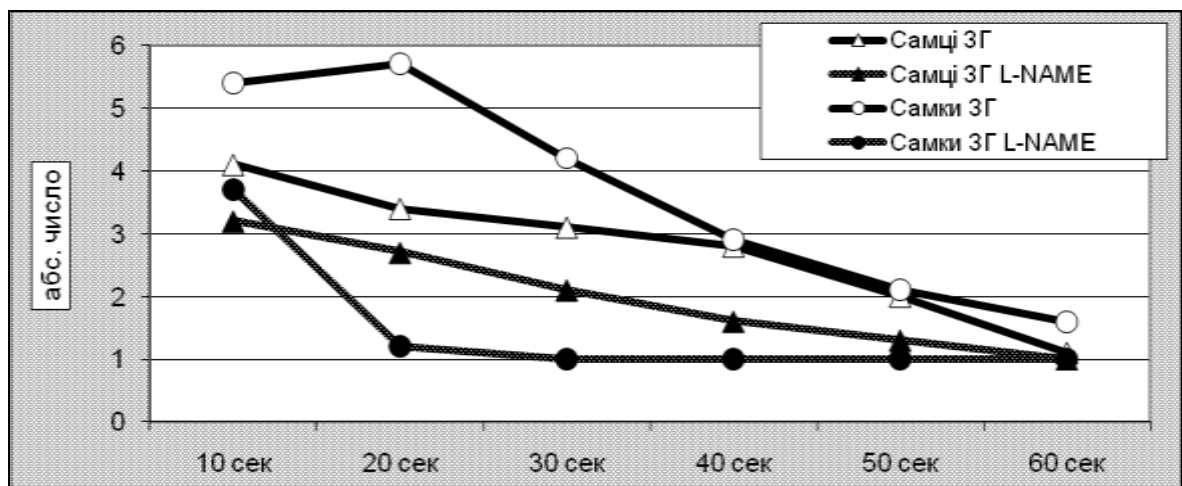


Рис. 4.4. Динаміка інтенсивності брадикардії, спричиненої електростимуляцією блукаючого нерва, у щурів різної статі зі збереженими гонадами за застосування L-NAME.

Таким чином, застосування неселективного блокатора синтезу оксиду азоту в самців зі збереженими гонадами спричинило зниження активності вагусних впливів на синусовий вузол через зменшення вивільнення медіатора пресинаптичними терміналами та чутливості холінорецепторів.

У самок зі збереженою гормонопродукуючою функцією статевих залоз за застосування L-NAME максимально виражений негативний хронотропний ефект спостерігався на першому 10-секундному інтервалі електростимуляції та зменшувалась у подальшому. Вже на 20-й секунді інтенсивність брадикардії була достовірно меншою в 3,2 раза порівняно з першими 10-ма секундами, на 30-й – у 3,5 раза. Починаючи з 30-ї секунди реакції серця на стимуляцію блукаючого нерва не спостерігали. Це свідчить, що синусовий вузол самок зі збереженими гонадами на тлі застосування неселективного блокатора синтезу оксиду азоту вже через 20-ть секунд електростимуляції став нечутливим до впливів блукаючого нерва.

Порівняння негативних хронотропних реакцій, спричинених електричним подразненням блукаючого нерва, у самок, яким було введено L-NAME, з показниками інтактних щурів, показало більшу чутливість серця останніх до ендogenous ацетилхоліну протягом усіх 60-и секунд експерименту. На 10-й секунді ІБ<sub>n.v.</sub> самок, яким вводили L-NAME, була в 1,5 раза меншою, за показник контрольних тварин, на 20-й – в 4,8 раза, на 30-й – в 4,2 раза, на 40-й – в 2,9 раза, на 50-й – в 2,1 раза та зрівнялась на 60-й секунді експерименту (див. рис. 4.4).

Таким чином, холінергічна система самок щурів виявилась надзвичайно чутливою до дії L-NAME. Адже у них не лише більшою мірою знижувалась інтенсивність брадикардії, а й виникав ефект «вислизання» синусового вузла з-під вагусного контролю. Очевидно, за застосування неселективного блокатора синтезу оксиду отримані зміни обумовлені зменшенням вивільнення везикулярного ацетилхоліну та швидкою десенситизацією постсинаптичних холінорецепторів.

Порівняння чутливості серця тварин різної статі зі збереженими гонадами до ендogenous ацетилхоліну на тлі введення блокатора синтезу оксиду азоту показало, що максимальна інтенсивність брадикардії в тварин досліджуваних груп була однаковою та виникала одразу ж на 10-й секунді досліду, проте самки реагували швидшим, ніж самці, зменшенням ІБ<sub>n.v.</sub>. Тому, на 20-й секунді інтенсивність брадикардії самців була в 2,3 раза більшою, ніж у самок, на 30-й

– в 2,1 раза, на 40-й – в 1,6 раза, на 50-й – в 1,3 раза, на 60-й – достовірної відмінності не було.

Отже, при незміненому гормональному фоні за застосування L-NAME самці та самки щурів реагували однаковою інтенсивністю брадикардії у відповідь на електричну стимуляцію периферичного відрізка блукаючого нерва, проте гідроліз ацетилхоліну та процес десенситизації постсинаптичних холінорецепторів у останніх відбувався швидше.

Нестача чоловічих статевих гормонів у самців, викликана кастрацією, призвела до зменшення інтенсивності вагусної брадикардії при введенні блокатора синтезу оксиду азоту. Перший 10-секундний проміжок електростимуляції характеризувався наявністю максимального значення інтервалу R-R, який утримувався практично на одному рівні протягом 50-и секунд електростимуляції. Достовірно менша ІБ<sub>n.v.</sub> була зареєстрована лише на 60-й секунді – в 1,5 раза (рис. 4.5).

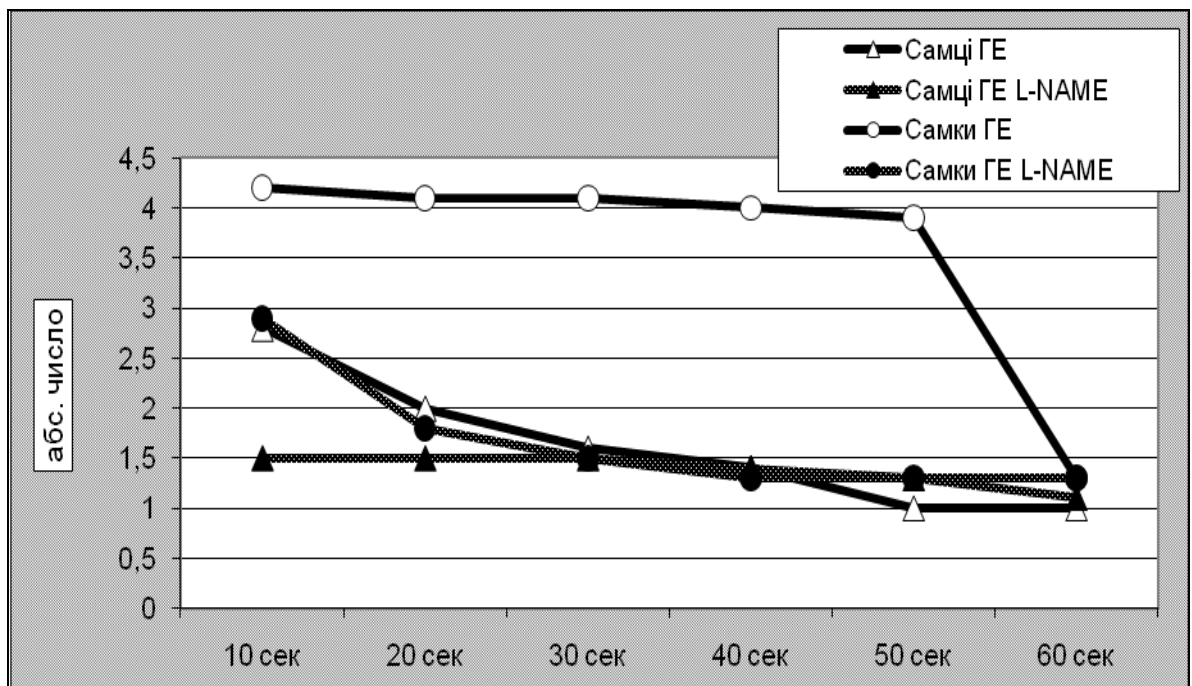


Рис. 4.5. Зміни інтенсивності брадикардії, викликані електростимуляцією блукаючого нерва, у гонадектомованих щурів різної статі за застосування L-NAME.

Порівняння інтенсивності вагусних ефектів гонадектомованих самців, яким вводили L-NAME, та гонадектомованих без такого впливу в аналогічні

часові проміжки показало цікаву динаміку (див. рис. 4.5). Величина  $I_{B_{n.v.}}$  на 10-й секунді була більшою в 1,9 раза в самців з видаленими гонадами, починаючи з 20-ї по 40-у секунду достовірної відмінності між порівнюваними групами не було, на 50-й секунді ситуація змінилась на протилежну – інтенсивність брадикардії в 1,3 раза була більшою в когорті щурів, у яких застосовували L-NAME, а на 60-й секунді – відмінність між тваринами нівелювалася.

Порівняно з самцями зі збереженими статевими залозами, за застосування L-NAME в обох досліджуваних групах, у гонадектомованих тварин на 10-й секунді реєстрували в 2,1 раза меншу інтенсивність брадикардії, на 20-й – в 1,8 раза, на 30-й – в 1,4 раза, починаючи з 40-ї секунди дослідіу статистично достовірної відмінності між порівнюваними групами не було.

Таким чином, блокування синтаз оксиду азоту в гонадектомованих самців поглиблювало зменшену внаслідок дефіциту статевих стероїдів чутливість серця до ендogenous ацетилхоліну. Проте, за застосування L-NAME на тлі різкого зменшення вивільнення медіатора пресинаптичними терміналами спостерігалось компенсаторне посилення чутливості холінорецепторів та зменшення ефекту функціональної десенситизації.

Серця оваріектомованих самок, яким вводили неселективний блокатор синтезу оксиду азоту, на електричну стимуляцію блукаючого нерва відреагували наступним чином. Найбільшу інтенсивність брадикардії реєстрували на перших 10-и секундах експерименту, далі величина аналізованого показника знижувалась і на 20-й секунді була в 1,6 раза меншою порівняно з першим інтервалом, на 30-й – у 2 раза, на 40-й – у 2,3 раза і зберігалась на такому рівні до завершення стимуляції. Статистично достовірної відмінності  $I_{B_{n.v.}}$  між 40-вою, 50-тою та 60-тою секундами виявлено не було (див. рис. 4.5).

Аналіз інтенсивності брадикардії самок до та після білатеральної оваріектомії за застосування блокатора синтезу оксиду азоту показав, що на першому 10-секундному проміжку відмінності між досліджуваними групами не було, на 20-й та 30-й секундах  $I_{B_{n.v.}}$  кастрованих тварин була в 1,5 раза

більшою, а на 40-й, 50-й та 60-й – в 1,3 раза. Це показало, що в гонадектомованих тварин, на відміну від щурів зі збереженими статевими залозами, за застосування L-NAME процес десенситизації холінорецепторів виникав пізніше та відбувався повільніше.

Порівняно з інтактними самками ІБ<sub>n.v.</sub> гонадектомованих тварин, яким вводили L-NAME, була значно нижчою на всіх аналізованих часових проміжках, що свідчило про різке пригнічення в останніх чутливості синусового вузла до вагусних впливів.

Порівняння інтенсивності брадикардії гонадектомованих щурів різної статі на тлі блокади синтаз оксиду азоту показало, що аналізований показник був більшим у когорті самок. Достовірна різниця спостерігалась лише на 10-й та 60-й секундах електростимуляції блукаючого нерва та становила 1,9 раза та 1,3 раза відповідно. З 20-ї по 50-у секунди достовірної статевої відмінності інтенсивності вагусної брадикардії виявлено не було.

Зниження чутливості серця до впливів блукаючого нерва за застосування L-NAME на тлі дефіциту статевих стероїдів у тварин обох статей відбувалось на тлі зменшення вивільнення ацетилхоліну нервовими терміналами та швидкої десенситизації холінорецепторів. Чутливішими до дії неселективного блокатора синтезу оксиду азоту виявились гонадектомовані самки.

### Резюме

У цьому розділі наведено результати дослідження впливу дефіциту жіночих та чоловічих статевих гормонів на чутливість серця щурів до екзогенного та ендогенного ацетилхоліну. Проведений та викладений вище аналіз отриманих у ході експериментів даних дозволяє сформулювати такі оснівні положення:

1. Гонадектомія в тварин обох статей викликає зменшення інтенсивності брадикардії як у відповідь на стимуляцію периферичного відрізка n.vagus, так і введення ацетилхоліну. Послаблення холінергічного контролю серцевої діяльності є результатом зниження запасів ацетилхоліну в холінергічних терміналях тварин обох статей.



2. Застосування прекурсора синтезу оксиду азоту L-аргініну незалежно від статі посилює брадикардію у відповідь на електричну стимуляцію блукаючого нерва, що більше виражене в самок, сповільненням функціональної десенситизації постсинаптичних холінорецепторів, що більше властиво самцям. L-аргінін не впливає на чутливість постсинаптичних холінорецепторів у тварин обох статей.

3. L-аргінін у дозі 600 мг/кг посилює у самців та відновлює у самок зменшену внаслідок гонадектомії чутливість серця до холінергічних впливів шляхом полегшеного вивільнення ацетилхоліну із синапсів та збільшення чутливості постсинаптичних холінорецепторів. У самок домінуючим механізмом є відновленню чутливості серця до стимуляції блукаючого нерва, а в самців – чутливості постсинаптичних холінорецепторів.

4. Неселективний блокатор синтезу оксиду азоту L-NAME (25 мк/кг) зменшує здатність серця тварин обох статей реагувати брадикардією на введення ацетилхоліну та стимуляцію блукаючого нерва та сприяє швидшій десенситизації холінорецепторів. Суттєвішими такі зміни є в самок щурів.

5. L-NAME поглиблює зміни, що виникли після видалення гонад, у тварин обох статей та призводить до різкого обмеження холінергічного контролю діяльності серця, зменшення реакції якого на стимуляцію блукаючого нерва компенсується частковим підвищенням чутливості постсинаптичних холінорецепторів.

Результати досліджень, наведені в даному розділі, опубліковано в роботах автора [155, 159].

## РОЗДІЛ 5

### ВПЛИВ ПРЕКУРСОРА ТА БЛОКАТОРА СИНТЕЗУ ОКСИДУ АЗОТУ НА ВМІСТ ТА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГІДРОЛІЗУ АЦЕТИЛХОЛІНУ В МІОКАРДІ ГОНАДЕКТОМОВАНИХ ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ

Холінергічний контроль серцевого ритму – це поєднання процесів, які включають вивільнення ацетилхоліну з везикул, подальший його ферментативний гідроліз у синаптичній щілині та чутливість холінергічних рецепторів. У попередньому розділі було показано залежність інтенсивності функціонування холінорецепторів синусового вузла від рівня статевих гормонів (як чоловічих, так і жіночих), а також активності системи оксиду азоту. Тому, наступним кроком стало дослідження вмісту ацетилхоліну та активності ферментативного гідролізу медіатора. Зміна інтенсивності зазначених процесів дозволяє оцінити окремі сторони функціонування холінергічних механізмів, пов'язаних із медіаторною фракцією ацетилхоліну. Окрім того, в міокарді є ще й метаболічна фракція ацетилхоліну, яка також приймає участь у здатності парасимпатичної ланки автономної нервової системи забезпечувати діяльність серця в патологічних умовах на метаболічному рівні.

Оскільки в міокарді передсердь та шлуночків домінують різні фракції ацетилхоліну (медіаторна в передсердях та метаболічна у шлуночках), то дослідження його вмісту окремо у вищезгаданих відділах, а також аналіз співвідношення є важливими для об'єктивної оцінки встановлених закономірностей.

5.1. Зміни вмісту та активності ферментативного гідролізу ацетилхоліну в міокарді передсердь та шлуночків у гонадектомованих щурів різної статі

Результати, які відображали зміни вмісту та інтенсивності ферментативного гідролізу ацетилхоліну в міокарді самців і самок тварин у відповідь на проведені впливи наведено у таблиці 5.1 та 5.2.

Таблиця 5.1

**Вміст ацетилхоліну в міокарді передсердь та шлуночків у самців та самок щурів зі збереженими та видаленими гонадами за застосування прекурсора та блокатора синтезу оксиду азоту (n=6, M±m)**

Група тварин	Передсердя, мкмоль/кг		Шлуночки, мкмоль/кг		Спів-відношення П/Ш	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Тварини ЗГ	39,9±1,6 1	43,0±0,5 2	6,9±0,4 3	7,1±0,2 4	5,8	6,1
Тварини ЗГ на тлі L-аргініну	80,1±2,5 5	130,2±4,4 6	40,5±0,2 7	29,0±1,0 8	2,0	4,5
Тварини ЗГ на тлі L-NAME	53,8±0,7 9	57,7±1,4 10	21,0±0,2 11	20,2±0,7 12	2,6	2,9
Тварини GE	79,6±2,7 13	82,1±2,2 14	9,9±0,6 15	9,8±0,1 16	8,0	8,4
Тварини GE на тлі L-аргініну	80,1±1,4 17	84,3±4,9 18	23,6±0,6 19	18,8±0,4 20	3,4	4,5
Тварини GE на тлі L-NAME	89,7±3,1 21	83,4±2,7 22	9,5±0,1 23	9,6±0,2 24	9,4	8,7

Примітка.  $P_{1-2}>0,05$ ;  $p_{1-3}<0,001$ ;  $p_{1-5}<0,001$ ;  $p_{1-9}<0,001$ ;  $p_{1-13}<0,001$ ;  $p_{2-4}<0,001$ ;  $p_{2-6}<0,001$ ;  $p_{2-10}<0,001$ ;  $p_{2-14}<0,001$ ;  $p_{3-4}>0,05$ ;  $p_{3-7}<0,001$ ;  $p_{3-11}<0,001$ ;  $p_{3-15}<0,001$ ;  $p_{4-8}<0,001$ ;  $p_{4-12}<0,001$ ;  $p_{4-16}<0,001$ ;  $p_{5-6}<0,001$ ;  $p_{5-7}<0,001$ ;  $p_{6-8}<0,001$ ;  $p_{7-8}<0,001$ ;  $p_{9-10}<0,05$ ;  $p_{9-11}<0,001$ ;  $p_{10-12}<0,001$ ;  $p_{11-12}>0,05$ ;  $p_{13-14}>0,05$ ;  $p_{13-17}>0,05$ ;  $p_{13-21}<0,05$ ;  $p_{15-16}>0,05$ ;  $p_{15-19}<0,001$ ;  $p_{13-15}<0,001$ ;  $p_{14-16}<0,001$ ;  $p_{14-18}>0,05$ ;  $p_{14-22}>0,05$ ;  $p_{15-23}>0,05$ ;  $p_{16-20}<0,001$ ;  $p_{16-24}>0,05$ ;  $p_{17-18}>0,05$ ;  $p_{17-19}<0,001$ ;  $p_{18-20}<0,001$ ;  $p_{19-20}<0,001$ ;  $p_{21-22}>0,05$ ;  $p_{21-23}<0,001$ ;  $p_{22-24}<0,001$ ;  $p_{23-24}>0,05$ .

Порівняння інтактних тварин (наочно зображено на рисунку 5.1) показало, що за вмістом медіатора і в передсердях, і в шлуночках достовірної відмінності між тваринами різної статі не було.

Дефіцит статевих гормонів, спричинений білатеральною гонадектомією, викликав зростання концентрації ацетилхоліну в передсердях в 2,0 раза у самців і в 1,9 раза у самок, а в шлуночках на 44 та 38 % відповідно. Проте, знову ж таки, кастровані тварини різних статей (як і інтактні) не відрізнялися між собою за рівнем ацетилхоліну ні в передсердях, а ні в шлуночках (рис. 5.1).

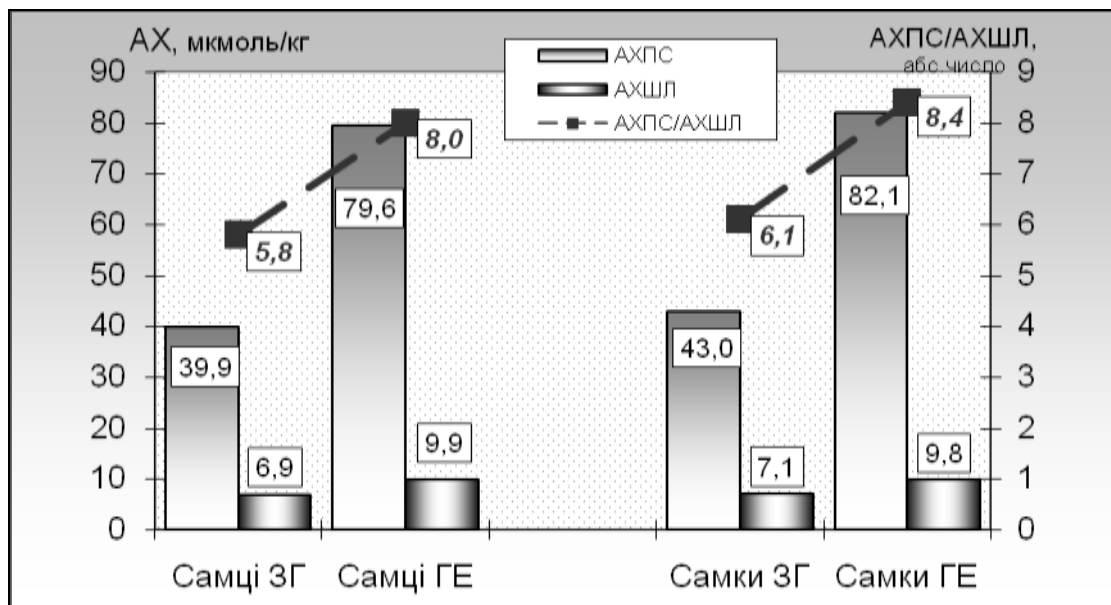


Рис. 5.1. Вміст ацетилхоліну та його співвідношення в передсердях і шлуночках у щурів різної статі до та після білатеральної гонадектомії.

Важливим для оцінки закономірностей описаних вище змін метаболізму ацетилхоліну був аналіз співвідношення його вмісту в міокарді передсердь та шлуночків. Зазначений показник в інтактних тварин становив 5,8 у самців та 6,1 у самок. Після двосторонньої гонадектомії співвідношення зросло до 8,0 та 8,4 відповідно (див. рис. 5.1). Зважаючи на динаміку вмісту ацетилхоліну, можна стверджувати, що дефіцит статевих гормонів (і жіночих, і чоловічих) викликав збільшення концентрації ацетилхоліну в серці, суттєвіше впливаючи на його медіаторну фракцію.

Активність ферментативного гідролізу ацетилхоліну в самців та самок щурів зі збереженими та видаленими гонадами подано в таблиці 5.2.

Таблиця 5.2

**Активність холінестерази в міокарді передсердь та шлуночків у щурів  
різної статі зі збереженими та видаленими гонадами за застосування  
прекурсора та блокатора синтезу оксиду азоту (n=6, M±m)**

Групи тварин	Передсердя, моль/(кг*год)		Шлуночки, моль/(кг*год)	
	♂	♀	♂	♀
Тварини ЗГ	137,7±2,8 1	150,6±1,2 2	104,7±0,4 3	96,0±0,7 4
Тварини ЗГ на тлі L-аргініну	265,8±1,6 5	174,1±2,4 6	44,8±0,8 7	57,5±1,2 8
Тварини ЗГ на тлі L-NAME	306,8±2,1 9	216,4±2,6 10	9,8±0,5 11	31,4±1,8 12
Тварини GE	109,5±0,5 13	112,2±1,4 14	92,9±0,3 15	92,4±0,5 16
Тварини GE на тлі L-аргініну	132,7±1,3 17	69,4±0,6 18	62,3±0,5 19	57,6±0,3 20
Тварини GE на тлі L-NAME	278,6±0,9 21	207,1±0,8 22	38,1±0,3 23	43,9±0,6 24

Примітка.  $P_{1-2}<0,002$ ;  $p_{1-5}<0,001$ ;  $p_{1-9}<0,001$ ;  $p_{1-13}<0,001$ ;  $p_{2-6}<0,001$ ;  $p_{2-10}<0,001$ ;  $p_{2-14}<0,001$ ;  $p_{3-4}<0,001$ ;  $p_{3-7}<0,001$ ;  $p_{3-11}<0,001$ ;  $p_{3-15}<0,001$ ;  $p_{4-8}<0,001$ ;  $p_{4-12}<0,001$ ;  $p_{4-16}<0,002$ ;  $p_{5-6}<0,001$ ;  $p_{7-8}<0,001$ ;  $p_{9-10}<0,001$ ;  $p_{11-12}<0,001$ ;  $p_{13-14}>0,05$ ;  $p_{13-17}<0,001$ ;  $p_{13-21}<0,001$ ;  $p_{14-18}<0,001$ ;  $p_{14-22}<0,001$ ;  $p_{15-16}>0,05$ ;  $p_{15-19}<0,001$ ;  $p_{15-23}<0,001$ ;  $p_{16-20}<0,001$ ;  $p_{16-24}<0,001$ ;  $p_{17-18}<0,001$ ;  $p_{19-20}<0,001$ ;  $p_{21-22}<0,001$ ;  $p_{23-24}<0,001$ .

У самок зі збереженими яєчниками холінестеразна активність передсердь виявилась на 9 % більшою, а в шлуночках – на 8 % меншою, ніж у самців. В умовах дефіциту статевих гормонів, спричиненого білатеральною гонадектомією, швидкість гідролізу ацетилхоліну в передсердях самців зменшилась на 21 %, самок – на 26 %, а в шлуночках – на 11 та 4 % відповідно (рис. 5.2).

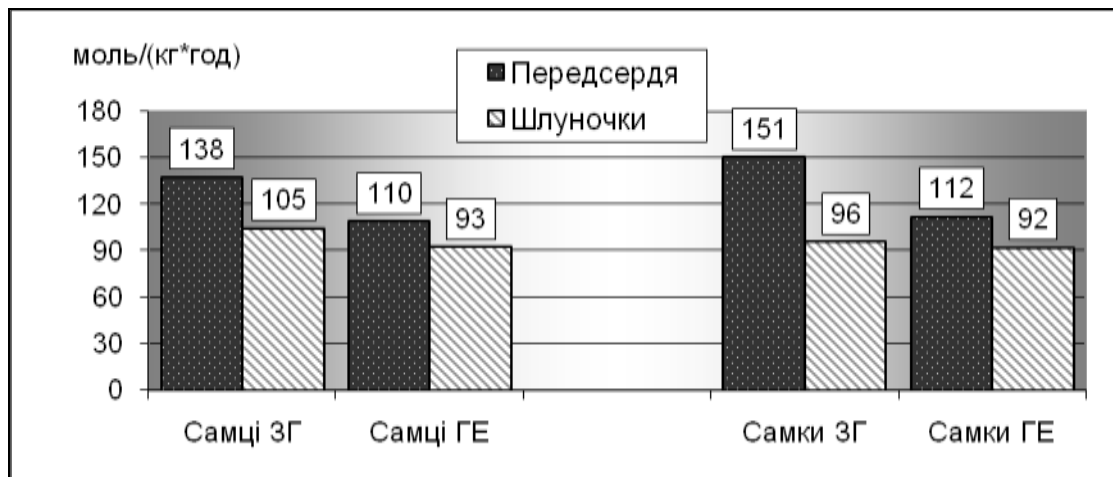


Рис. 5.2. Динаміка холінестеразної активності передсердь та шлуночків тварин обох статей зі збереженими та видаленими гонадами.

Суттєвий дефіцит статевих гормонів у щурів обох статей призвів до нівелювання статевих відмінностей метаболізму ацетилхоліну, оскільки кастровані тварини не відрізнялись між собою ні за вмістом, ні за швидкістю гідролізу медіатора.

5.2. Вплив прекурсора синтезу оксиду азоту L-аргініну на вміст та інтенсивність ферментативного гідролізу ацетилхоліну в міокарді самців та самок щурів з видаленими гонадами

Застосування прекурсора синтезу оксиду азоту L-аргініну на тлі фізіологічного рівня жіночих та чоловічих статевих гормонів призвело до різкого зростання вмісту ацетилхоліну в міокарді передсердь і шлуночків тварин обох статей (див. табл. 5.1). Якщо в міокарді передсердь вміст

ацетилхоліну збільшився в 2 рази у самців і в 3 рази у самок, то в міокарді шлуночків – у 5,9 раза та в 4 рази відповідно. Отримані результати можуть бути наслідком здатності L-аргініну не лише посилювати вивільнення медіатора, але й активувати його синтез.

На такому тлі відбувалося різке зменшення співвідношення вмісту ацетилхоліну передсердь та шлуночків у самців з 5,8 до 2,0, а у самок лише з 6,1 до 4,5 (рис. 5.3 А). Це є свідченням збільшення вмісту ацетилхоліну в міокарді головним чином за рахунок метаболічної фракції в тварин обох статей, хоча така закономірність була яскравішою в самців.

Збільшення вмісту парасимпатичного медіатора в міокарді передсердь, викликане введенням L-аргініну, відбувалось на тлі зростання загальної холінергетичної активності (див. табл. 5.2). У самців швидкість гідролізу зросла в 1,9 раза, в самок лише на 15 %, що могло бути компенсаторною реакцією за умов гіперактивації холінергічної ланки автономної нервової системи. У міокарді шлуночків досліджувана динаміка була протилежною. Швидкість ферментативного гідролізу ацетилхоліну зменшилась на 57 % у самців та на 40 % у самок (рис. 5.3 Б).

Порівняння вмісту та швидкості розпаду ацетилхоліну в серці тварин різної статі зі збереженими статевими залозами показало, що на тлі введення L-аргініну рівень медіатора в міокарді передсердь у самок в 1,6 раза був більшим, тоді як активність його гідролізу на 35 % меншою, ніж у самців; в шлуночках ситуація була протилежною: вміст ацетилхоліну у самок був меншим в 1,4 раза, а холінергетична активність більшою на 28 %.

Отже, застосування прекурсора синтезу оксиду азоту L-аргініну в щурів обох статей на тлі збереженої функціональної активності гонад призводив до значного зростання концентрації ацетилхоліну в міокарді передсердь та шлуночків, більшою мірою за рахунок метаболічної фракції. Збільшення вмісту ацетилхоліну відбувалося на тлі посилення холінергетичної активності в міокарді передсердь та зменшення – в міокарді шлуночків.

Уведення L-аргініну за умов дефіциту статевих гормонів (див. табл. 5.2) у самців призвело до зростання швидкості ферментативного гідролізу

ацетилхоліну в передсердях на 21 % без зміни його рівня, тоді як у шлуночках тенденція була іншою. Уміст медіатора збільшився в 2,4 раза при зменшенні активності його гідролізу на 33 % (рис. 5.4 А, Б).

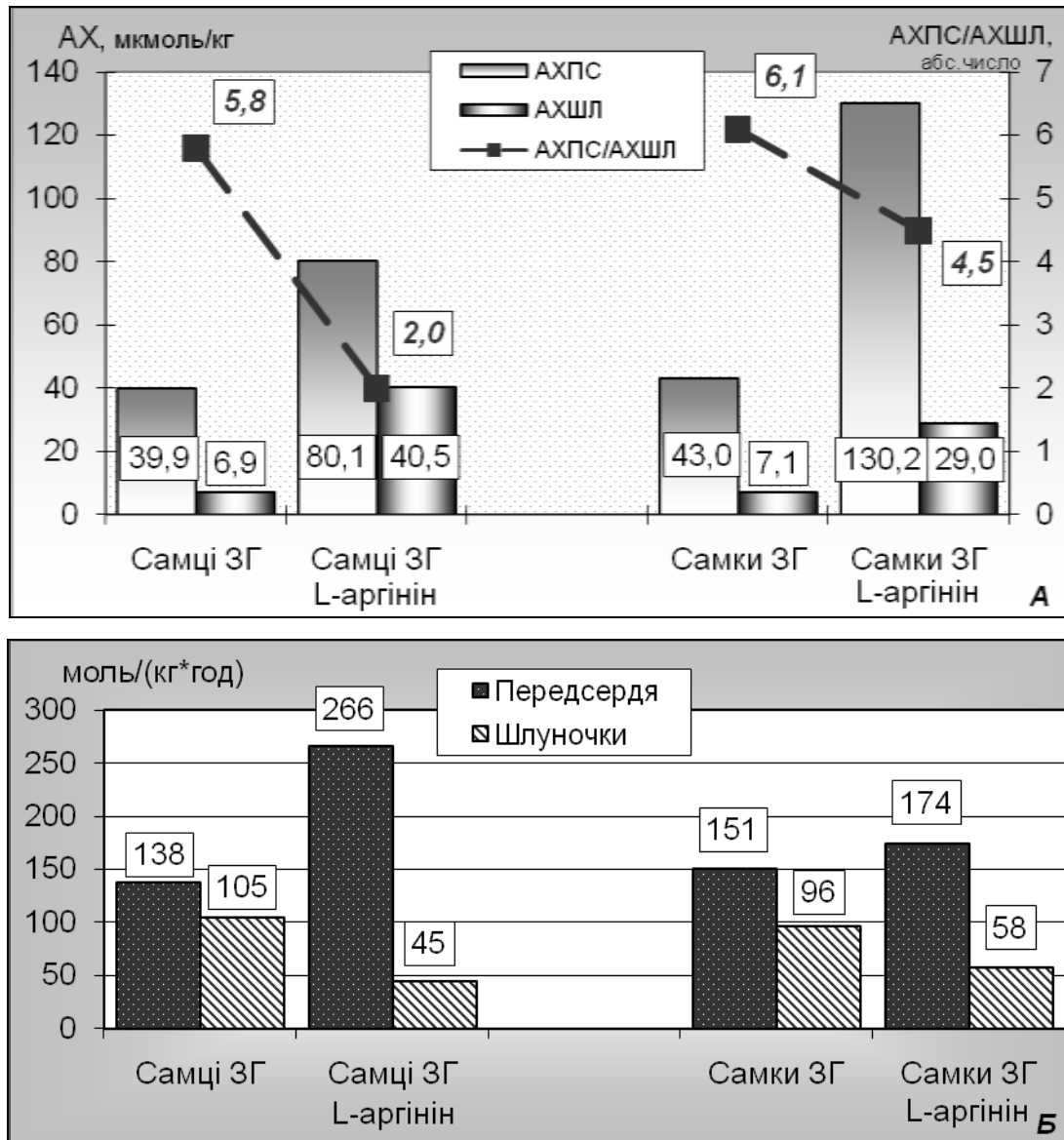


Рис. 5.3. Зміни концентрації, співвідношення (А) та швидкості гідролізу ацетилхоліну (Б) в передсердях і шлуночках у різностатевих щурів зі збереженими статевими залозами за застосування L-аргініну.

У самок з видаленими яєчниками застосування прекурсора синтезу оксиду азоту також (як і у гонадектомованих самців) не вплинуло на концентрацію ацетилхоліну в передсердях, проте сприяло зменшенню їх холінеразної активності на 38 %; у міокарді шлуночків спостерігали



збільшення вмісту ацетилхоліну в 1,9 раза за зменшеної швидкості його гідролізу на 38 % (рис. 5.4 А, Б).

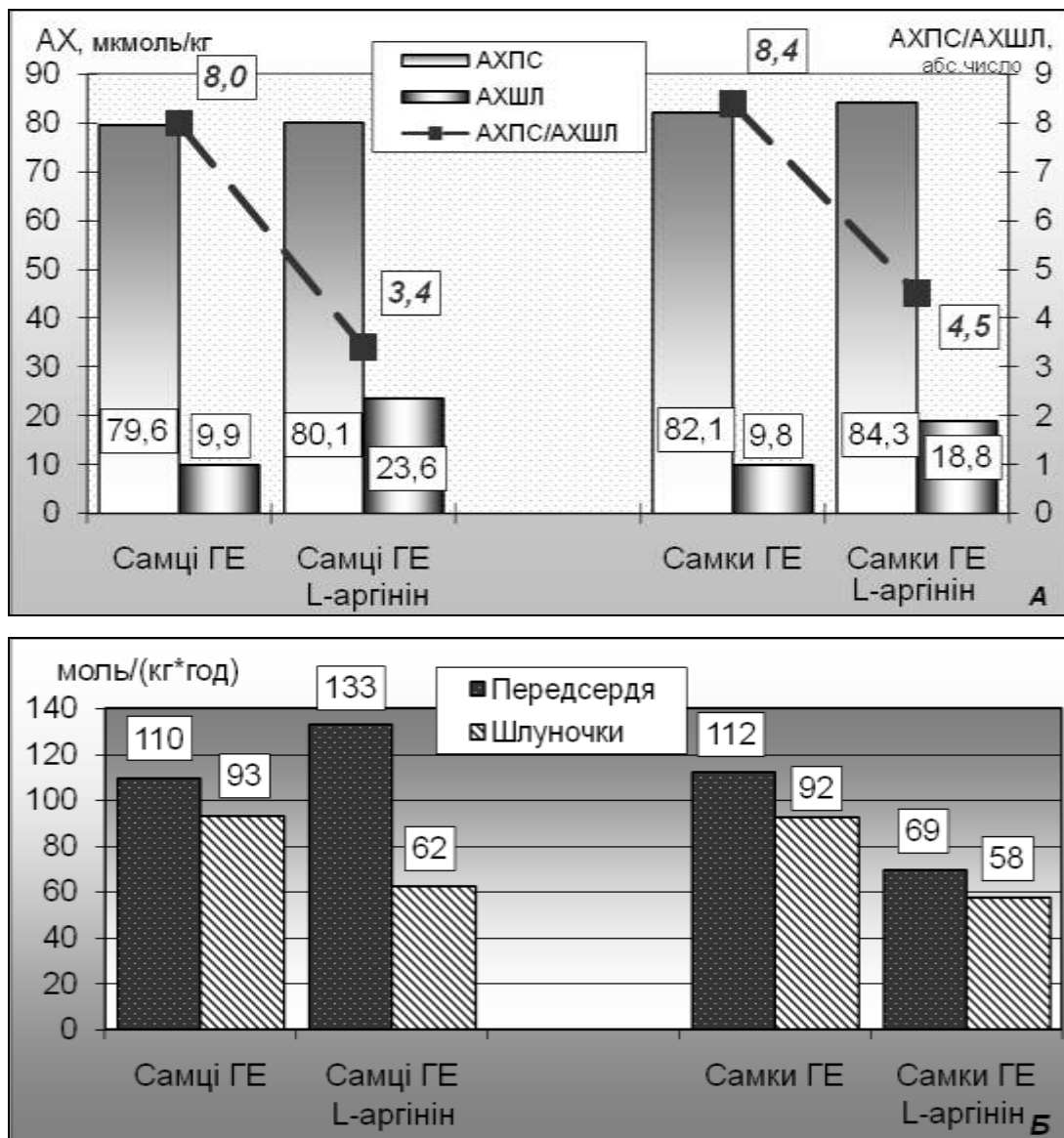


Рис. 5.4. Динаміка вмісту, співвідношення (А) та холінестеразної активності (Б) передсердь і шлуночків серця щурів в умовах дефіциту статевих гормонів, спричиненого гонадектомією, на тлі введення L-аргініну.

Таким чином, на відміну від тварин зі збереженими статевими залозами, введення L-аргініну гонадектомованим щурам призвело до збільшення вмісту ацетилхоліну лише в шлуночках, тоді як вміст досліджуваної речовини в міокарді передсердь залишався на попередньому рівні, незважаючи на зростання їх холінестеразної активності в самців та зменшення в самок. У кінцевому результаті співвідношення медіаторної та метаболічної фракцій

ацетилхоліну у самців знизилось з 8,0 до 3,4, а у самок - з 8,4 до 4,5. Отримана тенденція є свідченням залежності реакції на введення донатора синтезу оксиду азоту, зокрема L-аргініну, від статі та функціонального стану гонад.

Гонадектомовані тварини різної статі за застосування прекурсора синтезу оксиду азоту достовірно не відрізнялися за вмістом медіатора в міокарді передсердь, тоді як швидкість гідролізу була меншою на 48 % у самок. У міокарді шлуночків і рівень ацетилхоліну, і холінестеразна активність були також меншими в оваріектомованих самок на 20 та 8 % відповідно.

Порівняно з інтактними щурами, в оваріектомованих самок на тлі введення L-аргініну, вміст ацетилхоліну в міокарді передсердь та шлуночків був значно вищим, а швидкість його ферментативного гідролізу нижчою.

Застосування прекурсора синтезу оксиду азоту в гонадектомованих самців супроводжувалось відновленням зниженої, внаслідок дефіциту статевих гормонів, холінестеразної активності міокарда передсердь до рівня інтактних тварин ( $p > 0,05$ ). Проте, порівняно з останніми, вміст медіатора залишався значно вищим у гонадектомованих щурів, яким вводили L-аргінін. Описані зміни досліджуваних показників свідчили про залежність обміну ацетилхоліну від статі та функціональної активності гонад.

5.3. Вплив неселективного блокатора синтезу оксиду азоту L-NAME на вміст та активність ферментативного гідролізу ацетилхоліну в міокарді гонадектомованих самців та самок щурів

Наступним етапом наших досліджень стало вивчення впливу блокади синтаз оксиду азоту за застосування L-NAME на метаболізм ацетилхоліну в серці щурів до та після видалення статевих залоз.

Введення L-NAME самцям та самкам зі збереженими гонадами спричинило збільшення вмісту медіатора в передсердях (див. табл. 5.1) на 35 % та на 34 % відповідно. Зростання концентрації ацетилхоліну відбувалось на тлі зростання холінестеразної активності передсердь самців в 2,2 рази, самок – в 1,4 рази, порівняно з інтактними тваринами (рис. 5.5 А, Б).

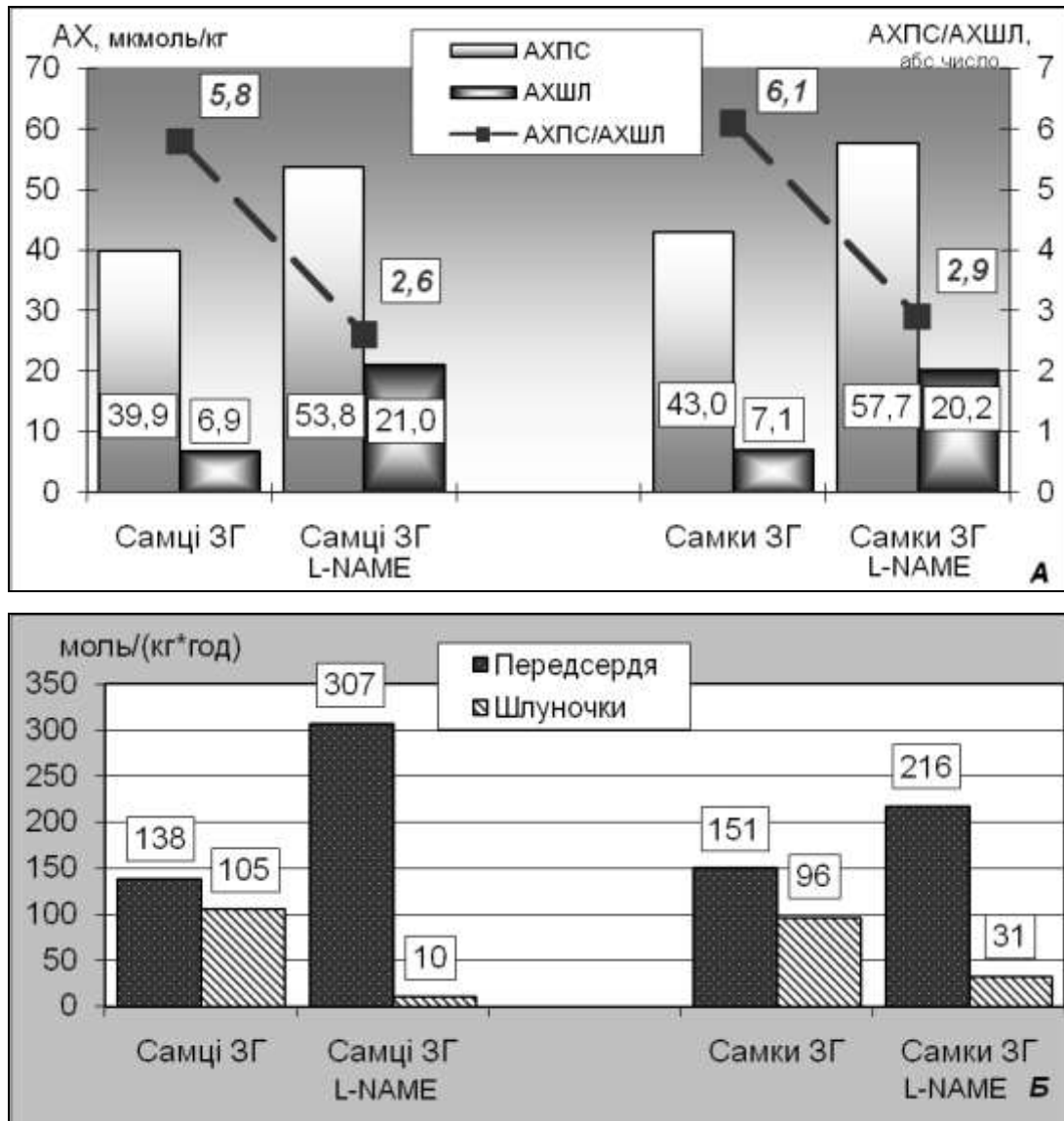


Рис. 5.5. Вплив застосування L-NAME на вміст та співвідношення фракцій ацетилхоліну (А), активність його ферментативного гідролізу (Б) в серці щурів різної статі зі збереженими статевими залозами.

У міокарді шлуночків спостерігали протилежну динаміку. Застосування неселективного блокатора синтезу оксиду азоту L-NAME призвело до збільшення вмісту ацетилхоліну з одночасним зменшенням швидкості його ферментативного гідролізу в тварин обох статей. У самців вміст медіатора зріс у 3 рази на тлі пригнічення холінергичної активності шлуночків в 10,7 рази, порівняно з контролем. У самок концентрація ацетилхоліну збільшилася в 2,8 рази, тоді як швидкість ферментативного гідролізу зменшилась лише в 3 рази (див. рис. 5.5 А, Б).

На тлі введення L-NAME тваринам зі збереженими гонадами вміст ацетилхоліну в міокарді передсердь самок був на 7 % вищим при меншій, ніж у самців, швидкості ферментативного гідролізу на 30 %, що було ще одним свідченням важливої ролі статевих гормонів у функціонуванні холінергічних процесів та метаболізмі оксиду азоту. Міокард шлуночків щурів різної статі відрізнявся лише за холінестеразною активністю, яка була в 3,2 раза вищою в когорті самок.

Аналіз співвідношення концентрації ацетилхоліну в міокарді передсердь та шлуночків при введенні L-NAME показав зменшення даного показника у самців з 5,8 до 2,6, а у самок – з 6,1 до 2,9 (див. рис. 5.5 А). Таким чином, спричинене застосуванням неселективного блокатора синтезу оксиду азоту збільшення вмісту ацетилхоліну в міокарді щурів різної статі зі збереженими гонадами відбувалося, головним чином, за рахунок метаболічної фракції.

Застосування L-NAME у гонадектомованих самців (див. табл. 5.1 та 5.2) призвело до збільшення в міокарді передсердь вмісту ацетилхоліну на 13 % та холінестеразної активності – в 2,5 раза. У міокарді шлуночків спостерігали лише зменшення швидкості ферментативного гідролізу ацетилхоліну в 2,4 раза (рис. 5.6 А, Б).

У гонадектомованих самок реакція на введення L-NAME була іншою, ніж у особин протилежної статі, зокрема відбувалося зростання холінестеразної активності міокарда передсердь в 1,8 раза та її зменшення в шлуночках в 2,1 раза без достовірної зміни вмісту ацетилхоліну (рис. 5.6 А, Б).

Після двосторонньої кастрації тварини різної статі, у яких застосовували L-NAME, не відрізнялись за вмістом ацетилхоліну в міокарді передсердь та шлуночків. Проте, швидкість гідролізу медіатора в міокарді передсердь у самок була на 26 % меншою, а шлуночків на 15 % більшою, ніж у самців.

Блокада синтаз оксиду азоту на тлі дефіциту статевих гормонів у самців сприяла збільшенню співвідношення між умістом ацетилхоліну в міокарді передсердь і шлуночків з 8,0 до 9,4, що вказувало на збільшення саме медіаторної фракції ацетилхоліну. В оваріектомованих самок щурів за застосування L-NAME змін концентрації ацетилхоліну, а відповідно й

аналізованого співвідношення, ні в міокарді передсердь, а ні в шлуночках не було (рис. 5.6 А)

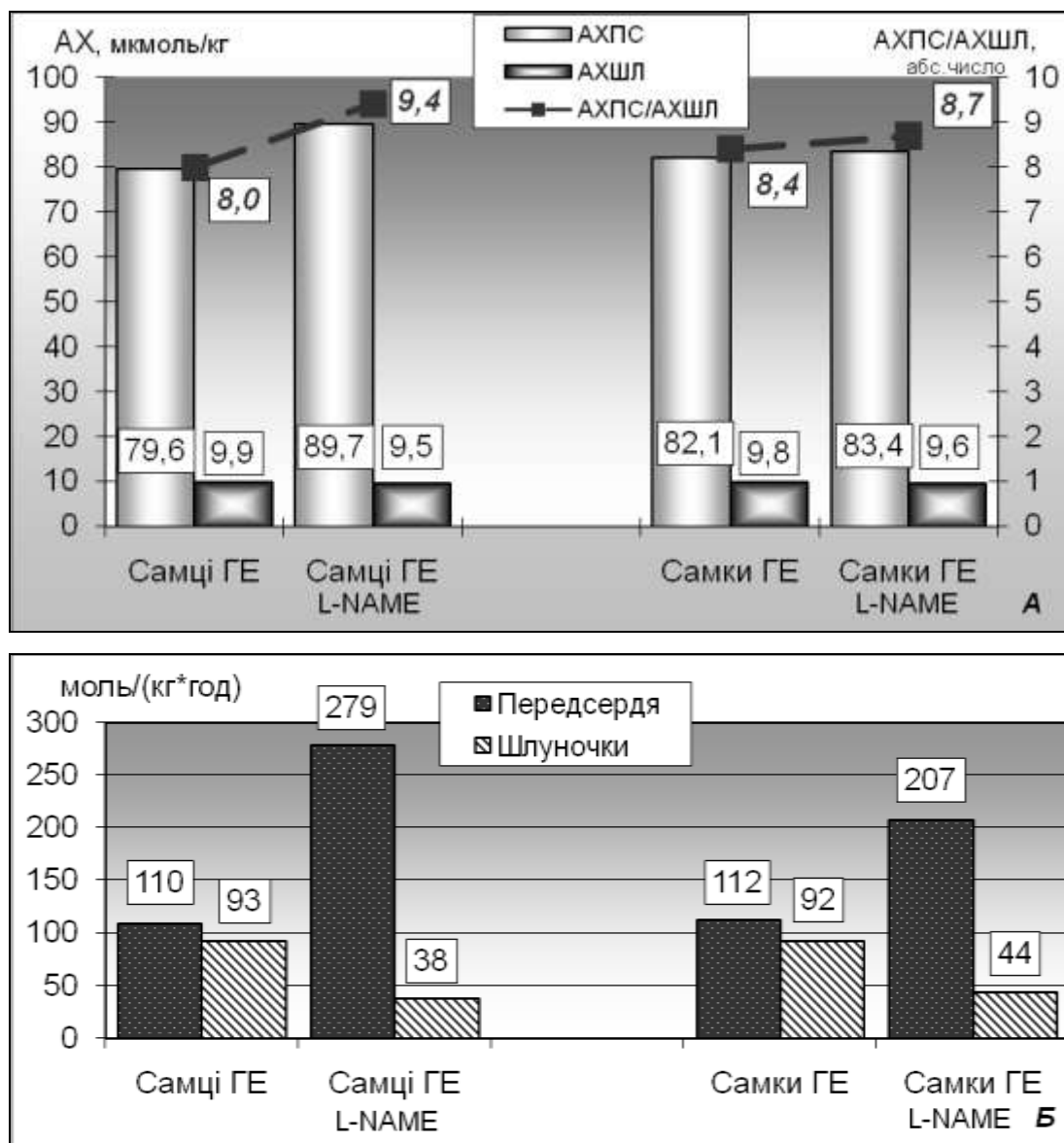


Рис. 5.6. Зміни вмісту, співвідношення (А) та швидкості гідролізу (Б) ацетилхоліну в серці щурів після білатеральної гонадектомії на тлі введення L-NAME.

Порівняно з інтактними тваринами у щурів обох статей на тлі введення неселективного блокатора синтезу оксиду азоту L-NAME вміст ацетилхоліну в міокарді був значно вищим на тлі більшої холінестеразної активності міокарда передсердь та меншої шлуночків (див. табл. 5.1 та 5.2). Очевидно, зростання швидкості ферментативної активності передсердь було компенсаторним та

спрямованим на обмеження надмірного нагромадження ацетилхоліну в міокарді.

### Резюме

Даний розділ присвячений дослідженню впливу дефіциту чоловічих у самців та жіночих статевих гормонів у самок на метаболізм ацетилхоліну в міокарді передсердь та шлуночків за зміненої активності функціонування системи оксиду азоту шляхом введення прекурсора (L-аргініну) та блокатора (L-NAME) його синтезу. Для цього аналізували вміст ацетилхоліну та швидкість його ферментативного гідролізу в міокарді передсердь і шлуночків.

Спираючись на отримані дані зміни вмісту та активності ферментативного гідролізу ацетилхоліну в міокарді, а також аналіз співвідношення його фракцій, можна стверджувати наступне:

1. Внаслідок білатеральної гонадектомії в щурів обох статей виникає нагромадження ацетилхоліну в міокарді, більшою мірою передсердь, на тлі зниження швидкості його ферментативного гідролізу.

2. Застосування L-аргініну при збереженій функціональній активності гонад у тварин обох статей викликає збільшення вмісту ацетилхоліну, головним чином, за рахунок метаболічної фракції, при різкому посиленні холінергійної активності міокарда передсердь та пригніченні гідролізу медіатора в шлуночках.

3. Дефіцит статевих гормонів сприяє нівелюванню статевих особливостей метаболізму медіатора. У гонадектомованих щурів обох статей введення L-аргініну має наслідком збільшення вмісту ацетилхоліну за рахунок метаболічної фракції і лише в міокарді шлуночків, за рахунок зменшення активності його гідролізу. Уміст парасимпатичного медіатора в міокарді передсердь за таких умов не змінюється, що відбувається на тлі зростання їх холінергійної активності в самців та зменшення – в самок.

4. У тварин обох статей зі збереженими статевими залозами застосування L-NAME призводить до підвищення вмісту ацетилхоліну в міокарді, головним чином, за рахунок метаболічної фракції на тлі різкого посилення його

ферментативного гідролізу в міокарді передсердь та пригнічення – в шлуночках.

5. У гонадектомованих самців за застосування L-NAME виникає збільшення вмісту медіаторної фракції ацетилхоліну, незважаючи на зростання холінеразної активності міокарда передсердь та зменшення активності гідролізу медіатора в міокарді шлуночків. Введення L-NAME самкам з дефіцитом статевих гормонів не впливає на рівень ацетилхоліну, збільшує швидкість його ферментативного гідролізу в міокарді передсердь та зменшує – в міокарді шлуночків.

Результати досліджень, представлені в цьому розділі, опубліковані в роботах автора [146, 157, 162].

## РОЗДІЛ 6

УМІСТ НІТРИТ-АНІОНУ В КРОВІ ТА СЕРЦІ ГОНАДЕКТОМОВАНИХ  
ТВАРИН РІЗНОЇ СТАТІ ПРИ ЗМІНІ АКТИВОСТІ СИСТЕМИ ОКСИДУ  
АЗОТУ

Вивчення холінергічної регуляції діяльності серця в щурів зі збереженими та видаленими гонадами проводили на тлі зміненої активності системи оксиду азоту. З цією метою використовували L-аргінін та L-NAME – прекурсор і неселективний блокатор синтезу оксиду азоту відповідно. Інтенсивність обміну оксиду азоту оцінювали за концентрацією його стабільного метаболіту – нітрит-аніону ( $\text{NO}_2^-$ ) – спектрофотометричним методом Грісса. При цьому вміст зазначеного метаболіту вивчали не лише в сироватці, а й окремо в гомогенатах міокарда передсердь та шлуночків.

6.1. Статеві особливості вмісту нітрит-аніону в крові та серці гонадектомованих щурів

Отримані результати дослідження вмісту нітрит-аніону в крові та серці тварин різної статі зі збереженими та видаленими гонадами подано в таблиці 6.1.

Аналіз вмісту нітрит-аніону в інтактній групі тварин різної статі засвідчив наявність статевих особливостей функціонування системи оксиду азоту. Так, вміст нітрит-аніону в сироватці інтактних самок на 2 % перевищував аналогічний показник самців, у передсердях – на 15 %, а в шлуночках – на 10 %.

Білатеральна гонадектомія викликала різке зниження вмісту стабільного метаболіту оксиду азоту як у крові, так і в міокарді щурів обох статей, проте суттєвішим воно було в самок. У кастрованих самців вміст нітрит-аніону зменшився в крові на 30 %, в оваріектомованих самок – в 3,5 раза, в передсердях – на 15 %, та в 3 рази, і в шлуночках – на 29 % та в 3,8 раза відповідно порівняно зі значеннями в інтактних групах тварин.



Таблиця 6.1

**Уміст нітрит-аніону в сироватці та сміюкарді щурів різної статі зі збереженими та видаленими гонадами за застосування модуляторів синтезу оксиду азоту**

Група тварин		Сироватка, 10 <sup>-5</sup> мкмоль/л	Передсердя, 10 <sup>-5</sup> мкмоль/кг	Шлуночки, 10 <sup>-5</sup> мкмоль/кг
Тварини ЗГ	♂	1,422±0,008 <sub>1</sub>	1,668±0,022 <sub>2</sub>	1,520±0,005 <sub>3</sub>
	♀	1,453±0,008 <sub>4</sub>	1,912±0,022 <sub>5</sub>	1,674±0,010 <sub>6</sub>
Тварини ЗГ на тлі L-аргініну	♂	1,635±0,004 <sub>7</sub>	1,851±0,026 <sub>8</sub>	1,701±0,008 <sub>9</sub>
	♀	1,551±0,015 <sub>10</sub>	2,006±0,030 <sub>11</sub>	1,744±0,014 <sub>12</sub>
Тварини ЗГ на тлі L-NAME	♂	1,243±0,022 <sub>13</sub>	1,588±0,015 <sub>14</sub>	1,437±0,011 <sub>15</sub>
	♀	1,176±0,014 <sub>16</sub>	1,838±0,017 <sub>17</sub>	1,643±0,006 <sub>18</sub>
Тварини GE	♂	0,994±0,009 <sub>19</sub>	1,418±0,017 <sub>20</sub>	1,079±0,006 <sub>21</sub>
	♀	0,398±0,005 <sub>22</sub>	0,610±0,015 <sub>23</sub>	0,438±0,008 <sub>24</sub>
Тварини GE на тлі L-аргініну	♂	1,184±0,009 <sub>25</sub>	1,552±0,015 <sub>26</sub>	1,241±0,008 <sub>27</sub>
	♀	0,594±0,010 <sub>28</sub>	0,795±0,024 <sub>29</sub>	0,690±0,011 <sub>30</sub>
Тварини GE на тлі L-NAME	♂	0,230±0,009 <sub>31</sub>	0,661±0,004 <sub>32</sub>	0,404±0,004 <sub>33</sub>
	♀	0,255±0,009 <sub>34</sub>	0,443±0,008 <sub>35</sub>	0,280±0,005 <sub>36</sub>

Примітка.  $p_{1-4} < 0,05$ ;  $p_{1-7} < 0,001$ ;  $p_{1-13} < 0,001$ ;  $p_{1-19} < 0,001$ ;  $p_{1-25} < 0,001$ ;  $p_{1-31} < 0,001$ ;  $p_{2-5} < 0,001$ ;  $p_{2-8} < 0,001$ ;  $p_{2-14} < 0,02$ ;  $p_{2-20} < 0,001$ ;  $p_{2-26} < 0,02$ ;  $p_{2-39} < 0,001$ ;  $p_{3-6} < 0,001$ ;  $p_{3-9} < 0,001$ ;  $p_{3-15} < 0,001$ ;  $p_{3-21} < 0,001$ ;  $p_{3-27} < 0,001$ ;  $p_{3-33} < 0,001$ ;  $p_{4-10} < 0,001$ ;  $p_{4-16} < 0,001$ ;  $p_{4-22} < 0,001$ ;  $p_{4-28} < 0,001$ ;  $p_{4-34} < 0,001$ ;  $p_{5-11} < 0,05$ ;  $p_{5-17} < 0,05$ ;  $p_{5-23} < 0,001$ ;  $p_{5-29} < 0,001$ ;  $p_{5-35} < 0,001$ ;  $p_{6-12} < 0,01$ ;  $p_{6-18} < 0,05$ ;  $p_{6-24} < 0,001$ ;  $p_{6-30} < 0,001$ ;  $p_{6-36} < 0,001$ ;  $p_{19-25} < 0,001$ ;  $p_{19-31} < 0,001$ ;  $p_{20-26} < 0,001$ ;  $p_{20-32} < 0,001$ ;  $p_{21-27} < 0,001$ ;  $p_{21-33} < 0,001$ ;  $p_{22-28} < 0,001$ ;  $p_{22-34} < 0,001$ ;  $p_{23-29} < 0,001$ ;  $p_{23-35} < 0,001$ ;  $p_{24-30} < 0,001$ ;  $p_{24-36} < 0,001$ .

Порівняння кастрованих тварин різної статі показало (рис. 6.1), що після білатеральної овариєктомії в самок вміст зазначеного метаболіту став нижчим, ніж у самців, у крові та в шлуночках в 2,5 раза, а в передсердях – в 2,3 раза.

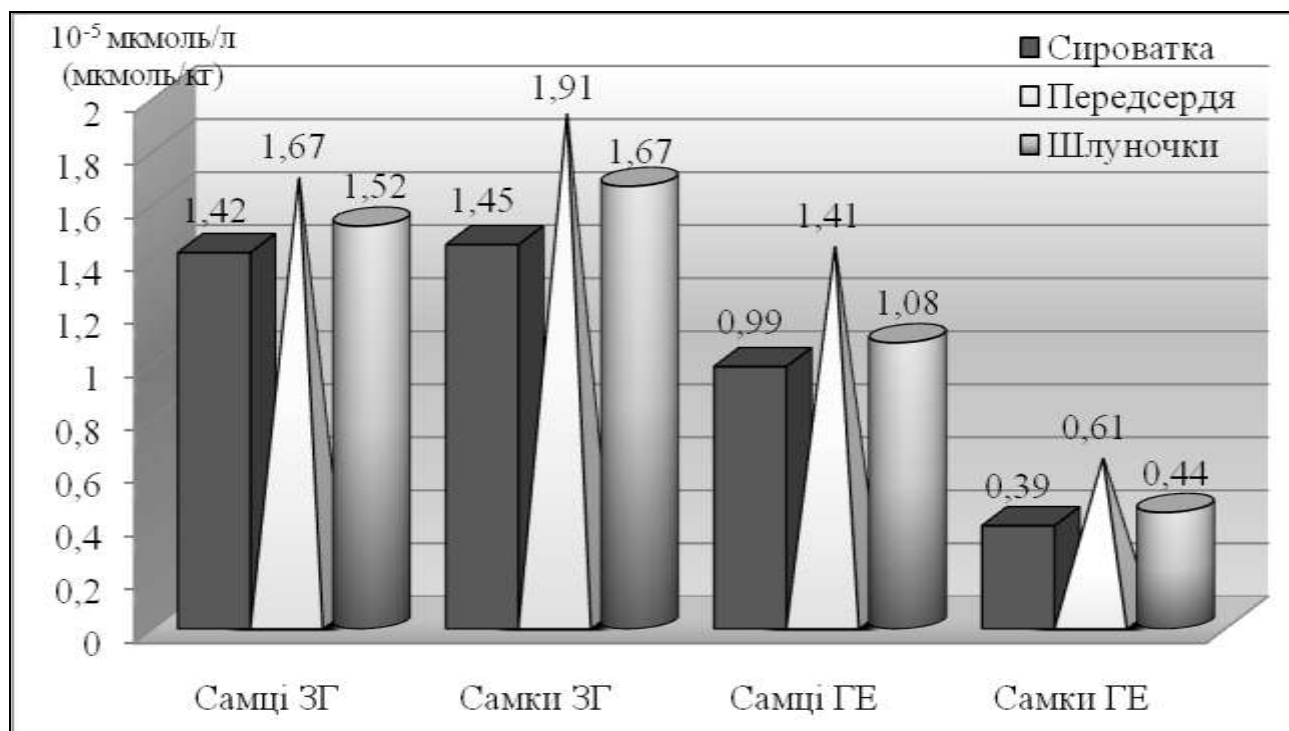


Рис. 6.1. Вміст нітрит-аніону в сироватці та міокарді тварин різної статі до та після білатеральної гонадектомії.

Таким чином, дефіцит статевих гормонів, викликаний видаленням гонад, сприяв зміні статевого співвідношення нітрит-аніону, описаного вище та притаманного інтактним тваринам, на протилежне.

## 6.2. Вплив прекурсора синтезу оксиду азоту L-аргініну на вміст нітрит-аніону в крові та серці гонадектомованих тварин різної статі

Абсолютні величини вмісту нітрит-аніону в крові та серці тварин різної статі зі збереженими та видаленими гонадами за застосування L-аргініну подано у таблиці 6.1.

Введення L-аргініну тваринам зі збереженою функціональною активністю статевих залоз призвело до підвищення вмісту нітрит-аніону в щурів обох статей, проте чутливішими до дії прекурсора виявились самці (рис. 6.2.). Про це

свідчили отримані результати. Так, в сироватці крові самців вміст нітрит-аніону збільшився на 15 %, у самок – лише на 7 %, в передсердях – на 11 та 5 %, у шлуночках – на 12 та 4 % відповідно.

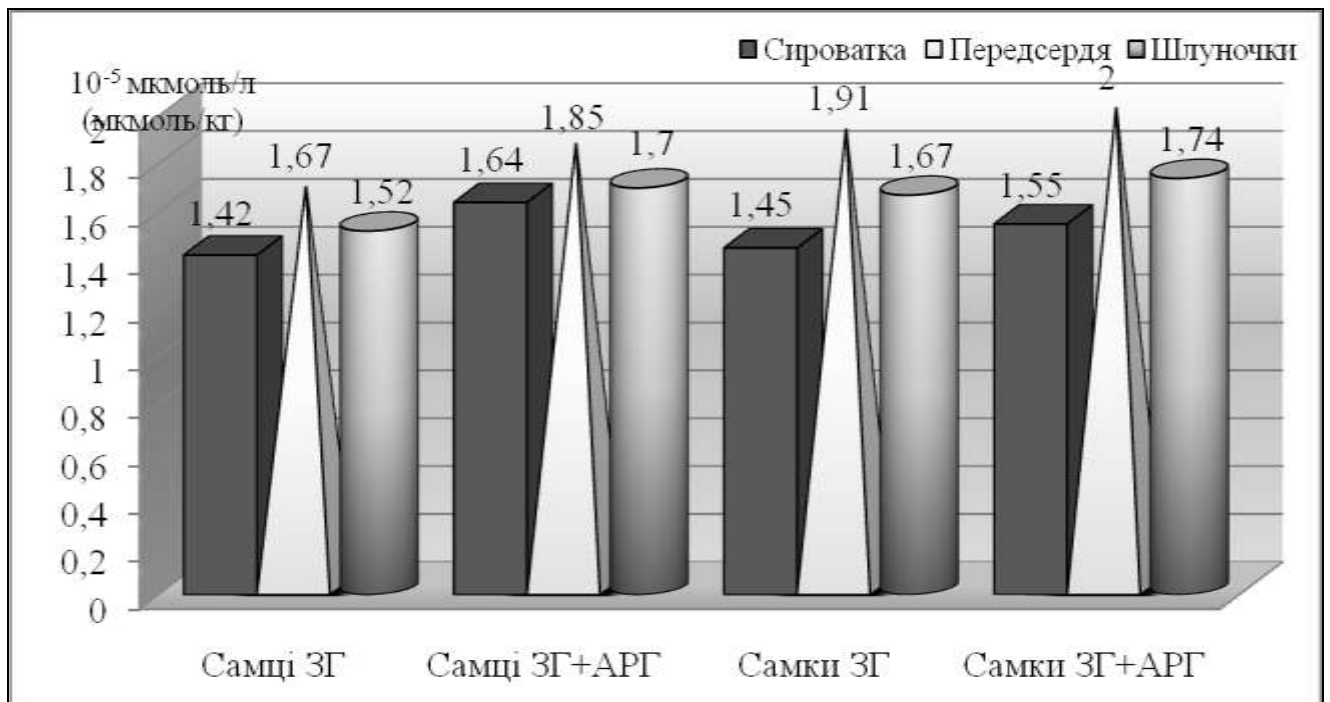


Рис. 6.2. Зміни вмісту нітрит-аніону в сироватці та серці щурів різної статі зі збереженими гонадами за застосування L-аргініну.

В умовах дефіциту статевих гормонів, спричиненого білатеральною гонадектомією, динаміка вмісту нітрит-аніону на тлі введення прекурсора синтезу оксиду азоту стала іншою, як показано на рисунку 6.3. У даному випадку самки виявились чутливішими до застосування прекурсора синтезу оксиду азоту L-аргініну. У сироватці самців вміст аналізованого метаболіту зріс лише на 19 %, а самок на 49 %; в передсердях самців – на 9 %, самок – на 30 %; в шлуночках самців – на 15 %, самок – на 58 %.

Таким чином, кастровані самки реагували суттєвішим, ніж самці, збільшенням вмісту нітрит-аніону і в крові, і в міокарді, у відповідь на застосування L-аргініну.

Необхідно відзначити, що застосування L-аргініну у дозі 600 мг/кг, все ж таки, сприяло кращому відновленню вмісту нітрит-аніону, порівняно з інтактними тваринами, у кастрованих самців, а ніж у самок. Це є

підтвердженням залежності ефекту дози препарату від статі та гормонального статусу організму.

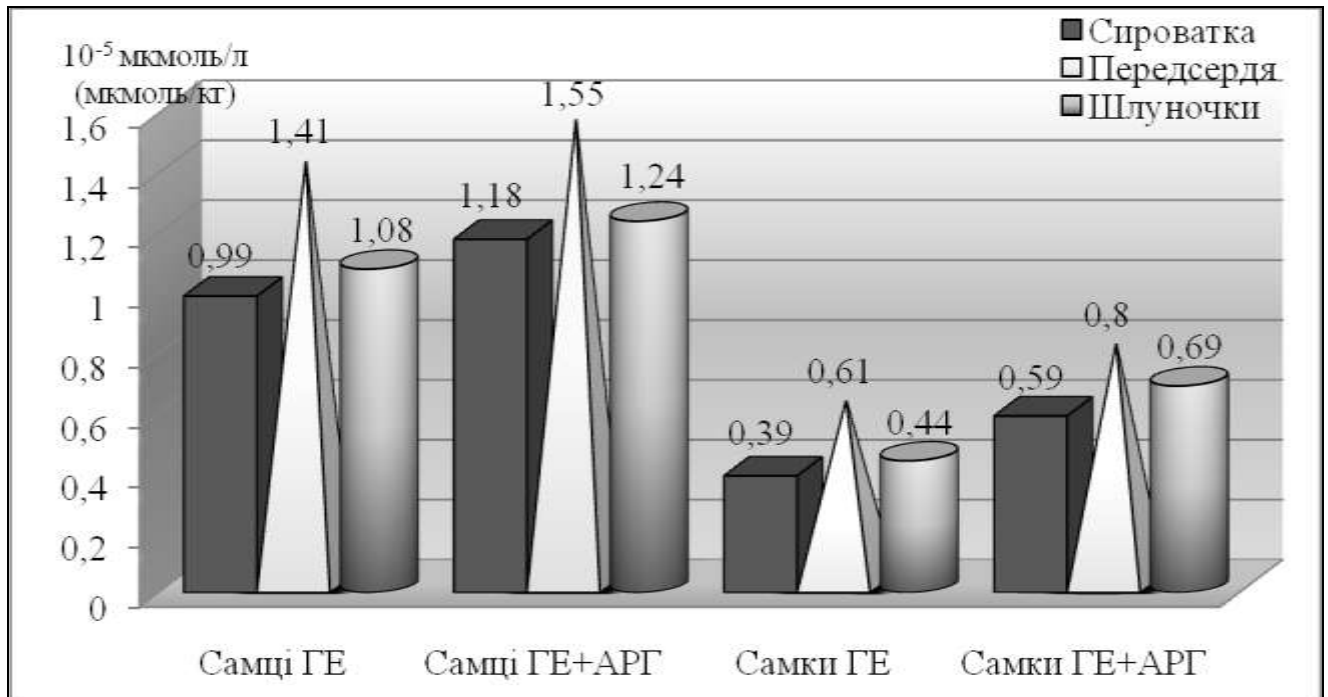


Рис. 6.3. Зміни вмісту нітрит-аніону в сироватці та серці щурів різної статі після білатеральної гонадектомії за застосування L-аргініну.

6.3. Динаміка вмісту нітрит-аніону в крові та серці щурів з видаленими гонадами за застосування неселективного блокатора синтезу оксиду азоту L-NAME

Блокада синтаз оксиду азоту шляхом дочеревного введення L-NAME мала наслідком зменшення вмісту нітрит-аніону в тварин зі збереженими гонадами незалежно від статі (рис. 6.4). У самців аналізований показник у крові зменшився на 13 %, а в самок – на 24 %, у міокарді шлуночків – на 6 та на 2 % відповідно, а в міокарді передсердь – на 5 % у тварин обох статей.

Застосування блокатора синтезу оксиду азоту на тлі дефіциту статевих гормонів викликало різке зниження вмісту нітрит-аніону в самців. Так, у крові самців вміст зазначеного метаболіту зменшився в 4,3 раза, а самок – лише на 36 %; у міокарді передсердь самців – в 2,1 раза, самок – на 27 %; у міокарді шлуночків самців – в 2,7 раза, самок – на 56 % (рис. 6.5).

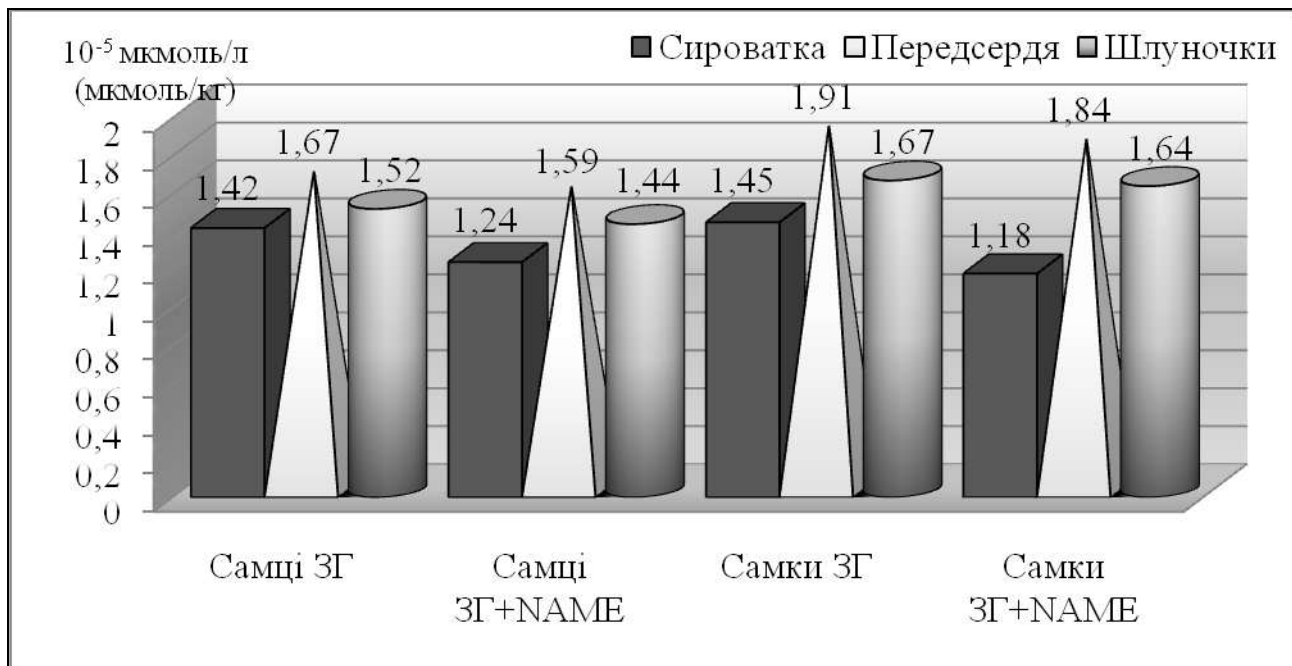


Рис. 6.4. Зміни вмісту нітрит-аніону в сироватці та серці щурів різної статі зі збереженими гонадами за застосування L-NAME.

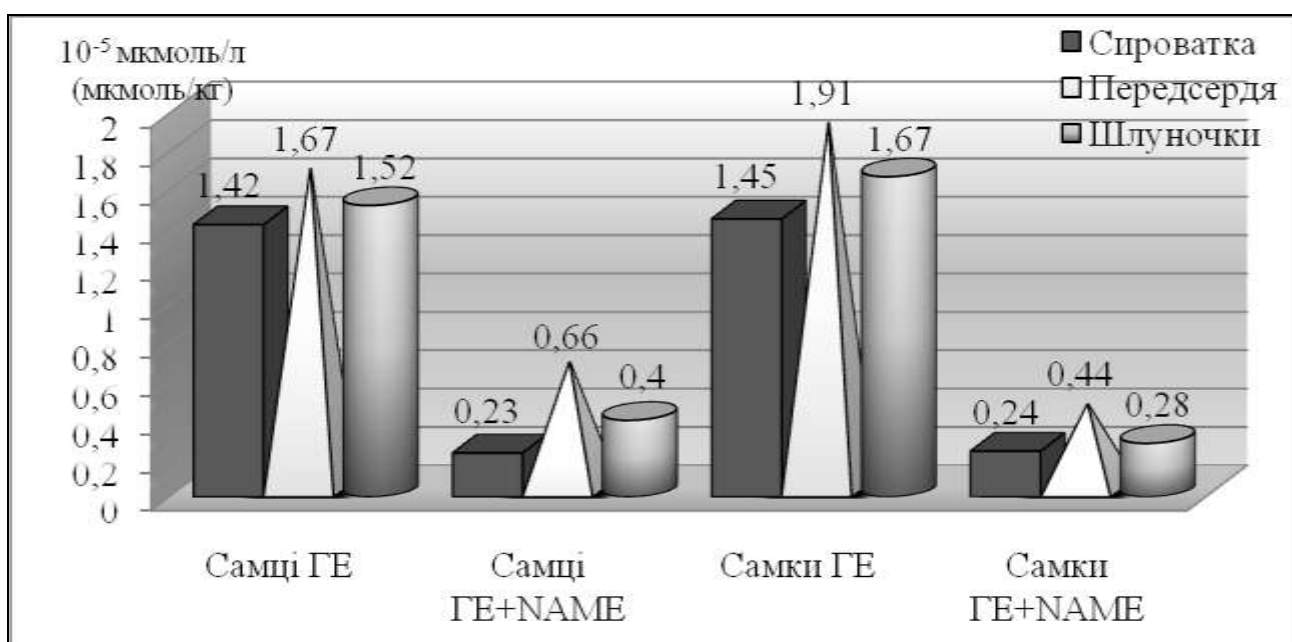


Рис. 6.5. Зміни вмісту нітрит-аніону в сироватці та серці щурів різної статі після білатеральної гонадектомії за застосування L-NAME.

Незважаючи на більшу чутливість, а відтак і суттєвіше зниження вмісту нітрит-аніону в крові та міокарді кастрованих щурів-самців за застосування L-NAME, в овариєктомованих самок величина аналізованого метаболіту була

нижчою в міокарді передсердь та шлуночків серця на тлі однакового рівня в сироватці.

### Резюме

У цьому розділі наведено результати вивчення впливу L-аргініну та L-NAME на вміст стабільного метаболіту оксиду азоту залежно від статі та функціональної активності гонад в сироватці крові, міокарді передсердь та шлуночків. На основі проведеного аналізу можна стверджувати наступне:

1. Дефіцит статевих гормонів, викликаний двосторонньою гонадектомією, призводить до різкого зменшення вмісту нітрит-аніону в крові та міокарді щурів обох статей, суттєвіші такі зміни є у самок. Отримані дані доводять модулюючий вплив як чоловічих, так і жіночих статевих гормонів на метаболізм оксиду азоту.

2. Прекурсор синтезу оксиду азоту L-аргінін у дозі 600 мг/кг сприяє збільшенню вмісту нітрит-аніону в крові та міокарді тварин обох статей зі збереженими та видаленими гонадами. Чутливішим до дії прекурсора є організм гонадектомованих самців, оскільки рівень нітрит-аніону в них наближається до значення інтактних тварин, на відміну від оваріектомованих самок.

3. L-NAME викликає зменшення вмісту нітрит-аніону в сироватці крові та міокарді, ступінь такого впливу не залежить від статі за умов збереженої гормонопродукуючої функції гонад, посилюється за їх відсутності, особливо у самців. Рівень зазначеного метаболіту в міокарді передсердь та шлуночків за умов блокування синтезу оксиду азоту є нижчим у оваріектомованих самок.

4. Ефекти прекурсора і блокатора синтезу оксиду азоту залежать від статі та активності гормонопродукуючої функції гонад.

Результати даного розділу опубліковано в працях автора [147, 149, 164].

## РОЗДІЛ 7

## АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

В Україні, як і у країнах Європи, спостерігається постаріння населення. За даними статистики у нашій країні в 2009 році частка людей, старше 60 років становила 20,4 % від загальної популяції. Згідно з прогнозом ООН частка людей похилого віку у віковій структурі населення розвинених країн буде стрімко зростати. Глобальне постаріння населення безпосередньо пов'язане з виникненням проблеми якості життя осіб старшого віку. Перше місце серед захворюваності традиційно посідають хвороби системи кровообігу, питома вага яких складає 52,1 % [48]. Необхідно відзначити, що патологія у такому віці перебігає у жінок на тлі менопаузи, а у чоловіків – вікового гіпогонадізму. На сьогоднішній день існує критична недостатність базових знань щодо особливостей патогенезу, клініки, діагностики та лікування серцево-судинних захворювань залежно від статі та функціональної активності гонад.

В етіології та патогенезі захворювань органів кровообігу чільне місце посідають порушення регуляції серця автономною нервовою системою та функціонування системи оксиду азоту. Високий тонус симпатичної ланки вегетативної нервової системи сприяє виникненню злоякісних шлуночкових аритмій, зокрема шлуночкової тахікардії та шлуночкової фібриляції. Холінергічна ланка вегетативної нервової системи через блукаючий нерв здатна обмежувати проаритмогенні впливи підвищеного тонуусу симпатичної ланки, покращувати перебіг захворювання серця та зменшувати смертність. Дисбаланс ланок автономної нервової системи з підвищенням активності симпатичної та пригніченням парасимпатичної є одним із патогенетичних механізмів розвитку гіпертензії, ІХС, виникнення серцевої недостатності. Превалювання симпатичної активності є характерним для стресу та несприятливо впливає на стан серцево-судинної системи, призводить до виникнення тахікардії, серцевих аритмій, ішемії міокарда, гіпертензивних кризів [3, 12, 18, 20, 41, 50, 52, 67, 75, 84, 95, 98, 111, 131, 148, 153, 154, 161, 165, 181, 189, 193, 207, 211, 112, 213, 214, 215, 255, 258, 263]. Сіренко Ю.М. [131] в одній із своїх робіт показав, що

підвищення артеріального тиску через 6 місяців після гістероваріектомії в жінок пов'язане зі зміщенням вегетативного балансу в бік симпатикотонії, що відбувається на тлі посилення активності симпато-адреналової та послаблення парасимпатичної складової регуляції ритму серця. Це є одним із численних доказів залежності регуляторних впливів автономної нервової системи від статі та функціональної активності гонад.

Нещодавні дослідження довели, що газоподібна молекула оксиду азоту відіграє роль важливого медіатора в контролі серця автономною нервовою системою. Гістохімічними методами було ідентифіковано популяції нейронів, які містять синтази оксиду азоту в межах медулярної кардіорегуляторної ділянки та їхні периферичні автономні шляхи. Речовини, що регулюють активність системи оксиду азоту (введені парентерально чи в ЦНС), викликають зміни на пре- та постгангліонарному рівнях симпатичної нервової системи. Існують свідчення здатності оксиду азоту зменшувати відповідь серцево-судинної системи на стимуляцію симпатичної ланки АНС. Дослідження також демонструють, що оксид азоту модулює і вагусний контроль серця, підвищуючи активність центральних мотонейронів блукаючого нерва, та посилюючи негативний хронотропний ефект у відповідь на стимуляцію *n. vagus*. Оксид азоту розглядають також як один із важливих та необхідних елементів явища «акцентуйованого антагонізму» та барорефлекторної чутливості. Механізми реалізації зазначених ефектів оксиду азоту в автономній регуляції серця залишаються не з'ясованими [214, 215, 224, 246, 247, 260, 264].

Обидві системи – і система оксиду азоту, і автономна нервова система – є мішенями регуляторних впливів статевих стероїдів [121, 126, 133, 145, 184, 206, 210, 216, 217, 229, 234, 238, 243, 249, 250, 252]. Проте, більшість інформації стосується впливу естрогенів.

З огляду на складність та неоднозначність нейрогуморальних впливів на організм, роль як чоловічих, так і жіночих статевих гормонів в автономній регуляції серця залишається не з'ясованою. Тому, одним з найважливіших завдань сучасних наукових досліджень є розкриття тонких патогенетичних



аспектів впливу гіпогонадізму на стан вегетативної нервової системи. На сьогодні невивченим залишається вплив застосування модуляторів системи оксиду азоту на адренергічно-холінергічний баланс за збереженої та зниженої активності статевих залоз. Необхідність комплексного аналізу холінергічних впливів на реакції системи кровообігу на тлі дефіциту статевих гормонів, викликаного гонадектомією, та за зміненої активності системи оксиду азоту зумовило доцільність проведення нашого дослідження.

Аналіз показників варіаційної кардіоінтервалометрії гонадектомованих тварин показав зменшення варіаційного розмаху на 10 % у самців та на 21 % у самок, що вказувало на послаблення холінергічної регуляції синусового вузла в умовах нестачі статевих гормонів. Проте, в оваріектомованих самок відмічали збільшення показника амплітуди моди на 10 %, що означало активацію симпатичної ланки автономної нервової системи. Описані зміни в щурів обох статей призвели до збільшення індексу напруження у самців на 11 %, а у самок на 36 %. Це свідчило про зростання напруження регуляторних механізмів. Виявлені порушення адренергічно-холінергічного балансу, очевидно, могли бути наслідком стресу, спричиненого припиненням гормонопродуруючої функції гонад [25, 163]. У самок активація симпатичної ланки автономної нервової системи може бути пов'язана також зі збільшенням кількості бета-адренорецепторів у міокарді на тлі низького рівня естрогенів, що доведено в експериментальних роботах інших дослідників та підтверджується в клінічній практиці більш вираженим ефектом від застосування бета-адреноблокаторів у жінок менопаузального періоду [11, 24, 28, 41, 83, 84].

Хірургічна кастрація мала наслідком зменшення реакції серця до стимуляції блукаючого нерва в тварин обох статей, зокрема у самців на 46 %, а в самок – на 30 %. Об'єктивна цінка цього явища не можлива без аналізу чутливості постсинаптичних холінорецепторів. Інтенсивність брадикардії, викликаній введенням ацетилхоліну ззовні, у самців зменшилась на 20 %, а у самок – на 25 %, її тривалість у кастрованих самців не змінилась, а в самок зменшилась на 56 %. Отримані результати свідчать про те, що зменшення реакції серця гонадектомованих тварин на холінергічні вплив має дві складові,

перша з яких – зменшення вивільнення ацетилхоліну з пресинаптичних терміналей, друга – зниження чутливості постсинаптичних холінорецепторів. Крім того отримано підтвердження важливої ролі статевих гормонів у регуляції холінергічних реакцій серця.

Незважаючи на видалення гонад, показник інтенсивності вагусної брадикардії в самок залишився більшим, ніж у самців, на 52 % (вихідна величина становила 36 %). Найімовірніше, це є проявом механізму «акцентуованого антагонізму», що реалізується через eNOS для підтримання вегетативного балансу регуляції ритму серця.

Дефіцит статевих стероїдів у самців не вплинув на динаміку показника інтенсивності вагусної брадикардії, яку визначали на кожному із 10-ти секундних проміжках електростимуляції. Максимальну негативну хронотропну реакцію серця, як і в інтактних щурів, реєстрували в перші 10-секунд з подальшим зменшенням інтенсивності брадикардії впродовж хвилини. Разом з тим, абсолютне значення інтенсивності брадикардії на кожному аналізованому часовому проміжку у гонадектомованих самців було меншим, ніж у інтактних, що відображало як менші запаси ацетилхоліну в пресинаптичному відділі, так і меншу чутливість холінорецепторів. Вивчення вмісту та передсердно-шлуночкового співвідношення концентрації ацетилхоліну в міокарді самців показало його нагромадження головним чином за рахунок медіаторної фракції. Цьому могло сприяти суттєвіше пригнічення активності гідролізу медіатора. Загалом, такі зміни можна оцінити як прояв компенсації, зважаючи на зміщення вегетативного балансу в бік переважання активності симпатичної ланки при одночасному послабленні активності парасимпатичної ланки АНС та зниженні чутливості постсинаптичних холінорецепторів.

Самки зі збереженими гонадами реагували максимальною брадикардією на електростимуляцію протягом перших 20-и секунд з подальшим її зменшенням. В оваріектомованих особин найбільш негативна хронотропна відповідь реєструвалась вже на першому 10-ти секундному проміжку і утримувалась на такому рівні ще 40 секунд, оскільки достовірної відмінності зазначеного показника між 10-ю, 20-ю, 30-ю, 40-ю та 50-ю секундами не було.

Лише на 60-й секунді, порівняно з першим 10-секундним інтервалом, інтенсивність вагусної брадикардії різко зменшилась у 3,2 раза. Варто наголосити, що інтенсивність вагусної брадикардії в інтактних самок була більшою, ніж у гонадектомованих, в перші 20-ть секунд (на 10-й – у 1,3 раза, на 20-й – у 1,4 раза), на 30-й секунді порівнювані групи не відрізнялись між собою, на 40-й та 50-й перевага була в когорті тварин з видаленими статевими залозами (у 1,4 раза та 1,9 раза відповідно), а на 60-й показники знову зрівнялись. Таку різницю можна пояснити зменшенням швидкості гідролізу медіатора в холінергічних синапсах гонадектомованих самок. Визначення вмісту ацетилхоліну показало його збільшення в міокарді цих тварин за рахунок медіаторної фракції на тлі зменшення швидкості ферментативного гідролізу ацетилхоліну, що є підтвердженням коректності вищенаведеного твердження. Встановлені зміни слід трактувати як прояв компенсації, спрямованої на обмеження підвищеного тону симпатичної ланки автономної нервової системи.

Аналіз вмісту нітрит-аніону в крові та міокарді гонадектомованих щурів показав різке його зниження у тварин обох статей. Система оксиду азоту самок виявилась чутливішою, ніж у самців, до дефіциту статевих гормонів, що проявилось більшим зниженням вмісту нітрит-аніону та свідчило про суттєвіше пригнічення синтезу оксиду азоту. Якщо в кастрованих самців вміст нітрит-аніону в крові зменшився лише на 30 %, то в самок – аж у 3,5 раза, в передсердях – відповідно на 15 % та в 3 раза і в шлуночках – на 29 % та 3,8 раза.

Серед механізмів, які пояснюють зниження активності синтезу оксиду азоту за відсутності гонад у самців, – зниження експресії ендотеліальної та нейрональної синтаз оксиду азоту, активність якої контролюється тестостероном на геномному рівні [26, 89]. За даними літератури оксид азоту, синтезований конститутивними формами NOS у симпатичній та парасимпатичній ланках АНС, зменшує вивільнення норадреналіну, та потенціює – ацетилхоліну, таким чином підсилюючи антиадренергічне модулювання на пресинаптичному рівні [194, 207, 214, 215, 224, 248, 264].

Враховуючи описану вище закономірність та зміни параметрів кардіоінтервалографії, можна стверджувати про взаємозв'язок між порушенням симпато-парасимпатичного балансу та дефіцитом оксиду азоту у самців з видаленими гонадами.

Зменшення продукції оксиду азоту в оваріектомованих самок, очевидно, обумовлено відсутністю стимуляції естрадіолом синтезу оксиду азоту ендотеліальною синтазою, зміною співвідношення L-аргінін/асиметричний диметиларгінін у бік зростання останнього, а відтак і суттєвішого пригнічення утворення оксиду азоту, та за рахунок порушення антиоксидантного захисту – зменшення біодоступності оксиду азоту [22, 108, 118, 121, 126, 216, 229].

За застосування L-аргініну в самців зі збереженими гонадами частота серцевих скорочень зменшилась на 9 %, у самок – на 14 %, показник моди збільшився на 10 % та 16 %, а величина варіаційного розмаху зросла – на 17 % та 48 % відповідно. Наведені зміни показників варіаційної кардіоінтервалометрії вказують на посилення холінергічних впливів на синусів вузол з боку АНС. Зменшення при цьому амплітуди моди на 13 % у самців та на 27 % у самок демонструвало ще й зниження активності адренергічної ланки. Закономірним за таких умов було зменшення індексу напруження (у самців склало 32 %, в самок – 38 %), що можна пов'язати зі збільшенням продукції оксиду азоту, спричиним уведенням L-аргініну та підтвердженим збільшенням вмісту стабільного метаболіту оксиду азоту нітрит-аніону у тварин обох статей.

За даними літератури, оксид азоту може впливати на активність вегетативної нервової системи на різних рівнях [194, 207, 214, 215, 224, 240, 247, 260, 264]. Нітринергічна модуляція центральних відділів автономної нервової системи полягає в посиленні оксидом азоту активності нейронів NTS та RVLM, зменшуючи таким чином базальну активність симпатичної ланки та послаблюючи барорефлекторний контроль серцевого ритму. Головна роль тут належить оксиду азоту, синтезованому нейрональною NOS [194, 224, 260]. На вагусний контроль серцевого ритму оксид азоту на центральному рівні чинить протилежні ефекти, пригнічуючи барорефлекторний контроль (обумовлено В-волокнами), але підвищуючи тонічну активність (С-волокна) [194, 215].

Необхідно зазначити, що вплив донаторів та блокаторів синтезу оксиду азоту на барорефлекторний контроль експериментально був доведений лише в притомних тварин. Тоді як, введення L-аргініну чи L-NMMA анестезованим кролям не впливало на чутливість рефлексу барорецептор – серцевий ритм, та, очевидно, було результатом дії анестетика [194]. Враховуючи, що наші досліди проведено на анестезованих щурах, ми не можемо ні заперечити, а ні пояснити отримані нами результати, спираючись на механізми барорефлекторного контролю.

Периферичні відділи АНС також перебувають під контролем оксиду азоту. Останній інгібує норадреналінову трансмісію в симпатичній ланці автономної нервової системи на пре- та постгангліонарному рівнях. Вважається, що в основі молекулярного механізму зниження вивільнення медіатора симпатичними нервовими терміналами лежить посилення фосфодіестеразою II типу гідролізу цГМФ, що призводить до зниження активності  $Ca^{2+}$ -каналів N-типу, зменшення надходження  $Ca^{2+}$  в цитозоль та послаблення екзоцитозу везикул з норадреналіном. Головна роль тут належить нейрональній NOS [194, 215, 260, 264].

Оксид азоту може модулювати і вагусну нейротрансмісію. Експериментально було доведено здатність оксиду азоту (синтезованого nNOS) через цГМФ, фосфодіестеразу III типу, цАМФ та протеїнкіназу A збільшувати надходження іонів кальцію через канали N- та P-типу. Кавеоларна локалізація ендотеліальної NOS дозволяє стверджувати про можливий вплив синтезованого нею оксиду азоту на постсинаптичну мембрану пейсмейкерних клітин, шляхом впливу на кальцієві канали L-типу. Цим пояснюють участь оксиду азоту (синтезованого саме eNOS) у механізмі акцентуйованого антагонізму, коли на тлі високого адренергічного тонусу негативний хронотропний вплив холінергічної ланки автономної нервової системи також посилений [214, 247, 264].

Виходячи з викладених вище механізмів можливого впливу оксиду азоту, зсув симпато-парасимпатичного вегетативного балансу в бік посилення активності холінергічної та послаблення адренергічної міг бути обумовлений

зменшенням вивільнення норадреналіну симпатичними та збільшення ацетилхоліну парасимпатичними нервовими терміналями, а також змінами постсинаптичної мембрани пейсмейкерних клітин.

У гонадектомованих щурів за застосування прекурсора синтезу оксиду азоту L-аргініну тенденція змін адрено-холінергічних взаємовідносин була аналогічною до такої ж у тварин зі збереженими залозами, проте суттєвіше вираженою, особливо в оваріектомованих самок. Частота серцевих скорочень у них зменшилась на 15 %, величина моди збільшилась на 17 %, амплітуди моди зменшилась на 27 %, варіаційного розмаху збільшилась на 48 %, а індексу напруження зменшилась на 58 %, а в самців зміни аналізованих показників становили 10 %, 11 %, 29 %, 29 % та 50 % відповідно. У самців зі збереженими гонадами за застосування прекурсора синтезу оксиду азоту АМо та ІН були на 18 % більшими, порівняно з гонадектомованими щурами за таких же умов, тоді як самки зі збереженими та видаленими яєчниками не відрізнялись між собою за жодним з аналізованих показників. Таким чином, у гонадектомованих щурів введення L-аргініну викликало посилення холінергічної (зменшення ЧСС, збільшення Мо та варіаційного розмаху) та послаблення адренергічної (зменшення амплітуди моди) регуляції серцевого ритму, що призвело до зменшення напруження регуляторних систем організму (зменшення величини індексу напруження). Надмірна активація L-аргініном холінергічної ланки автономної нервової системи гонадектомованих тварин, більше самок, може бути обумовлена значно вищим, ніж у інтактних, тонусом симпатичної нервової системи. І, як підтверджують дані математичного аналізу кардіограм щурів з видаленими статевими залозами, сильнішу активацію адренергічної системи спостерігали саме в оваріектомованих самок. Можливим механізмом отриманих нами змін є «акцентуований антагонізм» як результат прехресних адренергічно-холінергічних впливів, коли норадреналін підвищує здатність нейронів парасимпатичної нервової системи вивільняти ацетилхолін. Чільне місце в його реалізації посідає eNOS [214].

Аналіз впливу L-аргініну на чутливість серця до стимуляції блукаючого нерва та екзогенного ацетилхоліну показав, що введення прекурсора синтезу

оксиду азоту призвело до зростання значення інтенсивності вагусної брадикардії в самців у 1,3 раза та в самок – у 1,8 раза. Інтенсивність та тривалість брадикардії, спричиненої введенням ацетилхоліну, при цьому залишилися без змін. Це узгоджується з даними інших авторів та є доказом пресинаптичної дії оксиду азоту, синтезованого нейрональною NO-синтазою, при модуляції вагусної нейротрансмісії. Зазначений процес відбувається за рахунок стимулювання оксидом азоту розчинної гуанілатциклази та збільшення внутрішньоклітинного цГМФ. Останній, в свою чергу, пригнічуючи фосфодіестеразу 3 типу, підвищує пресинаптичне цАМФ- та протеїнкіназа-А-залежне фосфорилування кальцієвих каналів N-типу, а відтак посилює екзоцитозне вивільнення ацетилхоліну [214, 247].

Завдяки інтенсивнішим змінам у самок різниця між ними та самцями за величиною  $IB_{n.v.}$ , що реєструвалася на тлі L-аргініну, зросла до 84 %, у той час як у інтактних тварин вона становила 36 %. Очевидно, така різниця обумовлена більшими запасами ацетилхоліну в нервових терміналях синусового вузла самок, що забезпечує кращу, ніж у самців, здатність обмежувати негативні впливи надміру активованої симпатичної ланки автономної нервової системи.

Застосування прекурсора синтезу оксиду азоту L-аргініну в самців призвело до посилення вагусної брадикардії в 2,1 раза,  $IB_{AX}$  на 33 %,  $TB_{AX}$  на 28 %. У самок аналогічна динаміка становила, відповідно, 1,3 раза, 1,7 раза та 1,8 раза. За таких умов різниці між тваринами різної статі за показником  $IB_{n.v.}$  та  $TB_{AX}$  не було. Лише величина  $IB_{AX}$  у гонадектомованих самок була більшою, ніж у самців, на 59 %. Менша інтенсивність динаміки показника, який відображає реактивність пресинаптичного відділу холінорецепторної системи гонадектомованих самок, може свідчити про погіршення умов для синтезу, накопичення та вивільнення ацетилхоліну, спричинене різким зниженням рівня статевих гормонів. Разом із тим, суттєвіший, ніж у самок зі збереженими гонадами, приріст значень інтенсивності та тривалості брадикардії, спричиненої введенням ззовні ацетилхоліном, у них слід трактувати як прояв компенсації через посилення чутливості (чи густини) постсинаптичних холінорецепторів.

Про зміну реактивності холінорецепторів гонадектомованих самок свідчила динаміка інтенсивності брадикардії протягом 60-секундної електростимуляції блукаючого нерва. У самок зі збереженими гонадами на тлі введення L-аргініну (як і в інтактних) максимальне значення інтенсивності брадикардії спостерігали на першому 10-секундному проміжку з подальшим його зниженням. При цьому на всіх часових проміжках негативна хронотропна відповідь щурів, у яких застосовували L-аргінін, була більшою, ніж у контрольній групі. Це свідчило, що в самок зі збереженими яєчниками збільшення чутливості серця до ендogenous ацетилхоліну за застосування L-аргініну пов'язано з посиленням вивільнення квантів ацетилхоліну, зменшенням швидкості його гідролізу та тривалим підтриманням функціональної активності постсинаптичних холінорецепторів.

В оваріектомованих самок на тлі введення L-аргініну динаміка була іншою. Найбільшої інтенсивності брадикардію реєстрували у перші десять секунд електростимуляції блукаючого нерва. На 20-й секунді виникло різке зниження  $IB_{n.v.}$  у 3,3 раза, порівняно з першими 10-а секундами, на 30-й – у 3,4 раза менше, на 40-й – у 3,3 раза, а на 50-тій та 60-тій – у 3,2 раза. Останніх два десяти секундних інтервали за величиною інтенсивності брадикардії між собою не відрізнялися, а на 30-секундному аналізованому відрізку відмічали посилення  $IB_{n.v.}$  відносно 20-секундного інтервалу в 1,2 раза. Підвищення інтенсивності брадикардії на 30-й секунді, порівняно з 20-ю, свідчило про компенсаторну підтримку холінергічної регуляції серця через підвищення чутливості холінорецепторів, з огляду на зменшення запасів ацетилхоліну, викликане дефіцитом статевих стероїдів.

Порівняльний аналіз реакції серця інтактних та оваріектомованих самок на тривалу стимуляцію блукаючого нерва за застосування L-аргініну показав, що на першому 10-и секундному відрізку часу в обох групах спостерігали максимальну інтенсивність брадикардії, при цьому порівнювані величини не відрізнялись між собою ( $p > 0,05$ ). Це було свідченням того, що L-аргінін у гонадектомованих самок сприяв відновленню здатності блукаючого нерва реагувати адекватним викидом квантів ацетилхоліну при



його активації в умовах дефіциту статевих гормонів. На інших часових проміжках  $I_{n.v.}$  інтактних самок переважав аналогічний показник оварієктомованих на 20-й секунді в 3,6 рази, на 30-й – в 2,2 рази, на 40-й – в 1,8 рази, що можна пояснити більшими запасами парасимпатичного медіатора.

Аналіз інтенсивності брадикардії протягом однієї хвилини електростимуляції *n. vagus* у самців показав особливості вагусного контролю за застосування прекурсора синтезу оксиду азоту. У тварин, яким вводили L-аргінін, максимальну інтенсивність брадикардії спостерігали на 30-и секундному відрізку часу, тоді як у інтактних – на перших 10-и секундах досліду. Величина  $I_{n.v.}$  у перших на 10-й секунді була в 1,2 рази меншою, ніж в групі порівняння, а в подальшому – на 20-й, 30-й, 40-й, 50-й та 60-й секундах більшою в 1,2 рази, в 1,7 рази, в 1,6 рази, в 1,9 рази та в 3,5 рази відповідно. Така перевага може бути наслідком здатності L-аргініну полегшувати вивільнення квантів медіатора, а збільшення тривалості брадикардичного ефекту – підвищенням чутливості холінорецепторів постсинаптичної мембрани при тривалій дії збудника.

Уведення L-аргініну гонадектомованим самцям також призвело до посилення чутливості серця до стимуляції *n. vagus*. Проте, максимальна брадикардія реєструвалась на 10-й секунді з подальшим її зменшенням, а не на 30-й, як у тварин зі збереженими гонадами, що могло бути наслідком нетривалого проте суттєвого ефекту L-аргініну в плані полегшення вивільнення квантів ацетилхоліну. Варто сказати, що гонадектомія призвела до втрати притаманної самцям зі збереженими статевими залозами особливості реакції холінорецепторів на функціональні впливи в умовах збільшеної активності системи оксиду азоту, що підтверджує тісний взаємозв'язок двох систем – статевих гормонів і оксиду азоту.

Зсув вегетативного балансу в бік посилення холінергічного та пригнічення адренергічного контролю за застосування прекурсора синтезу оксиду азоту в щурів обох статей відбувалось на тлі різкого зростання вмісту ацетилхоліну в міокарді, що може бути свідченням здатності L-аргініну

впливати на метаболізм медіатора. У передсердях самців вміст ацетилхоліну збільшився в 2 рази, в самок – у 3 рази на тлі зростання холінестеразної активності в 1,9 раза в самців та на 15 % у самок. Активацію ферментативного гідролізу в даному випадку необхідно розцінити як прояв компенсаторної реакції, спрямованої на підтримання функціональної активності водія ритму. Вміст ацетилхоліну в шлуночках самців зі збереженою активністю гормонопродукуючої функції гонад зріс у 6 разів, самок – у 4 рази. Активність ферментативного гідролізу медіатора при цьому зменшилась у самців на 57 %, а в самок – на 40 %. У кінцевому результаті на тлі введення прекурсора синтезу оксиду азоту співвідношення між вмістом ацетилхоліну в передсердях і шлуночках зменшилось у самців з 5,8 до 2,0, а в самок – з 6,1 до 4,5. Зміни цього співвідношення на тлі збільшення вмісту ацетилхоліну в передсердях і шлуночках були свідченням суттєвішого впливу L-аргініну на метаболічну фракцію. Чутливішими до такого впливу виявилися самці.

Після введення прекурсора синтезу оксиду азоту гонадектомованим тваринам вміст ацетилхоліну в міокарді передсердь не змінився, проте ефективним даний препарат був щодо активності його гідролізу, що правда спрямування таких змін була кардинально протилежним. Якщо у гонадектомованих самців за застосування L-аргініну холінестеразна активність міокарда передсердь зросла на 21 %, то в самок зменшилася на 33 %, що свідчило про різні механізми впливу прекурсора на даний процес. Цікаво, що незалежно від статі прекурсор синтезу оксиду азоту сприяв збільшенню вмісту ацетилхоліну в міокарді шлуночків, що в гонадектомованих самців становило 2,4 раза, а в самок – 1,9 раза і відбувалося це на тлі зменшення активності його гідролізу, зокрема у самців на 33 %, а в самок на 38 %. У даному випадку співвідношення між вмістом ацетилхоліну в передсердях і шлуночках у гонадектомованих самців зменшилося з 8,0 до 3,4, в самок – з 8,4 до 4,5. Зважаючи на таке співвідношення та динаміку в передсердях та шлуночках, можна стверджувати, що за введення L-аргініну підтримання на стабільному рівні вмісту ацетилхоліну в міокарді передсердь та його зростання в міокарді шлуночків незалежно від статі відбувається за рахунок метаболічної фракції.

Серед механізмів домінуючим у гонадектомованих самців було зменшення активності ферментативного гідролізу ацетилхоліну, а в гонадектомованих самок, найімовірніше, – посилене утворення, про що свідчило зростання загальної холінестеразної активності міокарда шлуночків цих тварин. Морфологічним підґрунтям зазначених взаємодій є розташування nNOS у клітинах серцевих гангліїв та нервових волокнах, які іннервують синоатріальний вузол, одночасно з ацетилхолінтрансферазою [214]. Це обумовлює можливість впливу системи оксиду азоту (а саме оксиду азоту, синтезованого nNOS) через вторинний месенджер – цГМФ – на швидкість ферментативного гідролізу ацетилхоліну, що, в кінцевому результаті, призводить до зміни кількості медіатора в міокарді.

У тварин обох статей за застосування L-аргініну спостерігали зростання вмісту нітрит-аніону, що свідчило про збільшення продукції оксиду азоту. У крові самців вміст аналізованого показника збільшився на 15 %, самок – лише на 7 %, в передсердях – на 11 та 5 %, а в шлуночках – на 12 та 4 % відповідно. Такі залежні від статі ефекти L-аргініну (суттєвіше збільшення вмісту нітрит-аніону, а відтак і утворення NO, у самців) можуть бути пов'язані з різним співвідношенням L-аргінін/ADMA. Адже у самців воно є меншим, ніж у самок, за рахунок вищого рівня циркулюючого ADMA. З літературних даних відомо, що у самок відсутній інгібіторний вплив естрадіолу на активність диметиларгініндиметиламіногідролази та вивільнення ADMA з ендотеліальних клітин) [118, 121]. Очевидно, введення самцям L-аргініну ззовні збільшує зазначене співвідношення і, таким чином, сприяє збільшенню синтезу оксиду азоту ендотеліальною NOS.

Цікаво, що в оваріектомованих самок введення прекурсора синтезу оксиду азоту викликало суттєвіше, ніж у самців, зростання вмісту нітрит-аніону в крові та серці. Так, у сироватці самців вміст стабільного метаболіту зріс лише на 19 %, а самок – на 49 %, в передсердях самців – на 9 %, самок – на 30 %; в шлуночках самців – на 15 %, в самок – на 58 %. Очевидно, це обумовлено постоваріектомічним зниженням рівня естрогенів, що призводить до зростання співвідношення L-аргінін/ADMA та посилення продукції оксиду азоту [118].

Отримані дані свідчать про залежність функціонування системи оксиду азоту від статі та гормонопродукуючої активності гонад.

Застосування L-NAME у тварин зі збереженою функціональною активністю статевих залоз сприяло збільшенню показника амплітуди моди у самців на 15 %, а в самок на 35 %, зменшенню варіаційного розмаху на 22 та 35 % відповідно, що демонструвало посилення адренергічних та послаблення холінергічних впливів на діяльність серця з боку АНС. Механізм порушення балансу активності обох ланок АНС, притаманного інтактним тваринам, найімовірніше полягає у зменшенні функціональної активності конститутивних ізоформ синтаз оксиду азоту та пригніченні продукції оксиду азоту. Суттєвіші зміни в самок тварин є доказом більшої чутливості їхнього організму до дії L-NAME. Дефіцит оксиду азоту, що виникав за таких умов (підтверджено зменшенням вмісту нітрит-аніону), найімовірніше, сприяв посиленню активності симпатичної та послабленню парасимпатичної ланки автономної нервової системи на пре- та постсинаптичному рівнях за вже розглянутими механізмами, які реалізуються через фосфодіестерази II чи III типу та кальцієві канали L-типу.

Білатеральна оваріектомія призвела до збільшення чутливості серця самок до дії L-NAME, що проявилось позитивним хронотропним ефектом. Частота серцевих скорочень у них зросла на 13 %, величина моди зменшилась на 12 %, порівняно з кастрованими тваринами, яким цей препарат не вводили. У гонадектомованих самців не зареєстрували статистично достовірних змін частоти серцевих скорочень та моди. Значення амплітуди моди у тварин з видаленими статевими залозами, після введення L-NAME стало аналогічним такому в інтактних особин, завдяки збільшенню, що у самців склало 16 %, а в самок – 40 %. Варіаційний розмах кардіоінтервалів зменшився однаковою мірою в тварин обох статей (на 19 % в обох випадках). Ці зміни показали, що в умовах дефіциту статевих гормонів, самки щурів на застосування L-NAME реагували більшою активацією симпатичної нервової системи, ніж самці, на тлі аналогічного за ступенем обмеження холінергічних впливів. Це призвело до порушення балансу активності обох ланок АНС з переважанням активності

адренергічної та напруження регуляторних механізмів, що підтверджувалося збільшення індексу напруження в самців у 1,5 раза, в самок у 2 рази. Таким чином, самці зі збереженими та видаленими гонадами достовірно не відрізнялись між собою за жодним з аналізованих показників на тлі блокади синтаз оксиду азоту. У самок з видаленими яєчниками на тлі введення L-NAME АМо була на 13 %, а ІН на 20 % більшими, ніж у тварин зі збереженими гонадами за тих же умов.

Про зменшення ролі холінергічних механізмів у функціонуванні серця, викликаних L-NAME, свідчили й результати вивчення реакції синусового вузла на функціональні впливи. Зокрема, у самців  $ІБ_{п.в.}$  знизилась на 20 %, в самок – на 34 %,  $ІБ_{АХ}$  – на 26 та 45 % відповідно,  $ІБ_{АХ}$  – в 1,5 раза в обох випадках. Дані зміни можна пояснити як зменшенням вивільнення ацетилхоліну в синаптичну щілину на тлі пригнічення синтезу оксиду азоту нейрональною синтазою оксиду азоту, так і зменшенням чутливості постсинаптичних холінорецепторів, спровокованого пригніченням активності ендотеліальної синтази оксиду азоту. Зменшення тривалості брадикардії від уведення екзогенного ацетилхоліну, згідно даних літератури, може бути пов'язано з дефіцитом оксиду азоту на тлі блокади даною речовиною eNOS, та, відповідно, відсутністю стимуляції гіперполяризаційно-активованих струмів. Варто зазначити, що неселективний блокатор синтаз оксиду азоту нівелював вихідну різницю між тваринами різної статі за досліджуваними параметрами.

Введення L-NAME самцям зі збереженими гонадами не вплинуло на динаміку величини інтенсивності брадикардії впродовж 60-секундної стимуляції блукаючого нерва. Максимально виражена брадикардія реєструвалася в перші 10-ть секунд досліду, після чого спостерігалось достовірне зменшення її інтенсивності. Проте, на кожному часовому проміжку (кожні 10 секунд) інтенсивність вагусної брадикардії у тварин, яким ввели L-NAME, була меншою, порівняно з інтактними тваринами, що свідчило про зменшення вивільнення квантів медіатора пресинаптичними терміналами.

Застосування L-NAME у самок зі збереженою гормонопродукуючою функцією статевих залоз показало аналогічну самцям закономірність у такому

досліді. Максимально виражену брадикардію реєстрували в перші 10-ть секунд, а починаючи з 30-ї секунди негативної хронотропної відповіді на електростимуляцію блукаючого нерва не було. Отже, вагусна нейротрансмісія у самок виявилась надзвичайно чутливою до дії L-NAME. Адже у них не лише більшою мірою, ніж у самців, знижувалась інтенсивність брадикардії, а й виникав ефект «вислизання» синусового вузла з-під вагусного контролю. Очевидно, за застосування неселективного блокатора синтезу оксиду отримані зміни в самок обумовлені різким зменшенням вивільнення квантів ацетилхоліну та, можливо, швидкою десенситизацією [34, 35] постсинаптичних холінорецепторів.

Уведення L-NAME гонадектомованим самцям знизило інтенсивність вагусної брадикардії на 77 % та тривалості брадикардії, спричиненої екзогенними ацетилхоліном, на 58 %, не вплинувши на інтенсивність останньої. У гонадектомованих самок за застосування блокатора синтезу оксиду азоту показник інтенсивності брадикардії, викликаній електростимуляцією блукаючого нерва, зменшився в 1,4 раза; інтенсивність брадикардії, спричиненої екзогенними ацетилхоліном, у 1,7 раза без достовірної зміни її тривалості, про що свідчило порівняння з аналогічними параметрами гонадектомованих особин, яким даний препарат не вводили. Порівняльний аналіз показників гонадектомованих тварин показав, що на тлі L-NAME інтенсивність вагусної брадикардії в самок все ж таки перевищувала показник самців в 1,9 раза, а інтенсивність брадикардії, викликаній введенням екзогенного ацетилхоліну, у них була в 1,2 раза меншою, ніж у самців, за однакової її тривалості.

Хоча на тлі L-NAME ступінь брадикардичного ефекту у відповідь на стимуляцію блукаючого нерва гонадектомованих самців суттєво зменшувався, його тривалість збільшувалася. Цікаво, що максимальне значення R-R, яке виникало вже на першому 10-секундному проміжку електростимуляції, утримувалося протягом 50-и секунд. Це, найімовірніше, було проявом компенсаторної підтримки холінергічного контролю серця шляхом зменшення ефекту функціональної десенситизації. Підвищення чутливості (чи густини)

постсинаптичних міокардіальних холінорецепторів було настільки суттєвим, що порівняно з інтактними самцями, гонадектомовані, яким вводили L-NAME, лише протягом перших 30-и секунд реагували меншою інтенсивністю брадикардії на електростимуляцію блукаючого нерва, а починаючи з 40-ї секунди досліду статистично достовірної відмінності між порівнюваними групами не було. Це свідчить, що, незважаючи на зменшення здатності міокардіальних холінергічних волокон вивільняти кванти ацетилхоліну при блокуванні синтаз оксиду азоту, в гонадектомованих самців відбувалося компенсаторне посиленням чутливості постсинаптичних холінорецепторів.

Блокування синтезу оксиду азоту в гонадектомованих самок суттєво пригнічувало чутливість синусового вузла до вагусних впливів, про що свідчило зменшення величини  $IB_{n.v.}$ . Аналіз цього показника на кожному десяти секундному проміжку ЕКГ, показав, що найбільше його значення реєструється в першв 10 секунд подразнення. Далі аналізована величина знижувалась і на 20-й секунді була в 1,6 раза меншою, порівняно з першим 10-ти секундним інтервалом, на 30-й – у 2 рази, на 40-й – у 2,3 рази і зберігалась на такому рівні до завершення електростимуляції. Важливо, що синусовий вузол самок і гонадектомованих, і тих, що мали збережені гонади, на тлі L-NAME через 30 секунд ставав нечутливим до електростимуляції блукаючого нерва. У перші 10 секунд значення  $IB_{n.v.}$  порівнюваних груп були аналогічними, на 20-й та 30-й секундах у гонадектомованих самок дана величина була в 1,5 раза, а на 40-й, 50-й та 60-й – в 1,3 раза більшою, ніж у тварин зі збереженими гонадами. Це свідчило, що в гонадектомованих тварин, на відміну від самок зі збереженими статевими залозами, за застосування L-NAME процес десенситизації холінорецепторів виникав пізніше, але тривав довше. Проведений аналіз свідчить, що блокування синтезу оксиду азоту на тлі дефіциту статевих гормонів у тварин обох статей поглиблює зміни, зумовлені зниженням рівня статевих гормонів, що проявляється різким обмеженням ролі холінергічних механізмів у функціонуванні серця.

Уведення блокатора синтезу оксиду азоту щурам зі збереженими гонадами викликало збільшення вмісту ацетилхоліну в передсердях самців і

самок на 35 та 34 % відповідно та активності його гідролізу в 2,2 та 1,4 раза, що у самців, як показують два останні показники, було суттєвішим. Накопичення медіатора в міокарді передсердь за таких умов найімовірніше було проявом компенсаторної реакції, що реалізується за механізмом “акцентуйованого антагонізму” та результатом перехресних адренергічно-холінергічних впливів. Адже зменшення утворення оксиду азоту, спричинене введенням блокатора його синтезу, викликає посилення симпатичного тону (підтверджено динамікою показників варіаційної кардіоінтервалометрії), що в свою чергу підвищує здатність парасимпатичної ланки автономної нервової системи вивільняти ацетилхолін [214].

У міокарді шлуночків самців зі збереженими гонадами уведення L-NAME викликало збільшення вмісту ацетилхоліну в 3 рази на тлі пригнічення активності його гідролізу в 10,7 раза порівняно з контролем. У самок вміст ацетилхоліну збільшився в 2,8 раза, а швидкість його гідролізу зменшилась лише у 3 рази. Така відмінність свідчить про позитивну роль саме естрогенів у контролі метаболізму ацетилхоліну і підтверджується тим, його вміст в передсердях самок був на 7 % вищим, а активність ферментативного гідролізу на 30 % меншою, ніж у самців. Слід зазначити, що накопичення ацетилхоліну в міокарді шлуночків тварин обох статей відбувалося за рахунок метаболічної фракції, що підтверджувалося зменшенням співвідношення його в передсердях та шлуночках у самців до 2,6, а в самок – до 2,9.

Застосування L-NAME в самців на тлі дефіциту статевих гормонів призвело до збільшення в передсердях як вмісту ацетилхоліну, так і холінергічної активності на 13 % та у 2,5 раза відповідно, а в шлуночках – лише до зменшення активності гідролізу медіатора в 2,4 раза. Гонадектомовані самки на введення блокатора синтезу оксиду азоту відреагували посиленням холінергічної активності передсердь в 1,8 раза та її зменшення в 2,1 раза в шлуночках, без зміни вмісту ацетилхоліну. При цьому блокада синтезу оксиду азоту в гонадектомованих самців збільшувала співвідношення між вмістом ацетилхоліну в передсердях та шлуночках до 9,4, що вказувало на збільшення медіаторної фракції ацетилхоліну. За застосування L-NAME в



оварієктомованих самок змін вмісту ацетилхоліну, а відповідно й співвідношення, ні в передсердях, а ні в шлуночках не було, очевидно через втрату здатності організму контролювати даний процес в умовах гострої нестаті естрогенів.

У самок зі збереженими гонадами за застосування блокатора синтезу оксиду азоту вміст нітрит-аніону в крові знизився на 24 %, тоді як у самців – лише на 13 %, що було додатковим підтвердженням суттєвішої ролі системи оксиду азоту у життєдіяльності жіночого організму. У серці зміни були не такими значними, зокрема у міокарді шлуночків самців аналізований показник зменшився на 6 %, а в самок лише на 2 %, в шлуночках – на 5 % у тварин обох статей.

У гонадектомованих тварин зміни вмісту нітрит-аніону після введення L-NAME були протилежними до описаних вище і більш суттєвими. Дефіцит тестостерону у самців викликав різке зниження величини аналізованого показника в крові в 4,3 раза, а в самок – лише на 36 %, у міокарді передсердь – в 2,1 раза та на 27 %, у міокарді шлуночків – в 2,7 раза та на 56 % відповідно. Різке зниження вмісту нітрит-аніону в досліджуваних тканинах гонадектомованих самців слід пов'язати з порушенням андрогенно-естрогенного балансу, що мало наслідком додаткову стимуляцію eNOS естрадіолом, а відповідно і більше пригнічення синтезу цього процесу блокатором синтаз оксиду азоту [118, 127]. Необхідно зазначити, що незважаючи на більшу чутливість системи оксиду азоту гонадектомованих щурів-самців до дії L-NAME, а оварієктомованих самок – до L-аргініну, у останніх відмічався значно нижчий вміст нітрит-аніону, що може бути пов'язано з активацією нітритредуктазного компоненту циклу оксиду азоту [5].

Таким чином, проведені дослідження дозволили на рівні експерименту довести, що прекурсор синтезу оксиду азоту L-аргінін у щурів зі збереженими гонадами викликає обмеження адренергічного і посилення холінергічного контролю діяльності серця; підвищує чутливість серця до ендогенного ацетилхоліну більшою мірою у самок, не впливає на чутливість постсинаптичних холінорецепторів у тварин обох статей; сприяє збільшенню

вісту ацетилхоліну за рахунок метаболічної фракції, на тлі посилення активності ферментативного гідролізу в міокарді передсердь та послаблення в міокарді шлуночків, інтенсивність останніх змін є більшою в самців. У гонадектомованих тварин обох статей, більшою мірою в самок, застосування прекурсора синтезу NO призводить до активації парасимпатичних впливів з боку АНС; сприяє відновленню зменшеної внаслідок дефіциту статевих гормонів чутливості серця до стимуляції блукаючого нерва в самок і на введення ацетилхоліну в самців; викликає нагромадження ацетилхоліну за рахунок метаболічної фракції лише в міокарді шлуночків шляхом зменшення активності його гідролізу. L-NAME активує симпатичний та послаблює парасимпатичний контроль діяльності синусового вузла у тварин зі збереженими гонадами; знижує чутливість серця до екзогенного та ендогенного ацетилхоліну, суттєвіші зміни виникають у самок; збільшує вмісту ацетилхоліну, в основному, за рахунок метаболічної фракції на тлі зростання швидкості його гідролізу в міокарді передсердь та сповільнення в міокарді шлуночків, особливо в самців. Блокада синтаз оксиду азоту в умовах дефіциту статевих стероїдів призводить до різкого обмеження холінергічного та активації адренергічного контролю серця в щурів обох статей; знижує чутливість синусового вузла до стимуляції блукаючого нерва та екзогенного ацетилхоліну; викликає збільшення вмісту ацетилхоліну лише в міокарді передсердь гонадектомованих самців за рахунок медіаторної фракції при збільшенні активності його гідролізу.

## ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення наукового завдання, яке полягає у встановленні ролі системи оксиду азоту в холінергічній регуляції функціональної активності синусового вузла, чутливості міокардіальних холінорецепторів та метаболізму ацетилхоліну в серці гонадектомованих щурів різної статі.

1. Білатеральна гонадектомія у тварин різної статі викликає підвищення напруження регуляторних механізмів, зсув симпто-парасимпатичного балансу автономної нервової системи в бік послаблення холінергічних та посилення адренергічних впливів на серце, зменшення чутливості серця до стимуляції блукаючого нерва (у самців – в 1,5 рази,  $p < 0,001$ ; у самок – в 1,3 рази,  $p < 0,05$ ) та введення ацетилхоліну, викликає збільшення вмісту ацетилхоліну в міокарді, головним чином за рахунок медіаторної фракції (у передсердях самців – у 2 рази,  $p < 0,001$ , у шлуночках – на 44 %,  $p < 0,001$ ; у передсердях самок – в 1,9 рази,  $p < 0,001$ , у шлуночках – на 38 %,  $p < 0,001$ , відповідно), на тлі зниження активності його ферментативного гідролізу. Дефіцит статевих гормонів призводить до значного зменшення вмісту нітрит-аніону в міокарді (у передсердях самців – на 15 %,  $p < 0,001$ , у шлуночках – на 29 %,  $p < 0,001$ ; у передсердях самок – у 3 рази,  $p < 0,001$ , у шлуночках – у 3,8 рази,  $p < 0,001$ ) та крові тварин обох статей, суттєвіші зміни виникають у самок.

2. L-аргінін у дозі 600 мг/кг викликає обмеження адренергічного і посилення холінергічного контролю діяльності серця, зменшення напруження регуляторних механізмів у тварин зі збереженими гонадами, сприяє посиленню негативного хронотропного ефекту у відповідь на стимуляцію блукаючого нерва, що більшою мірою проявляється в самок, не впливає на чутливість постсинаптичних холінорецепторів у тварин обох статей. Прекурсор синтезу оксиду азоту сприяє збільшенню вмісту ацетилхоліну за рахунок метаболічної

фракції, на тлі посилення активності ферментативного гідролізу в міокарді передсердь та послаблення в міокарді шлуночків, підвищує вміст нітрит-аніону в міокарді та крові щурів обох статей, інтенсивність таких змін є більшою в самців.

3. L-NAME (25 мг/кг) активує симпатичний та послаблює парасимпатичний контроль діяльності синусового вузла у тварин зі збереженими гонадами, знижує здатність серця реагувати брадикардією на стимуляцію блукаючого нерва (у самців на 20 %,  $p < 0,01$ ; у самок на 34 %,  $p < 0,02$ ) та введення ацетилхоліну, суттєвіші зміни виникають у самок. Збільшення вмісту ацетилхоліну, що виникає в умовах блокади синтаз оксиду азоту, відбувається, в основному, за рахунок метаболічної фракції на тлі зростання швидкості його гідролізу в міокарді передсердь та сповільнення – в міокарді шлуночків, особливо в самців, супроводжується зменшенням рівня нітрит-аніону в крові та серці.

4. У гонадектомованих тварин обох статей, більшою мірою в самок, уведення L-аргініну в дозі 600 мг/кг призводить до активації парасимпатичних впливів з боку автономної нервової системи, сприяє відновленню зменшеної внаслідок дефіциту статевих гормонів чутливості серця до стимуляції блукаючого нерва в самок і на введення ацетилхоліну – в самців. За відсутності статевих залоз прекурсор синтезу оксиду азоту сприяє нагромадженню ацетилхоліну лише в міокарді шлуночків за рахунок зменшення активності його гідролізу. Уміст нітрит-аніону в міокарді та крові гонадектомованих особин за таких умов збільшується, ефективнішою зазначена доза L-аргініну виявляється в гонадектомованих самців, що підтверджується наближенням рівня нітрит-аніону до показника інтактних тварин.

5. L-NAME поглиблює зміни, що виникають після видалення гонад, у тварин обох статей, призводить до різкого обмеження холінергічного та активації адренергічного контролю серця, зниження чутливості синусового вузла до стимуляції блукаючого нерва та екзогенного ацетилхоліну. Блокада синтаз оксиду азоту викликає збільшення вмісту ацетилхоліну лише в міокарді передсердь гонадектомованих самців за рахунок медіаторної фракції при

збільшенні активності його гідролізу. L-NAME спричиняє зменшення вмісту нітрит-аніону, більшою мірою – в гонадектомованих самців, рівень даного метаболіту залишається нижчим у самок.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абрамкин Д. В. Связь изменений ЧСС во время рефлекторных тестов с вариабельностью ритма сердца / Д. В. Абрамкин, И. С. Явелов, Н. А. Грацианский // Кардиология. – 2004. – Т. 44, № 8. – С. 27–34.
2. Аккер Л. В. Течение постовариктомиического синдрома в постменопаузальном периоде. Особенности метаболических изменений и их коррекция заместительной гормональной терапией / Л. В. Аккер, А. И. Гальченко, Т. С. Таранина // Акушерство и гинекология. – 2004. – № 5. – С. 34–38.
3. Анализ вариабельности ритма сердца в клинической практике (Возрастные аспекты) / О. В. Коркушко, А. В. Писарук, В. Б. Шатило [и др.]. – Киев : Институт геронтологии, 2002. – 192 с.
4. Анализ вариабельности сердечного ритма при использовании различных электрокардиографических систем / Р. М. Баевский, Г. Г. Иванов, Л. В. Чирейкин [и др.] // Вестн. аритмол. – 2001. – № 24. – С. 65–87.
5. Анализ циклических процессов с участием оксида азота в биосфере с позиций голографического принципа и принципа цикличности / В. П. Реутов, А. И. Гоженко, Б. А. Насибуллин [и др.] – Одесса : Одес. держ. мед. ун-т, 2003. – 54 с.
6. Андрухов О. Я. Механізми впливу оксиду азоту на чутливість скорочувального апарату гладеньких м'язів до  $\text{Ca}^{2+}$  / О. Я. Андрухов, В. Ф. Сагач // Фізіол. журнал. – 2001. – Т. 47, № 5. – С. 41–47.
7. Анищенко Т. Г. Половые различия холинергического статуса у белых крыс / Т. Г. Анищенко, Б. Н. Мамонтов, А. Н. Шорина // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1992. – Т. 114, № 10. – С. 351–353.
8. Артериальная гипертензия у особых категорий больных / [под ред. В. Н. Коваленко]. – К. : Морион, 2009. – 376 с.
9. Баевский Р. М. Математический анализ изменений сердечного ритма при стрессе / Р. М. Баевский, О. И. Кириллов, С. З. Клецкин. – М. : Наука, 1984. – 221 с.

10. Барна О. М. Гендерна кардіологія. Проекція на аритмії у жінок [Електронний ресурс] / О. М. Барна // Здоров'я України. – 2007. – № 4 (7). – С. 43–47. – Режим доступу до журн. : <http://woman.health-ua.com/article/91.html>
11. Бельская Г. Н. Особенности функционального состояния вегетативной нервной системы в раннем послеоперационном периоде у женщин с хирургической менопаузой / Г. Н. Бельская, Е. А. Деревянних, Е. В. Брюхина // Неврологический вестник. – 2006. – Т. XXXVIII, вып. 1–2. – С. 49–52.
12. Беялов Ф. И. Вариабельность сердечного ритма при многодневном наблюдении за течением нестабильной стенокардии / Ф. И. Беялов, С. Г. Куклин // Кардиология. – 2002. – Т. 42, № 1. – С. 48–51.
13. Біологічний метод визначення вмісту ацетилхоліну в міокарді щурів / В. В. Файфура, Л. М. Сас, Н. Я. Потіха [та ін.] // Мед. хімія. – 2004. – Т. 6, № 4. – С. 118–121.
14. Братусь В. В. Ожирение, инсулинорезистентность, метаболический синдром: фундаментальные и клинические аспекты: монография / В. В. Братусь, Т. В. Талаева, В. А. Шумаков ; [под ред. В. Н. Коваленко]. – К. : Четверта хвиля, 2009. – 416 с.
15. Бритов А. Н. Заместительная гормональная терапия в профилактике сердечно-сосудистых заболеваний у женщин с артериальной гипертонией и ишемической болезнью сердца [Электронный ресурс] / А. Н. Бритов // Consilium medicum, экстравыпуск. – 2002. – Режим доступа к журн. : <http://www.consilium-medicum.com/magazines/cm/medicum/2002>
16. Бурлака А. П. Радикальні форми кисню та оксид азоту при пухлинному процесі / А. П. Бурлака, Є. П. Сидорик. – К. : Наукова думка, 2006. – 227 с.
17. Вагусні реакції серця різностатевих тварин з міокардіодистрофіями різного генезу / В. В. Файфура, М. Р. Хара, Л. М. Сас [та ін.] // Вісн. наук. досл. – 2001. – № 3. – С. 75–76.

- 18.Вариабельность ритма сердца: представления о механизмах / С. А. Котельников, А. Д. Ноздрачев, М. М. Одинак [и др.] // Физиол. человека. – 2002. – Т. 28, № 1. – С. 130–143.
- 19.Верткин А. Л. Андрогенная недостаточность: нужна ли мужчинам заместительная гормональная терапия? / А. Л. Верткин, Л. Ю. Моргунов, И. В. Галкин // Фарматека. – 2008. – № 16. – С. 11–16.
- 20.Взаимосвязь нарушений вегетативной регуляции ритма сердца со степенью коронарного атеросклероза и сократительной функцией левого желудочка у больных инфарктом миокарда / С. А. Болдуева, В. С. Жук, И. А. Леонова [и др.] // Кардиология. – 2002. – Т. 42, № 12. – С. 60–61.
- 21.Влияние андрогенов на эндотелиальную и эректильную функцию у больных эректильной дисфункцией и гипогонадизмом [Электронный ресурс] / С. И. Гамидов, Е. М. Сотникова, Т. В. Мехтиев [и др.] // Здоровье мужчины. – 2003. – Режим доступа к журн. : <http://medi.ru/doc/260711.htm>
- 22.Влияние кастрации на содержания оксида азота в крови у здоровых и гипертензивных самок крыс в условиях покоя и стресса / О. В. Семячкина-Глушкова, Т. Г. Анищенко, Т. А. Синдякова [и др.] // Известия Саратовского ун-та. – 2006. – Т. 6, вып. 1/2. – С. 45–47.
- 23.Влияние L-аргинина и инозина на функцию миокарда крыс разного возраста при ишемии и реперфузии / В. В. Безруков, О. В. Берук, Н. В. Сыкало // Проблемы старения и долголетия. – 2007. – Т. 16, № 2. – С. 113–121.
- 24.Влияние регуляторов периферических холинергических процессов на развитие ранних аритмий у крыс при ишемии миокарда / Н. А. Лосев, В. В. Елисеев, Н. С. Сапронов [и др.] // Патол. физиол. и exper. тер. – 2002. – № 1. – С. 14–16.
- 25.Влияние эмоционального стресса на вариабельность сердечного ритма у крыс / С. И. Каштанов, Л. В. Мезенцева, М. А. Звягинцева, И. Л. Кошарская // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2001. – Т. 87, № 12. – С. 1626–1633.
- 26.Возрастной андрогенный дефицит в общесоматической практике: причины возникновения, клиника, диагностика, лечение / А. Л. Верткин,



- А. В. Наумов, Л. Ю. Моргунов [и др.] // Мужское здоровье. – 2008. - № 5. – С. 20–29.
27. Возрастные особенности влияния ишемического прекондиционирования изолированного сердца крыс на метаболизм NO / Т. А. Бадова, В. В. Безруков, Ю. П. Коркач [и др.] // Проблемы старения и долголетия. – 2006. – Т. 15, № 4. – С. 291–300.
28. Волков В. И. Эндокринное старение женщины и проблема сердечно-сосудистой патологии [Электронный ресурс] / В. И. Волков, А. С. Исаева // Украинская баннерная сеть. – 2008. – Режим доступа к журн. : [http://www.rql.kiev.ua/cardio\\_j/2008/6/volkov.htm](http://www.rql.kiev.ua/cardio_j/2008/6/volkov.htm)
29. Волков В. И. Гендерные и возрастные особенности ишемической болезни сердца [Электронный ресурс] / В. И. Волков, В. И. Строна // Здоров'я України. – 2007. – № 12/1. – С. 33–35. – Режим доступа к журн. : <http://www.health-ua.com/articles/1959.html>
30. Вплив L-аргініну і блокатора синтази оксиду азоту N $\omega$ -нітро-L-аргініну на вміст катехоламінів у крові щурів за умов стресу / Н. М. Кургалюк, Т. М. Мишутіна, Т. В. Серебровська [та ін.] // Ендокринологія. – 2002. – Т. 7, № 1. – С. 73–76.
31. Гельцер Б. И. Нитроксидпродуцирующая и вазомоторная функция сосудистого эндотелия и их взаимосвязь с показателями кардиогемодинамики при артериальной гипертензии климактерического периода / Б. И. Гельцер, В. Н. Котельников // Кардиология. – 2003. – № 1. – С. 76–77.
32. Гендерные подходы к лечению сердечно-сосудистой патологии: мужчина в центре внимания [Электронный ресурс] / Е. Н. Аринина, О. Ю. Аристархова, А. Л. Верткин [и др.] // Русский мед. журнал. – 2008. – Т. 6, спец. вып. – Режим доступа к журн. : [http://www.rmj.ru/articles\\_5756.htm](http://www.rmj.ru/articles_5756.htm)
33. Герасимчук Н. М. Вазоактивний пул оксиду азоту у хворих з артеріальною гіпертензією та надлишковою масою тіла / Н. М. Герасимчук // Кровообіг та гемостаз. – 2008. – № 3. – С. 21–26.

34. Гиниатуллин Р. А. Десенситизация постсинаптической мембраны нервно-мышечного синапса, вызванная спонтанной квантовой секрецией медиатора / Р. А. Гиниатуллин, Л. Г. Магазаник // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 1997. – Т. 83, № 3. – С. 67–72.
35. Гиниатуллин Р. А. Играет ли физиологическую роль десенситизация холинорецепторов в нервно-мышечном синапсе? / Р. А. Гиниатуллин, Л. Г. Магазаник // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 1998. – Т. 84, № 1-2. – С. 3–14.
36. Гланц С. Медико-биологическая статистика / Стентон Гланц; пер. с. англ. Ю. А. Данилов, Н. Е. Бузикашвили, Д. В. Самойлова. – М.: Практика, 1998. – 459 с.
37. Головченко Ю. И. Современные представления о физиологии и патологии эндотелия сосудов головного мозга / Ю. И. Головченко, М. А. Трещинская // Український хіміотерапевтичний журнал. – 2008. – № 1–2 (22). – С. 22–28.
38. Горпинченко И. И. Климакс у мужчин [Электронный ресурс] / И. И. Горпинченко // Здоров'я України. – 2003. – № 68. – Режим доступа к журн. : <http://www.health-ua.com/articles/140.html>
39. Григорян О. Р. Климактерий и заместительная гормональная терапия у женщин с ожирением / О. Р. Григорян, М. Б. Анциферов // Фарматека. Эндокринология, кардиология. – 2006. – №3 (118). – С. 12–18.
40. Грацианский Н. А. Применение только эстрогена в отличие его комбинации с прогестином увеличивает риск не коронарной болезни сердца, а инсульта / Н. А. Грацианский // Кардиология. – 2004. – Т. 44, № 6. – С. 76–81.
41. Грицай Г. В. Дисфункція нервової системи в жінок з естрогендефіцитними станами та методи її корекції : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : 14.01.15 "Нервові хвороби" / Г. В. Грицай. – К., 2005. – 21 с.
42. Гуревич М. А. Ишемическая болезнь сердца у женщин / М. А. Гуревич, С. Р. Мравян, Н. М. Григорьева // Трудный пациент. – 2006. - № 12. – С. 17–28.
43. Гуревич М. А. Диагностика и лечение ишемической болезни сердца у женщин / М. А. Гуревич, С. Р. Мравян // Болезни сердца и сосудов

- [актуальные и спорные вопросы]. – 2007. - № 3. – С. 38–46.
44. Гуревич М. А. Дефицит оксида азота и поддержание сосудистого гомеостаза: роль мононитратов и проблемы цитопротекции / М. А. Гуревич, Н. В. Стуров // Трудный пациент. – 2006. – Т. 4, № 3. – С. 30–33.
45. Даценко В. В. Роль системи оксиду азоту в реалізації кардіогенних та синокаротидних рефлексів : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук : 03.00.13 "Фізіологія людини і тварин" / В. В. Даценко. — К., 2004. — 20 с.
46. Дедов И. И. Возрастной андрогенный дефицит у мужчин / И. И. Дедов, С. Ю. Калинин – М.: Практическая медицина, 2006. – 240 с.
47. Демиденко А. В. Активность NO-синтазы у больных артериальной гипертензией с сопутствующим ожирением / А. В. Демиденко // Проблемы экологии та медицини. – 2006. - Т. 10, № 5-6. – С. 5–8.
48. Демографія та стан здоров'я народу України (Аналітично- статистичний посібник) / [під ред. В. М. Коваленка, В. М. Корнацького]. – К., 2010. – 143 с.
49. Дефицит андрогенов и ассоциированная с ним общесоматическая патология / А. Л. Верткин, Л. Ю. Моргунов, А. В. Наумов [и др.] // Фарматека. Проблемы репродуктивного здоровья. – 2008. – № 9 (163). – С. 22–26.
50. Дзизинский А. А. Оценка активности вегетативной нервной системы при приступе ишемии миокарда с помощью исследования вариабельности ритма / А. А. Дзизинский, Ю. Ю. Смирнова, Ф. И. Беялов // Кардиология. – 1999. – Т. 39, № 1. – С. 34–37.
51. Дзяк Г. В. Зміни вмісту статевих стероїдів після тотальної оварієктомії у жінок репродуктивного віку з артеріальною гіпертензією / Г. В. Дзяк, Н. К. Крижанівська // Український кардіологічний журнал. – 2001. – № 3. – С. 26–29.
52. Довгалецкий П. Я. Показатели вариабельности ритма сердца у больных ишемической болезнью сердца в зависимости от тяжести атеросклероза коронарных артерий (по данным селективной коронарографии) и функционального класса стенокардии / П. Я. Довгалецкий, О. К. Рыбак, Н. В. Фурман // Кардиология. – 2002. – Т. 42, № 9. – С. 17–22.

- 53.Дорохина Л. В. Прооксидантно–антиоксидантное равновесие у крыс при гипотермии в условиях коррекции L–аргинин–NO системы / Л. В. Дорохина, В. В. Зинчук // Весці НАН РБ сер. біял. нав. – 2000. – № 4. – С. 87–90.
- 54.Владимиров О. А. Дослідження ролі системи L-аргінін-NO з метою профілактики та лікування серцево-судинних захворювань вагітних / О. А. Владимиров, Н. І. Тофан // Фізіол. журн. – 2003. – Т. 49, № 2. – С. 73–78.
- 55.Женские половые гормоны как модуляторы гендерных различий в ответе на фармакотерапию сердечно–сосудистых заболеваний [Электронный ресурс] / С. Н. Терещенко, И. В. Жиров, Е. С. Красильникова, Е. Э. Казанцева // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2007. Т. 3. № 5. С. 83–87. – Режим доступа к журн. : [http://elibrary.ru/full\\_text.asp?id=11516352](http://elibrary.ru/full_text.asp?id=11516352)
- 56.Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 142–145.
- 57.Задонченко В. С. Оксид азота и ишемическая болезнь сердца / В. С. Задонченко, Т. В. Адашева, А. П. Сандомирская // Рос. кардиол. журн. – 2002. - № 2. – С. 63–66.
- 58.Заместительная гормональная терапия как средство профилактики сердечно-сосудистых заболеваний: опрометчивое “нет” или взвешенное “да”? / В. И. Подзолков, Н. М. Подзолкова, Л. Г. Можарова, Ю. В. Хомицкая // Кардиология. – 2004. – Т. 44, № 9. – С. 67–72.
- 59.Збільшений вміст стабільних метаболітів оксиду азоту в крові мешканців високогір'я / В. Ф. Сагач, Л. Б. Долман, А. В. Коцюруба та ін. // Фізіол. журн. – 2002. – Т. 48, № 5. – С. 3–8.
- 60.Звягина Т. В. Методы изучения метаболизма оксида азота / Т. В. Звягина, И. Е. Белик, Т. В. Анисеева [и др.] // Вестник гигиены и эпидемиологии. – 2001. – Т.5, №2. – С. 253–257.
- 61.Зміни системи оксиду азоту при гострій ішемії та реперфузії міокарда / О. О. Мойбенко, М. Я. Юзьків, А. В. Коцюруба [та ін.] // Фізіол. журн. – 2000. – Т. 46, № 6. – С. 3–11.

62. Іккерт О. В. NO-ергічна ланка регуляції мітохондріального дихання у щурів з різною резистентністю до гіпоксії / О. В. Іккерт, Н. М. Кургалюк, С. К. Гордій [та ін.] // Ученые записки ТНУ. – 2001. – Т. 14, № 2. – С. 80–83.
63. Ивашквичене Л. Отдаленные результаты коронарного шунтирования у женщин по сравнению с мужчинами / Л. Ивашквичене // Росс. кардиол. журнал. – 2000. – № 1. – С. 5–9.
64. Изопротеренол потенцирует мерцание предсердий, вызываемое ацетилхолином / О. Ф. Шарифов, В. В. Федоров, Г. Г. Белошапко [и др.] // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 2001. – Т. 87, № 10. – С. 1296–1308.
65. Инфаркт миокарда у женщин: факторы риска и клинические последствия / Е. Л. Федорова, З. Г. Бондарева, А. Д. Климов [и др.] // Клин. мед. – 2003. – Т. 89, № 6. – С. 28–32.
66. Кабак Я. М. Практикум по эндокринологии / Я. М. Кабак – М. : Изд-во Московского Университета. – 1968. – 275 с.
67. Каверина Н. В. Противофибрилляторное действие антиаритмических средств различных классов в условиях активации парасимпатической нервной системы / Н. В. Каверина, Г. Г. Чичканов, Н. Б. Цорин // Эксперим. и клин. фармакол. – 2004. – Т. 67, № 6. – С. 30–31.
68. Калинченко С. Ю. Дефицит андрогенов у женщин - миф или реальность / С. Ю. Калинченко // Medix Anti-Aging. – 2009. - № 1 (07). – С. 64–68.
69. Караева Е. Н. Новые аспекты действия эстрогенов / Е. Н. Караева // Экспер. и клин. фарм. – 2003. – Т. 66, № 4. – С. 71–78.
70. Караченцев А. Н., Сергеев П. В., Матюшин А. И. Гестагены и сердце / А. Н. Караченцев, П. В. Сергеев, А. И. Матюшин // Пробл. эндокр. – 1996. – Т. 42, № 2. – С. 42–45.
71. Кириченко А. А. Сердечно-сосудистые заболевания в постменопаузе (проблемы и пути их решения) / А. А. Кириченко // Фарматека. – 2009. – № 1. – С. 17–21.
72. Кобрин В. И. Механизмы действия эстрогенов на сердечно-сосудистую систему / В. И. Кобрин, Е. Е. Порман // Вестник аритмологии. – 2000. – № 19. – С. 72–83.

- 73.Ковалева О. Н. Эндотелийзависимая вазодилатация: молекулярные основы, физиологические эффекты, участие в патогенезе артериальной гипертензии / О. Н. Ковалева, О. А. Нижегородцева // Украинський кардіологічний журнал. – 2001. - № 6. – С. 100–106.
- 74.Ковзун О. І. Вплив естрадіолу та оварієктомії на стероїдогенез і вміст холестерину в корі надниркових залоз щурів / О. І. Ковзун, О. С. Микоша // Ендокринологія. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 79–84.
- 75.Кожухов С. М. Клініко-гемодинамічні та електрофізіологічні ефекти внутрішньовенної форми інгібітора 5-ліпоксигенази кверцетину у хворих на гострий інфаркт міокарда : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : 14.01.11 "Кардіологія" / С. М. Кожухов. — К., 2000. — 21 с.
- 76.Колодийчук Е. В. Показатели кардиоинтервалограммы у крыс в зависимости от пола и фазы эстрального цикла / Е. В. Колодийчук, Е. Н. Макушкина, Э. Б. Арушанян // Физиол. журн. – 1991. – Т. 77, № 11. – С. 60–63.
- 77.Кулаков В. И. Постоваризектомический синдром (клиническая лекция) / В. И. Кулаков, С. В. Юренева, Е. Ю. Майчук [под ред. В. И. Кулакова] – М., 2003. – 21 с.
- 78.Кургалюк Н. Ефективність окисних процесів за впливу L-аргініну й адреналінової міокардіодистрофії у щурів із різною резистентністю до гіпоксії / Н. Кургалюк, Г. Ткаченко // Вісник Львів. ун-ту. Серія біологічна. – 2004. – Вип. 37. – С. 198–204.
- 79.Куровська В. О. Роль оксиду азоту в ішемічних та ішемічно-реперфузійних ушкодженнях головного мозку / В. О. Куровська, В. П. Пішак, С. С. Ткачук // Буковинський медичний вісник. – 2008. – Т. 12, № 4. – С. 143–149.
- 80.Лагодич Т. С. Вплив донорів оксиду азоту на скоротливу функцію міокарда / Т. С. Лагодич // Фізіол. журн. – 2001. – Т. 47, № 1. – С. 34–38.
- 81.Лебедева М. В. Лечение артериальной гипертензии у женщин в перименопаузальном периоде / М. В. Лебедева // Болезни сердца и сосудов [актуальные и спорные вопросы]. – 2007. – № 3. – С. 53–57.
- 82.Лекарева Т. М. Роль половых стероидных гормонов и пролактина в патогенезе предменструального синдрома [Электронный ресурс] /

- Т. М. Лекарева // Журнал акушерства и женских болезней. – 2007. – Т. LVI, № 3. – С. 100–106. – Режим доступа к журн. : [http://elibrary.ru/full\\_text.asp?id=9587218](http://elibrary.ru/full_text.asp?id=9587218)
83. Лечение ишемической болезни сердца у женщин в менопаузе / Ю. В. Доценко, В. Г. Наумов, А. А. Лякишев [и др.] // Кардиология. – 2001. – Т. 41, № 3. – С. 64–70.
84. Лишневская В. Ю. Бета-адреноблокаторы в лечении заболеваний сердечно-сосудистой системы [Электронный ресурс] / В. Ю. Лишневская // Здоров'я України. – 2006. – № 24/1. – Режим доступа к журн. : <http://www.health-ua.com/articles/1500.html>
85. Лутай М. И. Дисфункция эндотелия при ишемической болезни сердца: значение и возможные пути коррекции. Часть 1. Эндотелий – универсальный регулятор функции сердечно-сосудистой системы / М. И. Лутай, М. А. Слободской // Український кардіологічний журнал. – 2001. – № 3. – С. 79–83.
86. Любимова Л. П. Тестостерон–эстрадиоловые отношения у женщин с климактерическим синдромом в перменопаузе / Л. П. Любимова, М. С. Бирюкова, Т. Л. Архипкина // Матер. наук.–практ. конф. присв. 80–ти річчю Укр. НДІ фарм. тер. ендокр. захв. – Харків, 1999. – С. 255.
87. Майчук Е. Ю. Факторы риска заболеваний сердечно-сосудистой системы у женщин менопаузального периода / Е. Ю. Майчук // Медицинский вестник. – 2007. – № 38–39. – С. 13–14.
88. Мамбетова А. Ж. Механизмы кардиопротекторного действия эстрадиола / А. Ж. Мамбетова, А. И. Матюшин // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 2000. – Т. 129, № 1. – С. 67–69.
89. Мансурова Е. А. Исследование качества жизни у больных с ранним приобретенным андрогенодефицитом в сочетании со стенокардией напряжения и вопросы оптимизации лечения : автореф. дис. на соискание научн. степени канд. мед. наук : 14.00.05 "Внутренние болезни" / Е. А. Мансурова. – Воронеж, 2009. – 25с.

90. Манухина Е. Б. Небиволол – суперселективный  $\beta$ -адреноблокатор и индуктор синтеза NO в эндотелии сосудов / Е. Б. Манухина // Кардиология. – 2001. – Т. 41, № 7. – С. 96–103.
91. Манухина Е. Б. Роль свободного и депонированного оксида азота в адаптации к гипоксии сердечно-сосудистой системы / Е. Б. Манухина, С. Ю. Машина, М. А. Власова [и др.] // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2004. – Т. 3. – С. 4–11.
92. Матвеева Н. Ю. Апоптоз: Морфологические особенности и молекулярные механизмы / Н. Ю. Матвеева // Pacific Medical Journal. – 2003. – № 4. – P. 7–12.
93. Матюшин А. И. Эстрогены и инфаркт миокарда / А. И. Матюшин // Патол. физиол. и эксп. тер. – 2001. – № 3. – С. 32–35.
94. Меерсон Ф. З. Защита сердца от ишемических повреждений сердца: роль стресс–лимитирующих систем и стабилизации структур миокарда / Ф. З. Меерсон // Росс. физиол. журнал. – 2001. – № 5. – С. 5–9.
95. Миронова Т. Ф. Роль вегетативной нервной системы в формировании острого инфаркта миокарда / Т. Ф. Миронова, В. А. Миронов, А. Ю. Тюрин // Вестник аритмологии. – 2005. – № 39. – С. 53–65.
96. Михельсон М. Я. Ацетилхолин. О молекулярном механизме действия / М. Я. Михельсон, Э. В. Зеймаль. – Ленинград : Наука, 1970. – 280 с.
97. Мойбенко О. О. Нові технології кардіопротекції / О. О. Мойбенко // Фізіол. журн. – 2002. – Т. 48, № 4, С. 85–87.
98. Мойбенко А. А. Эндогенные механизмы кардиопротекции как основа патогенетической терапии заболеваний сердца: монография / А. А. Мойбенко, В. Е. Досенко, А. Н. Пархоменко [и др.] [под ред. А. А. Мойбенко] — К. : Наукова думка, 2008. — 518 с.
99. Моргунов Л. Ю. Дефицит андрогенов и ассоциированная с ним патология в общесоматической практике : автореф. дис. на соискание научн. степени д-ра мед. наук : 14.00.05; 14.00.03 "Внутренние болезни"; "Эндокринология" / Л. Ю. Моргунов. – М. – 2008. – 19 с.



100. Мурашук К. М. Вікові особливості мітохондріального дихання та перекисного окиснення ліпідів у тварин при активації системи оксиду азоту : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук : 03.00.13 "Фізіологія" / Львівський національний ун-т ім. Івана Франка. – Л., 2007. – 20с.
101. Нетяженко В. З. Ішемічна хвороба серця у жінок: особливості факторів ризику / В. З. Нетяженко, О. М. Барна // Укр. кардіол. журн. – 2003. – № 2. – С. 17–24.
102. Ніжанковська О. В. Пероксидні процеси та стан системи оксиду азоту в судинній стінці щурів різного віку : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : 03.00.04 "Біохімія" / О. В. Ніжанковська. – К., 2006. – 13 с.
103. Ніколаєва В. В. Експериментальне обґрунтування доцільності застосування донатора оксиду азоту глутаргіну та його комбінації з пірацетамом при гемічній гіпоксії : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : 14.03.05 / В. В. Ніколаєва. – К., 2005. – 19 с.
104. NO-залежні механізми стимуляції репродуктивної системи самців / В. М. Запорожан, А. І. Гоженко, І. В. Савицький. – Одеса : Одес. держ. мед. ун-т, 2001. – 122 с.
105. Осадчий О. Е. Роль различных звеньев холинергической регуляции в развитии управляемой брадикардии при раздражении блуждающего нерва у кошек / О. Е. Осадчий, В. М. Покровский // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 1999. – Т. 85, № 5. – С. 637–645.
106. Осипов А. Н. Биологическая роль нитрозильных комплексов гемопротеинов / А. Н. Осипов, Г. Г. Борисенко, Ю. А. Владимиров // Успехи биол. химии. – 2007. – Т.47. – С. 259–292.
107. Особенности формирования артериальной гипертензии у женщин в постменопаузе / Майчук Е. Ю., Мартынов А. И., Печенкина И. В. [и др.] // Русский медицинский журнал. Кардиология. – 2003. – Т. 11, № 9. – С. 23–29.
108. Особенности формирования и течения артериальной гипертензии у женщин после тотальной постовариэктомии / А. И. Мартынов,

- Е. Ю. Майчук, С. В. Юренева // Русский Медицинский Журнал. – 2004. – Т. 12, № 5. – С. – 25-29.
109. Остроумова О. Д. Коррекция дисфункции эндотелия при артериальной гипертензии: фокус на бета-блокаторы [Электронный ресурс] / О. Д. Остроумова, Р. Э. Дубинская, О. В. Жукова // Consilium medicum. – 2006. – Т. 8, № 2. – Режим доступа к журн. : <http://www.consilium-medicum.com/gypertens/article/10353/>
110. Остроумова О. Д. Заместительная гормональная терапия в постменопаузе для вторичной профилактики ИБС: точка или многоточие? / О. Д. Остроумова // Consilium medicum, экстравыпуск. – 2002. – С. 11–14.
111. Оценка вариабельности ритма сердца и электрофизиологических свойств миокарда у больных с острым коронарным синдромом без элевации сегмента ST: значение для определения ближайшего и отдаленного прогноза / А. Н. Пархоменко, Я. М. Лутай, А. В. Шумаков, [и др.] // Укр. кардіол. журнал. – 2003. – № 1. – С. 22–27.
112. Оценка влияния гистерэктомии и двусторонней овариоэктомии на состояние сердечно-сосудистой системы [Электронный ресурс] / А. Н. Андреев, А. В. Акимова, Н. В. Изможерова [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2006. – Т. LV, № 3. – С. 49–53. – Режим доступа к журн. : [http://elibrary.ru/full\\_text.asp?id=9483596](http://elibrary.ru/full_text.asp?id=9483596)
113. Патолофізіологічні аспекти генетичного поліморфізму ендотеліальної NO-синтази / В. Є. Досенко, В. Ю. Загорій, О. О. Мойбенко [та ін.] // Фізіол. журн. – 2002. – Т. 48, № 6. – С. 86-102.
114. Пелих В. Є. Вплив гонадектомії та замісної гормонотерапії на показники математичного аналізу серцевої діяльності самок щурів / В. Є. Пелих, А. М. Дорохіна, О. А. Грицуняк // XIII Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених, 27–29 квітня 2009 р. : матеріали конференції. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2009. – С. 251.
115. Питецька Н. І. Гендерні особливості метаболічних порушень у пацієнтів з артеріальною гіпертензією / Н. І. Питецька // Кровообіг та гемостаз. – 2008. – № 3. – С. 16–20.

116. Подзолков В. И. Гормональный континуум женского здоровья эволюция сердечно-сосудистого риска / В. И. Подзолков // Медицинские аспекты здоровья Женщины. – 2006. – № 1. – С. 17–25.
117. Показатели липидного обмена у больных вегетативно-дисгормональной кардиопатией различного генеза / В. А. Орлов, В. Р. Мкртчян // Российский кардиологический журнал. – 2007. – № 1 (63). – С. 65–67.
118. Покровская Т. Г. Комбинированная фармакологическая коррекция метаболического пути L-аргинина/ NO при моделировании дефицита оксида азота : автореф. дис. на соискание научн. степени докт. мед. наук : 14.00.25 "Фармакология" / Т. Г. Покровская. – Курск, 2009. – 47 с.
119. Покуль Л. В. Влияние тотальной овариоэктомии и лечебной супрессии яичников на развитие метаболического синдрома у женщин репродуктивного возраста [Электронный ресурс] / Л. В. Покуль, Н. В. Порханова // Кубанский научный медицинский вестник. – 2009. – № 2. – С. 120–125. – Режим доступа к журн. : [http://elibrary.ru/full\\_text.asp?id=12918589](http://elibrary.ru/full_text.asp?id=12918589)
120. Поливода С. Н. Роль оксидативного стресса в нарушении метаболизма оксида азота при гипертензивной болезни / С. Н. Поливода, А. А. Черепок // Серце і судини. – 2004. – № 1(5). – С. 39–45.
121. Поливода С. Н. Поражение органов-мишеней при гипертонической болезни: Практическое рук-во / С. Н. Поливода, Ю. М. Колесник, А. А. Черепок. – К. : Четверта хвиля, 2005. – С. 250–298.
122. Половые различия в состоянии системы гемостаза у больных ишемической болезнью сердца / О. Ю. Кудряшова, Д. А. Затейщиков, В. Г. Баринов [и др.] // Кардиология. – 2002. – Т. 42, № 5. – С. 29–33.
123. Пушкина Н. Н. Биохимические методы исследования / Н. Н. Пушкина. – М. : Наука, 1963. – 223 с.
124. Роль коррекции метаболизма оксида азота в организме при профилактике гипертонического ремоделирования сердечно-сосудистой системы / В. И. Бувальцев, С. Ю. Машина, Д. А. Покидышев // Российский кардиологический журнал. – 2002. – № 5. – С. 16–25.

125. Рощупкин А. А. Лекарства и пол / А. А. Рощупкин // Украинський журнал екстремальної медицини ім. Г.О. Можаєва. – 2008. – Т.9., № 4. – С. 21–25.
126. Руководство по климактерию: Руководство для врачей / [под ред. В. И. Кулакова, В. П. Сметник]. – М. : Медицинское информационное агенство, 2001. – 685 с.
127. Сагач В. Ф. Вивчення ролі оксиду азоту у змінах споживання кисню та кисневій вартості роботи серцевого м'яза / В. Ф. Сагач, Т. В. Шиманська, С. Н. Надточій // Фізіол. журн. – 2000. – Т. 46, № 2. – С. 33–40.
128. Сагач В. Ф. Попередження постреперфузійних порушень функції серця та неефективного використання кисню за допомогою інгібіторів відкриття мітохондріальної пори / В. Ф. Сагач, Т. В. Шиманська, С. Н. Надточій // Фізіол. журн. – 2002. – Т. 48, № 6. – С. 3–10.
129. Сагач В. Ф. Фактор, який вивільнюється під час реперфузії ішемізованого серця, може бути маркером відкриття мітохондріальної пори / В. Ф. Сагач, Т. В. Шиманська, С. Н. Надточій // Фізіол. журн. – 2003. – Т. 49, № 4. – С. 7–13.
130. Сексуальное здоровье кардиопациента: новые представления и реальная помощь / А. Л. Верткин, Е. Н. Аринина, Л. Ю. Моргунов [и др.] // Медицинский совет. – 2007. – № 1. – С. 1–5.
131. Сиренко Ю. Н. Влияние гистеровариоэктомии на показатели суточного мониторинга артериального давления и вегетативной регуляции ритма сердца [Электронный ресурс] / Ю. Н. Сиренко, Н. Е. Яроцкий, Т. И. Попович // Украинская баннерная сеть. – 2008. – Режим доступа к журн. : [http://www.rql.kiev.ua/cardio\\_j/2003/6/sirenko.htm](http://www.rql.kiev.ua/cardio_j/2003/6/sirenko.htm)
132. Сметник В. П. Системные изменения у женщин в климактерии / В. П. Сметник // РМЖ. – 2001. – Т. 9, № 9. – С. 1–5.
133. Сметник В. П. Современные представления о менопаузальном метаболическом синдроме [Электронный ресурс] / В. П. Сметник, И. Г. Шестакова // Consilium medicum. – 2003. – Т. 5, N 9. – Режим доступа к журн. : <http://www.consilium-medicum.com/magazines/doctors/medicum/article/12526>

134. Сметник В. П. Артериальная гипертензия у женщин в пери- и постменопаузе (часть I) (Половые особенности и роль дефицита эстрогенов) / В. П. Сметник, Л. М. Ильина // Климактерий. – 2007. – № 1. – С. 5–9.
135. Сметник В. П. Особенности факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний у женщин и роль половых гормонов / В. П. Сметник, Л. М. Ильина // Климактерий. – 2007. – № 3. – С. 13–17.
136. Сметник В. П. Селективные модуляторы эстрогенных рецепторов: альтернатива заместительной гормонотерапии / В. П. Сметник, С. Н. Карелина, Т. Е. Самойлова // Акушерство и гинекология. – 2001. – №3. – С. 10–12.
137. Смирнов В. М. Некоторые аспекты биохимического механизма синергизма отделов вегетативной нервной системы / В. М. Смирнов, А. Э. Лычкова // Росс. кардиол. журнал. – 2002. – № 4. – С. 64–69.
138. Состояние сердечно-сосудистой системы у женщин с тяжелым климактерическим синдромом / Н. В. Изможерова, А. А. Попов, А. Н. Андреев [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2007. – № 1 (63). – С. 62–64.
139. Сосунов А. А. Оксид азота как межклеточный посредник / А. А. Сосунов // Соросовский образовательный журнал. – 2000. – Т. 6, № 12. – С. 27–34.
140. Татарчук Т. Ф. Современные принципы диагностики и лечения климактерических нарушений у женщин / Т. Ф. Татарчук, Н. В. Косей // Медичний Всесвіт. – 2003. – Т. III, № 2. – С. 11–17.
141. Тихомиров А. Л. Заместительная гормональная терапия в физиологической и хирургической постменопаузе / А. Л. Тихомиров // Фарматека. – 2007. – №10. – С. 37–41.
142. Тронько М. Д. Метаболізм андрогенів при цукровому діабеті 2-го типу (огляд літератури та власні дані) / М. Д. Тронько, О. В. Корпачева-Зінич // Укр. мед. часопис. – 2008. – Т. VII–VIII, № 4/66. – С. 71–87.
143. Тюренков И. Н. Морфологическая оценка структурных изменений в эндотелии сосудов почек у крыс с экспериментально вызванной недостаточностью половых гормонов / И. Н. Тюренков, А. В. Воронков,

- Г. Л. Снигур // Бюлл. волгоградского научного центра РАМН. – 2006. – № 3. – С. 13–15.
144. Филатова О. В. Половые различия в эндотелийзависимых реакциях артерий кроликов на увеличение скорости кровотока / О. В. Филатова, В. Д. Киселев, О. В. Эйсмонт // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 2000. – Т. 129, № 5. – С. 507–510.
145. Фундаментальні механізми дії оксиду азоту на серцево-судинну систему як основи патогенетичного лікування її захворювань / О. О. Мойбенко, В. Ф. Сагач, М. М. Ткаченко [та ін.] // Фізіол. журн. – 2004. – Т. 50, № 1. – С. 11-30.
146. Хара М. Р. Вміст ацетилхоліну в серці гонадектомованих щурів за застосування модуляторів синтезу оксиду азоту / М. Р. Хара, А. М. Дорохіна // Бюлетень ІХ читань ім. В. В. Підвисоцького, 27-28 травня 2010 р. : матеріали наукової конференції. – Одеса, 2010. – С. 92–93.
147. Хара М. Р. Вміст нітрит-аніона в крові та міокарді гонадектомованих щурів різної статі за зміненої активності системи оксиду азоту / М. Р. Хара, А. М. Дорохіна // Медична хімія. – 2010. – Т. 12, № 1. – С. 94–97.
148. Хара М. Р. Вплив атропіну на холінергічну регуляцію серця некастрованих і кастрованих щурів різної статі / М. Р. Хара // Вісн. наук. досл. – 2005. – № 1. – С. 149–150.
149. Хара М. Р. Вплив гонадектомії на стан системи оксиду азоту в щурів різної статі / М. Р. Хара, А. М. Дорохіна // Вісник наукових досліджень. – 2009. – № 3. – С. 78–80.
150. Хара М. Р. Вплив депонування оксиду азоту на показники варіаційної пульсометрії у щурів / М. Р. Хара, А. М. Дорохіна // Наукові дослідження – теорія та експеримент 2009 : п'ята міжнародна науково-практична конференція, 18–20 травня 2009 р. : матеріали конференції. – Полтава : ІнтерГрафіка, 2009. – Т. 5. – С. 121–124.
151. Хара М. Р. Вплив дефіциту статевих гормонів на вегетативну регуляцію серцевого ритму за застосування L-аргініну / М. Р. Хара, А. М. Дорохіна //

- Клінічна та експериментальна патологія. – 2009. – Т. VIII, № 3 (29). – С. 109–112.
152. Хара М. Р. Вплив кастрації на вміст та ферментативний гідроліз ацетилхоліну при адреналіновій міокардіодистрофії у щурів різної статі / М. Р. Хара // Мед. хімія. – 2004. – Т. 6, № 2. – С. 65–67.
153. Хара М. Р. Вплив кастрації та бета-адреноблокатора тразикору на холінергічний контроль серцевої діяльності самців і самок щурів / М. Р. Хара // Матер.міжнар. медико-фарм. конгр. “Ліки і життя”. – Київ, 2005. – С. 60.
154. Хара М. Р. Вплив кастрації та тразикору на холінергічні реакції серця тварин різної статі / М. Р. Хара // Наук. вісн. Ужгор. універ. Серія “Медицина”. – 2004. – Вип. 23. – С. 37–39.
155. Хара М. Р. Вплив модуляторів синтезу оксиду азоту на холінергічну регуляцію серця самців і самок щурів до та після гонадектомії / М. Р. Хара, А. М. Дорохіна // Клінічна та експериментальна патологія. – 2010. – Т. IX, № 3 (33). – С. 109–112.
156. Хара М. Р. Вплив оксиду азоту на автономний контроль серцевого ритму / М. Р. Хара, А. М. Дорохіна // Здобутки клінічної та експериментальної медицини : підсумкова науково-практична конференція, 4 червня 2009 р. : збірник матеріалів конференції. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2009. – С. 147.
157. Хара М. Р. Динаміка вмісту та ферментативного гідролізу ацетилхоліну в серці щурів після видалення гонад на тлі зміненої активності системи оксиду азоту / М. Р. Хара, А. М. Дорохіна // Ліки України плюс. – 2010. – № 4. – С. 41–43.
158. Хара М. Р. Дозозалежні впливи L-аргініну на регуляцію серця автономною нервовою системою / М. Р. Хара, А.М. Дорохіна // Медичні перспективи. – 2011. – Т. XVI, № 1. – С. 21–25.
159. Хара М. Р. Зміна чутливості серця до ендogenous ацетилхоліну в гонадектомованих тварин за застосування прекурсора синтезу оксиду азоту / М. Р. Хара, А. М. Дорохіна // Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм : 2-га науково-практична конференція,

- присвячена 100-річчю з дня народження проф. Е. Н. Бергера, 4-5 листопада 2010 р. : матеріали конференції – Тернопіль : Укрмедкнига, 2010. – С. 151–152.
160. Хара М. Р. Особливості ультраструктури міокарда самців і самок щурів за умов дії кардіонекрозогенної дози адреналіну та протекції серця карбахоліном / М. Р. Хара, К. С. Волков, А. М. Кібук // Вісник морфол. – 2003. - № 1. – С. 10–12.
161. Хара М. Р. Особливості холінергічної регуляції серця інтактних і кастрованих самців та самок щурів / М. Р. Хара // Буков. мед. вісник. – 2004. – Т. 8, № 1. – С. 153–155.
162. Хара М. Р. Роль статевих гормонів та модуляторів системи оксиду азоту у метаболізмі ацетилхоліну в міокарді / М. Р. Хара, А. М. Дорохіна, В. Є. Пелих, К. Є. Юріїв, О. В. Кузів // Наукові дослідження – теорія та експеримент 2010 : шоста міжнародна науково-практична конференція, 17–19 травня 2010 р. : матеріали конференції. – Полтава : ІнтерГрафіка, 2010. – Т. 4. – С. 66–69.
163. Хара М. Р. Роль холінергічної системи в патогенезі адреналінової міокардіодистрофії у тварин різної статі : автореф. дис. докт. мед. наук.: спец. 14.03.04 «Патологічна фізіологія» / М. Р. Хара. – Тернопіль, 2006. – 32 с.
164. Хара М. Р. Стан системи оксиду азоту в щурів на тлі дефіциту статевих гормонів / М. Р. Хара, А. М. Дорохіна // Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм : 2-га науково-практична конференція, 17 червня 2009 р. : матеріали конференції. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2009. – С. 144–145.
165. Хара М. Р. Холінергічні реакції серця щурів різної статі за умов активації холінорецепторів та блокади адренорецепторів / М. Р. Хара // Історія та сучасні досягнення фізіології в Україні : наукова конференція, присвячена 160-ти річчю Нац. мед. унів-ту, 2001 рік : матеріали конференції. – Київ, 2001. – С. 116–117.



166. Чеботникова Т. В. Клинические и метаболические проявления климактерического синдрома (обзор литературы) / Т. В. Чеботникова, Г. А. Мельниченко, Е. Н. Андреева // Проблемы репродукции. – 2004. – № 2. – С. 69–76.
167. Чубриева С. Ю. Жировая ткань как эндокринный регулятор (обзор литературы) / С. Ю. Чубриева, Н. В. Глухов, А. М. Зайчик // Вестник Санкт-Петербургского ун-та. – 2008. – Сер. 11, вып. 1. – С. 32–43.
168. Чуршин А. Д. Клинико-функциональные и метаболические характеристики ишемической болезни сердца у женщин и дифференцированная терапия : автореф. дис. на соискание научн. степени д-ра мед. наук : 14.00.06 "Кардиология" / А. Д. Чуршин. – Пермь, 2009. – 53 с.
169. Шапошник О. Д. Климакс и сердечно-сосудистые заболевания. Учебное пособие для врачей / О. Д. Шапошник. – Челябинск, 2005. – 72 с.
170. Шейлор И. М. Возможности коррекции тестостероном метаболического синдрома и ожирения у мужчин [Электронный ресурс] / И. М. Шейлор, А. В. Зилов // Consilium Medicum. – 2007. – Т. 9, № 9. – Режим доступа к журн. : <http://www.consilium-medicum.com/magazines/cm/medicum/2007>
171. Эффективность заместительной гормональной терапии тестостероном ундеканоатом в комплексном лечении мужчин с соматической патологией / А. Л. Верткин, Л. Ю. Моргунов, А. В. Наумов [и др.] // Фарматека. Проблемы репродуктивного здоровья. – 2008. – № 9 (163). – С. 12–17.
172. Эректильная дисфункция у пациентов с сердечно-сосудистыми факторами риска: современное состояние проблемы и вопросы лечения / С. И. Гамидов, Р. В. Гасанов, Е. М. Сотникова [и др.] // Фарматека. Проблемы репродуктивного здоровья. – 2008. – № 9 (163). – С. 4–9.
173. Юзьків М. Я. Експериментальна гостра ішемія-реперфузія міокарда: роль системи оксиду азота : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : 14.03.04 "Патологічна фізіологія" / М. Я. Юзьків. — К., 2004. — 20с.
174. Юренева Д. Б. Постовариэктомический синдром. Лечение препаратом Климонорм / Д. Б. Юренева // Гинекология. – 2000. – Т. 6, № 1. – С. 42–43.

175. 17 $\beta$ -Estradiol Reduces Cardiomyocyte Apoptosis In Vivo and In Vitro via Activation of Phospho-Inositide-3 Kinase/Akt Signaling / Richard D. Patten, Isaac Pourati, Mark J. Aronovitz [et al.] // *Circulation Research*. – 2004. – V. 95. – P. 692.
176. Alex A. B. Estrogen modulates in vitro atrial bradycardia induced by Indian red scorpion venom via G-protein coupled mechanisms / A. B. Alex, S. Kanoo, S. B. Deshpande // *Eur J Pharmacol*. – 2006. – V. 546, № 1–3. – P. 102–108.
177. Analysis of nitrate, nitrite and [15N] nitrate in biological fluids. / Green L. C., Davic A. W., Golawski I. F. [et al.] // *Anal. Biochem*. – 1982. – V. 126, № 1. – p. 131–138.
178. Armstead W. M. Role of nitric oxide. Cyclic nucleotides, and the activation of ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels in the contribution of adenosine to hypoxia-induced pial artery dilation / W. M. Armstead // *J. Cereb. Blood Flow Metab*. – 1997. – V. 17, № 1. – P. 100–108.
179. A Role for AMP-Activated Protein Kinase in Contraction- and Hypoxia-Regulated Glucose Transport in Skeletal Muscle / James Mu, Joseph T. Brozinick, Jr. Otto Valladares [et al.] // *Molecular Cell*. – 2001. – Vol. 7. – P. 1085–1094.
180. Association of hyperandrogenemic and metabolic phenotype with carotid intima-media thickness in young women with polycystic ovary syndrome / A. Vryonidou, A. Papatheodorou, A. Tavridou [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab*. – 2005. – Vol. 90, № 5. – P. 2740–2746.
181. Autonomic innervation of the human cardiac conduction system: changes from infancy to senility in immunohistochemical and histochemical analysis / L. T. Chow, S. S. Chow, R. H. Anderson [et al.] // *Anat. Rec*. – 2001. – V. 264, № 2. – P. 169–182.
182. Bae S. Gender differences in cardioprotection against ischemia/reperfusion injury in adult rat hearts: focus on Akt and protein kinase C signaling / S. Bae, L. Zhang. // *J. Pharmacol. Exp. Ther*. – 2005. – V. 315, № 3. – P. 1125–1135.
183. Balligand Jean-Luc. Nitric Oxide Synthases and Cardiac Muscle / Jean-Luc Balligand, Paul J. Cannon // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biolog*. – 1997. – V. 17. – P. 1846–1858.

184. Barrett – Connor E. Sex differences in coronary heart disease / E. Barrett–Connor // *Circ.* – 1997. – Vol. 95. – P. 252–264.
185. Berg M. J. Гендерная специфичность лекарств: фармакологические различия между мужчинами и женщинами / M. J. Berg // *Фарматека.* – 2000. - № 5 (41). – С. 14–23.
186. Böger R. H. Asymmetric Dimethylarginine, an Endogenous Inhibitor of Nitric Oxide Synthase, Explains the "L-Arginine Paradox" and Acts as a Novel Cardiovascular Risk Factor / R. H. Böger // *J. Nutr.* – 2004. – Vol. 134, № 10. – P. 2842–2847.
187. Bolego C. Selective agonists of estrogen reseptor isoforms / C. Bolego, E. Vegeto, C. Pinna, A. Maggi [et al.] // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biolog.* – 2006. – V. 26. – P. 2192–2199.
188. Booth E. A. Activation of estrogen receptor alpha protects the *in vivo* rabbit heart from ischemia-reperfusion injury / E. A. Booth, N. R. Obeid, B. R. Lucchesi // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2005. – V. 289, № 5. – P. 2039–2037.
189. Brack K. E. Interaction between direct sympathetic and vagus nerve stimulation on heart rate in the isolated rabbit heart / K. E. Brack, J. H. Coote, G. Ng. André // *Experimental Physiology.* – 2004. – V. 89. – P. 128–139.
190. Brito–Zuritaa O. R. Estrogen effect on heart rate variability in hypertensive postmenopausal women / Olga Rosa Brito–Zuritaa, Carlos Posadas–Romerob, Antonio G. Hermosilloc [et al.] // *Maturitas.* – 2003. – V. 44, Issue 1. – P. 39–48.
191. Casadei B. The emerging role of neuronal nitric oxide synthase in the regulation of myocardial function / B. Casadei // *Exper. Physiol.* – 2006. – V. 91. – P. 943–955.
192. Cherian L. Neuroprotective Effects of L-Arginine Administration after Cortical Impact Injury in Rats: Dose Response and Time Window / L. Cherian, G. Chacko, C. Goodman [et al.] // *J. of Pharm. and Exper. Therap.* – 2003. – Vol. 304, № 2. – P. 617–623.

193. Cholinergic agonists may produce preservation of myocardial ischaemia reperfusion injury / J. Xiong, F. S. Xue, Y. C. Xu [et al.] // *Med. Hypotheses*. – 2009. – V. 73, № 3. – P. 312–314.
194. Chowdhary S. Role of nitric oxide in the regulation of cardiovascular autonomic control / S. Chowdhary, J. N. Townend // *Clinical Science*. – 1997. – V. 97 (1). – P. 5–17.
195. Collins P. Oestrogen as a calcium channel blocker. / P. Collins, C. M. Beale, G. M. Rosano // *Eur. Heart J.* – 1996. – V. 17. – P. 27–31.
196. Contribution of KATP<sup>+</sup> channels to coronary vasomotor tone regulation is enhanced in exercising swine with a recent myocardial infarction / D. Merkus, B. Houweling, M. van Vliet, D. J. Duncker // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2005. – V. 288, № 3. – P. 1306–1313.
197. Crompton M. The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death / M. Crompton // *Biochem. J.* – 1999. – V. 34, № 1. – P. 233–249.
198. Dhanasekaran A. Supplementation of endothelial cells with mitochondria-targeted antioxidants inhibit peroxide-induced mitochondrial iron uptake, oxidative damage, and apoptosis / A. Dhanasekaran, S. Kotamraju, S. V. Kalivendi [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2004. – V. 279, № 36. – P. 37575–37587.
199. Effect of the cholinesterase inhibitor donepezil on cardiac remodeling and autonomic balance in rats with heart failure. / Y. Okazaki, C. Zheng, M. Li, M. Sugimachi // *J. Physiol. Sci.* – 2010. – V. 60, № 1. – P. 67–74.
200. Effect of training on beta1 beta2 beta3 adrenergic and M2 muscarinic receptors in rat heart / J. Barbier, F. Rannou-Bekono, J. Marchais [et al.] // *Med. Sci. Sports Exerc.* – 2004. – V. 36, № 6. – P. 949–954.
201. Endocardial endothelium in the avascular frog heart: role for diffusion of NO in control of cardiac O<sub>2</sub> consumption / A. Adler, H. Huang, Z. Wang [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2004. – V. 287, № 1. – P. 14–21.

202. Estrogen and progestagen modify the hemodynamic response to mental stress in young women / K. Manhem, L. Hansson, I. Milsom [et al.] // *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica*. – 1996. – V. 75, № 1. – P. 57–62.
203. Estrogen and Progestin, Lipoprotein (a), and the Risk of Recurrent Coronary Heart Disease Events After Menopause / G. Michael, V. Shlipak, A. Joel [et al.] // *JAMA*. – 2000. – V. 283. – P. 1845–1852.
204. Estrogen and testosterone have opposing effects on chronic cardiac remodeling and function in mice with myocardial infarction / M. A. Cavasin, S. S. Sankey, A. L. Yu [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2003. – V. 284, № 5. – P. 1560–1569.
205. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes [Electronic source] // Strasburg. – Access mode: <http://conventions.coe.int/Treaty/en/Treaties/Html/123.htm>
206. Fannon S. A. Sex, hormones and cardiovascular system / S. A. Fannon, S. A. Marts // *Trends in Endocr. & Met.* – 2002. – V. 13, № 8. – P. 320–321.
207. Fellet A. L. Autonomic regulation of pacemaker activity: role of heart nitric oxide synthases / A. L. Fellet, A. M. Balaszczyk, C. Arranz [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2006. – V. 291. – P. 1246–1254.
208. Fischer M. Renin angiotensin system and gender differences in the cardiovascular system / M. Fischer, A. Baessler, H. Schunkert // *Cardiovasc. Res.* – 2002. – V. 53, № 3. – P. 672–677.
209. Fuhrman B. Acetylcholine esterase protects LDL against oxidation / B. Fuhrman, A. Partoush, M. Aviram // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2004. – V. 322, № 3. – P. 974–978.
210. Gorman C. V. The No. 1 Killer Of Women / C. V. Gorman, D. Bjerklie // “TIME”. – 2003. – Apr. 28. – P. 45–51.
211. Grossman P. Respiratory sinus arrhythmia, cardiac vagal control, and daily activity / P. Grossman, F. H. Wilhelm, M. Spoerle // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2004. – V. 287, № 2. – P. 728–734.
212. Hamaad A. Heart rate variability estimates of autonomic tone: relationship to mapping pathological and procedural stress responses in coronary disease /

- A. Hamaad, G. Y. Lip, R. J. MacFadyen // *Ann. Med.* – 2004. – V. 36, № 6. – P. 448–461.
213. Heart rate versus heart rate variability in risk prediction after myocardial infarction / S. Z. Abildstrom, B. T. Jensen, E. Agner [et al.] // *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* – 2003. – V. 14, № 2. – P. 168–173.
214. Herring N. Cholinergic Control of Heart Rate by Nitric Oxide is Site Specific / N. Herring, E. J. F. Danson, D. J. Paterson // *News Physiol. Sci.* – 2002. - V. 17, № 5. – P. 202–208.
215. Herris K. Interactions between autonomic nervous system activity and endothelial function: a model for the development of cardiovascular disease / K. Herris, K. Matthews // *Psychosomatic Medicine.* – 2004. – V. 66. – P. 153–164.
216. Hodgin J. B. Interactions between endothelial nitric oxide synthase and sex hormones in vascular protection in mice / J. B. Hodgin, J. W. Knowles, H. S. Kim [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2002. – V. 109. – P. 541–548.
217. Huxley V. H. Sex and the cardiovascular system: the intriguing tale of how women and men regulate cardiovascular function differently / V. H. Huxley // *Advan. Physiol. Edu.* – 2007. – P. 17–22.
218. Impact of age and sex on sudden cardiovascular death following myocardial infarction / S. Z. Abildstrom, C. Rask–Madsen, M. M. Ottesen [et al.] // *Heart.* – 2002. – V. 88, № 6. – P. 573–578.
219. Impact of estrogen replacement on ventricular myocyte contractile function and protein kinase aktivactivation / J. Ren , K. K. Hintz , Z. K. Roughead [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2003. – V. 284, № 5. – P. 1800–1807.
220. Impact of sex on long–term mortality from acute myocardial infarction as unstable angina / W. C. Chang, P. Kaul, C. M. Westerhout [et al.] // *Arch. Inter. Med.* – 2003. – V. 163, № 20. – P. 2476–2484.
221. Improving vascular function and preventing vascular damage / L. J. Ignarro, R. Dietz, T. F. Lüscher [et al.] // 3<sup>rd</sup> International meeting on nitric oxide. – 2005. – P. 1–40.

222. Inflammatory markers and heart rate variability in women with coronary heart disease / I. Janszky, M. Ericson, M. Lekander [et al.] // *J. Intern Med.* – 2004. – V. 256, № 5. – P. 421–428.
223. Kagan V. E. Mitochondrial targeting of electron scavenging antioxidants: Regulation of selective oxidation vs random chain reactions / V. E. Kagan, P. Wipf, D. Stoyanovsky [et al.] // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2009. – V. 30, V. 61, № 14. – 1375–1385.
224. Kaushik P. P. Role of nitric oxide in central sympathetic outflow / P. P. Kaushik, L. Yi-Fan, H. Yoshitaka // *Exper. Biol. Med.* – 2001. – V. 226. – P. 814–824.
225. Kelly R. A. Nitric oxide and cardiac function / R. A. Kelly, J.-L. Balligand, T. W. Smith // *Circulation Research.* – 1996. – V. 79. – P. 363–380.
226. Kim J. K. Estrogen signaling in the cardiovascular system [Electronic source] / J. K. Kim, E. R. Levin // *Nucl. Recept. Signal.* – 2006. – V. 4. –P. 4013–4020. – Access mode:  
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1513067>
227. Kirwan L. D. Acute and chronic effects of hormone replacement therapy on the cardiovascular system in healthy postmenopausal women [Electronic source] / L. D. Kirwan, N. J. MacLusky, H. M. Shapiro [et al.] // *J. Clin. Endocr. & Met.* – 2004. – V. 89, № 4. – P. 1618–1629. – Access mode:  
<http://jcem.endojournals.org/cgi/content/full/89/4/1618>
228. Leinwand L. A. Sex is a potent modifier of the cardiovascular system / L. A. Leinwand // *J. Clin. Invest.* – 2003. – V. 112, № 3. – P. 302–307.
229. Loyer X. 17 $\beta$ -Estradiol Regulates Constitutive Nitric Oxide Synthase Expression Differentially in the Myocardium in Response to Pressure Overload / X. Loyer, T. Damy, Z. Chvojikova [et al.] // *Endocrinology.* – 2007. – Vol. 148, № 10. – P. 4579–4584.
230. Massion P. B. Nitric oxide and cardiac function / P. B. Massion, O. Ferron, C. Dessy [et al.] // *Circ. Res.* – 2003. – V. 93. – P. 388–400.

231. Mendelsohn M. E. Molecular and Cellular Basis of Cardiovascular Gender Differences [Electronic source] / M. E. Mendelsohn, R. H. Karas // *Science*. – 2005. – V. 308, № 5728. – P. 1582 – 1587. – Access mode:  
[http://www.sciencemag.org/cgi/search?src=hw&site\\_area=sci&fulltext=Molecular+and+Cellular+Basis+of+Cardiovascular+Gender+Differences+&search\\_submit.x=9&search\\_submit.y=7](http://www.sciencemag.org/cgi/search?src=hw&site_area=sci&fulltext=Molecular+and+Cellular+Basis+of+Cardiovascular+Gender+Differences+&search_submit.x=9&search_submit.y=7)
232. Mendelsohn M. E. The Protective Effects of Estrogen on the Cardiovascular System / M. E. Mendelsohn, R. H. Karas // *The New England Journal of Medicine*. – 1999. – V. 340. – P. 1801–1811.
233. Mohamed K. M. Estrogen enhancement of baroreflex sensitivity is centrally mediated / Mohamed K. Mohamed, Mahmoud M. El-Mas, Abdel A. Abdel-Rahman // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 1999. – V. 276, Issue 4. – P. R1030–R1037.
234. Moncada S. The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology [Electronic source] / S. Moncada, E. A. Higgs // *British J. Pharm.* – 2006. – V. 147. – P. 193–201. – Access mode:  
<http://www.nature.com/bjp/journal/v147/n1s/full/0706458a.html;jsessionid=CDA4F559C085C87D476C6028E28DA621>
235. Mosca L. Hormone replacement therapy and cardiovascular disease [Electronic source] / L. Mosca, P. Collins, D.M. Herrington [et al.] // *Circ.* – 2001. – V. 104. – P. 499–506. – Access mode:  
<http://circ.ahajournals.org/cgi/content/full/104/4/499?maxtoshow=&HITS=10&hits=10&RESULTFORMAT=&fulltext=Hormone+Replacement+Therapy+and+Cardiovascular+Disease+&searchid=1&FIRSTINDEX=0&resourcetype=HWCIT>
236. Mosca L. The role of hormone replacement therapy in the prevention of postmenopausal heart disease [Electronic source] / L. Mosca // *Arch. Intern. Med.* – 2000. – V. 160, № 15. – P. 2263–2273. – Access mode:  
<http://archinte.ama-assn.org/cgi/content/full/160/15/2263?ijkey=d43ae139bb1e85ba6e18f5fffa035bc88fff2acb#ACK>
237. Muller M. Endogenous sex hormones and cardiovascular disease in men [Electronic source] / M. Muller, T. van der Schouw Yvonne, J.H.H. Thijssen [et



- al.] // *J. Clin. Endocr. & Met.* – 2003. – V. 88, № 11. – P. 5076–5086. – Access mode:  
<http://jcem.endojournals.org/cgi/content/full/88/11/5076?maxtoshow=&HITS=10&hits=10&RESULTFORMAT=&fulltext=Endogenous+Sex+Hormones+and+Cardiovascular+Disease+in+Men+&searchid=1&FIRSTINDEX=0&sortspec=relevance&resourcetype=HWCIT>
238. Nath A. Different cardiovascular effects of progestins according to structure and activity / A. Nath , R. Sitruk–Ware // *Climacteric.* – 2009. – V. 12, Suppl. 1. – P. 96–101.
239. Ohta F. Low-dose L-arginine administration increases microperfusion of hindlimb muscle without affecting blood pressure in rats / F. Ohta, T. Takagi, H. Sato // *PNAS.* – 2007. – Vol. 104, № 4. – P. 1407–1411.
240. Ondicova K. Multilevel interactions between the sympathetic and parasympathetic nervous systems: a minireview / K. Ondicova, B. Mravec // *Endocr. Regul.* – 2010. – V. 44, № 2. – P. 69–75.
241. Oestrogen changed cardiomyocyte contraction and beta–adrenoceptor expression in rat hearts subjected to ischaemia–reperfusion / Q. Wu, Z. Zhao, H. Sun [et al.] // *Exp. Physiol.* – 2008. – V. 93, № 9. – P. 1034–1043.
242. Orshal J.M. Gender, sex hormones and vascular tone [Electronic source] / J.M. Orshal, R.A. Khalil // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2004. – V. 286. – P. 233–253. – Access mode:  
<http://ajpregu.physiology.org/cgi/content/full/286/2/R233>
243. Ouyang P. Hormone Replacement Therapy and Cardiovascular System / Pamela Ouyang, Erin D. Michosl, Richard H. Karas // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2006. – V. 47, № 9. – P. 1741–1753.
244. Relationship between right cervical vagus nerve stimulation and atrial fibrillation inducibility: therapeutic intensities do not increase arrhythmogenesis / Y. Zhang , I. Ilsar, H. N. Sabbah [et al.] // *Heart Rhythm.* – 2009. – V. 6, № 2. – P. 244–50.

245. Roles of adrenergic and cholinergic stimulation in spontaneous atrial fibrillation in dogs / O. F. Sharifov, V. V. Fedorov, G. G. Beloshapko [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2004. – V. 43, № 3. – P. 483–490.
246. Sears C. E. NO-cGMP pathway accentuates the decrease in heart rate caused by cardiac vagal nerve stimulation / C. E. Sears, J. K. Choate, D. J. Paterson // *J. Appl. Physiol.* – 1999. – V. 86. – P. 510–516.
247. Seddon M. Cardiomyocytes as effectors of nitric oxide signaling [Electronic source] / M. Seddon, A. M. Shah, B. Casadei // *Cardiovascular Res.* – 2007. – V. 75, № 2. – P. 315–326. – Access mode:  
<http://cardiovascres.oxfordjournals.org/cgi/content/full/75/2/315>
248. Selective estrogen receptor–alpha and estrogen receptor–beta agonists rapidly decrease pulmonary artery vasoconstriction by a nitric oxide–dependent mechanism / T. Lahm , P. R. Crisostomo , T. A. Markel [et al.] // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2008. – V. 295, № 5. – P. 1486–1493.
249. Sitruk–Ware R. New progestogens: a review of their effects in perimenopausal and postmenopausal women / R. Sitruk–Ware // *Drugs Aging.* – 2004. – V. 21, № 13. – P. 865–883.
250. Skafar D. F. Female sex hormones and cardiovascular disease in women [Electronic source] / D. F. Skafar, R. Xu, J. Morales [et al.] // *J. Clin. Endocr. & Met.* – 1997. – V. 82, № 12. – P. 3913–3918. – Access mode:  
<http://jcem.endojournals.org/cgi/content/full/82/12/3913>
251. Slovinski T. Cell-type specific interaction of endothelin and the nitric oxide system: pattern of prepro-ET-1 expression in kidneys of L-NAME treated prepro-ET-1 promoter-lacZ-transgenic mice [Electronic source] / T. Slovinski, P. Kalk, M. Christian et al. // *The Journal of Physiology.* – 2007. - V. 581. – P. 1173–1181. Access mode:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2170825/?tool=pubmed>
252. Stefanick M. L. Estrogen, progestogens and cardiovascular risk / M. L. Stefanick // *J. Reprod. Med.* – 1999. – V. 44, № 2. – P. 221–226.

253. Stephen Hulley V. Postmenopausal Hormone Treatment [Electronic source] / Hulley V. Stephen, Deborah Grady // JAMA. – 2009. – V. 301. – 2493–2495. – Access mode: <http://jama.ama-assn.org/cgi/reprint/301/23/2493>
254. The vascular and cardioprotective effects of liriodenine in ischemia–reperfusion injury via NO–dependent pathway / W. L. Chang, C. H. Chung, Y. C. Wu, M. J. Su // Nitric Oxide. – 2004. – V. 11, № 4. – P. 307–315.
255. Traditional and nonlinear heart rate variability are each independently associated with mortality after myocardial infarction / P. K. Stein, P. P. Domitrovich, H. V. Huikuri, R. E. Kleiger // J. Cardiovasc. Electrophysiol. – 2005. – V. 16, № 1. – P. 13–20.
256. Tracey K. J. Physiology and immunology of the cholinergic antiinflammatory pathway / Kevin J. Tracey // J. Clin. Invest. – 2007. – V. 117, № 2. – P. 289–296.
257. Type 5 adenylyl cyclase disruption alters not only sympathetic but also parasympathetic and calcium–mediated cardiac regulation / S. Okumura, J. Kawabe, A. Yatani [et al.] // Circ. Res. – 2003. – V. 93, № 4. – P. 364–371.
258. Vanke P. A young woman with cardiac arrest / P. Vanke, T. Nordseth, J. P. Loennechen [et al.] // Tidsskr. Nr. Laegeforen. – 2010. – V. 130, № 1. – P. 47–50.
259. Wallukat G. The beta–adrenergic receptors / G. Wallukat // Herz. – 2002. – V. 27, № 7. – P. 683–690.
260. Wang L. Neuronal nitric oxide synthase gene transfer decreases  $[Ca^{2+}]_i$  in cardiac sympathetic neurons [Electronic source] / L. Wang, M. Henrich, K. J. Buckler [et al.] // J. Mol. Cel. Cardiol. – 2007. – V. 43. – P. 717–725. – Access mode: [http://oxion.dpag.ox.ac.uk/oxion\\_news/paterson\\_publication](http://oxion.dpag.ox.ac.uk/oxion_news/paterson_publication)
261. Weisz D. Gender and the treatment of heart disease in older persons in the United States, France, and England: a comparative, population–based view of a clinical phenomenon / D. Weisz, M. Gusmano, V. G. Rodwin // Gender medicine. – 2004. – V. 1, № 1. – P. 29–40.

262. Wilhelm F. H. Improving estimation of cardiac vagal tone during spontaneous breathing using a paced breathing calibration / F. H. Wilhelm, P. Grossman, M. A. Coyle. // *Biomed. Sci. Instrum.* – 2004. – V. 40. – P. 317–324.
263. Workman A. J. Cardiac adrenergic control and atrial fibrillation / A. J. Workman // *Naunyn. Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* – 2010. – V. 381, № 3. – P. 235–249.
264. Zanzinger J. Role of nitric oxide in the neuronal control of cardiovascular function / J. Zanzinger // *Cardiovascular Research.* – 1999. – V. 43, № 3. – P. 639–649.



**“ЗАТВЕРДЖУЮ”**

Перший проректор  
ДЗ “Луганського державного медичного  
університету”, МОЗ України,  
д. мед. н., професор  
В. В. Сімрок  
2010 рік

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Вплив L-аргініну на регуляцію серця автономною нервовою системою в щурів на тлі дефіциту статевих гормонів, спричиненого гонадектомією.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, кафедра патологічної фізіології. Заочний аспірант – А.М. Дорохіна.
3. **Джерела інформації:**
  1. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Вплив дефіциту статевих гормонів на вегетативну регуляцію серцевого ритму за застосування L-аргініну //Здобутки клін. та експер. мед. – 2009. – Т.8, №3 (29). – С. 109-112.
  2. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Вплив оксиду азоту на автономний контроль серцевого ритму //Здобутки клін. та експер. мед.: матеріали 2-ї науково-практичної конференції “Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм” 5-6 листопада 2009 р. – 2009. - С.147.  
У гонадектомованих щурів різної статі, більшою мірою в самок, застосування L-аргініну призводить до зменшення напруження регуляторних систем, активації холінергічних і зменшення адренергічних впливів з боку автономної нервової системи.
4. **Впроваджено:** На кафедрі патологічної фізіології ДЗ “Луганського державного медичного університету”.
5. **Включено:** В лекційний курс і практичні заняття за темами “Патофізіологія судинної системи”, “Патофізіологія ендокринної системи”.
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи Дорохіної А.М. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання про оксид азоту в автономному контролі серцевої діяльності за умов дефіциту статевих гормонів.
7. **Термін впровадження:** 2010 рік.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Кафедра патологічної фізіології Державної установи “Луганського державного медичного університету”.
9. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

**Відповідальний за впровадження:** доц. В.М. Шанько

Завідувач кафедри патологічної фізіології  
заслуж. діяч науки і техніки України  
д. мед. н., професор

**Н. К. Казімірко**



Проректор з навчальної роботи  
Кримського державного медичного  
університету ім. С.І. Георгієвського  
проф. О.О. Притуло  
"21" грудня 2010 року

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Вплив L-аргініну на регуляцію серця автономною нервовою системою в щурів на тлі дефіциту статевих гормонів, спричиненого гонадектомією.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, кафедра патологічної фізіології. Заочний аспірант – А.М. Дорохіна.
3. **Джерела інформації:**
  1. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Вплив дефіциту статевих гормонів на вегетативну регуляцію серцевого ритму за застосування L-аргініну // Здобутки клін. та експер. мед. – 2009. – Т. 8, № 3 (29). – С. 109-112.
  2. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Вплив оксиду азоту на автономний контроль серцевого ритму // Здобутки клін. та експер. мед.: Матеріали 2-ї науково-практичної конференції "Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм" 5-6 листопада 2009р. – 2009. – С. 147.

У гонадектомованих щурів різної статі, більшою мірою в самок, застосування L-аргініну призводить до зменшення напруження регуляторних систем, активації холінергічних і зменшення адренергічних впливів з боку автономної нервової системи.
4. **Впроваджено:** На кафедрі патологічної фізіології Кримського державного медичного університету ім. С.І. Георгієвського.
5. **Включено:** В лекційний курс і практичні заняття за темами "Патофізіологія серцево-судинної системи", "Патофізіологія ендокринної системи".
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи Дорохіної А.М. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання про значення оксиду азоту в автономному контролі серцевої діяльності за умов дефіциту статевих гормонів.
7. **Термін впровадження:** 2010 рік.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Кафедра патологічної фізіології Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського.
9. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження  
завідувач кафедри патологічної фізіології  
Кримського державного медичного  
університету ім. С.І. Георгієвського  
доктор медичних наук, професор

А.В. Кубишкін



“ЗАТВЕРДЖУЮ”



Проректор з науково-педагогічної роботи  
Донецького національного державного  
медичного університету

проф. В.І. Черній

2010 року

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Вплив дефіциту статевих гормонів на стан системи оксиду азоту за застосування модуляторів його синтезу.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, кафедра патологічної фізіології. Заочний аспірант – А.М. Дорохіна.
3. **Джерела інформації:**
  1. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Вміст нітрит-аніона в крові та міокарді гонадектомованих щурів різної статі за зміненої активності системи оксиду азоту // Медична хімія. – 2010. – Т. 12, № 1 (42). – С. 94-98.
  2. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Стан системи оксиду азоту в щурів на тлі дефіциту статевих гормонів // Здобутки клініч. та експер. мед.: Матеріали 2-ї науково-практичної конференції “Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм” 5-6 листопада 2009р. – 2009. – С. 144-145.

Прекурсор оксиду азоту L-аргінін сприяє зростанню вмісту нітрит-аніону в крові та міокарді гонадектомованих тварин, більше в самок. Блокатор синтезу оксиду азоту L-NAME викликає зменшення вмісту нітрит-аніону, більшою мірою в самців. Різна чутливість тварин до дії модуляторів синтезу оксиду азоту за умов дефіциту статевих гормонів свідчить про різну роль естрогенів та андрогенів у метаболізмі оксиду азоту.
4. **Впроваджено:** На кафедрі патологічної фізіології Донецького національного державного медичного університету.
5. **Включено:** В лекційний курс і практичні заняття за темами “Патофізіологія серцево-судинної системи”, “Патофізіологія ендокринної системи”.
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи Дорохіної А.М. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання про значення оксиду азоту в автономному контролі серцевої діяльності за умов дефіциту статевих гормонів.
7. **Термін впровадження:** 2010 рік.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Кафедра патологічної фізіології Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського.
9. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження  
завідувач кафедри патологічної  
фізіології Донецького національного  
медичного університету  
чл.-кор. АМН України,

доктор медичних наук, професор

В.М. Єльський

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор з науково-педагогічної роботи  
Донецького національного державного  
медичного університету

проф. В.Г. Черній

“ 20 ” грудня 2010 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

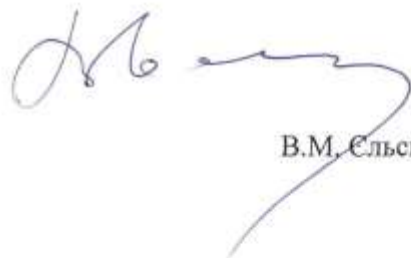
матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Вплив L-аргініну на регуляцію серця автономною нервовою системою в щурів на тлі дефіциту статевих гормонів, спричиненого гонадектомією.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, кафедра патологічної фізіології. Заочний аспірант – А.М. Дорохіна.
3. **Джерела інформації:**
  1. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Вплив дефіциту статевих гормонів на вегетативну регуляцію серцевого ритму за застосування L-аргініну // Здобутки клін. та експер. мед. – 2009. – Т. 8, № 3 (29). – С. 109-112.
  2. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Вплив оксиду азоту на автономний контроль серцевого ритму // Здобутки клін. та експер. мед.: Матеріали 2-ї науково-практичної конференції “Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм” 5-6 листопада 2009р. – 2009. – С. 147.

У гонадектомованих щурів різної статі, більшою мірою в самок, застосування L-аргініну призводить до зменшення напруження регуляторних систем, активації холінергічних і зменшення адренергічних впливів з боку автономної нервової системи
4. **Впроваджено:** На кафедрі патологічної фізіології Донецького національного державного медичного університету.
5. **Включено:** В лекційний курс і практичні заняття за темами “Патофізіологія серцево-судинної системи”, “Патофізіологія ендокринної системи”.
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи Дорохіної А.М. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання про значення оксиду азоту в автономному контролі серцевої діяльності за умов дефіциту статевих гормонів.
7. **Термін впровадження:** 2010 рік.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Кафедра патологічної фізіології Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського.
9. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження  
завідувач кафедри патологічної  
фізіології Донецького національного  
медичного університету  
чл.-кор. АМН України,

доктор медичних наук, професор



В.М. Єльський



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор з науково-педагогічної роботи  
ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія»  
д. мед. н., професор

Бобирьов В. М.  
2010 рік



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Назва пропозиції для впровадження:** Вплив дефіциту статевих гормонів на стан системи оксиду азоту за застосування модуляторів його синтезу.

**2. Заклад, де проведена розробка, адреса, автор:** Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, кафедра патологічної фізіології. Заочний аспірант - А.М. Дорохіна.

**3. Джерела інформації:**

1. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Вміст нітрит-аніона в крові та міокарді гонадектомованих щурів різної статі за зміненої активності системи оксиду азоту // Медична хімія. -2010. - Т. 12, № 1 (42). - С. 94-98.

2. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Стан системи оксиду азоту в щурів на тлі дефіциту статевих гормонів // Здобутки клін. та експер. мед.: Матеріали 2-ї науково-практичної конференції "Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм" 5-6 листопада 2009р. -2009.-С. 144-145.

Прекурсор оксиду азоту L-аргінін сприяє зростанню вмісту нітрит-аніону в крові та міокарді гонадектомованих тварин, більше в самок. Блокатор синтезу оксиду азоту L-NAME викликає зменшення вмісту нітрит-аніону, більшою мірою в самців. Різна чутливість тварин до дії модуляторів синтезу оксиду азоту за умов дефіциту статевих гормонів свідчить про різну роль естрогенів та андрогенів у метаболізмі оксиду азоту.

**4. Де і коли впроваджено:** На кафедрі патофізіології ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія».

**5. Форма впровадження:** В лекційний курс і практичні заняття за темами "Патофізіологія серцево-судинної системи", "Патофізіологія ендокринної системи".

**6. Результати впровадження:** Використання результатів роботи Дорохіної А.М. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання про значення дефіциту статевих гормонів у функціонуванні системи оксиду азоту.

**7. Термін впровадження:** 2009-2010 навчальний рік.

**8. Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження:  
Завідувач кафедри патофізіології  
ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія»  
д. мед. н., професор

Костенко В.О.



Проректор з навчальної роботи  
Кримського державного медичного  
університету ім. С.І. Георгієвського  
проф. О.О. Притуло  
2010 року

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**  
матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Вплив дефіциту статевих гормонів на стан системи оксиду азоту за застосування модуляторів його синтезу.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, кафедра патологічної фізіології. Заочний аспірант – А.М. Дорохіна.
3. **Джерела інформації:**
  1. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Вміст нітрит-аніона в крові та міокарді гонадектомованих щурів різної статі за зміненої активності системи оксиду азоту // Медична хімія. – 2010. – Т. 12, № 1 (42). – С. 94-98.
  2. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Стан системи оксиду азоту в щурів на тлі дефіциту статевих гормонів // Здобутки клініч. та експер. мед.: Матеріали 2-ї науково-практичної конференції “Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм” 5-6 листопада 2009р. – 2009. – С. 144-145.

Прекурсор оксиду азоту L-аргінін сприяє зростанню вмісту нітрит-аніону в крові та міокарді гонадектомованих тварин, більше в самок. Блокатор синтезу оксиду азоту L-NAME викликає зменшення вмісту нітрит-аніону, більшою мірою в самців. Різна чутливість тварин до дії модуляторів синтезу оксиду азоту за умов дефіциту статевих гормонів свідчить про різну роль естрогенів та андрогенів у метаболізмі оксиду азоту.
4. **Впроваджено:** На кафедрі патологічної фізіології Кримського державного медичного університету ім. С.І. Георгієвського.
5. **Включено:** В лекційний курс і практичні заняття за темами “Патофізіологія серцево-судинної системи”, “Патофізіологія ендокринної системи”.
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи Дорохіної А.М. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання про значення дефіциту статевих гормонів у функціонуванні системи оксиду азоту.
7. **Термін впровадження:** 2010 рік.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Кафедра патологічної фізіології Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського.
9. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження  
завідувач кафедри патологічної фізіології  
Кримського державного медичного  
університету ім. С.І. Георгієвського  
доктор медичних наук, професор

 А.В. Кубишкін





**“ЗАТВЕРДЖУЮ”**

Перший проректор

ДЗ “Луганського державного медичного університету”, МОЗ України,

д. мед. н., професор

В. В. Сімрок

2010 рік

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Вплив дефіциту статевих гормонів на стан системи оксиду азоту за застосування модуляторів його синтезу.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, кафедра патологічної фізіології. Заочний аспірант – А.М. Дорохіна.
3. **Джерела інформації:**
  1. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Вміст нітрит-аніона в крові та міокарді гонадектомованих щурів різної статі за зміненої активності системи оксиду азоту //Медична хімія. – 2010. – Т.12, №1 (42) – С. 94-98.
  - 2.Хара М.Р., Дорохіна А.М. Стан системи оксиду азоту в щурів на тлі дефіциту статевих гормонів //Здобутки клін. та експер. мед.: матеріали 2-ї науково-практичної конференції “Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм” 5-6 листопада 2009 р. – 2009. - С.144 – 145.  
 Прекурсор оксиду азоту L-аргінін сприяє зростанню вмісту нітрит – аніону в крові та міокарді гонадектомованих тварин, більше в самок. Блокатор синтезу оксиду L-NAME викликає зменшення вмісту нітрит – аніону, більшою мірою в самців. Різна чутливість тварин до дії модуляторів синтезу оксиду азоту за умов дефіциту статевих гормонів свідчить про різну роль естрогенів та андрогенів у метаболізмі оксиду азоту.
4. **Впроваджено:** На кафедрі патологічної фізіології ДЗ “Луганського державного медичного університету”.
5. **Включено:** В лекційний курс і практичні заняття за темами: “Патофізіологія судинної системи”, “Патофізіологія ендокринної системи”.
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи Дорохіної А.М. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання про значення дефіциту статевих гормонів у функціонуванні системи оксиду азоту.
7. **Термін впровадження:** 2010 рік.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Кафедра патологічної фізіології Державної установи “Луганського державного медичного університету”.
9. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

**Відповідальний за впровадження: доц. В.М. Шанько**

Завідувач кафедри патологічної фізіології  
 заслуж. діяч науки і техніки України  
 д. мед. н., професор

**Н. К. Казімірко**

«Затверджую»

В. о. проректора БДМУ  
з науково-педагогічної роботи  
професор Ахтемійчук Ю. Т.



2010 року

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Вплив L-аргініну на регуляцію серця автономною нервовою системою в щурів на тлі дефіциту статевих гормонів, спричиненого гонадектомією.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, кафедра патологічної фізіології. Заочний аспірант А. М. Дорохіна.
3. **Джерела інформації:**
  1. Хара М. Р., Дорохіна А. М. Вплив дефіциту статевих гормонів на вегетативну регуляцію серцевого ритму за застосування L-аргініну // Здобутки клін. та експер. мед. – 2009. – Т. 8, № 3 (29). – С. 109–112.
  2. Хара М. Р., Дорохіна А. М. Вплив оксиду азоту на автономний контроль серцевого ритму // Здобутки клін. та експер. мед.: Матеріали 2-ї науково-практичної конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» 5–6 листопада 2009 р.– 2009. – С. 147.

У гонадектомованих щурів різної статі, більшою мірою в самок, застосування L-аргініну призводить до зменшення напруження регуляторних систем, активації холінергічних і зменшення адренергічних впливів з боку автономної нервової системи.
4. **Впроваджено:** На кафедрі фармакології Буковинського державного медичного університету.
5. **Включено:** В лекційний курс і практичні заняття за темами "Засоби, що впливають на серцево-судинну систему".
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи Дорохіна А. М. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання про значення оксиду азоту в автономному контролі серцевої діяльності за умов дефіциту статевих гормонів.
7. **Термін впровадження:** 2010 рік.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Кафедра патологічної фізіології Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського.
9. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження:  
Завідувач кафедри фармакології  
Буковинського державного медичного університету  
д. мед. н., професор

І. І. Заморський



«Затверджую»

В. о. проректора БДМУ  
з науково-педагогічної роботи  
професор Ахтемічук Ю. Т.



2010 року

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Вплив L-аргініну на регуляцію серця автономною нервовою системою в щурів на тлі дефіциту статевих гормонів, спричиненого гонадектомією.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, кафедра патологічної фізіології. Заочний аспірант А. М. Дорохіна.
3. **Джерела інформації:**
  1. Хара М. Р., Дорохіна А. М. Вплив дефіциту статевих гормонів на вегетативну регуляцію серцевого ритму за застосування L-аргініну // Здобутки клін. та експер. мед. – 2009. – Т. 8, № 3 (29). – С. 109–112.
  2. Хара М. Р., Дорохіна А. М. Вплив оксиду азоту на автономний контроль серцевого ритму // Здобутки клін. та експер. мед.: Матеріали 2-ї науково-практичної конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» 5–6 листопада 2009 р.– 2009. – С. 147.

У гонадектомованих щурів різної статі, більшою мірою в самок, застосування L-аргініну призводить до зменшення напруження регуляторних систем, активації холінергічних і зменшення адренергічних впливів з боку автономної нервової системи.
4. **Впроваджено:** На кафедрі фармакології Буковинського державного медичного університету.
5. **Включено:** В лекційний курс і практичні заняття за темами "Засоби, що впливають на серцево-судинну систему".
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи Дорохіна А. М. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання про значення оксиду азоту в автономному контролі серцевої діяльності за умов дефіциту статевих гормонів.
7. **Термін впровадження:** 2010 рік.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Кафедра патологічної фізіології Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського.
9. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження:  
Завідувач кафедри фармакології  
Буковинського державного медичного університету  
д. мед. н., професор

І. І. Заморський

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Перший проректор

Тернопільського державного  
медичного університету

імені І.Я. Горбачевського

проф. І.Р. Мисула

“ 02 ” лютого 2010 року



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Вплив L-аргініну на регуляцію серця автономною нервовою системою в щурів на тлі дефіциту статевих гормонів, спричиненого гонадектомією.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, кафедра патологічної фізіології. Заочний аспірант – А.М. Дорохіна.
3. **Джерела інформації:**
  1. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Вплив дефіциту статевих гормонів на вегетативну регуляцію серцевого ритму за застосування L-аргініну // Здобутки клін. та експер. мед. – 2009. – Т. 8, № 3 (29). – С. 109-112.
  2. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Вплив оксиду азоту на автономний контроль серцевого ритму // Здобутки клін. та експер. мед.: Матеріали 2-ї науково-практичної конференції “Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм” 5-6 листопада 2009р. – 2009. – С. 147.

У гонадектомованих щурів різної статі, більшою мірою в самок, застосування L-аргініну призводить до зменшення напруження регуляторних систем, активації холінергічних і зменшення адренергічних впливів з боку автономної нервової системи.
4. **Впроваджено:** На кафедрі патологічної фізіології Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського.
5. **Включено:** В лекційний курс і практичні заняття за темами “Патофізіологія серцево-судинної системи”, “Патофізіологія ендокринної системи”.
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи Дорохіної А.М. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання про значення оксиду азоту в автономному контролі серцевої діяльності за умов дефіциту статевих гормонів.
7. **Термін впровадження:** 2010 рік.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Кафедра патологічної фізіології Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського.
9. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження  
завідувач кафедри патологічної фізіології  
Тернопільського державного медичного  
університету імені І.Я. Горбачевського  
доктор медичних наук, професор

М.Р. Хара

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Перший проректор  
Тернопільського державного  
медичного університету  
імені І.Я. Горбачевського  
проф. І.Р. Мисула  
“ 02 ” 7/2010 2010 року



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Вплив L-аргініну на регуляцію серця автономною нервовою системою в щурів на тлі дефіциту статевих гормонів, спричиненого гонадектомією.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, кафедра патологічної фізіології. Заочний аспірант – А.М. Дорохіна.
3. **Джерела інформації:**
  1. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Вплив дефіциту статевих гормонів на вегетативну регуляцію серцевого ритму за застосування L-аргініну // Здобутки клін. та експер. мед. – 2009. – Т. 8, № 3 (29). – С. 109-112.
  2. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Вплив оксиду азоту на автономний контроль серцевого ритму // Здобутки клін. та експер. мед.: Матеріали 2-ї науково-практичної конференції “Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм” 5-6 листопада 2009р. – 2009. – С. 147.

У гонадектомованих щурів різної статі, більшою мірою в самок, застосування L-аргініну призводить до зменшення напруження регуляторних систем, активації холінергічних і зменшення адренергічних впливів з боку автономної нервової системи.
4. **Впроваджено:** На кафедрі патологічної фізіології Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського.
5. **Включено:** В лекційний курс і практичні заняття за темами “Патофізіологія серцево-судинної системи”, “Патофізіологія ендокринної системи”.
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи Дорохіної А.М. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання про значення оксиду азоту в автономному контролі серцевої діяльності за умов дефіциту статевих гормонів.
7. **Термін впровадження:** 2010 рік.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Кафедра патологічної фізіології Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського.
9. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження  
завідувач кафедри патологічної фізіології  
Тернопільського державного медичного  
університету імені І.Я. Горбачевського  
доктор медичних наук, професор

М.Р. Хара



“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор з навчальної роботи  
Одеського державного  
медичного університету

проф. Ю.І. Бажора

“ 16 ” \_\_\_\_\_ 2010 року



**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**  
матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Вплив дефіциту статевих гормонів на стан системи оксиду азоту за застосування модуляторів його синтезу.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, кафедра патологічної фізіології. Заочний аспірант – А.М. Дорохіна.
3. **Джерела інформації:**
  1. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Вміст нітрит-аніона в крові та міокарді гонадектомованих щурів різної статі за зміненої активності системи оксиду азоту // Медична хімія. – 2010. – Т. 12, № 1 (42). – С. 94-98.
  2. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Стан системи оксиду азоту в щурів на тлі дефіциту статевих гормонів // Здобутки клін. та експер. мед.: Матеріали 2-ї науково-практичної конференції “Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм” 5-6 листопада 2009р. – 2009. – С. 144-145.

Прекурсор оксиду азоту L-аргінін сприяє зростанню вмісту нітрит-аніону в крові та міокарді гонадектомованих тварин, більше в самок. Блокатор синтезу оксиду азоту L-NAME викликає зменшення вмісту нітрит-аніону, більшою мірою в самців. Різна чутливість тварин до дії модуляторів синтезу оксиду азоту за умов дефіциту статевих гормонів свідчить про різну роль естрогенів та андрогенів у метаболізмі оксиду азоту.
4. **Впроваджено:** На кафедрі патологічної фізіології Одеського державного медичного університету.
5. **Включено:** В лекційний курс і практичні заняття за темами “Патофізіологія серцево-судинної системи”, “Патофізіологія ендокринної системи”.
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи Дорохіної А.М. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання про значення дефіциту статевих гормонів у функціонуванні системи оксиду азоту.
7. **Термін впровадження:** 2010 рік.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Кафедра патологічної фізіології Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського.
9. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження  
завідувач кафедри загальної і клінічної  
патологічної фізіології ім. В.В. Підвисоцького  
Одеського державного  
медичного університету  
заслужений діяч науки і техніки України,  
доктор медичних наук, професор

А.І. Гоженко



“ЗАТВЕРДЖУЮ”  
 Проректор з навчальної роботи  
 Одеського державного  
 медичного університету  
 проф. Ю.І. Бажора  
 “16” \_\_\_\_\_ 2010 року



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ  
 матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Вплив L-аргініну на регуляцію серця автономною нервовою системою в щурів на тлі дефіциту статевих гормонів, спричиненого гонадектомією.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, кафедра патологічної фізіології. Заочний аспірант – А.М. Дорохіна.
3. **Джерела інформації:**
  1. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Вплив дефіциту статевих гормонів на вегетативну регуляцію серцевого ритму за застосування L-аргініну // Здобутки клін. та експер. мед. – 2009. – Т. 8, № 3 (29). – С. 109-112.
  2. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Вплив оксиду азоту на автономний контроль серцевого ритму // Здобутки клін. та експер. мед.: Матеріали 2-ї науково-практичної конференції “Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм” 5-6 листопада 2009р. – 2009. – С. 147.

У гонадектомованих щурів різної статі, більшою мірою в самок, застосування L-аргініну призводить до зменшення напруження регуляторних систем, активації холінергічних і зменшення адренергічних впливів з боку автономної нервової системи.
4. **Впроваджено:** На кафедрі патологічної фізіології Одеського державного медичного університету.
5. **Включено:** В лекційний курс і практичні заняття за темами “Патофізіологія серцево-судинної системи”, “Патофізіологія ендокринної системи”.
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи Дорохіної А.М. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання про значення оксиду азоту в автономному контролі серцевої діяльності за умов дефіциту статевих гормонів.
7. **Термін впровадження:** 2010 рік.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Кафедра патологічної фізіології Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського.
9. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження  
 завідувач кафедри загальної і клінічної  
 патологічної фізіології ім. В.В. Підвисоцького  
 Одеського державного  
 медичного університету  
 заслужений діяч науки і техніки України,  
 доктор медичних наук, професор

А.І. Гоженко

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор з навчальної роботи  
Вінницького Національного  
медичного університету  
проф. Ю.Й. Гуміський

“ 6 ” грудня 2010 року



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Вплив дефіциту статевих гормонів на стан системи оксиду азоту за застосування модуляторів його синтезу.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, кафедра патологічної фізіології. Заочний аспірант – А.М. Дорохіна.
3. **Джерела інформації:**
  3. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Вміст нітрит-аніона в крові та міокарді гонадектомованих щурів різної статі за зміненої активності системи оксиду азоту // Медична хімія. – 2010. – Т. 12, № 1 (42). – С. 94-98.
  4. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Стан системи оксиду азоту в щурів на тлі дефіциту статевих гормонів // Здобутки клініч. та експер. мед.: Матеріали 2-ї науково-практичної конференції “Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм” 5-6 листопада 2009р. – 2009. – С. 144-145.  
Прекурсор оксиду азоту L-аргінін сприяє зростанню вмісту нітрит-аніону в крові та міокарді гонадектомованих тварин, більше в самок. Блокатор синтезу оксиду азоту L-NAME викликає зменшення вмісту нітрит-аніону, більшою мірою в самців. Різна чутливість тварин до дії модуляторів синтезу оксиду азоту за умов дефіциту статевих гормонів свідчить про різну роль естрогенів та андрогенів у метаболізмі оксиду азоту.
4. **Впроваджено:** На кафедрі патологічної фізіології Вінницького Національного медичного університету.
5. **Включено:** В лекційний курс і практичні заняття за темами “Патофізіологія серцево-судинної системи”, “Патофізіологія ендокринної системи”.
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи Дорохіної А.М. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання про значення дефіциту статевих гормонів у функціонуванні системи оксиду азоту.
7. **Термін впровадження:** 2010 рік.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Кафедра патологічної фізіології Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського.
11. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.
12. **Обговорено на засіданні кафедри патофізіології** 3 грудня 2010 р.

Відповідальний за впровадження  
завідувач кафедри патологічної  
фізіології Вінницького Національного  
медичного університету імені М. Пирогова  
кандидат медичних наук, доцент

Н.А. Рикало



“ЗАТВЕРДЖУЮ”  
 Проректор з навчальної роботи  
 Вінницького Національного  
 медичного університету  
 проф. Ю.Й. Гуміський  
 “ 6 ” грудня 2010 року



**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**  
 матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Вплив L-аргініну на регуляцію серця автономною нервовою системою в щурів на тлі дефіциту статевих гормонів, спричиненого гонадектомією.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, кафедра патологічної фізіології. Заочний аспірант – А.М. Дорохіна.
3. **Джерела інформації:**
  1. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Вплив дефіциту статевих гормонів на вегетативну регуляцію серцевого ритму за застосування L-аргініну // Здобутки клін. та експер. мед. – 2009. – Т. 8, № 3 (29). – С. 109-112.
  2. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Вплив оксиду азоту на автономний контроль серцевого ритму // Здобутки клін. та експер. мед.: Матеріали 2-ї науково-практичної конференції “Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм” 5-6 листопада 2009р. – 2009. – С. 147.

У гонадектомованих щурів різної статі, більшою мірою в самок, застосування L-аргініну призводить до зменшення напруження регуляторних систем, активації холінергічних і зменшення адренергічних впливів з боку автономної нервової системи.
4. **Впроваджено:** На кафедрі патологічної фізіології Вінницького Національного медичного університету.
5. **Включено:** В лекційний курс і практичні заняття за темами “Патофізіологія серцево-судинної системи”, “Патофізіологія ендокринної системи”.
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи Дорохіної А.М. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання про значення оксиду азоту в автономному контролі серцевої діяльності за умов дефіциту статевих гормонів.
7. **Термін впровадження:** 2010 рік.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Кафедра патологічної фізіології Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського.
9. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.
10. **Обговорено на засіданні кафедри патофізіології** 3 грудня 2010 р.

Відповідальний за впровадження  
 завідувач кафедри патологічної  
 фізіології Вінницького Національного  
 медичного університету імені М. Пирогова  
 кандидат медичних наук, доцент



Н.А. Рикало



«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
Перший проректор з науково-педагогічної роботи  
Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького

*М.Р.Гжегоцький* член. кор. АМНУ проф. М.Р.Гжегоцький

« 6 » *срудня* 2010 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**  
матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Вплив L-аргініну на регуляцію серця автономною нервовою системою в щурів на тлі дефіциту статевих гормонів, спричиненого гонадектомією.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, кафедра патологічної фізіології. Заочний аспірант – А.М. Дорохіна.
3. **Джерела інформації:**
  1. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Вплив дефіциту статевих гормонів на вегетативну регуляцію серцевого ритму за застосування L-аргініну // Здобутки клін. та експер. мед. – 2009. – Т. 8, № 3 (29). – С. 109-112.
  2. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Вплив оксиду азоту на автономний контроль серцевого ритму // Здобутки клін. та експер. мед.: Матеріали 2-ї науково-практичної конференції “Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм” 5-6 листопада 2009р. – 2009. – С. 147.

У гонадектомованих щурів різної статі, більшою мірою в самок, застосування L-аргініну призводить до зменшення напруження регуляторних систем, активації холінергічних і зменшення адренергічних впливів з боку автономної нервової системи.
4. **Впроваджено:** На кафедрі патологічної фізіології Львівського Національного медичного університету ім. Данила Галицького.
5. **Включено:** В лекційний курс і практичні заняття за темами “Патофізіологія серцево-судинної системи”, “Патофізіологія ендокринної системи”.
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи Дорохіної А.М. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання про значення оксиду азоту в автономному контролі серцевої діяльності за умов дефіциту статевих гормонів.
7. **Термін впровадження:** 2010 рік.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Кафедра патологічної фізіології Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського.
9. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження  
завідувач кафедри патологічної фізіології  
Львівського Національного медичного університету ім. Данила Галицького  
доктор медичних наук, професор

M.S. Pereida



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор з науково-педагогічної роботи

Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького



Львів, кор. АМНУ проф. М.Р.Гжегоцький

« 6 » грудня 2010 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**  
матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Вплив дефіциту статевих гормонів на стан системи оксиду азоту за застосування модуляторів його синтезу.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, кафедра патологічної фізіології. Заочний аспірант – А.М. Дорохіна.
3. **Джерела інформації:**
  1. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Вміст нітрит-аніона в крові та міокарді гонадектомованих щурів різної статі за зміненої активності системи оксиду азоту // Медична хімія. – 2010. – Т. 12, № 1 (42). – С. 94-98.
  2. Хара М.Р., Дорохіна А.М. Стан системи оксиду азоту в щурів на тлі дефіциту статевих гормонів // Здобутки клініч. та експер. мед.: Матеріали 2-ї науково-практичної конференції “Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм” 5-6 листопада 2009р. – 2009. – С. 144-145.

Прекурсор оксиду азоту L-аргінін сприяє зростанню вмісту нітрит-аніону в крові та міокарді гонадектомованих тварин, більше в самок. Блокатор синтезу оксиду азоту L-NAME викликає зменшення вмісту нітрит-аніону, більшою мірою в самців. Різна чутливість тварин до дії модуляторів синтезу оксиду азоту за умов дефіциту статевих гормонів свідчить про різну роль естрогенів та андрогенів у метаболізмі оксиду азоту.
4. **Впроваджено:** На кафедрі патологічної фізіології Львівського Національного медичного університету ім. Данила Галицького.
5. **Включено:** В лекційний курс і практичні заняття за темами “Патофізіологія серцево-судинної системи”, “Патофізіологія ендокринної системи”.
6. **Результати впровадження:** Використання результатів роботи Дорохіної А.М. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання про значення дефіциту статевих гормонів у функціонуванні системи оксиду азоту.
7. **Термін впровадження:** 2010 рік.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Кафедра патологічної фізіології Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського.
9. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження  
завідувач кафедри патологічної фізіології  
Львівського Національного медичного  
університету ім. Данила Галицького  
доктор медичних наук, професор

М.С. Перега