

Державний вищий навчальний заклад
„Тернопільський державний медичний університет
імені І.Я. Горбачевського”

На правах рукопису

Лебедева Тетяна Анатоліївна

УДК 616.127-008.9:577.175.522-092.9]-085.224+547.497.1

ВПЛИВ ПОПЕРЕДНИКІВ ТА БЛОКАТОРІВ СИНТЕЗУ ОКСИДУ АЗОТУ НА
МЕТАБОЛІЧНІ ПРОЦЕСИ В УШКОДЖЕНОМУ АДРЕНАЛІНОМ МІОКАРДІ
В ЕКСПЕРИМЕНТІ

14.03.04 – патологічна фізіологія

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

Науковий керівник
Посохова Катерина Андріївна,
доктор медичних наук,
професор

Тернопіль – 2008

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	5
ВСТУП	6
РОЗДІЛ 1. РОЛЬ СИСТЕМИ ОКСИДУ АЗОТУ В ПАТОГЕНЕЗІ ГОСТРОГО ГІПОКСИЧНОГО ПОШКОДЖЕННЯ МІОКАРДА ТА ШЛЯХИ ЙОГО ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	14
1.1. Патогенез адреналінового пошкодження міокарда та роль системи оксиду азоту при цьому порушенні	14
1.2. Роль системи оксиду азоту в регулюванні фізіологічних процесів та при патологічних станах, що супроводжуються гіпоксією	20
1.3. Ефекти модуляторів синтезу оксиду азоту при патологічних процесах, що супроводжуються гіпоксією та ішемією міокарда	31
1.4. Шляхи фармакологічної корекції гіпоксичних та ішемічних пошкоджень міокарда модуляторами синтезу оксиду азоту	39
РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	44
2.1. Відбір тварин для дослідження та експериментальна модель	44
2.2. Методи дослідження інтенсивності процесів ліпопероксидації	46
2.2.1. Метод визначення вмісту гідроперекисів ліпідів.....	46
2.2.2. Метод визначення вмісту ТБК-активних продуктів	47
2.3. Методи визначення активності і вмісту компонентів системи антиоксидантного захисту	48
2.3.1. Визначення активності супероксиддисмутази	48
2.3.2. Визначення активності каталази	48
2.3.3. Визначення вмісту відновленого глутатіону	49
2.4. Методи дослідження окиснювальних процесів у мітохондріях	50
2.4.1. Виділення мітохондрій печінки	50
2.4.2. Визначення активності сукцинатдегідрогенази	50
2.4.3. Визначення активності цитохромоксидази	51
2.5. Визначення вмісту білка у внутрішніх органах	52

2.6. Визначення вмісту нітрит-аніону	52
2.7. Визначення вмісту сечовини у сироватці крові	53
2.8. Визначення активності трансаміназ	54
2.8.1. Визначення активності аспартатамінотрансферази	54
2.8.2. Визначення активності аланінамінотрансферази	54
2.9. Визначення толерантності тварин до фізичного навантаження	55
2.10. Дослідження функціонального стану серця за допомогою ЕКГ	56
2.11. Методи математичного аналізу	56

РОЗДІЛ 3. ВПЛИВ L-АРГІНІНУ, ГЛУТАРГІНУ ТА КИСЛОТИ ГЛУТАМІНОВОЇ НА ПЕРЕБІГ АДРЕНАЛІНОВОГО ПОШКОДЖЕННЯ МІОКАРДА

3.1. Прояви адреналінового пошкодження міокарда	57
3.2. Вплив L-аргініну на перебіг адреналінового пошкодження міокарда.....	61
3.3. Ефективність глутаргіну щодо профілактики порушень систем прооксиданти-антиоксиданти і енергозабезпечення мітохондрій при адреналіновому пошкодженні міокарда	64
3.4. Вплив кислоти глутамінової на стан міокарда при його адреналіновому пошкодженні	69

РОЗДІЛ 4. ВПЛИВ ІНГІБІТОРІВ РІЗНИХ ІЗОФОРМ NO-СИНТАЗ НА ПРОЯВИ АДРЕНАЛІНОВОГО ПОШКОДЖЕННЯ МІОКАРДА.....

4.1. Вплив неселективного блокатора синтезу оксиду азоту N-нітро-L-аргініну на перебіг адреналінового пошкодження міокарда.....	74
4.2. Вплив селективного блокатора синтезу оксиду азоту аміногуанідину на перебіг адреналінового пошкодження міокарда	78

РОЗДІЛ 5. ВПЛИВ ГЛУТАРГІНУ ТА ІНГІБІТОРІВ NO-СИНТАЗ ПРИ ЇХ КОМБІНОВАНОМУ ВВЕДЕННІ НА ПЕРЕБІГ АДРЕНАЛІНОВОГО ПОШКОДЖЕННЯ МІОКАРДА

РОЗДІЛ 6. ПОРІВНЯЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ГЛУТАРГІНУ ТА ТРИМЕТАЗИДИНУ НА ПЕРЕБІГ АДРЕНАЛІНОВОГО ПОШКОДЖЕННЯ МІОКАРДА	90
--	----

РОЗДІЛ 7. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ...	99
ВИСНОВКИ	125
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ.....	127
ДОДАТКИ.....	157

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

- АГ – аміногуанідин
АлАТ – аланінамінотрансфераза
АсАТ – аспартатамінотрансфераза
АПМ – адреналінове пошкодження міокарда
АОС – антиоксидантна система
АТФ – аденозинтрифосфат
ВЖК – вільні жирні кислоти
ГПЛ – гідроперекиси ліпідів
ГТГ – глутаргін
Г-SH – відновлений глутатіон
КАТ – каталаза
КГ – кислота глутамінова
КХА – катехоламіни
ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів
СДГ – сукцинатдегідрогеназа
СОД – супероксиддисмутаза
СЧ – сечовина
ТМЗ – триметазидин
ТБК – тіобарбітурова кислота
ТБП – продукти реакції з тіобарбітуровою кислотою
цГМФ – циклічний гуанозинмонофосфат
ЦХО – цитохромоксидаза
сNOS – конститутивна ізоформа синтази оксиду азоту
іNOS – індукцйбельна ізоформа синтази оксиду азоту
L-A – L-аргінін
L-NAME – N-нітро-L-аргінін
NO – оксид азоту
NO₂⁻ – нітрит-аніон чи NO₃⁻ – нітрат-аніон
NOS – синтаза оксиду азоту

ВСТУП

Проблема профілактики і лікування гострої ішемії чи гіпоксії міокарда є на сьогоднішній день однією з найбільш актуальних проблем медицини. Це обумовлено не тільки збільшенням у всьому світі кількості патологічних станів, які супроводжуються ішемічними змінами, й, відповідно, інвалідизацією і смертністю від них та їх ускладнень, але й зростанням у цьому переліку частки серцево-судинних захворювань і домінування їх у структурі загальної захворюваності, надзвичайною поширеністю ішемії серця, а також і підвищенням рівня емоційних і стресових навантажень, які призводять до викиду КХА і ініціювання процесів ПОЛ, а органом-мішенню для яких є серце [8, 11, 55, 104, 152]. Летальність від серцево-судинних захворювань у минулому столітті зросла в кілька разів, і ця тенденція зберігається по сьогоднішній день [55]. Так, смертність від хвороб серцево-судинної системи в Україні є найвищою серед європейських країн і становить більше 50 % серед причин загальної смертності населення [55, 152]. Зокрема, рівень смертності працездатної частини населення України по цій причині у 7 разів вищий, ніж у Франції, Швеції, Іспанії, Італії [176]. Епідеміологічні та клінічні дослідження свідчать, що патологія серцево-судинної системи залишається найважливішою медико-соціальною проблемою [8, 11, 54, 55]. Складна динаміка гіпоксичного ураження серця, пов'язаного з порушеннями його кровопостачання, залученість до цього процесу широкого спектру функціонально-метаболічних систем, множинність лімітуючих ділянок і механізмів утруднює розуміння його патогенезу, що, в свою чергу, позначається на результатах профілактики та лікування [104, 154]. Саме цим пояснюється неослабний інтерес до детальнішого вивчення причин та механізмів розвитку ішемії та гіпоксії міокарда, а також пошуку раціональних методів та засобів їх лікування і профілактики.

Актуальність дослідження гострої гіпоксії міокарда, спричиненої високим рівнем активності симпато-адреналової системи, ґрунтується на важливій ролі КХА не тільки у регулюванні процесів життєдіяльності, а й у розвитку процесів, що завершуються пошкодженням органів. В умовах, коли дія надзвичайних чинників триває довго, стресорні механізми адаптації можуть перетворюватись на ланки патогенезу [104]. Серцево-судинна система є однією з найчутливіших до стресорного впливу [67]. Стрес, ішемія та поєднання цих факторів відіграють ключову роль у виникненні основних захворювань серця [23, 61, 67, 104]. Відомо, що важливою патогенетичною ланкою ушкодження міокарда при стресах різної природи, фізичному перевантаженні, особливо у спортсменів, гіперфункції наднирників, цукровому діабеті, гіпотермії, голодуванні, лікуванні шоківих станів є активація симпатоадреналової системи та дефіцит кисню, який її супроводжує [104, 156].

Дослідження показують, що гіпоксія міокарда, викликана введенням великих доз адреналіну, призводить до глибоких метаболічних змін, які часто завершуються розвитком дистрофії та некрозів серцевого м'яза [104, 119, 156, 157]. До характерних для цієї патології порушень належать дисбаланс у функціонуванні прооксидантно-антиоксидантної системи, пригнічення тканинного дихання, ушкодження клітинних та субклітинних мембран, ацидоз та накопичення іонів кальцію в кардіоміоцитах, зміни енергетичного забезпечення численних реакцій обміну і, як наслідок, скоротливої функції серця [13, 25, 67, 104, 156]. Разом з тим, питання патогенезу адреналінового пошкодження серця залишається недостатньо вивченим, особливо на різних етапах його розвитку. Зокрема, до кінця не з'ясовано роль системи оксиду азоту у тих порушеннях, що виникають при гіпоксії міокарда, та й у можливостях їх попередження, тоді як зміни активності цієї системи в інших ситуаціях, що супроводжуються розвитком гіпоксії, переконливо доведені багатьма дослідниками [26, 30, 38, 42, 43, 110, 113, 115, 259]. Існуючі дані літератури про результати модулювання синтезу NO в ситуаціях, що супроводжуються розвитком гіпоксії міокарда, носять суперечливий характер [15, 34, 40, 49, 81,

100, 139, 169, 190]. З одного боку, встановлено, що при гострому гіпоксичному пошкодженні міокарда відбувається зниження потужності систем генерації NO, а застосування його прекурсорів у даному випадку не лише сприяє відновленню цього процесу, але й покращанню функціонально-метаболических показників серцевої діяльності, обмеженню розмірів вогнища ураження, пригніченню вільнорадикальних процесів, інтенсифікації енергозабезпечувальних реакцій мітохондрій [23, 49, 62, 66, 103, 183, 194, 199, 209, 216, 218, 220, 237, 246]. З іншого боку, існують дані, згідно з якими біологічний попередник NO L-аргінін здатен обтяжувати ураження міокарда в умовах його ішемічного, гіпоксичного чи ішемічно-реперфузійного пошкодження [187, 221, 232]. Вплив блокаторів синтезу оксиду азоту при серцевій патології також носить неоднозначний характер [188, 210, 224, 238, 258, 261, 270], особливо при гіпоксичних чи ішемічних ураженнях, і потребує подальшого вивчення.

Таким чином, питання патогенезу ураження серця при введенні кардіотоксичної дози адреналіну, зокрема ролі системи оксиду азоту у розвитку даного патологічного процесу, потребує додаткового з'ясування, як і можливості покращання прогнозу цієї патології за допомогою модуляторів синтезу оксиду азоту.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дана робота є фрагментом теми комплексної науково-дослідної роботи кафедри фармакології з клінічною фармакологією та кафедри медицини катастроф і військової медицини Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського “Роль змін активності системи оксиду азоту в патогенезі гіпоксичних станів різної етіології і пошук способів фармакологічної корекції” (№ державної реєстрації 0104U004519), у виконанні якої автором проведені дослідження змін процесів перекисного окиснення ліпідів, активності антиоксидантної системи, енергозабезпечувального окиснення, рівня синтезу оксиду азоту в міокарді та плазмі крові щурів при гострому адреналіновому пошкодженні міокарда та в процесі його експериментальної корекції за допомогою модуляторів синтезу оксиду азоту (L-аргініну, глутаргіну, N-нітро-

L-аргініну, аміногуанідину), що викладено у матеріалах дисертації.

Мета дослідження. З'ясувати роль системи оксиду азоту у патогенезі гострого адреналінового ушкодження міокарда та обґрунтувати доцільність застосування попередників синтезу оксиду азоту для експериментальної корекції порушень, що виникають.

Завдання дослідження. У відповідності до мети було визначено такі основні завдання дослідження:

1. Дослідити зміни активності процесів перекисного окиснення ліпідів, стану антиоксидантної системи, функціональної активності мітохондрій у міокарді щурів, що виникають при його гострому адреналіновому пошкодженні.

2. З'ясувати особливості впливу L-аргініну та аргініновмісного препарату глутаргіну на процеси ліпідного переокиснення, антиоксидантну активність та компоненти системи енергозабезпечення у серцевому м'язі при його гострому адреналіновому пошкодженні.

3. Дати оцінку особливостям дії неселективного (N-нітро-L-аргініну) та селективного (аміногуанідину) інгібіторів NO-синтази на патогенетичні прояви гострого адреналінового пошкодження міокарда.

4. Встановити порівняльну фармакотерапевтичну активність глутаргіну та референтного препарату – триметазидину при гострій гіпоксії міокарда, спричиненій адреналіном.

5. Встановити вплив глутаргіну при його поєднаному застосуванні з блокаторами NO-синтаз N-нітро-L-аргініном та аміногуанідином на перебіг гострого адреналінового пошкодження міокарда в експерименті.

6. З'ясувати механізми протекторної дії L-аргініну і глутаргіну при гострому адреналіновому пошкодженні міокарда в експерименті шляхом порівняння їх активності з кислотою глутаміною та комбінованого використання з інгібіторами NO-синтаз.

Об'єкт дослідження. Гостре адреналінове пошкодження міокарда.

Предмет дослідження. Особливості патогенетичних проявів гострого

адреналінового пошкодження міокарда та в процесі його експериментальної корекції модуляторами синтезу оксиду азоту.

Методи дослідження. Активність вільнорадикального окиснення ліпідів оцінювали за показниками вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів (ТБК-активних продуктів, гідроперекисів ліпідів); стан антиоксидантної системи – за активністю супероксиддисмутази, каталази та вмістом відновленого глутатіону; функціональний стан мітохондрій – за активністю сукцинатдегідрогенази, цитохромоксидази; вміст оксиду азоту – за кількістю його стабільного метаболіту нітрит-аніону (NO_2^-); інтенсивність цитолітичних процесів – за активністю аспартат- і аланінамінотрансферази; метаболізм L-аргініну – за рівнем сечовини; функціональний стан міокарда – за показниками ЕКГ; витривалість тварин до фізичного навантаження – за тривалістю їх плавання. Для статистичної обробки результатів застосовували загальноприйняті методи варіаційного аналізу із використанням статистичної програми Microsoft Excel XP (USA), оцінюючи достовірність на рівні значущості не більше 5 % ($p \leq 0,05$).

Наукова новизна одержаних результатів. Отримано нові дані і поглиблено існуючі уявлення про патогенетичні ланки гострого адреналінового ураження міокарда. Встановлено, що зміни у функціонуванні системи прооксиданти-антиоксиданти та зменшення активності енергозабезпечувальних процесів мітохондрій при АПМ відбуваються на тлі зменшення вмісту у серці тварин стабільного метаболіту оксиду азоту – нітрит-аніону. Вперше досліджено вплив попередників синтезу NO L-аргініну та глутаргіну, неселективного блокатора конститутивної та індукцибельної NOS N-нітро-L-аргініну та селективного інгібітора iNOS аміногуанідину на процеси ПОЛ, активність і вміст компонентів АОС, функціонування мітохондріального електронотранспортного ланцюга у серці на різних етапах його адреналінового ураження. Встановлено, що застосування прекурсора оксиду азоту L-аргініну та, більшою мірою, аргініновмісного препарату глутаргіну при АПМ сприяє відновленню показників системи прооксиданти-антиоксиданти,

функціонального стану мітохондрій у серці, що відбувається на тлі зростання вмісту нітрит-аніону. Вперше встановлено, що блокатори синтезу оксиду азоту (аміногуанідин та, більшою мірою, N-нітро-L-аргінін) сприяють поглибленню адреналінового ураження серця, що поєднується з подальшим гальмуванням процесів синтезу оксиду азоту. Вперше доведено доцільність застосування глутаргіну для попередження адреналінового ураження серця в експерименті. На основі порівняльного вивчення ефективності при АПМ глутаргіну та триметазидину доведено, що глутаргін проявляє більшу активність щодо відновлення толерантності тварин до фізичного навантаження, показників ПОЛ, резервів АОС, тоді як в триметазидину переважає позитивний вплив на функціональний стан мітохондрій у серці експериментальних тварин. Встановлено, що позитивний вплив глутаргіну та L-аргініну на стан серця за умов розвитку його адреналінового пошкодження певною мірою завдячує їх здатності збільшувати утворення оксиду азоту. Це підтверджується односпрямованістю позитивних змін, що виникають під їх впливом, одночасним зростанням вмісту нітрит-аніону в серці та крові експериментальних тварин, меншою активністю глутамінової кислоти при цій патології та суттєвим зменшенням позитивного впливу глутаргіну при його поєднаному застосуванні з речовинами, які пригнічують синтез оксиду азоту.

Практичне значення одержаних результатів. Встановлення особливостей гострого ураження міокарда адреналіном та при застосуванні речовин, що стимулюють або пригнічують синтез оксиду азоту, розширює наші уявлення про патогенез цієї патології, зокрема про роль системи оксиду азоту у розладах, що виникають. Встановлення кардіоцитопротекторної активності попередників синтезу оксиду азоту, зокрема L-аргініну та глутаргіну, при адреналіновому пошкодженні міокарда в експерименті дозволяє здійснювати цілеспрямований пошук ефективних засобів для експериментальної корекції функціонально-метаболічних порушень при даній патології та дозволяє ставити питання про необхідність поглибленого вивчення властивостей аргініновмісних препаратів в клінічних умовах з метою розширення показань до їх застосування.

Основні результати досліджень, які відображають особливості патогенезу АПМ на різних етапах його розвитку, роль системи оксиду азоту в порушеннях, які розвиваються при даному патологічному процесі, та ефективність застосування аргініновмісних сполук щодо його експериментальної корекції, впроваджено у навчальний процес кафедр патологічної фізіології, фармакології з клінічною фармакологією, нормальної фізіології державного вищого навчального закладу „Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського”, кафедр патологічної фізіології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, Буковинського державного медичного університету, Івано-Франківського державного медичного університету, Донецького національного медичного університету ім. М. Горького, Харківського національного медичного університету, вищого державного навчального закладу України „Українська медична стоматологічна академія”, Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького, кафедри загальної і клінічної патофізіології Одеського державного медичного університету при проведенні практичних занять та лекцій на теми: “Засоби, які впливають на функцію серцево-судинної системи”, „Патофізіологія судинного тонуусу. Серцева недостатність від пошкодження міокарда”, „Гіпоксія”.

Особистий внесок здобувача. В процесі одержання наукових результатів, викладених у дисертації, всі етапи роботи автор виконала самостійно: провела літературний пошук, написала огляд літературних джерел, опанувала необхідні методи дослідження і виконала запланований об’єм експериментів на тваринах, провела облік, статистичний аналіз та інтерпретацію отриманих результатів, підготувала та оформила дисертацію до друку. Спільно з науковим керівником сформульовані мета і завдання дослідження, основні положення і висновки. Дослідження проведено у лабораторії доклінічних досліджень лікарських засобів Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського, акредитованої МОЗ України (Атестат акредитації – серія КДЛ № 001486 від

3.10.2003 р.). У наукових працях, опублікованих у співавторстві, а також актах впровадження, основний внесок належить здобувачу.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертаційної роботи були представлені на XLVI, XLVII, XLIX підсумкових науково-практичних конференціях “Здобутки клінічної і експериментальної медицини” (Тернопіль, 2003, 2004, 2006), IV Українській науково-практичній конференції з міжнародною участю з клінічної фармакології “Актуальні питання фармакології” (Вінниця, 2004), 58 науково-практичній конференції студентів і молодих вчених з міжнародною участю ”Актуальні проблеми сучасної медицини” (Київ, 2003), 78 науково-практичній конференції студентів і молодих вчених з міжнародною участю (Чернівці, 2004), X конгресі Світової федерації українських лікарських товариств (Чернівці, 2004), VII, VIII, IX Міжнародних конгресах студентів та молодих учених (Тернопіль, 2003, 2004, 2005), Всеукраїнській 66 підсумковій науково-практичній конференції студентів і молодих вчених “Актуальні проблеми клінічної, експериментальної, профілактичної медицини та стоматології” (Донецьк, 2004), науковій конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (Вінниця, 2004), Ювілейному VIII з’їзді ВУЛТ (Всеукраїнського лікарського товариства) присвяченому 15-річчю організації (1990-2005 рр.) (Івано-Франківськ, 2005), II науково-практичній конференції молодих вчених та спеціалістів “Актуальні проблеми фармакології та токсикології” (Київ, 2005), III Національному з’їзді фармакологів України “Фармакологія 2006 – крок у майбутнє” (Одеса, 2006).

Публікації. Результати досліджень, що викладені у дисертації, знайшли відображення у 23 наукових працях, з них: 6 статей у фахових наукових журналах, рекомендованих ВАК України, 17 – у матеріалах і тезах конференцій, з’їздів, конгресів.

РОЗДІЛ 1

РОЛЬ СИСТЕМИ ОКСИДУ АЗОТУ В ПАТОГЕНЕЗІ ГОСТРОГО ГІПОКСИЧНОГО ПОШКОДЖЕННЯ МІОКАРДА ТА ШЛЯХИ ЙОГО ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Патогенез адреналінового пошкодження міокарда та роль системи оксиду азоту при цьому порушенні

Катехоламіни є важливими нейротрансмітерами центральної та периферичної нервової системи, а також гормонами мозкового шару надниркових залоз, що приймають участь у регуляції процесів життєдіяльності організму взагалі та функції серцево-судинної системи зокрема [44, 104]. Завдяки модуляторному, самообмежуючому компоненту адренергічного ефекту, в фізіологічних концентраціях вони стимулюють функцію та метаболізм міокарда, не викликаючи патологічних зрушень. При короткочасному стресі КХА діють на β -адренорецептори і викликають дилатацію судин серця. Водночас при значному і тривалому підвищенні рівня цих речовин у крові, причому незалежно від того чи вони введені ззовні, чи має місце гіперпродукція їх при збудженні симпато-адреналової системи, модуляторний компонент виявляється недостатньо ефективним, адренергічна реакція з адаптаційно-компенсаторної трансформується в патологічну, внаслідок чого виникають стійкі метаболічні, структурні та функціональні зміни у кардіоміоцитах [13, 104]. Активація симпато-адреналової системи вважається однією з основних патогенетичних ланок у прогресуванні хронічної серцевої недостатності, при якій внаслідок десенситизації або зменшення густини β_1 -адренорецепторів, створюються передумови для нагромадження КХА, формування аритмогенної готовності міокарда і змін метаболізму в бік більшого використання кисню [104]. КХА опосередковують свою токсичну дію

на кардіоміоцити через β -адренорецептори, що призводить до активації аденілатциклази і акумуляції циклічного аденозинмонофосфату. Останній активує протейніназу, яка каталізує фосфорування низки ферментів, значно підсилює обмінні процеси і змінює метаболізм клітин [13, 44, 104].

Відомо, що адреналін навіть у звичайних концентраціях в крові збільшує споживання кисню серцевим м'язом, а у великих концентраціях – значно підвищує поглинання кисню міокардом, сприяє розладам кровопостачання навіть в умовах незмінених судин, що на тлі стимульованих серцевої діяльності і обмінних процесів провокує метаболічний дисбаланс. Так, надлишок КХА може на 100 % підвищувати поглинання кисню міокардом, при цьому коронарний кровотік зростає лише на 37 %, а робота серця – лише на 13 % [104]. Тобто, великі дози адреналіну здійснюють кисень-затратну дію, тому що підсилюють обмін речовин значно більше, ніж збільшують коронарний кровотік. Це призводить до невідповідності між потребами міокарда в кисні і його постачанням коронарним кровотоком та до виникнення відносної гіпоксії міокарда. В умовах дефіциту кисню пригнічується одна з ключових метаболічних ланок життєдіяльності клітин серця – енергетичний обмін, необхідний для реалізації різних енергозалежних функцій: механічної, хімічної, електричної, осмотичної. Опосередкованим доказом цього є те, що саме до мітохондрій кардіоміоцитів спрямований основний потік кисню (близько 80-90 %) з позаклітинного середовища [98]. Ознаки пригнічення енергозалежних процесів з'являються вже при зниженні внутрішньоклітинного вмісту АТФ на 10-15 %, а при зниженні його вмісту на 25-30 % спостерігається їх повне припинення. Пригнічення синтезу енергії, зниження вмісту внутрішньоклітинного АТФ та, відповідно, гальмування енергозалежних процесів є причиною функціонально-метаболічних порушень, характерних для гіпоксії міокарда [25, 98, 157].

Порушення процесів енергозабезпечення клітин як при введенні великих доз КХА або їх синтетичних аналогів, так і за умов моделювання стресу, є однією з головних ланок патогенезу пошкоджень серця [13, 25, 104, 157].

Доведено, що адреналін у великих дозах незворотно роз'єднує процеси окиснення і фосфорування, знижуючи концентрацію АТФ, креатинфосфату і збільшуючи вміст АМФ, АДФ, креатиніну і неорганічного фосфату, що супроводжується зростанням величини потенціалу фосфорування у мітохондріях [25, 104, 157]. Різке збільшення цього коефіцієнту вказує на значну напруженість енергетичних процесів. Оскільки гіпоксія супроводжується зниженням енергетичного потенціалу кардіоміоцитів, а підтримання катіонного градієнта – енергозалежний процес, то відбувається зростання транспорту іонів Ca^{2+} в клітини і вихід його з внутрішньоклітинних депо. Нагромадження Ca^{2+} в міоплазмі веде до накопичення його в мітохондріях, що також гальмує синтез АТФ: перевантаження мітохондрій Ca^{2+} активує фосфоліпазу A_2 , що призводить до накопичення ВЖК і роз'єднання окиснення та фосфорування [104, 146]. АДФ, що нагромаджується в цих умовах, ще більше підвищує здатність мітохондрій акумулювати Ca^{2+} . Таким чином, утворюється замкнене коло: надлишок Ca^{2+} не може бути відкачаний із мітохондрій через нестачу АТФ, який, в свою чергу, утворюється в обмеженій кількості внаслідок роз'єданого адреналіном процесу окиснення і фосфорування.

Важлива роль у механізмах стресорного та ішемічного пошкодження біомембран кардіоміоцитів і ендотеліоцитів належить активації фосфоліпаз, гідролізуючих гліцери- та сфінгофосфоліпіди, а також ліпаз, що гідролізують нейтральні ліпіди [61, 136]. Великі дози адреналіну активують ліпазу і ліполіз як у жирових депо, так і в серці, внаслідок чого в плазмі крові збільшується вміст ВЖК, що сприяє посиленому їх надходженню в м'язові клітини серця [2, 61, 104, 159]. В нормі вони використовуються для утворення ацетилкоензиму А, який в циклі трикарбонових кислот Кребса слугує джерелом для утворення основної кількості АТФ з АМФ (т.зв. окисне фосфорування) [44]. Другим важливим джерелом енергії для міокарда є анаеробний гліколіз, в результаті якого глюкоза – екзогенна чи утворена при розпаді глікогену – перетворюється в піруват, далі за участю піруватдегідрогеназного комплексу в ацетилкоензим

А, що є субстратом для утворення АТФ в циклі Кребса [2, 4]. При цьому утворюється невелика кількість АТФ (менше 10 %) [2]. Хоча метаболізм ВЖК є основним джерелом утворення АТФ в міокарді, по своїй економності окиснення ВЖК поступається окисненню глюкози, оскільки на синтез еквівалентної кількості АТФ в першому випадку витрачається більше кисню [2]. В аеробних умовах більша кількість енергії утворюється в процесі окиснення саме ВЖК. Але в умовах наростаючого дефіциту кисню, що виникає при посиленій адренергічній стимуляції, гліколіз і глікогеноліз є більш енергетично вигідними шляхами синтезу АТФ. Тим не менше утилізація обмеженої кількості кисню при патологічних станах, які супроводжуються гіпоксією чи ішемією міокарда, забезпечується головним чином за рахунок окиснення ВЖК [2]. Цей процес, як було показано вище, потребує більшої кількості енергії, що також може бути одним із чинників пошкодження при гіпоксії. До того ж при цьому в міокарді накопичуються проміжні продукти β -окиснення ВЖК, які сприяють деградації клітинних і субклітинних мембран, перевантаженню клітин іонами Ca^{2+} . Наслідком цих процесів є поглиблення гіпоксії та виникнення аритмій, котрі в значній мірі мають метаболічне походження [80].

Подальше прогресуюче зниження АТФ і креатинфосфату та підвищення концентрації АДФ і АМФ стають сигналами для переорієнтування шляхів синтезу енергії з окиснення ВЖК на окиснення глюкози в пентозофосфатному циклі [104]. Таку активацію гліколізу слід розглядати як важливий компенсаторний механізм при гіпоксії. Проте, вичерпання запасу глікогену і нагромадження пірвіноградної і молочної кислот у клітині спричиняє розвиток метаболічного ацидозу, який стає одним із факторів пошкоджуючої дії адреналіну та поглиблює гіпоксію [104].

Не менше значення при гіпоксії мають порушення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу. Багаторазове збільшення у клітинах серця концентрації ВЖК веде до утворення вільних радикалів і перекису водню в мітохондріях. Це відбувається через взаємодію ВЖК з компонентами

дихального ланцюга мітохондрій. ВЖК селективно інгібують I-й і III-й його комплекси, порушуючи процес переносу електронів і 4-електронне відновлення кисню, що й спричиняє утворення активних форм кисню і пов'язану з цим активацію вільнорадикальних реакцій [119, 159]. Ще один механізм утворення кисневих радикалів пов'язаний з метаболічним перетворенням адреналіну. У цьому випадку в результаті окиснення надлишку адреналіну в адренохром утворюється семіхінон адреналіну, який може переносити електрон на кисень і, таким чином, генерувати супероксидрадикал – важливий індуктор ПОЛ [12, 13, 67, 104, 119]. На даний час зібрані експериментальні та клінічні дані, що вказують на суттєву роль у патогенезі гіпоксичного ушкодження міокарда активації процесів ПОЛ у мембранах кардіоміоцитів і ендотеліоцитів, що обумовлює пошкодження їх структури, порушення функції мембранозв'язуючих ферментів, підвищення проникності мембран з наступною дезорганізацією роботи клітин та порушення функцій серця [62, 67, 118, 146, 157, 159]. Причому, ступінь активації ПОЛ вважається об'єктивним критерієм сили стресорного впливу [67, 119].

Відомо, що інтенсивність ПОЛ залежить від співвідношення прооксидантів та ендогенних антиоксидантів, тобто стану антиоксидантно-прооксидантної рівноваги в організмі [4, 13, 64, 146]. Складовою частиною антиоксидантної системи є ферменти, які відповідають за інактивацію інтермедіатів кисню і вільних радикалів, а також ферменти, які беруть участь у розпаді гідроперекисів. Серед представників цієї лімітуючої системи найважливішими визнані ферменти СОД та КАТ (так звана перша лінія захисту) [4, 64, 104, 118, 146]. Із недостатністю чи значною депресією цієї ланки, наприклад під впливом сильних і тривалих пошкоджень, пов'язують негативні наслідки ліпопероксидації.

Останніми роками з'явилися літературні дані про участь системи L-аргінін – NO у функціонуванні серця за умов розвитку гіпоксії чи ішемії міокарда [34, 49, 66, 139, 150, 158, 161, 183, 194, 216, 220, 231, 268]. Аналіз їх свідчить про неоднозначність поглядів на роль NO в патогенезі гострої гіпоксії міокарда. З

одного боку, встановлено, що при гострому гіпоксичному пошкодженні міокарда відбувається зниження потужності систем генерації NO [34, 59, 66]. Ряд експериментальних досліджень дозволили встановити, що у некротичній та прилеглий до неї ділянках міокарда лівого шлуночка відбувається зниження активності NO-синтази відповідно на 25 і 16 % та кількості продуктів NO (за вмістом NO_2^-) в декілька разів у порівнянні з неішемізованими ділянками того ж лівого шлуночка [34, 59, 66, 161, 231]. І, навпаки, доведено, що пригнічення активності ендотеліальної NOS є одним із провідних механізмів розвитку ішемічної хвороби серця [20, 34, 71, 111, 168]. Встановлено також, що активність іншого ферменту системи NO аргінази та її продукту (сечовини) різко підвищується при гіпоксії серця [41, 59, 136, 161, 231], що також може обмежувати продукцію NO внаслідок зменшення пулів ендogenous аргініну. Відомо, що рівновага між NO-синтазним та аргіназним шляхом стабільно порушується тільки при певних патологічних станах. Співвідношення цих шляхів метаболічних перетворень L-аргініну значною мірою залежить від гіпоксії та здатності системи до біосинтезу NO [17, 116]. Як було доведено раніше за умов експериментальної ішемії-реперфузії [59, 66, 161], при інфаркті міокарда у собак [231], у спонтанно гіпертензивних щурів (SHR) [10, 61, 122, 267], ішемічній хворобі серця [136, 161], атеросклерозі [15], старінні [71] активується неокисний аргіназний шлях та пригнічується окисний NO-синтазний шлях і, як наслідок, інгібування окисного шляху метаболізму L-аргініну, спостерігається зниження рівнів циркулюючих стабільних метаболітів NO та активності NO-синтази. Хоча зустрічаються й інші дані літератури, в яких показано, що гіпоксія міокарда супроводжується зростанням потужності систем генерації оксиду азоту [81, 171]. Встановлено також, що зменшення активності системи NO при ішемії міокарда відбувається, ймовірно, внаслідок інгібування конститутивних форм NOS, тоді як iNOS навіть дещо активується при ішемії, а експресія білка iNOS збільшується [53, 70, 256]. Таке підвищення експресії протеїну iNOS у міокарді може свідчити про важливість NO-залежних компенсаторних реакцій на гіпоксію. Іншими

експериментальними дослідженнями доведено, що гостра гіпоксія викликає в серці збільшення активності всіх 3-х ізоформ NO-синтази [58, 150, 171].

Слід врахувати, що регуляція продукції NO клітинами у відповідь на гіпоксію може здійснюватися на рівнях транскрипції, експресії ферменту, модуляції його активності, наявності субстрату, а також через механізми системного рівня та організму в цілому, що може стати джерелом суперечливих результатів [70, 117, 177]. Труднощі у дослідженні системи NO та її впливу на розвиток гіпоксичних пошкоджень міокарда можуть виникати і за рахунок швидкого розпаду молекули NO у кров'яному руслі [15, 101, 134]. Слід також зауважити, що більшість досліджень у цьому напрямку виконано в дослідах на ізольованому перфузованому серці тварин, що певною мірою обмежує цінність отриманих даних [53, 65, 181, 191, 195, 203, 237, 249]. Дослідження, що стосуються ролі системи L-аргінін-NO в патогенезі серцево-судинних захворювань, концентруються в основному на вивченні особливостей її впливу на тонус судин та регуляції кровообігу в цілому, не торкаючись при цьому такого важливого питання як вплив системи NO на метаболічні процеси в серці у процесі розвитку гіпоксії [8, 40, 109, 149, 155, 158, 189].

1.2. Роль системи оксиду азоту в регулюванні фізіологічних процесів та при патологічних станах, що супроводжуються гіпоксією

Спочатку, у 1980 році, в ендотелії судин був відкритий R.F. Furchgott і J.V. Zawadzki спеціальний фактор розслаблення, котрий визначає рівень тонічної напруги гладеньких м'язів судин [153, 158, 169]. Це – ендотеліальний фактор розслаблення (ЕФР), який надалі, у 1987 році, групою англійських вчених на чолі з доктором С. Монкадою був ідентифікований як NO [150, 153, 158, 161, 169]. Терміном “оксид азоту” (NO) позначається відновлена форма монооксиду азоту з періодом піврозпаду від 1 до 30 с [101, 121]. NO – це гідрофобний, легко розчинний у жирах газ, що володіє властивостями вільного радикалу завдяки неспареному електрону на зовнішній орбіталі [19, 110, 152,

153]. В організмі людини і тварини NO безперервно синтезується з амінокислоти L-аргініну в багатьох, якщо не в усіх клітинах: макрофагах, нейтрофілах, ендотеліальних і м'язових клітинах, фібробластах, нейронах, гепатоцитах, у клітинах різного епітелію і ін. [102, 110]. Цей процес є комплексною двостадійною окиснювальною реакцією, яка каталізується ферментом NO-синтазою (NOS), що приєднує молекулярний кисень до кінцевого атома азоту в гуанідиновій групі L-аргініну [101, 152]. При цьому одночасно утворюється неактивний цитрулін, частина якого, надійшовши у печінку, перетворюється у сечовину, а друга частина, потрапивши у нирки, знову трансформується в L-аргінін, поповнюючи внутрішньоклітинні запаси цієї амінокислоти [19, 38]. Кінцевими продуктами метаболізму NO є нітрати та нітрیتی [19, 38, 135]. Ці сполуки є опосередкованими маркерами концентрації NO в організмі [101]. Синтезований в клітинах NO дуже швидко зв'язується зі своїми клітинними мішенями. Розрізняють три основні групи молекулярних мішеней NO [102, 110]:

1. Залізовмісні ферменти і білки: гуанілатциклаза, нітрооксидсинтаза (NOS), гемоглобін, мітохондріальні ферменти, ферменти циклу Кребса, синтезу білка і ДНК. Зв'язування NO із залізовмісною ділянкою фермента приводить до зміни його активності. Цитотоксична дія макрофагів, розслаблення м'язів судин і шлунково-кишкового тракту, перенос кисню, утворення АТФ і формування довготривалої пам'яті залежить від взаємодії NO з цими мішенями.

2. Білки, що містять SH-групи. Активність багатьох ферментів залежить від утворення дисульфідних зв'язків. NO є одним із найпотужніших каталізаторів формування дисульфідних містків. Завдяки взаємодії з SH-групами NO може регулювати такий важливий для клітини процес, як біосинтез білка.

3. Кисневі радикали. В результаті зв'язування NO з активним радикалом кисню, супероксидним аніон-радикалом утворюється токсичний пероксинітрит.

Ідентифіковано три ізоформи NOS, які названі відповідно до типу клітин, де вони вперше були знайдені: nNOS (нейрональна), mNOS (макрофагальна), eNOS (ендотеліальна) [7, 19, 41, 172]. Хоча всі ізоформи NOS каталізують утворення NO, кожна з них має свої особливості як в механізмах дії і локалізації, так і в біологічних значеннях для організму. Ендотеліальна і нейрональна NO-синтази є конститутивними (cNOS), постійно знаходяться в клітині (тобто є інгредієнтними) [41, 102, 153], залежать від концентрації Ca^{2+} і кальмодуліну [101, 153, 172], mNOS не експресована постійно і буває лише індукційна [15, 101, 153, 172]. Що стосується локалізації, то nNOS у великій кількості присутня у нейронах, ендотеліальних клітинах, тромбоцитах, міокарді, ендокарді, скелетних м'язах; eNOS утворюється ендотеліальними клітинами великих та дрібних судин, у тромбоцитах, міокарді, ендокарді, мезангіальних клітинах [19, 110]. Хоча eNOS є мембранозв'язаною, а nNOS – цитозольною, механізм їх дії однаковий і полягає в тому, що Ca^{2+} під впливом певних стимулів (гістамін, ацетилхолін) входить у клітину, де зв'язується в комплекс з кальмодуліном. Комплекс Ca-кальмодулін виступає як кофактор і активує NOS [152]. Кальційкальмодулінзалежна NOS сприяє виділенню невеликої (пікомолярної) кількості NO на короткий період часу у відповідь на рецепторну і фізичну стимуляцію [152].

Біологічна молекула NO є першим представником нової генерації універсальних регуляторів фізіологічних функцій організму [102, 135, 153], про що свідчить ряд особливостей NO і систем його синтезу.

1. NO-синтаза – один із високорегульованих ферментів та єдиний із відомих ферментів, котрий має найбільше кофакторів (по даних ряду дослідників від 5 до 7): НАДФ, ФАД, ФМН, тетрагідробіоптерин, тіолатзв'язаний гем, кальмодулін і кальцій [15, 101, 152, 158]. Останній необхідний тільки для конститутивних ізоформ ферменту. При наявності в оточуючому середовищі всіх кофакторів і аргініну NO-синтаза димеризується і стає активною. Система генерації NO є найбільш чутливою системою змін і показником того, що відбувається в організмі.

2. Молекула NO – одна з небагатьох молекул, котра може існувати в трьох формах (NO^\cdot , NO^- , NO^+), кожна з яких має відповідні клітинні мішені [7, 152, 153, 161]. Деякі автори стверджують, що цитотоксична чи цитопротекторна роль NO залежить саме від його окисно-відновного стану: інертний газ NO, нітроксильний радикал NO^\cdot чи іон нітрозоніуму – NO^+ [161], а також від вибору молекулярної мішені та особливостей взаємодії з нею [102].

3. Молекула NO є надзвичайно високореактивна, нестабільна і короткоживуча, проте вона може накопичуватися в клітинних депо і вивільнятися у відповідь на різні стимули. Стабілізація молекули NO відбувається за рахунок включення її в динітрозильні комплекси заліза з тіоловими лігандами або в S-нітрозотіюли (RS-NO) [31, 32, 46, 110]. Утворені в процесі такої реакції NO-вмісні комплекси є фізіологічно активним тканинним депо NO [32, 46, 110], які локалізуються головним чином у ендотелії [46]. Нагромадження NO в стінках кровоносних судин починається при будь-якому підвищенні його концентрації в плазмі крові, чого не спостерігається в нормальних умовах [31, 46, 110]. Депонування NO є адаптивною реакцією, яка забезпечує захист організму від пошкоджуючої (цитотоксичної та надмірної вазодилатуючої) дії високих концентрацій NO в умовах його гіперпродукції, викликаній, наприклад, адаптацією до стресу або введенням донора NO [31, 32, 46, 47, 73]. Механізм захисної дії депо NO, за даними літератури, пов'язаний або з пригніченням активності NO-синтази за принципом негативного зворотного зв'язку або з утилізацією надлишку активного оксиду азоту. Ймовірно, такий захисний механізм може запобігати гіперпродукції NO та пов'язаними з нею порушеннями [46]. Це можна пояснити дозозалежністю ефектів дії NO: гіперпродукція цієї молекули сприяє розвитку клітинних ушкоджень і активації ПОЛ (при значній активації iNOS), а зростання активності sNOS викликає незначне збільшення рівня NO, що, навпаки, сприяє зниженню вмісту активних форм кисню і обумовлює здатність мітохондрій до економнішого його використання [152]. З іншого боку, депо NO може слугувати резервом NO, який буде використаний організмом у разі необхідності [73, 116]. Вивільнення NO з

депо може мати позитивний вплив при захворюваннях і патологічних станах, пов'язаних з недостатньою продукцією ендогенного NO [31, 32, 46, 73]. Доведено, що вивільнений з депо NO має довготривалу кардіопротекторну дію, справляє пряму захисну дію на організм в цілому, забезпечує синтез ряду протекторних факторів (наприклад, білків теплового шоку, простагландинів та ін.) [7, 31, 47, 49].

4. NO є унікальним вторинним месенджером в багатьох клітинах організму та задовольняє більшість вимог, які ставляться до класичних нейромедіаторів (синтезується ферментативно, вивільняється з нервових закінчень під впливом потенціалу дії, ефекти NO блокуються гальмуванням ферментів його біосинтезу, діє в досить низьких концентраціях, після припинення дії зовнішнього сигналу швидко перетворюється в інші сполуки, окислюючись до стабільних неорганічних оксидів азоту: нітриту і нітрату [19, 134]. У той же час NO відрізняється від відомих медіаторів: дія NO не зумовлена наявністю специфічних рецепторів у мембрані, він не резервується в синаптичних пухирцях, його перехід в сусідні клітини проходить шляхом простої дифузії [19, 101].

NO, що утворюється під впливом eNOS, діє як переносник в ряді фізіологічних відповідей, виконуючи регуляторну роль [101]. Нині доведено, що конститутивний синтез NO є одним із ключових факторів регуляції скоротливості поперечно-позмугованих м'язів [121, 137], судинного тонуусу [18, 102, 103, 109, 110, 121, 158, 161, 172], процесів переносу кисню еритроцитами [72, 205], моторики шлунково-кишкового тракту [9, 43, 102, 152, 153], ерекції та виділення гістаміну тучними клітинами [41, 152, 153, 158], нейротрансмісії [41, 102, 158] (NO бере участь у регуляції цілої низки біологічних функцій у центральній і периферичній нервовій системі, включаючи процеси навчання та пам'яті), функціонування тромбоцитів (гальмує їх агрегацію і адгезію на стінках судин) [41, 71, 150, 158, 202], адаптації організму [51, 73, 103, 117, 247] і ряду ін. фізіологічних функцій [15, 41, 102, 110, 121, 158]. NO бере участь у нирковій фільтрації [38, 110], репаративних процесах в кістках [7],

слизоутворенні в кишковому епітелії [121], а також у таких фундаментальних клітинних функціях, як синтез РНК, мітохондріальне дихання, регуляція іонного гомеостазу, гліколіз тощо [7, 35, 61, 148, 185, 187, 196]. Ці ефекти NO здійснює шляхом стимуляції розчинної гуанілатциклази і підвищення внутрішньоклітинного рівня цГМФ [102, 110, 112, 144, 152, 153, 253]. Фермент гуанілатциклаза містить простетичну групу – гем, що відповідає за його активацію при дії NO [63, 168, 253]. Після зв'язування NO з іонами Fe^{2+} в порфіриновому кільці гема цей іон дещо зміщується відносно площини кільця, що призводить до конформаційних змін і активації гуанілатциклази [168]. В результаті підвищується концентрація внутрішньоклітинного цГМФ, який впливає на продукцію інозитол-1,4,5-трифосфату, активність фосфодіестерази, кальцієвих АТФаз та іонні канали, а також сприяє виходу внутрішньоклітинного кальцію через клітинні мембрани назовні і поступленню його в саркоплазматичний ретикулум [153, 161, 168]. Виявлено також цГМФ-незалежний механізм розслаблення гладких м'язів, зумовлений прямим впливом NO на скорочувальні білки гладком'язевих клітин і зниженням спорідненості їхнього скорочувального апарату до іонів Ca^{2+} [152, 161, 168]. Є також дані про те, що NO може знижувати вхід Ca^{2+} у гладеньком'язові клітини через L-тип кальцієвих каналів [152, 153, 161]. Будучи ліпофільною молекулою, NO легко дифундує через клітинні мембрани і проникає в сусідні клітини, наприклад, із ендотеліальних в міоцити судин, де, знижуючи рівень вільного Ca^{2+} , викликає їх дилатацію. Завдяки вазодилаторним властивостям NO сNO-синтаза в регуляції артеріального тиску виступає як антагоніст адренергічної нервової системи [19, 34, 41]. Вроджена або набута недостатність сNOS призводить до артеріальної гіпертонії, а її гіперфункція – до гіпотонії [19]. Судини малого діаметра синтезують NO в більшій кількості, ніж великі, за рахунок чого забезпечується регуляція периферичного опору, артеріального тиску і розподілу кровотоку в судинній сітці [110, 158, 266]. NO на додаток до вазодилаторної функції виконує роль фізіологічного регулятора транспорту кисню [72]. За низьких

значень парціального тиску O_2 , коли створюються критичні ситуації в системі постачання кисню, наявність NO у складі комплексу з оксигемоглобіном полегшує віддачу O_2 дихаючим тканинам [72]. Проте, надмірне утворення NO може негативно вплинути на газотранспорту функцію крові. За умов надлишкового утворення NO нітрозилує β -ланцюги гемоглобіну по амінокислотних залишках цистеїну і тирозину, що супроводжується значним зростанням спорідненості гемоглобіну до O_2 і одночасним накопиченням метгемоглобіну [28, 72]. Це обмежує постачання кисню до тканин і сприяє загибелі клітин. NO утворюється не тільки коронарним ендотелієм, а і Ca^{2+} -залежними ферментами в ендокардіальних ендотеліоцитах так само добре, як і в самих кардіоміоцитах [158, 230]. Ендотеліальний NO забезпечує контрактильну функцію міокарда, збільшує релаксацію шлуночків і діастолічну дилатацію [15, 71, 101], а утворений кардіоміоцитами NO контролює відповіді міокарда на адренергічні і холінергічні стимули та викликає негативний інотропний і хронотропний ефекти [8, 15, 34, 65, 158, 217]. Ці ефекти NO можуть бути результатом пригнічення пресинаптичного вивільнення норадреналіну або стимуляції утворення цГМФ, який пригнічує кардіальний L-тип Ca^{2+} -струму за допомогою активації цГМФ-залежної протеїнкінази [34, 230]. Серце синтезує NO в значних кількостях, але поряд з цим NO руйнується в міокарді у 100 разів швидше, ніж в ізольованих кровоносних судинах. Це можна розглядати як своєрідний захисний механізм, спрямований на зниження негативного інотропного впливу NO [158].

NO викликає розслаблення гладких м'язів не тільки в судинній стінці, а й у стінці шлунково-кишкового тракту [9]. Наприклад, вроджений стеноз пілоричного каналу обумовлений відсутністю конститутивної ізоформи NOS [19]. Давно відомо, що ендотеліальні клітини впливають на процеси коагуляції і тромбозу, та тільки недавно з'ясувалося, що цей процес залежить від NO. Встановлено, що ендотеліальні клітини шляхом секреції NO підвищують внутрішньоклітинний рівень цГМФ в тромбоцитах, що сприяє інгібуванню їх агрегації і адгезії до ендотеліального шару [38, 41, 101, 158]. NO, який

продукується під впливом nNOS і eNOS, при деяких видах патології, поряд з регуляторною, виявляє і протективну дію [101].

Конститутивна NOS відрізняється від макрофагальної NOS, яку ще називають індукцибельною. Кальційкальмодуліннезалежна іNOS не є ферментом, постійно присутнім у клітинах, а експресується під впливом прозапальних цитокінів, оксидантів, ендотоксинів, бактеріальних ліпополісахаридів, фактору некрозу пухлин, ультрафіолетового випромінювання [18, 110, 152, 153, 158, 204]. Активація іNOS супроводжується підвищенням генної транскрипції [101, 137]. INOS після індукції синтезується в гепатоцитах, фібробластах, гладеньких м'язах судин, серця, матки, клітинах кишкового епітелію і нейроглії, клітинах моноцитарно-макрофагальної системи [18, 19, 37, 101, 102, 110]. Цей процес потребує певного часу (4-12 год) [15, 45, 152, 153]. Головна відмінність цього підтипу ферменту в тому, що кальмодулін є субодиницею його молекули і тому активність іNOS не залежить від змін концентрації внутрішньоклітинного Ca^{2+} [101, 152, 153]. INOS, працюючи в безперервному режимі, викликає утворення достатньо великих (наномоль) концентрацій NO [18, 101]. Індукцибельний синтез NO забезпечує мікробіцидний (виконує функцію неспецифічного захисту проти вірусів та бактерій), протизапальний і протипухлинний потенціал організму, приймає участь в модуляції різних імунозапальних реакцій [15, 18, 37, 41, 102, 153, 158, 187]. Ці ефекти пов'язані із здатністю NO у великих кількостях інгібувати три життєво важливі групи ферментів: циклу Кребса, синтезу АТФ і синтезу ДНК в клітинах-мішенях [19, 102, 110, 134, 204]. В цих умовах енергопродукція та поділ клітин є неможливими і вони гинуть [102].

Лише концентрація NO близько кількох наномолей є оптимальною для процесу життєдіяльності клітин. Недостатній рівень або надлишок NO відіграють важливу роль в патогенезі цілої низки судинних захворювань серця, легень, нирок, мозку, печінки [38, 161, 168, 264]. Зниження концентрації NO призводить до вазоконстрикції, в результаті якої підвищується ризик розвитку есенціальної артеріальної гіпертензії, ішемічної

хвороби серця та інфаркту міокарда, до вільнорадикального пошкодження мембран клітин, до зниження протипухлинної і протиінфекційної активності імунної системи, до пригнічення сексуальної функції, розвитку бронхіальної астми, цукрового діабету [7, 41, 73, 153, 161, 168]. Вважають також, що зниження активності синтезу NO сприяє розвитку атеросклерозу [168, 229], ішемічної нефропатії [38], а також є одним із фізіологічних механізмів старіння організму [71]. З іншого боку, активація iNOS протягом довготривалого часу і синтез NO в кількостях, які в декілька сотень разів перевищують ендотеліальний синтез, може перетворитися з механізму захисту і адаптації в ланку патогенезу захворювання і стати не менш небезпечним пошкоджуючим фактором, ніж дефіцит NO [15, 73, 103, 158, 193]. Встановлено, що NO, накопичуючись у клітині в неадекватно великих кількостях, проявляє пряму цитотоксичну дію не лише на бактеріальні та пухлинні клітини, але й на оточуючі тканини, спричиняючи пошкоджуючий ефект [45, 69]. Довготривала гіперпродукція NO посилює проникність судин і веде до розвитку набряку, потовщення інтими судин, виникненню прямого кардіотоксичного ефекту зі стійкою генералізованою вазодилатацією та важкою гіпотонією [37, 73, 110, 145]. Більше того, високі концентрації NO, включаючись в реакції вільнорадикального окиснення, поглиблюють пошкоджуючу дію процесів ПОЛ [15, 71]. Збільшена продукція NO може бути загальним патофізіологічним механізмом, що призводить до серцевої недостатності при порушенні серцевої діяльності імунного походження, а також при міокардитах та після трансплантації серця [158]. При тяжкому перебігу різних гострих захворювань та при деяких екстремальних станах (септичний шок, уремична кровотеча, краш-синдром), спостерігається різке підвищення рівня NO в крові, що є одним з механізмів розвитку гіпотонії при шоці. Патогенетична роль гіперпродукції NO описана для септичного, травматичного, кардіогенного, теплового та інших видів шоку [73]. Цитотоксичні концентрації NO незворотно інгібують мітохондріальне дихання та зумовлюють апоптичну смерть клітин [37, 69, 71, 110]. Пояснення

цього полягає в наступному. Високі концентрації NO не реалізують свій ефект через цГМФ. Встановлено, що надмірна кількість NO пригнічує активність sNOS в клітинах, а це призводить до зниження рівня цГМФ і до підвищення вмісту внутрішньоклітинного Ca^{2+} . Крім того, як зазначалось вище, високі концентрації NO можуть конкурувати з СОД за супероксидний аніон-радикал і, взаємодіючи з ним, утворювати потужний оксидант – пероксинітрит (ONOO^-) [41, 45, 71, 134, 150, 152]. Можливо, саме ця сполука відіграє певну роль у дозозалежності ефектів оксиду азоту: помірне зростання продукції NO регулює функціональну активність клітин та виявляє виражений протекторний ефект, а гіперпродукція його зумовлює ушкоджувальну дію [45, 185]. Пероксинітрит, змінюючи структуру білків, ліпідів і ДНК, викликає мутації в клітинах [71, 101, 110, 232], інгібує функцію багатьох ферментів [71], порушує роботу іонних каналів [151, 152], індукує апоптоз [15, 71], посилює протеоліз білків [71, 152], збільшує агрегацію тромбоцитів [101], бере участь в процесах, пов'язаних з ендотоксемією [41, 101, 241], володіє здатністю ініціювати тяжкі шлуночкові аритмії [151], ішемічні і виразкові пошкодження органів та аутоімунні реакції [152, 251]. На щастя, фізіологічна концентрація СОД в тканинах у 100-1000 разів вища, ніж концентрація NO, а константа швидкості реакції СОД з супероксид-аніоном лише в 3 рази нижча, ніж для NO [134, 152]. Відповідно, за відсутності гіперпродукції NO та нормального вмісту в тканинах СОД, пероксинітриту утворюється дуже мало. Крім того, доведено, що пероксинітрит, який традиційно розглядають як медіатор NO-токсичності, може мати і фізіологічну дію та викликати судинну релаксацію через NO-опосередковане збільшення цГМФ в судинному ендотелії [151, 152].

Останніми роками з'явилися дані, що свідчать про наявність в організмі стрес-лімітуючої системи, пов'язаної з функціонуванням NO [6, 73, 76, 78, 132]. Одним з найбільш важливих механізмів обмеження стресорних ушкоджень організму є активація основних ланок стрес-реакції і підвищення активності ендогенних захисних систем організму [76]. Показано, що фізіологічна активація цієї ланки регуляції при введенні попередників синтезу

NO у багатьох випадках забезпечує ефективний захист від стресорних ушкоджень і підвищує адаптаційні можливості організму [30, 51, 76, 132, 211]. Встановлено, що NO бере участь у формуванні термінової та довгострокової адаптації до екстремальних умов зовнішнього середовища [62, 73, 78, 79, 103, 116, 204]. Досліджено посилення продукції NO в організмі за адаптації до стресорних факторів – тепла, холоду, важких фізичних навантажень [76, 62]. Існує також ряд повідомлень про важливу роль NO у формуванні адаптивної стійкості до гострої гіпоксії, ішемії і реперфузії органів [30, 116, 117, 121, 162, 247]. Т.В. Серебровська і співавтори [30] стверджують, що уміла фармакологічна корекція з використанням попередників біосинтезу оксиду азоту може відігравати надзвичайно важливу роль для профілактики гіпоксичних станів. Підвищення потужності NO-продукуючих систем лежить і в основі захисних механізмів при гіпоксії чи ішемії міокарда [21, 49, 59, 103, 117, 150, 183, 220, 237]. Зокрема зазначено, що стресорні ушкодження, що супроводжуються розвитком гіпоксії, можуть модулювати продукцію NO в судинах. Так, за важкої гострої чи хронічної гіпоксії пригнічується продукція NO в ендотелії, в той же час, за помірної гіпоксії активність eNOS підвищується [62]. Стосовно важливого значення NO в захисних ефектах адаптації свідчить те, що блокатори NO-синтаз інгібують адаптивні реакції [51, 96]. Показано роль NO як фактора ендогенного захисту, який перешкоджає деструкції клітин і розвитку апоптозу, тобто явищ, індукованих важкою гіпоксією [69, 116]. Поряд з цим, збільшення продукції NO в ході адаптації передують формуванню її захисних ефектів. В зв'язку з цим допускають, що роль NO в адаптаційному захисті зв'язана не лише з прямою його дією, наприклад, зі здатністю обмежувати викид КХА, стресорну вазоконстрикцію артеріол, забезпечувати нормальну трофіку, а, насамперед, з його здатністю активувати фундаментальні захисні системи організму [76, 117, 121]. Інші автори теж вказують на те, що NO втягнений в активацію експресії антиоксидантних ферментів і стимулює синтез простагландинів, які є факторами локального антистресорного захисту [47, 215, 259]. Аймашева Н.П. і співавтори [51],

досліджуючи вплив донора оксиду азоту і блокатора NO-синтази на здатність організму виконувати важке фізичне навантаження і адаптуватися до нього, встановили, що донори NO (динітрозильні комплекси заліза) в 1,5 рази збільшували, а блокатор NO-синтази (N-нітро-L-аргінін) в 1,5 рази зменшував тривалість виконуваного фізичного навантаження; донори оксиду азоту сприяли адаптації, а блокатор NO-синтази загальмовував розвиток адаптації до фізичного навантаження. Про здатність глутаргіну (препарату, до складу якого входить прекурсор оксиду азоту L-аргінін) при гострому отруєнні монооксидом вуглецю та при хронічній гемічній гіпоксії, викликаній інтоксикацією монооксидом вуглецю, підвищувати толерантність тварин до фізичного навантаження знаходимо інформацію відповідно у Ніколаєвої В.В. [115] та Гриців О.В. [42].

Таким чином, NO може вважатися одним із універсальних регуляторів клітинного і тканинного метаболізму. Кількість відомих фізіологічних і патофізіологічних функцій, які проходять за участю NO, з кожним роком збільшується. Баланс між фізіологічними, регуляторними і/або цитотоксичними властивостями обумовлений локальною концентрацією NO, а також оксидантним статусом тканин, в яких синтезується і реалізує свої ефекти NO [134, 144].

1.3. Ефекти модуляторів синтезу оксиду азоту при патологічних процесах, що супроводжуються гіпоксією та ішемією міокарда

У літературі останніх років широко обговорюється роль системи NO у процесах адаптації міокарда до гіпоксії [21, 40, 59, 66, 103, 109, 150, 161, 183, 220, 237]. Загального визнання серед сучасних напрямків терапії даної патології отримало застосування препаратів, які покращують гемодинамічні процеси, що завдячує їх здатності ініціювати синтез NO в клітинах ендотелію судин [109, 150, 153, 158, 161, 168]. Разом з тим, вплив подібних засобів на метаболічні процеси в серці у процесі розвитку гіпоксії залишається недостатньо вивченим.

Аналіз літературних даних свідчить про важливу роль оксиду азоту у формуванні захисних механізмів за гіпоксично-ішемічних умов, пов'язаних з функціонуванням циклу оксиду азоту в організмі. Синтез NO de novo з L-аргініну забезпечує NO-синтазна компонента циклу, причому процес цей є кисеньзалежним [101, 121, 150]. Існує і інший шлях синтезу NO, зв'язаний з активацією нітритредуктазної складової циклу [121, 135]. При патологічних процесах, що протікають на фоні гіпоксії чи ішемії, роль NO-синтазного механізму може знижуватись і підвищуватись активність нітритредуктазної системи [15, 45, 121, 135, 165]. Нітритредуктазна система, яка включає глутатіон-S-трансферази, дезоксиформи гемоглобіну і міоглобіну, цитохром-P450 і ряд інших гемвісних ферментів дихального ланцюга, дозволяє регенерувати NO з проміжних сполук циклу – нітритів (NO_2^-) і нітратів (NO_3^-) в умовах дефіциту кисню [15, 38, 72, 134, 135, 165]. Вважається, що перехід на нітритно-нітратне дихання компенсує нестачу ендogenous NO в умовах гіпоксії і зменшує кисневе голодування при ішемії міокарда, що, в свою чергу, потенціює антиішемічний ефект органічних нітратів та донаторів NO [149]. При цьому створюються умови, коли посилено утилізується з крові L-аргінін з утворенням NO і продуктів його метаболічного обміну – NO_3^- і NO_2^- . Саме з останнього здійснюється акцептування електронів цитохромоксидазою за гіпоксичних умов [72]. Переваги, які отримує клітина за умов посилення роботи циклу NO або при введенні його донорів у фізіологічних концентраціях, полягають, крім додаткового постачання електронів від іонів нітриту, у можливості використання продуктів метаболізму NO – нітратів і нітритів для економних в енергетичному відношенні реакціях, пов'язаних з функціонуванням цГМФ. Останній здатний знижувати потребу тканин у кисні і вміст активних форм кисню за допомогою прямого їх зв'язування [206, 253].

І справді, було показано, що донори NO підвищують резистентність міокарда до гіпоксії та ішемії-реперфузії, проявляють антиішемічний кардіопротекторний ефект [29, 40, 66, 103, 150, 194, 199, 203, 219]. Автори припускають, що цей ефект пов'язаний із зменшенням адгезії нейтрофілів до

ендотелію, впливом на насосну функцію серця (NO може безпосередньо зменшувати скорочувальну здатність серця) і зменшенням використання кисню під час ішемії (в основному за рахунок зменшення частоти серцевих скорочень), а також із вазодилатацією та збільшенням коронарного кровотоку і покращанням кровопостачання міокарда [14, 80, 142, 163, 217]. NO відіграє важливу роль в нейтралізації агресивних радикалів кисню, що накопичуються при інфаркті міокарда [7, 41, 233]. Це допомагає захистити міокард і сприяє відновленню його функції. Одним із механізмів протекторної дії прекурсора синтезу NO L-аргініну при гіпоксичних ушкодженнях серця може бути здатність цієї амінокислоти покращувати енергозабезпечення кардіоміоцитів. Відомо, що один із шляхів метаболізму L-аргініну – це синтез під впливом ферменту аргінін-гліцин амінотрансферази креатину і вивільнення його в кров [41]. Циркулюючий в крові креатин захоплюється м'язовими клітинами, де він фосфорилується і перетворюється в креатинфосфат. Останній є резервуаром високоенергетичних фосфатних груп, при допомозі яких відновлюється і підтримується на доволі високому рівні концентрація АТФ, що особливо важливо в умовах гіпоксії. L-аргінін нормалізує також дисфункцію ендотелію, покращує діастолічну функцію міокарда, зменшує його жорсткість, покращує мікроциркуляторний транспорт за рахунок попередження адгезії тромбоцитів і лейкоцитів, підвищення тромборезистентності ендотелія [139]. І, нарешті, NO попереджує зміни структури та функції мітохондрій, апарату Гольджі, хроматину та інших субклітинних структур кардіоміоцитів у напружено працюючому органі [29]. Згідно із сучасними уявленнями, попередники NO можуть переключати регуляцію серця на переважання контррегуляторних холінергічних механізмів, забезпечуючи при цьому обмеження адренергічної активації серця та його потребу в енергії [14, 34, 150, 163]. Насыров А.Г. и соавт. [14] також припускають, що негативний хронотропний ефект донаторів NO (нітрогліцерину і нітропрусиду натрію) базується на пригніченні адренергічних та посиленні холінергічних впливів на серце. Можливим механізмом цього ефекту може бути пресинаптичне

пригнічення виділення норадреналіну із симпатичних нервових закінчень та посилення виділення ацетилхоліну терміналами блукаючих нервів [14, 150, 207, 208, 230].

Установлено [66], що в собак інтенсифікація продукції NO шляхом введення L-аргініну за умов експериментальної гострої ішемії-реперфузії міокарда зменшує біохімічні та морфологічні порушення, а також більш, як у 2 рази, зменшує об'єм некротично зміненого міокарда та призводить до зменшення порушень кардіогемодинаміки, що корелює із зниженням у зоні некрозу вмісту сечовини, дієнових кон'югатів, лейкотрієну C₄ і тромбоксану B₂. Ці зміни слід віднести до кардіопротекторних та таких, що можуть запобігати подальшим порушенням коронарного кровообігу. Крім того, NO зменшує постнавантаження на серце [66, 133, 150, 237] та знижує споживання кисню шлуночками серця [139, 201, 195], що також може мати протективний ефект при гіпоксії. Привертає увагу той факт, що в групі тварин з гострою ішемією-реперфузією міокарда, яким вводили L-аргінін, практично повністю відсутні порушення ритму, тоді як у групі контрольної патології екстрасистоли реєструвались під час ішемії, а з початком реперфузії кількість їх значно зростала [40, 66]. У досліджах [111, 133, 161] також встановлено позитивний вплив L-аргініну на перебіг ішемії міокарда та відсутність констрикторних реакцій коронарних і периферичних судин, різке зменшення кількості епізодів аритмій.

Експериментально було встановлено, що гостре чи хронічне введення L-аргініну покращує вазодилатуючу відповідь ендотелію та судинні функції при гіперхолестеринемії у пацієнтів зі стабільною стенокардією і звуженням коронарних судин за рахунок генерації NO [29, 41]. Слід зазначити, що вказані зміни визначаються не тільки можливістю збільшення продукції NO за участю eNOS при введенні додаткової кількості L-аргініну, а й непрямим антиоксидантним ефектом, який проявляється зменшенням концентрації супероксидного аніон-радикалу в ендотелії [41].

У деяких випадках ішемічної хвороби серця L-аргінін вводять внутрішньокоронарно для вазорелаксації і стимулювання вивільнення ряду гормонів (інсуліну, соматотропіну, пролактину) [41, 168].

Певним і опосередкованим доказом того, що стимуляція синтезу NO може мати протективну дію при гіпоксичних пошкодженнях серця є встановлений факт зниження потужності систем генерації NO при гострій гіпоксії міокарда. Застосування його прекурсорів, зокрема L-аргініну, у даному випадку не лише сприяє відновленню цього процесу, але й покращанню ультраструктури міокарда та показників серцевої діяльності, обмеженню розмірів вогнища ураження, пригніченню вільнорадикальних процесів, інтенсифікації енергозабезпечувальних реакцій мітохондрій [103, 194, 203, 216, 218, 219, 222]. Доведено також кардіопротективну активність попередників синтезу NO, зокрема L-аргініну, при ішемічно-реперфузійному пошкодженні серця в експерименті, що проявлялося зменшенням розмірів вогнища ураження міокарда та покращанням його функцій [40, 59, 66, 181, 191, 199, 246, 248, 249, 252].

Не завжди молекулі NO належить цитопротекторна активність за умов розвитку гіпоксії чи ішемії міокарда. Знаходимо також інформацію про пригнічення у серцевому м'язі мітохондріального дихання та здатності утилізувати наявний рівень АТФ для реалізації скоротливої функції [180]. Існують дані, згідно з якими біологічний попередник NO L-аргінін здатен обтяжувати ураження міокарда в умовах його ішемічного, гіпоксичного чи ішемічно-реперфузійного пошкодження [187, 221]. Добре відомо, що реперфузія міокарда, яка настає за його ішемією, проявляє не меншу пошкоджуючу дію, ніж сама ішемія [151]. Негативний вплив попередників NO за такого стану частково може реалізуватися через утворення пероксинітриту у реакції NO з супероксидом, продукція якого в умовах реперфузії різко збільшується. Десятикратне збільшення концентрації цих сполук призводить до 100-кратного приросту синтезу пероксинітриту, який пошкоджує діє на ліпідне оточення натрієвих і калієвих каналів сарколеми кардіоміоцитів, а в

процесі дифузії від місця свого утворення до органу-мішені руйнує різні біомолекули та біомембрани на своєму шляху [151]. Саме надлишок ONOO^- в крові і тканинах судин і міокарда є причиною появи тяжких реперфузійних порушень, включаючи летальні шлуночкові аритмії, а також розвиток постішемичної скоротливої дисфункції міокарда [151, 210].

Результати досліджень з використанням блокаторів NOS також є суперечливими. Деякі автори показали негативний вплив блокади NOS [40, 133, 137, 187, 213, 224, 238, 270], тоді як інші вказують на її кардіопротекторний характер [188, 203, 235, 245, 258]. Зокрема, встановлено [40], що інгібування продукції NO L-нітроаргініном (L-NNA) при локальній ішемії-реперфузії серця активує процеси деструкції кардіоміоцитів в ішемізованій зоні, що значною мірою може додатково до некрозу зменшувати площу функціонально активного міокарда, а також призводить до різкого посилення порушень коронарного кровообігу, показників діяльності серця і гемодинаміки. Після блокади NOS спостерігалися більш інтенсивне зменшення серцевого викиду, вираженіше підвищення загального периферичного опору і коронарного судинного опору та більш інтенсивні порушення ритму діяльності серця, порівняно з контрольними дослідженнями. Водночас введення L-аргініну коригувало ці порушення, що суттєво поліпшувало перебіг ішемії-реперфузії.

Подібні дані були отримані [201], а також [169], де на ізольованому працюючому серці щурів показано, що пригнічення фонового вивільнення NO під впливом N-монометил-L-аргініну (L-NMMA) викликало зменшення коронарного кровообігу до 40 % вихідного рівня, а також зниження роботи серця на 58 %. Ефекти були більш виражені на гіпертрофованому серці, що підтверджує важливу роль NO в підтримці коронарного кровообігу та механічної активності міокарда.

О.І. Кукушкіною і співавт. [24] досліджено вплив інгібітора NO-синтази N-нітро-L-аргініну метилового ефіру на розвиток оклюзійних і реперфузійних аритмій у кішок. Отримані ними результати відображають неоднозначність впливу цієї речовини. Багаторазове введення N-нітро-L-аргініну знижує

частоту розвитку оклюзійних шлуночкових аритмій і реперфузійної фібриляції шлуночків, що свідчить про протиаритмічний ефект, разом з тим, прискорює динаміку оклюзійних аритмій, що можна розглядати, як проаритмічний ефект речовини. Таке протиріччя, на думку авторів, відбиває загальну закономірність, що відповідає відомим експериментальним даним про участь NO в ішемічній патології міокарда: при короткочасній ішемії NO має протекторну дію, а при тривалій ішемії починає проявляти токсичний ефект [158]. Аритмогенну дію блокаторів NO-синтази встановили і інші дослідники [40, 66].

В іншій роботі показано, що при введенні щурам з експериментальним гломерулонефритом інгібіторів синтезу NO відбувається зростання артеріального тиску, периферичного кровообігу, агрегації тромбоцитів та зниження серцевого викиду [110].

Досліджено вплив N-нітро-L-аргініну на інтактне серце – введення більше 5 мг/кг N-нітро-L-аргініну викликало через 72 год розвиток мікровогнищевих некрозів і зниження коронарного кровотоку [238]. Триваліше введення призводило до гіпертрофії міокарда і до стійкого підвищення артеріального тиску [238, 243, 250]. В цілому ряді дослідів показано також, що введення щурам блокаторів NO-синтази призводило до розвитку артеріальної гіпертензії [152, 158, 186, 197, 243, 250, 254, 271]. Сучасні дані підтверджують, що NO-залежна гіпертензія обумовлена виснаженням ендogenous вазодилатуючого медіатора оксиду азоту [10, 61, 122, 143, 236, 271]. Багаточисленні дослідження довели ефективність використання L-аргініну для зниження артеріального тиску [38, 61, 169, 174, 220, 254]. На даний час NO розглядають як один з найбільш важливих регуляторів тиску крові завдяки його здатності знижувати підвищений рівень кальцію в цитозолі [122, 135].

Сагачем В.Ф. та ін. [137] в експериментах на працюючих скелетних м'язах наркотизованих собак було встановлено, що попереднє введення блокатора NOS L-NMMA призводило до порушення не тільки регіонарних судинних реакцій (а саме до зменшення регіонарного кровотоку), а також до пригнічення

сили м'язових скорочень та істотного збільшення кисневої вартості роботи скелетного м'яза. Протилежний вплив встановлений при попередньому введенні екзогенного донора NO нітропрусиду натрію. Він проявлявся покращанням регіонарної циркуляції крові, що супроводжувалося вірогідним збільшенням сили м'язових скорочень, збільшенням ефективності використання кисню працюючим м'язом. Вплив блокатора та донора NO на споживання кисню та кисневу вартість роботи скелетного м'яза в цьому експерименті збігається з даними, які отримано на ізольованому перфузованому серці морської свинки [139]. Було доведено, що збільшення навантаження серця об'ємом і стимуляція скоротливої активності міокарда супроводжувались збільшенням синтезу NO, збільшенням ефективності використання кисню для роботи серцевого м'яза і зменшенням кисневої вартості роботи міокарда. Аналогічні зміни відбувалися при підвищенні вмісту оксиду азоту в міокарді за допомогою додавання до перфузійного розчину попередника NO – L-аргініну чи його донора – нітропрусиду натрію. В той же час в умовах блокади активності NO-синтази спостерігався протилежний ефект – збільшення як потреби кисню, так і кисневої вартості роботи серця. Таким чином, NO є фізіологічним регулятором споживання кисню тканинами і визначає кисневу вартість роботи міокарда. Його нестача внаслідок недостатнього синтезу чи пришвидшений розпад можуть відігравати важливу роль в розвитку патологічних станів. Саме така ситуація може відбуватися при багатьох захворюваннях серцево-судинної системи, які супроводжуються дисфункцією ендотелію і, як правило, послабленням синтезу NO та його впливу на функціональний стан ефекторних елементів серцево-судинної системи [140, 148, 158, 174]. Така дисфункція ендотелію спостерігається при атеросклерозі, артеріальній гіпертензії, ішемії, реперфузійних пошкодженнях, цукровому діабеті, коронароспазмі, радіаційному впливі та у процесі старіння організму [15, 20, 71, 73, 114, 150, 158, 161, 174, 226, 236, 271] і пов'язана з абсолютним або відносним дефіцитом ендотеліального NO, який може бути зумовлений зниженням синтезу NO під впливом eNOS, нестачею субстратів чи коферментів

для синтезу NO, інактивацією NO гемоглобіном або вільними радикалами з наступним утворенням пероксинітриду (наприклад, при посиленні процесів перекисного окиснення ліпідів в умовах гіпоксії), зниженням чутливості до NO гладком'язових клітин, синтезом ендогенних інгібіторів NO-синтаз, прискореним руйнуванням і порушенням електричних реакцій ендотеліальних клітин [41, 71, 150, 152]. Усе це послаблює дію NO на гладенькі м'язи судин, а також призводить до змін співвідношення NO та ендотеліальних вазоконстрикторних факторів в бік збільшення частки останніх та вторинної ішемії тканин [161, 223, 234].

Всі вищенаведені літературні дані свідчать про неоднозначну роль оксиду азоту в перебігу патологічних станів, що супроводжуються ішемічно-гіпоксичними змінами у серцево-судинній системі. В зв'язку з цим зростає інтерес багатьох дослідників до сполук, які можуть модулювати синтез цієї унікальної молекули при екстремальних навантаженнях організму, що супроводжуються гіпоксичними проявами.

1.4. Шляхи фармакологічної корекції гіпоксичних та ішемічних пошкоджень міокарда модуляторами синтезу оксиду азоту

У клінічній практиці використовують три методи впливу на вміст оксиду азоту в організмі: вдихання газоподібного NO, введення модуляторів синтезу оксиду азоту – донорів NO чи блокаторів NO-синтази [11, 102, 117, 150, 208, 225].

Ліквідування дефіциту ендотеліального NO здійснюється, в першу чергу, за допомогою донорів NO (засобів, що вивільняють дану сполуку) [50, 103]. До них належать нітрати, неорганічні нітросполуки (нітропрурид натрію) та S-нітрозотіоли [17, 50]. Висока ефективність нітратів при ішемічній хворобі серця дозволяє класифікувати це захворювання як стан дефіциту NO [150, 158].

Терапевтичні донори NO, які поповнюють його нестачу в крові і судинній стінці, що виникає внаслідок порушення функції ендотеліоцитів, широко застосовуються в клініці при різноманітних захворюваннях та патологічних станах, що супроводжуються ендотеліальною гіпофункцією: атеросклерозі, гіпертензії, діабеті, коронарному спазмі, тощо [11, 15, 100, 150, 153, 174, 220, 269]. Доцільність застосування нітровоазодилаторів за умов нестачі кисню підтверджується тим, що їх вазодилаторні властивості збільшуються за умов гіпоксії міокарда [109]. Гемодинамічні ефекти донорів NO пов'язані із вивільненням NO і багато в чому схожі: зменшення переднавантаження на серце внаслідок переважно венозної дилатації, яка сприяє зниженню тиску та об'єму крові у порожнинах серця із наступним зменшенням споживання міокардом кисню, а також дилатація коронарних артерій, що призводить до покращання кровопостачання ішемізованої зони [149, 150, 153, 158, 163, 169]. Наступна важлива особливість терапевтичної дії донаторів NO пов'язана з тим, що вони можуть взаємодіяти не тільки з ферментативними системами в гладком'язових клітинах, а й з форменими елементами крові, зокрема з тромбоцитами [153, 163]. А саме, поряд з вазодилаторною дією, NO може активувати гуанілатциклазу в тромбоцитах і збільшувати в них вміст цГМФ, тим самим зменшуючи здатність тромбоцитів до агрегації та тромбоутворення [38, 140, 145, 150, 220].

Досягненням сучасної фармакології є створення препаратів, що підсилюють синтез NO у ендотелії судин. Серед таких лікарських засобів випускається кардіоселективний β -адреноблокатор небіволол (небілет), який застосовується для лікування симптоматичної та есенціальної артеріальної гіпертензії, систолічної та діастолічної дисфункцій лівого шлуночка, як коронаролітик при ішемічній хворобі серця, а також як артеріальний і венозний вазодилатор [50, 147]. На відміну від інших β -адреноблокаторів, небіволол, навіть при тривалому застосуванні, не призводить до підвищення периферичного судинного опору і до гіперліпідемії. Судинорозширювальні

властивості небівололу є результатом модуляції ендотеліальної функції і вивільнення NO [50, 147, 228].

Новим напрямком у лікуванні порушень функціональних властивостей ендотелію та міокарда можуть стати препарати L-аргініну (біологічного попередника NO). Завдяки активації системи „L-аргінін – оксид азоту” при їх застосуванні розширюються периферичні судини (використовують для лікування артеріальної гіпертензії, переміжної кульгавості), відбувається пригнічення агрегації та адгезії тромбоцитів, лейкоцитів, зменшується продукція вільних радикалів [38, 145, 174, 220]. Висловлюється теза, що застосування оксиду азоту дозволяє цілеспрямовано керувати роботою серця в його різних функціональних станах [65].

На відміну від попередників синтезу NO, заміщені аналоги L-аргініну (класичні блокатори NOS) усувають зниження артеріального тиску. Однак блокатори неселективної дії блокують не тільки iNOS, а і cNOS. Тому така блокада, хоча і попереджує гіпотензію, але викликає тромбози, ішемію міокарда та інших тканин. Через невибірковість дії широке впровадження в практику похідних L-аргініну залишається складним [17], тому зараз пошук ведеться в напрямку більш ефективних селективних блокаторів NOS.

Нині розробляються принципово нові лікарські засоби, що генерують NO в організмі. До них належать, так звані, «NONO-ати» – з’єднання зі структурою R-(NO)-NO, що виділяють при розпаді дві молекули NO [17]. Модифікування радикалу R у «NONO-атах» приведе до створення тканинотропних сполук.

При використанні і розробці препаратів, що впливають на вміст NO в організмі, ідеальними засобами виявляться ті, котрі будуть мати здатність обмежувати гіперпродукцію і компенсувати недолік NO, при цьому не торкаючись істотних регуляторних і захисних функцій NO.

Ґрунтуючись на даних, що представлені в огляді літератури, можна стверджувати, що система NO відіграє важливу роль у численних фізіологічних процесах в організмі, виконуючи роль регулятора та посередника у

функціонуванні серцево-судинної, нервової, травної, імунної систем, процесах терморегуляції, забезпеченні функцій залізовмісних, SH-вмісних ферментів, процесах синтезу АТФ і білків, старіння організму, реакціях знешкодження бактеріальних та токсичних агентів, неопластичних клітин, регуляції мітохондріального дихального ланцюга, реакцій гліколізу, обміні активних радикалів кисню тощо. Роль NO в патогенезі патологічних станів різної етіології, незважаючи на інтенсивне вивчення цього питання протягом останніх десятиліть, остаточно не встановлена. Якщо негативні наслідки гіперпродукції NO при таких екстремальних станах, як септичний шок, уремична кровотеча, краш-синдром, переконливо доведені і загальновідомі, то в інших випадках існуючі літературні дані не дозволяють зробити висновок про те, що підвищення синтезу NO в організмі є лише негативним явищем. Аналіз літературних даних свідчить про важливу роль NO у формуванні захисних механізмів при гіпоксії чи ішемії міокарда різного походження. Встановлено, що гіпоксія міокарда супроводжується достовірним зменшенням вмісту NO, а використання попередників його синтезу в цих умовах, зокрема, L-аргініну, сприяє покращанню функціонального та метаболічного стану органа, активації економних в енергетичному відношенні реакцій перенесення електронів по дихальному ланцюгу мітохондрій. Вважається, що NO при гіпоксичному пошкодженні серця має цитопротекторну дію, покращує мікроциркуляцію, зменшує прояви ішемічного ураження органа, запобігає гемодинамічним порушенням, зменшує постнавантаження на серце, викликає антиаритмічний ефект, а також зменшує зону некрозу. Доведена важлива роль NO в процесах адаптації до помірних стресових впливів, фізичного навантаження тощо. Терапевтичні донори NO застосовуються у клініці при різноманітних патологічних станах, що супроводжуються ендотеліальною дисфункцією. Доведено також, що застосування L-аргініну або препаратів, до складу яких він входить, здатне попередити тромбоутворення та вазоконстрикцію у хворих на ішемічну хворобу серця та есенціальну гіпертонію. Висловлюється теза, що уміла фармакологічна корекція з використанням попередників біосинтезу NO

може відігравати надзвичайно важливу роль для профілактики гіпоксичних станів серця. Разом з тим, неоднозначними є відомості про ефективність використання блокаторів синтезу NO при патологічних процесах, які завершуються розвитком ішемічного чи гіпоксичного пошкодження міокарда. Тому, відповідно, суперечливими є дані щодо можливостей корекції патологічних станів серця, які супроводжуються ішемією або гіпоксією, за допомогою попередників чи інгібіторів синтезу NO. З'ясування впливу речовин, що здатні підвищити або зменшити рівень NO в організмі, на перебіг подібних патологій дозволить прогнозувати їх наслідки та ставити питання про використання для їх корекції препаратів, що мають модулюючий вплив на систему оксиду азоту.

Таким чином, проведений огляд літератури вказує на доцільність з'ясування можливостей впливу на патогенез та прояви гострого гіпоксичного ушкодження міокарда, спричиненого адреналіном, зокрема через систему оксиду азоту, та пошук серед модуляторів його синтезу ефективних засобів корекції змін, що виникають при цій патології.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Відбір тварин для дослідження та експериментальна модель

Дослідження проводили на білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях з масою тіла 150-200 г, яких утримували на стандартних світловому, харчовому та температурному режимах віварію. В процесі виконання роботи використано 366 тварин.

В ході роботи було застосовано такі речовини та препарати: попередник синтезу оксиду азоту L-аргініну гідрохлорид ("Sigma", USA), неселективний блокатор NO-синтаз – N-нітро-L-аргінін метиловий ефір ("Oldrich. Chem. Co.", Англія), селективний блокатор індукцибельної NO-синтази – аміногуанідин (ООО „Химлабораторреактив”, Київ), кислота глутамінова (Фармацевтична компанія “Здоров’я”, м. Харків), глутаргін (L-аргініну-L-глутамат – комплексний препарат, до складу якого входить L-аргінін і кислота глутамінова) (Фармацевтична компанія “Здоров’я”, м. Харків), триметазидин ("Servier international", Франція).

В якості експериментальної моделі було використано гостре адреналінове пошкодження міокарда, яке спричиняли шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення 0,18 % розчину адреналіну гідротартрату ("Дарниця", Україна) з розрахунку 1 мг/кг [104]. Дослідження біохімічних показників проводили через 0,25 год, 1 год і 24 год розвитку АПМ (I, II і III терміни дослідження), що відповідає проявам гострої гіпоксії, початку та максимуму процесів некрозоутворення [104].

Виведення піддослідних тварин з досліду проводили під наркозом, викликаним тіопенталом натрію (внутрішньоочеревинне введення 1 % розчину, з розрахунку 50 мг на 1 кг маси тварини). Для дослідження використовували гомогенати міокарда та сироватку крові.

L-аргінін вводили протягом 7 днів з розрахунку 25 мг/кг у вигляді 2,5 % водного розчину [148], 4 % розчин глутаргіну – протягом 7 днів в дозі 45 мг/кг (в еквімолярній дозі у перерахунку на L-аргінін), кислоту глутамінову – протягом 7 днів з розрахунку 20 мг/кг (в еквімолярній дозі у перерахунку на глутаргін), L-NAME – протягом 4-х днів у вигляді 1 % водного розчину із розрахунку 10 мг/кг [178, 199], АГ – протягом 4-х днів у вигляді 1 % водного розчину із розрахунку 10 мг/кг [178], триметазидин – протягом 7 днів з розрахунку 25 мг/кг [5, 118]. Всі речовини вводили перед моделюванням експериментальної патології внутрішньоочеревинно, один раз на добу. Контрольні групи тварин отримували внутрішньоочеревинно відповідну кількість розчинника. При комбінованому застосуванні глутаргіну і блокаторів синтезу оксиду азоту речовини вводили внутрішньоочеревинно 1 раз на добу протягом 7 днів у дозах, аналогічних описаним вище.

В процесі виконання дисертаційної роботи вивчали вплив вищевказаних речовин на стан прооксидантно-антиоксидантної системи, активність ферментів мітохондрій і маркерних ферментів цитолізу, рівень сечовини в сироватці крові, вміст стабільного метаболіту $\text{NO} - \text{NO}_2^-$ у серці і сироватці крові щурів при гострій гіпоксії міокарда, спричиненій адреналіном. У тесті з плаванням [39] встановлювали толерантність тварин до фізичного навантаження. Функціональний стан серця досліджували за показниками ЕКГ.

Досліди на тваринах проводили відповідно до „Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2000) та узгоджених з положеннями „Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes) (Страсбург, 1985) [57]. Комісією з питань біоетики Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського (протокол № 14 від 18 жовтня 2007 р.) порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

Розподіл піддослідних тварин на серії в залежності від застосування досліджуваної речовини та термінів експерименту представлений у таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

Розподіл тварин на серії дослідів при адреналіновій міокардіодистрофії

Серія тварин	Кількість тварин					
	Тривалість АПМ					
	0,25 год		1 год		24 год	
	Тривалість профілактичного введення					
	7 днів	4 дні	7 днів	4 дні	7 днів	4 дні
Контроль	30		42		48	
Контрольна патологія – АПМ	30		42		48	
L-аргінін	6		6		6	
Глутаргін	6		6		12	
Глутамінова кислота	6		6		6	
N-нітро-L-аргінін		6		6		6
Аміногуанідин		6		6		6
Глутаргін + N-нітро-L-аргінін			6		6	
Глутаргін + Аміногуанідин			6		6	
Предуктал					6	

2.2. Визначення активності процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ)

2.2.1. Визначення вмісту гідропероксидів ліпідів (ГПЛ)

Принцип методу ґрунтується на здатності екстрагованих гептан-ізопропіловою сумішшю ГПЛ інтенсивно поглинати світло при довжині хвилі $\lambda=232$ нм [33].

До 0,2 мл 10 % гомогенату додавали 4 мл суміші гептан-ізопропанолу (1:1) і струшували протягом 15 хв на лабораторному струшувачі АВ-30 с. Потім у пробірки додавали по 1 мл розчину НСІ (рН=2,0) і по 2 мл гептану, інтенсивно струшували і після відстоювання та розшарування суміші (через 30 хв) відбирали гептановий шар і вимірювали його оптичну щільність на спектрофотометрі (дейтерієва лампа) при довжині хвилі $\lambda=232$ нм. Як контроль використовували

пробу, яка містила 0,2 мл дистильованої води замість досліджуваного матеріалу. Розрахунок вмісту ГПЛ проводили у відносних одиницях за формулою:

$$C_{\text{ГПЛ}} = E \times V_1 / V_2 = E \times 20,$$

де E – оптична щільність гептанового шару проби;

V_1 – кінцевий об'єм гептанового екстракту (4 мл),

V_2 – об'єм досліджуваного матеріалу (0,2 мл).

Вміст ГПЛ виражали в умовних одиницях екстинкції на кг тканини міокарда, (ум. од./кг).

2.2.2. Метод визначення концентрації ТБК-активних продуктів (ТБП)

Принцип методу полягає у здатності вторинних продуктів перекисного окислення ліпідів, а саме малонового діальдегіду, при взаємодії з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) при високій температурі в кислому середовищі утворювати забарвлений комплекс, інтенсивність якого адекватна вмісту ТБП. Дослідження проводили у 10 % гомогенаті серця та у сироватці крові [3].

У звичайні центрифужні пробірки наливали по 1 мл дистильованої води, 1 мл 10 % гомогенату або 0,5 мл сироватки крові, 2 мл 30 % розчину трихлороцтової кислоти, 0,2 мл HCl концентрацією 5 моль/л, 2 мл 0,8 % водяного розчину тіобарбітурової кислоти і витримували 15 хв у киплячій водяній бані. Проби охолоджували, осад відділяли центрифугуванням при 3000 об/хв протягом 10 хв. Вимірювали оптичну густину супернатанту на фотоелектроколориметрі КФК-2 при довжині хвилі $\lambda = 535$ нм проти контролю, який містив 2 мл дистильованої води, 2 мл 30 % трихлороцтової кислоти і 2 мл ТБК. Розрахунок проводили, враховуючи коефіцієнт молярної екстинкції для ТБП, який дорівнює $1,56 \times 10^5$ моль⁻¹ × см⁻¹.

Вміст ТБП у гомогенаті серця виражали в мкмоль/кг, а у сироватці крові – в мкмоль/л.

2.3. Методи визначення активності і вмісту компонентів антиоксидантної системи

2.3.1. Визначення активності супероксиддисмутази (СОД)

Принцип методу. Про активність ферменту свідчить його здатність інгібувати відновлення нітротетразолію синього при наявності НАДН₂.

Активність СОД визначали за методом [167]. Для дослідження брали 1 мл 10 % гомогенату серця, приготовленого на фосфатному буфері (рН=7,4). Проводили попередню обробку досліджуваного матеріалу за допомогою суміші хлороформу та спирту з додаванням КН₂Р₄ з наступним центрифугуванням при 12000 об/хв протягом 15 хв. До 0,2 мл супернатанту додавали 1,3 мл 0,1 М фосфатного буферу (рН=8,3), 1 мл розчину нітротетразолію синього, 0,3 мл розчину феназинметасульфату і 2 мл 0,2 мМ розчину НАДН₂. Проби 10 хв витримували у темряві й фотометрували при довжині хвилі $\lambda=540$ нм в кюветі з довжиною оптичного шляху 10,0 мм проти проб, до яких не додавали НАДН₂. Контролем слугували проби, в яких замість гомогенату знаходилося 0,2 мл фосфатного буферу.

Відсоток інгібування нітротетразолію синього розраховували за формулою:

$$A_{\text{СОД}} = (E_{\text{к}} - E_{\text{д}}) \times 100 / E_{\text{к}},$$

де $A_{\text{СОД}}$ – активність супероксиддисмутази;

$E_{\text{к}}$ – екстинкція контрольної проби;

$E_{\text{д}}$ – екстинкція дослідної проби.

Кількість ферменту, яка здатна інгібувати відновлення нітротетразолію синього на 50 %, приймали за 1 ум. од. активності.

2.3.2. Визначення активності каталази (КАТ)

Активність КАТ визначали за методом М.А. Королюк і співавт. [106]. Принцип методу ґрунтується на здатності пероксиду водню утворювати з молібдатом амонію стійкий забарвлений комплекс.

Досліджували сироватку крові і тканину серця, з якої на холоді готували 10 % гомогенат на 0,05 М трис-НСІ буфері (рН=7,8). Реакцію запускали додаванням 0,1 мл плазми або гомогенату до 2 мл 0,03 % розчину пероксиду водню. Паралельно готували холосту пробу, в яку замість досліджуваного матеріалу вносили 0,1 мл дистильованої води. Через 10 хв реакцію зупиняли додаванням 1 мл 4 % молібдату амонію. Інтенсивність забарвлення вимірювали на спектрофотометрі при $\lambda=410$ нм проти контрольної проби, в яку замість пероксиду водню додавали 2 мл води. Активність КАТ виражали в каталах (кат) і розраховували за формулою:

$$A_{\text{КАТ}}=(E_x-E_d)/ V \times t \times K,$$

де $A_{\text{КАТ}}$ – активність каталази у кат/л чи кат/кг;

E_x і E_d – екстинкції холостої і дослідної проб;

V – об'єм внесеної проби (0,1 мл);

t – час інкубації (600 с);

K – коефіцієнт мілімолярної екстинкції пероксиду водню, який дорівнює $22,2 \times 10^{-3} \text{ ммоль}^{-1} \times \text{с}^{-1}$.

2.3.3. Визначення вмісту відновленого глутатіону (Г-SH)

Принцип методу полягає у тому, що при взаємодії 5,5'-дитіобіс (2-нітробензойної) кислоти (реактив Елмана) з вільними SH-групами відновленого глутатіону відбувається утворення тіонітрофенільного аніону, кількість якого прямо пропорційна вмісту Г-SH [200].

До 0,5 мл 10 % гомогенату серця додавали 1,3 мл дистильованої води, 0,2 мл 25 % сульфосаліцилової кислоти і центрифугували при 5000 об/хв протягом 10 хв. Отриманий центрифугат (0,5 мл) при додаванні 2,5 мл трис-НСІ буферу і 0,05 мл розчину Елмана змінював колір на жовто-зелений через 10 хв при кімнатній температурі. Покази знімали на спектрофотометрі (лампа накаливання) при довжині хвилі $\lambda=412$ нм. Вміст Г-SH розраховували, виходячи з коефіцієнту молярної екстинкції для тіонітрофенільного аніону, який дорівнює $11400 \text{ моль}^{-1} \text{ см}^{-1}$, і виражали у ммоль/кг тканини серця.

2.4. Методи визначення окиснювальних процесів у мітохондріях

2.4.1. Виділення мітохондрій

Мітохондрії виділяли методом диференціального центрифугування 10 % гомогенату серця, приготовленого у середовищі з 250 мМ сахарози, 10 мМ трис-НСІ буферу та 10 мМ ЕДТА (рН=7,4) [107]. Мітохондріальну фракцію отримували, центрифугуючи без'ядерний супернатант протягом 10 хв при 6500 об/хв. Отриманий осад мітохондрій ресуспендували в середовищі виділення. Всі операції проводили на холоді. Для приготування розчинів використовували тільки бідистильовану воду.

2.4.2. Визначення активності сукцинатдегідрогенази (СДГ)

Принцип методу полягає у відновленні ферриціаніду калію, розчин якого має жовте забарвлення, до безбарвного ферроціаніду калію сукцинатом під дією СДГ. Активність ферменту пропорційна кількості відновленого ферриціаніду [56].

До 1 мл 0,1 М фосфатного буферу додавали по 0,1 мл розчинів бурштинової кислоти, ЕДТА, азиду натрію, дистильованої води і 0,5 мл суспензії мітохондрій. Проби інкубували протягом 5 хв за кімнатної температури для інгібування цитохромоксидази азидом натрію. Реакцію запускали додаванням 0,1 мл розчину ферриціаніду калію. Проби знову інкубували при температурі 30 °С протягом 10-15 хв. Після інкубування реакцію зупиняли зануренням проб у лід та додаванням до них по 2 мл 20 % трихлороцтової кислоти. В контрольні проби три хлороцтову кислоту додавали перед внесенням суспензії мітохондрій. Після центрифугування (при 2000 об/хв протягом 15 хв) надосадову рідину фотометрували на спектрофотометрі при довжині хвилі 420 нм проти контролю. Ферментну активність розраховували, виходячи з коефіцієнта молярної екстинкції для ферриціаніду калію:

$$A_{\text{СДГ}}=1000 \times m/2 \times M \times a \times t,$$

де m – кількість відновленого ферриціаніду в пробі (по калібрувальній кривій), мкг;

M – відносна молекулярна маса ферриціаніду калію;

a – вміст білка в пробі, мг;

t – час інкубації, хв.

Активність СДГ виражали в ммольх сукцинату на кг білка за хвилину (ммоль/(кг×хв)).

2.4.3. Визначення активності цитохромоксидази (ЦХО)

Принцип методу ґрунтується на здатності ЦХО окиснювати за участю кисню повітря не тільки цитохроми, але й деякі органічні сполуки, зокрема диметил-пара-фенілендіамін і α -нафтол (реактив НАДІ). При окисненні двох останніх сполук утворюється забарвлений продукт синього кольору – індофеноловий синій – з максимумом поглинання при довжині хвилі 610 нм. Кількість утвореного пігменту пропорційна цитохромоксидазній активності мітохондрій [75].

У пробірки Хімста наливали по 0,5 мл фосфатного буферу, рН=7,38, додавали по 1 мл 10 % водного гомогенату тканини серця, 1 мл 0,1 % водного розчину диметил-п-фенілендіаміну і по 0,5 мл 0,2 % теплого (37 °С) розчину α -нафтолу. Вміст пробірок ретельно змішували. Залишали стояти в темноті протягом 30 хв, струшуючи через кожні 10 хв. Потім додавали по 12 мл етилового спирту, змішували і залишали стояти ще 30 хв. Після фільтрування колориметрували забарвлення, що утворилося, проти спирту у ФЕКу з фільтром №1 в кюветі з довжиною оптичного шляху 5мм при довжині хвилі $\lambda=670$ нм. Стандартом служив розчин індофенолового синього з розрахунку 0,5 мг в 15 мл 96° етилового спирту. Розрахунок проводили за калібрувальним графіком, цитохромоксидазну активність виражали в ммольх диметил-пара-фенілендіаміну на кг білка за хв (ммоль/(кг×хв)).

2.5. Визначення вмісту білка у внутрішніх органах

Вміст білка в тканині серця визначали за методом Лоурі [244].

Принцип методу. Даний метод поєднує в собі біуретову реакцію (тобто, реакцію на пептидні зв'язки) і реакцію Фоліна (на тирозин і триптофан).

Досліджуваний розчин, що містить 10–100 мкг білка, доводили дистильованою водою до 0,4 мл, змішували з 2 мл реактиву (змішували 1 мл 0,5 % розчину сірчаноокислої міді, приготовленого на 1 % розчині цитрату натрію, з 50 мл 2 % розчину карбонату натрію, приготовленого на 0,1 М натрієвого лугу) і залишали при кімнатній температурі на 10 хв. Додавали 0,2 мл реактиву Фоліна-Чекальтеу, перемішували і через 30–40 хв вимірювали величину оптичної густини при довжині хвилі 750 нм на спектрофотометрі СФ-46. Розрахунок проводили за калібрувальним графіком.

2.6. Визначення вмісту нітрит-аніону

Оскільки нітрит-аніон є стабільним метаболітом NO, то за його кількістю можна робити висновок про вміст оксиду азоту у тканинах організму.

Вміст нітрит-аніону у сироватці крові та гомогенатах міокарда визначали високоспецифічним спектрофотометричним методом Гріна за даними кольорової реакції з реактивом Гріса [120, 173].

Сироватку крові і 10 % гомогенат тканини серця 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 секунд і центрифугували протягом 15 хвилин при 9000 об/хв. Після цього 1,5 мл надосадової рідини змішували з однаковим об'ємом реактиву Гріса (складається із суміші розчинів: 1 % сульфаніламід, 0,1 % нафтилендіаміну, 2,5 % фосфорної кислоти) і інкубували 10 хв при кімнатній температурі. Абсорбцію розчину вимірювали при довжині хвилі 546 нм на спектрофотометрі. У вигляді стандарту використовували натрію нітрит.

Вміст нітрит-аніону розраховували за формулою:

$$C=C_{ст} \times D_1 / D_2,$$

де C – вміст азоту нітритів, ммоль/л чи ммоль/кг;

$C_{ст}$ – вміст азоту нітритів в стандартному розчині;

D_1 – оптична густина досліджуваного розчину;

D_2 – оптична густина стандартного розчину.

2.7. Визначення вмісту сечовини у сироватці крові

Рівень сечовини в сироватці крові визначали діацетилмонооксимним методом, використовуючи стандартний набір реактивів (“Сечовина-Д”, ООО НПП “Филисит диагностика”).

Принцип методу полягає в тому, що сечовина утворює з діацетилмонооксимом у присутності іонів заліза і тіосемікарбазиду комплекс червоного кольору, інтенсивність забарвлення якого пропорційна вмісту сечовини в сироватці крові.

У пробірки вносили по 0,01 мл сироватки крові, для холостої проби – 0,01 мл 0,9 % розчину NaCl, для контролю – 0,01 мл калібрувального розчину сечовини. У кожену пробірку додавали по 1 мл тіосемікарбазиду та 1 мл діацетилмонооксиму. Пробірки закривали ковпачками, вміст перемішували і поміщали їх у бурхливо киплячу водяну баню на 10 хв. Потім пробірки швидко охолоджували під проточною холодною водою. Проби фотометрували при довжині хвилі 540-560 нм проти холостої проби у кюветі з довжиною оптичного шляху 10 мм. Розрахунок концентрації сечовини проводили за формулою:

$$C=E_d/E_{кал} \cdot 16,65,$$

де C – концентрація сечовини в сироватці крові, ммоль/л;

E_d – оптична щільність дослідної проби;

$E_{кал}$ – оптична щільність калібрувальної проби;

16,65 – вміст сечовини в калібрувальному розчині.

2.8. Визначення активності трансаміназ

2.8.1. Визначення активності аспартатамінотрансферази

Визначення активності АсАТ проводили по методу Райтмана-Френкеля за допомогою стандартного набору реактивів ООО НПП “Филисит диагностика”.

Принцип методу. В результаті амінування 2-оксоглутарової кислоти L-аспарагіною кислотою, яке відбувається під дією АсАТ, утворюються L-глутамінова та щавелевооцтова кислоти, остання самовільно декарбоксілюється з утворенням піровиноградної кислоти. Визначення ґрунтується на вимірюванні оптичної щільності 2,4-динітрофенілгідрозону піровиноградної кислоти, який в лужному середовищі дає коричнево-червоне забарвлення, інтенсивність якого пропорційна кількості утвореної піровиноградної кислоти.

У дослідні і холосту пробірки вносили по 0,1 мл субстратно-буферного розчину (2-оксоглутарова і L-аспарагінова кислоти у фосфатному буфері) та інкубували 3 хв при температурі 37°C. Потім у холосту пробу додавали 0,1 мл стоп-реагенту (розчин 2,4-динітрофенілгідрозину) та в усі пробірки – по 0,02 мл сироватки крові. Ставили усі пробірки в термостат на 60 хв при температурі 37°C. Після інкубування в дослідні проби додавали 0,1 мл стоп-реагенту і залишали при кімнатній температурі на 20 хв. Далі додавали по 1,0 мл 0,4 н розчину їдкого натрію, ретельно перемішували і залишали при кімнатній температурі на 10 хв для розвитку забарвлення. Вимірювали оптичну щільність дослідної проби проти холостої при довжині хвилі 500-560 нм. Розрахунок активності ферменту в сироватці крові проводили по калібрувальному графіку. Активність АсАТ виражали в мікромольх піровиноградної кислоти на 1 мл сироватки за 1 год інкубації (ммоль/(л·год)).

2.8.2. Визначення активності аланінамінотрансферази

Визначення активності АлАТ проводили по методу Райтмана-Френкеля за допомогою стандартного набору реактивів ООО НПП “Филисит диагностика”.

Принцип методу. В результаті амінування 2-оксоглутарової кислоти L-аланіном, яке відбувається під дією АлАТ, утворюються L-глутамінова та піровиноградна кислоти. Визначення ґрунтується на вимірюванні оптичної щільності 2,4-динітрофенілгідразону піровиноградної кислоти, який в лужному середовищі дає коричнево-червоне забарвлення, інтенсивність якого пропорційна кількості утвореної піровиноградної кислоти.

У дослідні і холосту пробірки вносили по 0,1 мл субстратно-буферного розчину (2-оксоглутарова кислота і DL-альфа-аланін у фосфатному буфері) та інкубували протягом 3 хв при температурі 37°C. Потім у холосту пробу додавали 0,1 мл стоп-реагенту (розчин 2,4-динітрофенілгідразину) та в усі пробірки – по 0,02 мл сироватки крові. Ставили усі пробірки в термостат на 60 хв при 37°C. Після інкубування в дослідні проби додавали 0,1 мл стоп-реагенту і залишали при кімнатній температурі на 20 хв. Далі додавали по 1,0 мл 0,4 н розчину їдкого натрію, ретельно перемішували і залишали при кімнатній температурі на 10 хв для розвитку забарвлення. Вимірювали оптичну щільність дослідної проби проти холостої при довжині хвилі 500-560 нм. Розрахунок активності ферменту в сироватці крові проводили по калібрувальному графіку. Активність АлАТ виражали в мікромольх піровиноградної кислоти на 1 мл сироватки за 1 год інкубації (ммоль/(л·год)).

2.9. Визначення толерантності тварин до фізичного навантаження

Витривалість в умовах фізичного навантаження є одним з важливих показників при вивченні функціонального стану лабораторних тварин в умовах експерименту, який може свідчить про ефективність застосування лікарських засобів при певних патологічних станах.

Рівень фізичної витривалості у щурів визначали за допомогою плавальної проби [39]: враховували тривалість плавання (в секундах) кожної тварини до повної втоми (занурювання) у воді з температурою 37°C.

Визначення толерантності тварин до фізичного навантаження проводили через 1 год та 1 добу від моменту розвитку гострої гіпоксії міокарда на тлі попереднього введення комплексного препарату глутаргіну або кардіоцитопротектора триметазидину.

2.10. Дослідження функціонального стану серця за допомогою запису ЕКГ

З метою контролю за функціональним станом серця проводили запис ЕКГ [164] в 2-му стандартному відведенні за допомогою електрокардіографа «Малиш». Вивчали такі зміни на ЕКГ: тривалість інтервалу QT (електричної систоли шлуночків, dQRST, с), тривалість серцевого циклу (dRR, с), частоту серцевих скорочень (ЧСС, уд./хв), систолічний показник (відношення тривалості інтервалу QT до тривалості серцевого циклу), розрахований за Фогельсоном-Чорногоровим (SP) [164].

2.11. Методи математичного аналізу

Отриманий цифровий матеріал був оброблений методом варіаційної статистики з використанням критерію t Стюдента. Розраховували середні арифметичні величини (M), похибки середніх арифметичних (m), коефіцієнти варіації, а також середні квадратичні відхилення. Зміни вважали достовірними при $p \leq 0,05$. У рисунках та таблицях основної частини дисертації рівень значимості вказували тільки для достовірних результатів.

Для розрахунків використовували комп'ютерну програму Microsoft Excel XP (USA).

РОЗДІЛ 3

ВПЛИВ L-АРГІНІНУ, ГЛУТАРГІНУ ТА КИСЛОТИ ГЛУТАМІНОВОЇ НА ПЕРЕБІГ АДРЕНАЛІНОВОГО ПОШКОДЖЕННЯ МІОКАРДА

Метою досліджень, виконаних на 90 білих щурах, результати яких представлено у даному розділі, було встановлення особливостей патогенезу гострого адреналінового пошкодження міокарда в різні терміни його розвитку та вивчення впливу попереднього введення перед АПМ глутаргіну, L-аргініну та кислоти глутамінової на показники перекисного окиснення ліпідів, антиоксидантної системи, активність мітохондріальних ферментів, вміст нітрит-аніону у серці та рівень сечовини у сироватці крові. Розподіл тварин на серії та режим введення препаратів представлено у 2 розділі (див. табл. 2.1).

У результаті проведення досліджень планувалося також з'ясувати профілактичну активність глутаргіну в умовах експериментального адреналінового пошкодження міокарда та уточнити, з якою його складовою, L-аргініном чи кислотою глутаміновою, вона насамперед зв'язана.

3.1. Прояви адреналінового пошкодження міокарда

Активація ліпопероксидації мембранних фосфоліпідів вважається одним з основних патогенетичних моментів ураження клітини при різноманітних патологічних станах, в тому числі при гіпоксії [118, 119]. Тому одним з етапів вивчення основних метаболічних змін, які відбуваються при АПМ, стало дослідження цієї ланки окиснювального гомеостазу.

Згідно з отриманими даними, наведеними у таблиці 3.1, існує достовірна різниця показників вільнорадикального окиснення в усі терміни дослідження у тварин з АПМ, порівняно з контрольними щурами. Так, виявлено зростання у міокарді продуктів перекисної дегградації ліпідних компонентів мембран кардіоміоцитів: ГПЛ та ТБП – на 32 і 58 % (0,25 год), 48 і 76 % (1 год), 59 і 89 %

(24 год) відповідно, а у сироватці крові вміст ТБП зростав відповідно до термінів дослідження на 47, 65 і 87 % (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Деякі показники перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи в тварин з адреналіновим пошкодженням міокарда (M±m, n=6)

Показник		Група тварин			
		Контроль	Контрольна патологія (АПМ)		
			0,25 год	1 год	24 год
ГПЛ, ×10 ³ ум.од./кг	С	4,46±0,02	5,87±0,09 p<0,001	6,58±0,08 p<0,001	7,10±0,04 p<0,001
	К	1,57±0,01	2,31±0,03 p<0,001	2,60±0,01 p<0,001	2,94±0,03 p<0,001
ТБП, ммоль/кг, ммоль/л	С	2,20±0,10	3,47±0,11 p<0,001	3,87±0,06 p<0,001	4,16±0,02 p<0,001
	К	1,57±0,01	2,31±0,03 p<0,001	2,60±0,01 p<0,001	2,94±0,03 p<0,001
СОД, ум.од./кг	С	1,75±0,09	2,24±0,10 p<0,05	2,63±0,11 p<0,05	3,12±0,10 p<0,05
КАТ, кат/кг, кат/л	С	2,74±0,10	3,02±0,05 p<0,05	3,82±0,02 p<0,001	5,12±0,03 p<0,001
	К	9,28±0,23	11,80±0,46 p<0,01	14,65±0,35 p<0,001	15,95±0,25 p<0,001
Г-SH, ммоль/кг	С	4,12±0,06	3,40±0,02 p<0,001	3,59±0,06 p<0,001	3,29±0,06 p<0,001
Примітка. Тут і далі в таблицях даного розділу p – достовірність відносно контролю; С – серце, К – кров					

Одночасно у серці спостерігалось достовірне підвищення активності антиоксидантних ферментів. Так, через 0,25 год АПМ активність СОД та КАТ зростала відповідно на 28 і 10 %, через 1 год – на 51 і 39 %, через 24 год – на 78

і 87 % (див. табл. 3.1). Аналогічна тенденція щодо змін активності КАТ спостерігалась і у сироватці крові. Активність даного ферменту зростала через 0,25 год АПМ на 27 %, через 1 год – на 58 %, через 24 год – на 72 % (табл. 3.1). В той же час відбувалося виснаження пулу Г-SH, кількість якого зменшувалася відповідно до термінів дослідження на 17, 13 і 20 % (див. табл. 3.1).

Відомо, що вагому роль у патогенезі гіпоксичних уражень органів відіграє порушення функціонування дихального ланцюга мітохондрій, яке, в залежності від важкості гіпоксії, поширюється від субстратної до цитохромної ланки та призводить до зменшення біоенергетичного потенціалу клітини [44, 97, 98]. При вивченні мітохондріальних ферментів системи енергозабезпечення клітин при АПМ ми встановили, що активність СДГ та ЦХО знижувалася: в 1-й термін експерименту відповідно на 39 і 15 %, 2-й – на 46 і 19 %, 3-й – на 57 і 25 % (рис. 3.1).

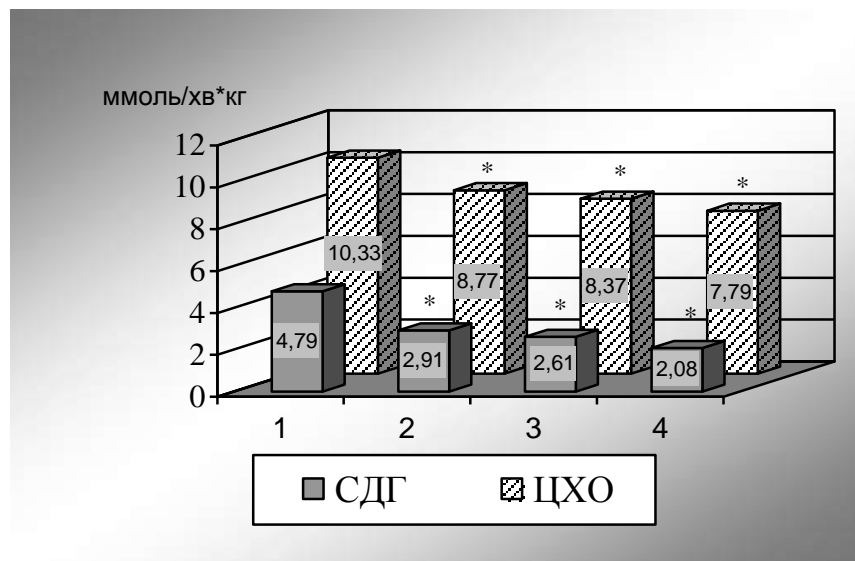


Рис. 3.1 Активність мітохондріальних ферментів у серці при АПМ

Примітка. В цьому і в рисунках 3.2, 3.3 даного розділу: групи тварин 1 – контроль, 2 – АПМ 0,25 год, 3 – АПМ 1 год, 4 – АПМ 24 год; * – достовірна різниця відносно контролю.

Вміст нітрит-аніону при АПМ достовірно зменшувався як у міокарді, так і в сироватці крові: через 0,25 год відповідно – на 46 і 32 %, 1 год – 20 і 40 %, 24 год – 29 і 44 % (рис. 3.2).

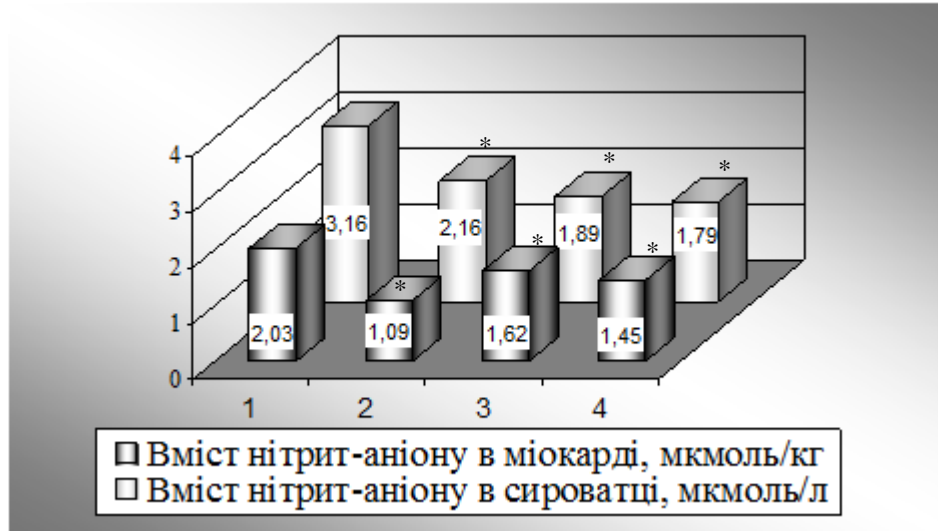


Рис. 3.2 Вміст NO_2^- в міокарді та сироватці крові при АПМ

Важливість дослідження рівня сечовини обумовлена її роллю при знешкодженні аміаку, значна кількість якого утворюється внаслідок ушкодження структур внутрішніх органів при гіпоксії [22, 35]. У результаті експериментів встановлено, що у сироватці крові на I, II і III етапах розвитку АПМ вміст сечовини зростав відповідно на 98, 52 та 99 %, порівняно з контролем (рис. 3.3).

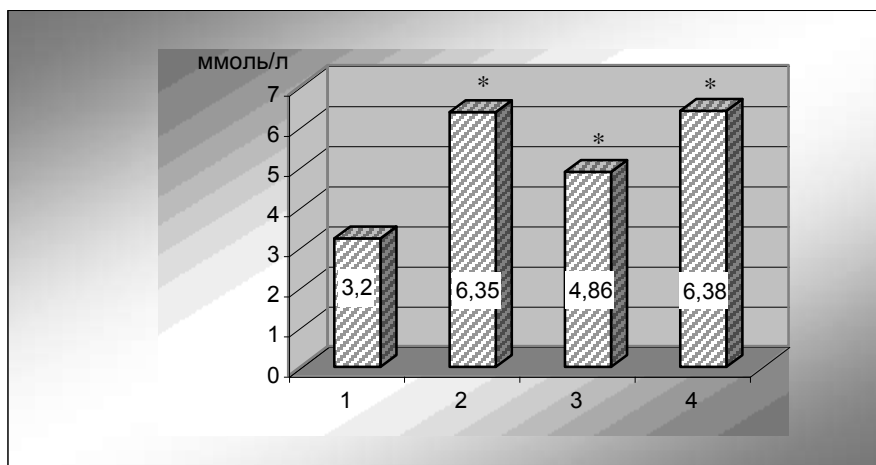


Рис. 3.3 Зміни рівня сечовини у сироватці крові при АПМ

Таким чином, адреналінове пошкодження міокарда на різних етапах свого розвитку (0,25, 1 і 24 год) супроводжувалось активацією процесів перекисного окиснення ліпідів (наростання кількості гідроперекисів ліпідів та ТБК-активних продуктів) та антиоксидантної системи (зростання активності супероксиддисмутази, каталази), порушенням функціонування мітохондріального електротранспортного ланцюга (зниження активності сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази), зменшенням пулу відновленого глутатіону у міокарді та зростанням рівня сечовини у сироватці крові піддослідних тварин. Вказані зміни відбувались на тлі зменшення вмісту нітрит-аніону в міокарді та сироватці крові.

3.2. Вплив L-аргініну на перебіг адреналінового пошкодження міокарда

У результаті вивчення впливу профілактичного семиденного введення L-аргініну на перебіг метаболічних процесів у міокарді при його адреналіновому пошкодженні було виявлено зрушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в бік зменшення інтенсивності процесів перекисного окиснення ліпідів та відновлення активності антиоксидантної системи. Так, встановлено, вірогідне зменшення у міокарді вмісту ГПЛ та ТБП: через 0,25 год АПМ – на 14 і 14 % відповідно, 1 год – 22 і 34 %, 24 год – 27 і 26 % (табл. 3.2). Вміст ТБП в сироватці крові також зменшувався в I, II та III терміни дослідження відповідно на 20 %, 14 % та 19 % (див. табл. 3.2), що свідчить про інгібування процесів переокиснення мембранних ліпідів у цій серії дослідів.

З боку антиоксидантної системи під впливом попереднього введення L-A теж виявляли достовірні зміни: у серці відновлювалась активність СОД і КАТ (через 0,25 год АПМ – на 17 і 16 %, 1 год – на 27 і 34 %, 24 год – на 25 і 29 %), у сироватці – активність КАТ (зменшувалася на 20, 19 і 19 % відповідно до термінів розвитку АПМ) (див. табл. 3.2). L-A сприяв достовірному підвищенню вмісту Г-SH в усі досліджувані терміни – відповідно на 19, 22 і 23 % (див. табл. 3.2).

Вплив L-аргініну на вміст ТБК-активних продуктів, гідроперекисей ліпідів та показники антиоксидантної системи при АПМ (M±m, n=6)

Показник		Серія дослідів			
		АПМ		L-аргінін+АПМ	
		Серце	Кров	Серце	Кров
ГПЛ, ×10 ³ ум.од./кг	0,25 год	5,87±0,09 p<0,001	–	5,07±0,09 p ₁ <0,001	–
	1 год	6,58±0,08 p<0,001	–	5,13±0,05 p ₁ <0,001	–
	24 год	7,10±0,04 p<0,001	–	5,46±0,02 p ₁ <0,001	–
ТБП, ммоль/кг, ммоль/л	0,25 год	3,47±0,11 p<0,001	2,31±0,03 p<0,001	3,00±0,06 p ₁ <0,01	1,86±0,02 p ₁ <0,001
	1 год	3,87±0,06 p<0,001	2,60±0,01 p<0,001	2,56±0,08 p ₁ <0,001	2,24±0,04 p ₁ <0,001
	24 год	4,16±0,02 p<0,01	2,94±0,03 p<0,001	3,10±0,06 p ₁ <0,001	2,39±0,08 p ₁ <0,001
СОД, ум.од./кг	0,25 год	2,24±0,10 p<0,05	–	1,87±0,07 p ₁ <0,05	–
	1 год	2,63±0,11 p<0,05	–	1,93±0,08 p ₁ <0,01	–
	24 год	3,12±0,10 p<0,05	–	2,32±0,07 p ₁ <0,001	–
КАТ, кат/кг, кат/л	0,25 год	3,02±0,05 p<0,05	11,80±0,46 p<0,01	2,53±0,11 p ₁ <0,01	9,47±0,21 p ₁ <0,001
	1 год	3,82±0,02 p<0,001	14,65±0,35 p<0,001	2,52±0,03 p ₁ <0,001	11,93±0,18 p ₁ <0,001
	24 год	5,12±0,03 p<0,001	15,95±0,25 p<0,001	3,60±0,04 p ₁ <0,001	12,85±0,39 p ₁ <0,001
Г-SH, ммоль/кг	0,25 год	3,40±0,02 p<0,001	–	4,04±0,04 p ₁ <0,001	–
	1 год	3,59±0,06 p<0,001	–	4,39±0,06 p ₁ <0,001	–
	24 год	3,29±0,06 p<0,001	–	4,06±0,05 p ₁ <0,001	–
Примітка. Тут і далі в таблицях даного розділу p ₁ – достовірність щодо АПМ					

Встановлене також вірогідне зростання активності СДГ та ЦХО під впливом L-A на всіх етапах розвитку АПМ: відповідно на 11 і 7 % (0,25 год), 70 і 18 % (1 год) та 74 і 23 % (24 год) (рис. 3.4).

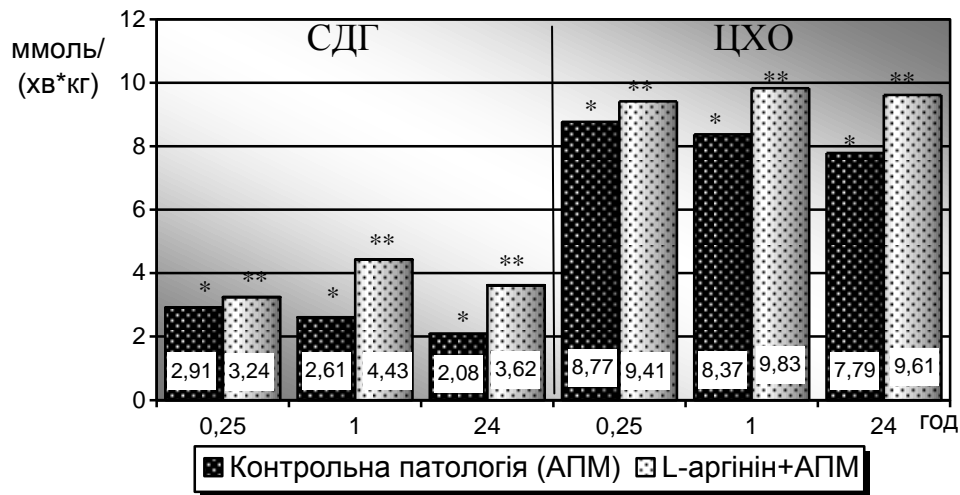


Рис. 3.4 Активність деяких ферментів мітохондрій за умов введення L-аргініну при АПМ

Примітка. В цьому і в наступних рисунках розділу достовірна різниця: * – щодо контролю; ** – щодо АПМ.

Під впливом L-A достовірно зростав вміст NO_2^- в міокарді та сироватці крові на 57 і 49 %, 27 і 79 %, 35 і 69 % відповідно через 0,25, 1 і 24 год розвитку АПМ (рис. 3.5).

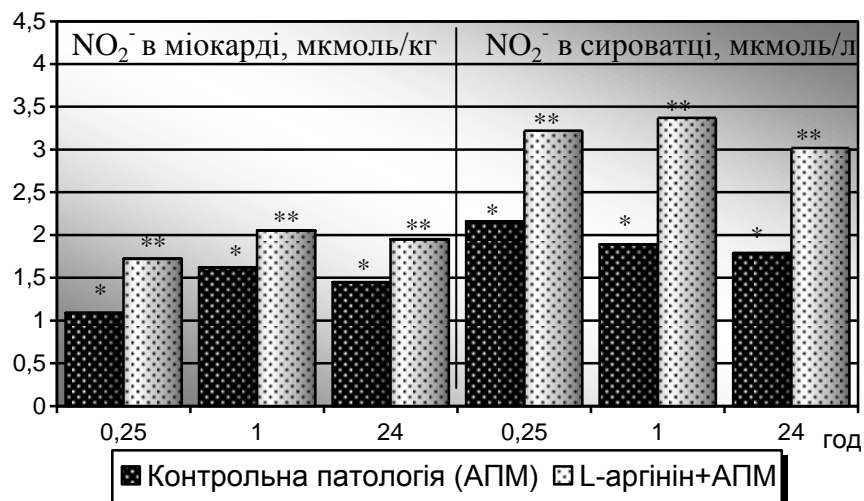


Рис. 3.5 Зміни вмісту NO_2^- під впливом L-аргініну при АПМ

Одночасно L-A при його попередньому введенні спричиняв зростання рівня сечовини у сироватці крові: на 28, 24 і 25 % відповідно через 0,25, 1 і 24 год експерименту (рис. 3.6).

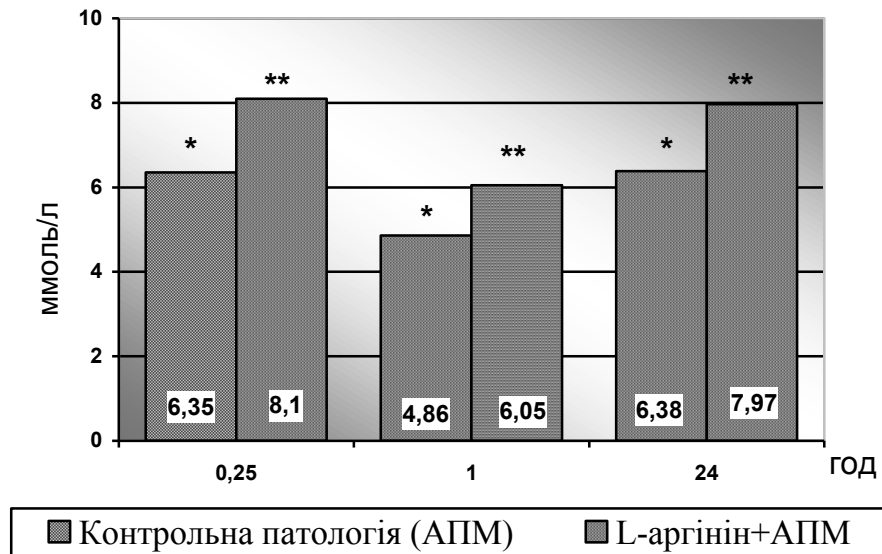


Рис. 3.6 Вплив L-аргініну на рівень сечовини в сироватці крові при АПМ

Як свідчать отримані результати, прекурсор синтезу оксиду азоту L-аргінін при його щоденному введенні протягом 7 днів перед адреналіновим пошкодженням міокарда сприяв відновленню показників прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу, функціонального стану мітохондрій на фоні зростання вмісту нітрит-аніону та рівня сечовини. Одержані дані свідчать про доцільність і перспективність вивчення ефективності препаратів-попередників синтезу оксиду азоту при гіпоксичних ушкодженнях міокарда як потенційних кардіопротекторів метаболічного типу дії.

3.2. Ефективність глутаргіну щодо профілактики порушень систем прооксиданти-антиоксиданти і енергозабезпечення мітохондрій при адреналіновому пошкодженні міокарда

В результаті проведених експериментів встановлено, що використання глутаргіну перед моделюванням АПМ призводило до аналогічних позитивних

змін показників, що вивчалися, але виразніших, що доведено статистично (див. табл. 3.3), ніж при застосуванні L-аргініну.

Так, на тлі семиденного введення ГТГ у цій серії дослідів відбувалося пригнічення активності процесів переокиснення мембранних ліпідів, що проявлялося у зменшенні кількості ТБП і ГПЛ у міокарді відповідно на 26 і 20 % (0,25 год АПМ), 38 і 26 % (1 год), 37 і 28 % (24 год) (див. табл. 3.3). Вміст ТБП у сироватці крові при цьому також достовірно зменшувався: на 24 % – через 0,25 год АПМ, на 20 % – через 1 год, на 28 % – через 24 год (див. табл. 3.3).

Встановлено, що ГТГ при його попередньому введенні спричиняв у серці зниження активності СОД на 19, 28 і 34 %, а також зростання вмісту Г-SH – на 21, 22 і 25 % відповідно на I, II і III термінах АПМ (див. табл. 3.3). Активність іншого ферменту антиоксидантної системи КАТ під впливом препарату також знижувалася в серці та сироватці крові відповідно на 8 і 20 % (0,25 год), 25 і 32 % (1 год), 33 і 40 % (24 год) (див. табл. 3.3). Слід відмітити, що активність ферментів АОС та вміст Г-SH в цих тварин нормалізувалися і досягали рівня відповідних показників контрольної групи ($p > 0,05$ щодо контролю).

Таблиця 3.3

Вплив глутаргіну на вміст ТБК-активних продуктів, гідроперекисей ліпідів та показники антиоксидантної системи при АПМ ($M \pm m$, $n=6$)

Показник		Серія дослідів			
		Контрольна патологія (АПМ)		Глутаргін+АПМ	
		Серце	Кров	Серце	Кров
ГПЛ, $\times 10^3$ ум.од./кг	0,25 год	5,87 \pm 0,09 $p < 0,001$	–	4,70 \pm 0,19 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,05$	–
	1 год	6,58 \pm 0,08 $p < 0,001$	–	4,90 \pm 0,04 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$	–
	24 год	7,10 \pm 0,04 $p < 0,001$	–	5,12 \pm 0,05 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$	–

ТБП, ММОЛЬ/КГ, ММОЛЬ/Л	0,25 год	3,47±0,11 p<0,001	2,31±0,03 p<0,001	2,58±0,04 p ₁ <0,001 p ₂ <0,01	1,76±0,03 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05
	1 год	3,87±0,06 p<0,001	2,60±0,01 p<0,001	2,41±0,07 p ₁ <0,001 p ₂ >0,05	2,07±0,06 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05
	24 год	4,16±0,02 p<0,01	2,94±0,03 p<0,001	2,62±0,11 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05	2,13±0,04 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05
СОД, УМ.ОД./КГ	0,25 год	2,24±0,10 p<0,05	–	1,81±0,05 p ₁ <0,01 p ₂ >0,05	–
	1 год	2,63±0,11 p<0,05	–	1,91±0,08 p ₁ <0,01 p ₂ >0,05	–
	24 год	3,12±0,10 p<0,05	–	2,07±0,10 p ₁ <0,01 p ₂ <0,05	–
КАТ, КАТ/КГ, КАТ/Л	0,25 год	3,02±0,05 p<0,05	11,80±0,46 p<0,01	2,77±0,05 p ₁ <0,02 p ₂ >0,05	9,46±0,37 p ₁ <0,01 p ₂ >0,05
	1 год	3,82±0,02 p<0,001	14,65±0,35 p<0,001	2,88±0,05 p ₁ <0,001 p ₂ <0,01	9,94±0,27 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
	24 год	5,12±0,03 p<0,001	15,95±0,25 p<0,001	3,44±0,02 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05	9,60±0,26 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Г-SH, ММОЛЬ/КГ	0,25 год	3,40±0,02 p<0,001	–	4,13±0,04 p ₁ <0,001 p ₂ >0,05	–
	1 год	3,59±0,06 p<0,001	–	4,37±0,05 p ₁ <0,001 p ₂ >0,05	–
	24 год	3,29±0,06 p<0,001	–	4,14±0,05 p ₁ <0,001 p ₂ >0,05	–
Примітка. p ₂ – достовірність щодо L-аргінін+АПМ					

У цій серії експериментів вірогідно зростала активність мітохондріальних ферментів ЦХО та СДГ відповідно через 0,25, 1 та 24 год розвитку АПМ на 16 і 27 %, 20 і 70 % та 26 і 97 % у (рис. 3.7).

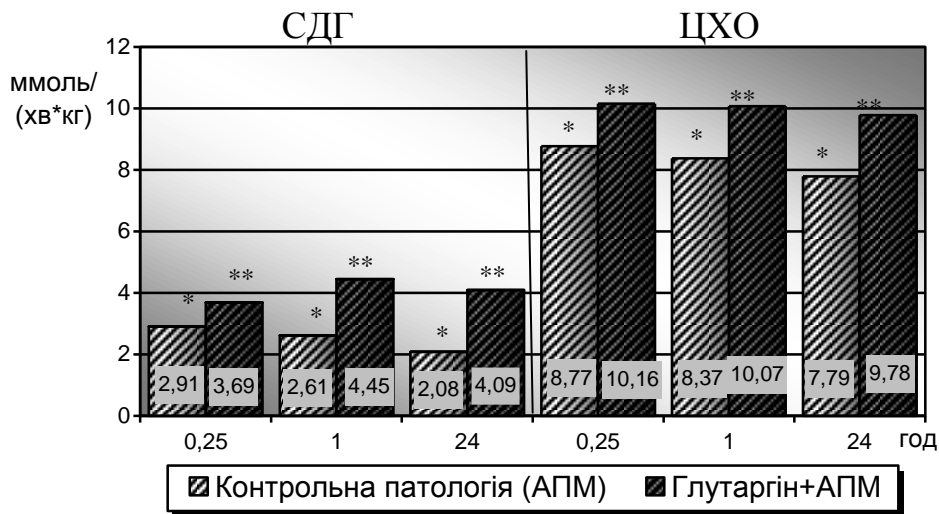


Рис. 3.7 Активність деяких ферментів мітохондрій за умов введення глутаргіну перед АПМ

Рівень NO_2^- під впливом ГТГ при АПМ нормалізувався, про що свідчило достовірне підвищення його вмісту до показників контрольної групи тварин у всі терміни дослідження як у міокарді, так і у сироватці крові відповідно – на 87 і 58 % (0,25 год АПМ), 25 і 70 % (1 год), 36 і 88 % (24 год) (рис. 3.8).



Рис. 3.8 Зміни вмісту NO_2^- в тканинах при АПМ під впливом глутаргіну

Встановлено також, що застосування ГТГ при АПМ призводило до подальшого зростання рівня сечовини у сироватці крові: на 34 % в 1-й термін експерименту, на 35 % – в 2-й термін, на 32 % – в 3-й термін (рис. 3.9).

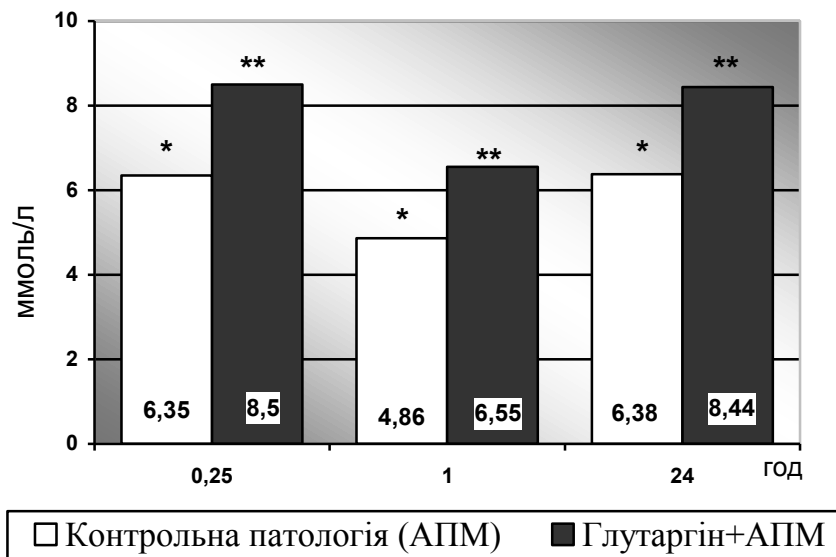


Рис. 3.9 Вплив глутаргіну на рівень сечовини в сироватці крові при АПМ

Отже, введення глутаргіну групі тварин перед АПМ призводило до повної нормалізації рівня нітрит-аніону, зниження показників перекисного окиснення ліпідів, нормалізувало активність ферментів антиоксидантної системи та мітохондрій, підвищувало рівень сечовини у сироватці крові.

Отримані результати свідчать про здатність глутаргіну попереджувати розвиток АПМ та покращувати стан міокарда при кисневій недостатності, що зв'язане з наявністю у препараті цілої низки позитивних ефектів, які проявляються на тлі зростання вмісту нітрит-аніону в серці та сироватці крові піддослідних тварин:

а) антиоксидантна та мембраностабілізуюча дії, які проявляються через здатність зменшувати рівень продуктів ПОЛ і нормалізувати функцію антиоксидантної системи;

б) покращення енергетичного обміну (зростання активності сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази мітохондрій);

в) антиоксична дія, яка реалізується шляхом активації ферментів реакцій знешкодження аміаку і перетворення його в нетоксичну сечовину, рівень котрої зростає у наших дослідженнях.

Слід відмітити, що протекторні властивості глутаргін проявляє не лише за рахунок дії амінокислот, які є його складовими, та їх метаболітів (глутатіону, ГАМК, проліну), що доведено раніше [35, 38, 60], а й внаслідок стимулюючого впливу на синтез NO. Останнє можна припустити, зважаючи на відмічені нами односпрямовані позитивні зміни показників під впливом L-аргініну та глутаргіну та наростання в обох випадках вмісту стабільного метаболіту NO – NO₂⁻.

3.4. Вплив кислоти глутамінової на стан міокарда при його адреналіновому пошкодженні

В результаті проведених експериментів встановлено, що кислота глутамінова також, але меншою мірою (доведено статистично), у порівнянні з L-аргініном та глутаргіном, сприяла гальмуванню процесів ПОЛ. Так, в усі терміни дослідження спостерігалось вірогідне зменшення вмісту ГПЛ у гомогенатах міокарда на 13, 17 і 18 %. Аналогічні по спрямованості результати були одержані при дослідженні вмісту ТБП у міокарді і сироватці крові. У 1-й термін експерименту цей показник достовірно зменшувався відповідно на 15 і 14 %, у 2-й термін – на 25 і 16 %, а у 3-й термін дослідження – на 22 і 15 % (табл. 3.4).

Як свідчать дані, наведені у таблиці 3.4, через 0,25 год експерименту спостерігалась тенденція до зниження активності у міокарді СОД і КАТ, підвищених при АПМ. У наступні досліджувані терміни активність цих ферментів відновлювалася: через 1 год – знижувалася на 19 і 24 %, через 24 год – на 17 і 25 %, порівняно з АПМ (див. табл. 3.4). Односпрямованими були зміни КАТ сироватки крові: її активність у досліджувані терміни знижувалась на 13, 12 і 13 % (див. табл. 3.4). Одночасно у міокарді зростає вміст Г-SH на 12, 17 і 15 % відповідно через 0,25, 1 та 24 год експерименту (див. табл. 3.4).

**Вплив кислоти глютамінової на вміст ТБК-активних продуктів,
гідроперекисей ліпідів та показники антиоксидантної системи при АПМ
($M \pm m$, $n=6$)**

Показник		Серія дослідів			
		Контрольна патологія (АПМ)		Кислота глютамінова +АПМ	
		Серце	Кров	Серце	Кров
ГПЛ, $\times 10^3$ ум.од./кг	0,25 год	5,87 \pm 0,09 $p < 0,001$	–	5,13 \pm 0,01 $p_1 < 0,01$	–
	1 год	6,58 \pm 0,08 $p < 0,001$	–	5,48 \pm 0,05 $p_1 < 0,001$	–
	24 год	7,10 \pm 0,04 $p < 0,001$	–	5,79 \pm 0,04 $p_1 < 0,001$	–
ТБП, ммоль/кг, ммоль/л	0,25 год	3,47 \pm 0,11 $p < 0,001$	2,31 \pm 0,03 $p < 0,001$	2,94 \pm 0,04 $p_1 < 0,01$	1,99 \pm 0,03 $p_1 < 0,001$
	1 год	3,87 \pm 0,06 $p < 0,001$	2,60 \pm 0,01 $p < 0,001$	2,92 \pm 0,11 $p_1 < 0,001$	2,18 \pm 0,03 $p_1 < 0,001$
	24 год	4,16 \pm 0,02 $p < 0,01$	2,94 \pm 0,03 $p < 0,001$	3,24 \pm 0,06 $p_1 < 0,001$	2,49 \pm 0,04 $p_1 < 0,001$
СОД, ум.од./кг	0,25 год	2,24 \pm 0,10 $p < 0,05$	–	2,04 \pm 0,08 $p_1 > 0,05$	–
	1 год	2,63 \pm 0,11 $p < 0,05$	–	2,12 \pm 0,09 $p_1 < 0,02$	–
	24 год	3,12 \pm 0,10 $p < 0,05$	–	2,57 \pm 0,11 $p_1 < 0,02$	–
КАТ, кат/кг, кат/л	0,25 год	3,02 \pm 0,05 $p < 0,05$	11,80 \pm 0,46 $p < 0,01$	2,77 \pm 0,15 $p_1 > 0,05$	10,23 \pm 0,21 $p_1 < 0,01$
	1 год	3,82 \pm 0,02 $p < 0,001$	14,65 \pm 0,35 $p < 0,001$	2,91 \pm 0,13 $p_1 < 0,001$	12,94 \pm 0,25 $p_1 < 0,01$
	24 год	5,12 \pm 0,03 $p < 0,001$	15,95 \pm 0,25 $p < 0,001$	3,84 \pm 0,10 $p_1 < 0,001$	13,86 \pm 0,24 $p_1 < 0,001$
Г-SH, ммоль/кг	0,25 год	3,40 \pm 0,02 $p < 0,001$	–	3,82 \pm 0,06 $p_1 < 0,001$	–
	1 год	3,59 \pm 0,06 $p < 0,001$	–	4,19 \pm 0,06 $p_1 < 0,001$	–
	24 год	3,29 \pm 0,06 $p < 0,001$	–	3,80 \pm 0,04 $p_1 < 0,001$	–

Активність СДГ та ЦХО під впливом КГ зростала на всіх етапах розвитку АПМ відповідно на 26 і 8 % (0,25 год АПМ), 45 і 15 % (1 год) та 56 і 19 % (24 год) (рис. 3.10).

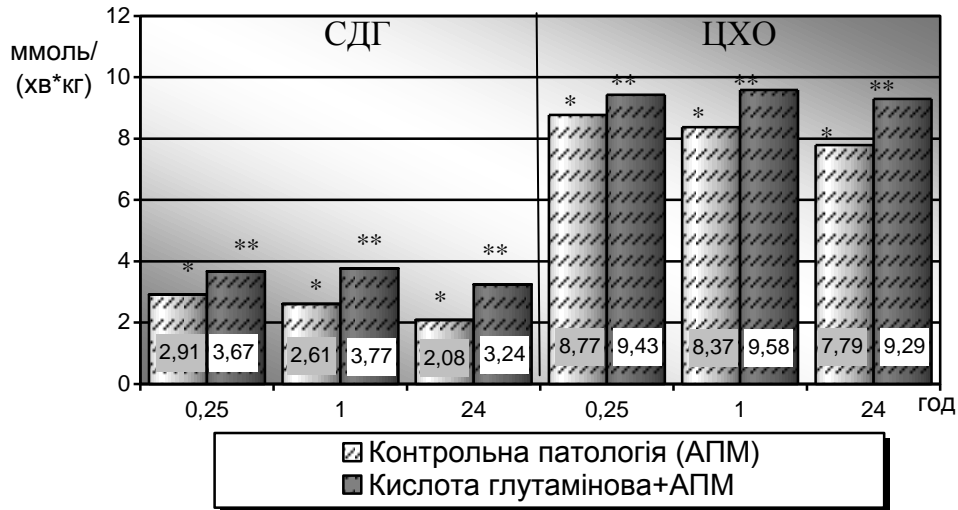


Рис. 3.10 Активність деяких ферментів мітохондрій при АПМ на тлі попереднього введення кислоти глутамінової

Кислота глутамінова не впливала на синтез оксиду азоту в досліджуваних тканинах на всіх етапах розвитку АПМ. Свідченням цього є те, що рівень NO_2^- під впливом КГ вірогідно не змінювався як у міокарді, так і в сироватці крові (рис. 3.11).



Рис. 3.11 Вміст NO_2^- в тканинах при АПМ та при введенні кислоти глутамінової

В результаті семиденного введення КГ перед АПМ рівень сечовини у сироватці крові проявляв тенденцію до зростання у 1-й термін експерименту та зростав на 13 і 16 % відповідно у 2-й і 3-й терміни дослідження (рис. 3.12).

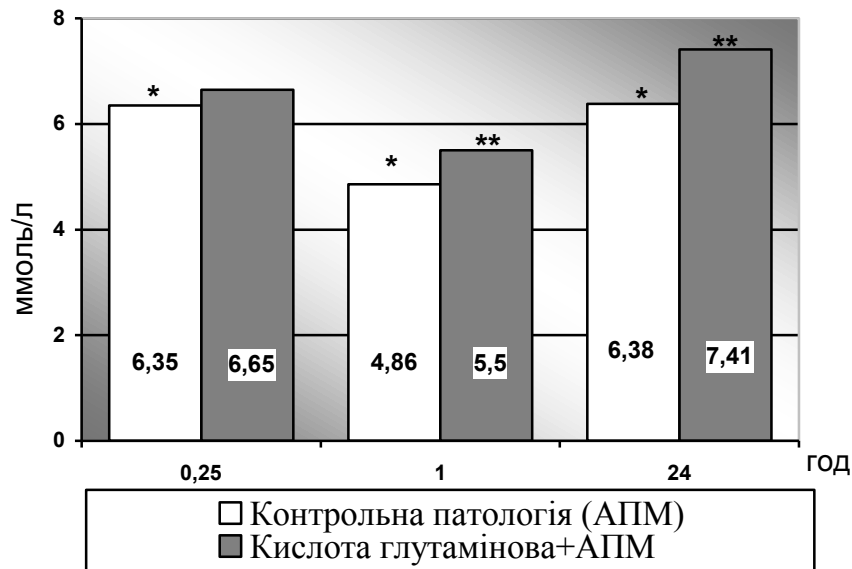


Рис. 3.12 Вплив кислоти глутамінової на рівень сечовини в сироватці крові при АПМ

Таким чином, кислота глутамінова сприяла відновленню порушеної прооксидантно-антиоксидантної рівноваги та функціональної активності мітохондрій у міокарді. Позитивний вплив кислоти глутамінової на метаболічні процеси у міокарді при його адреналіновому пошкодженні не супроводжувався достовірними змінами кількості NO_2^- , що свідчило про відсутність впливу даної речовини на утворення NO.

На основі аналізу результатів, представлених у даному розділі, вивчення патогенезу адреналінового пошкодження міокарда та впливу на його ланки глутаргіну, L-аргініну та кислоти глутамінової при їх 7-денному введенні тваринам перед моделюванням патології, можна зробити такі висновки:

1. Адреналінове пошкодження міокарда на різних етапах свого розвитку (0,25 год, 1 год і 24 год) супроводжувалося зменшенням вмісту нітрит-аніону, активацією процесів перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантних ферментів, порушенням функціонування мітохондріального

електронотранспортного ланцюга, зменшенням пулу відновленого глутатіону у міокарді піддослідних тварин.

2. Стимуляція синтезу оксиду азоту шляхом введення його попередника L-аргініну перед адреналіновим пошкодженням міокарда запобігала інтенсифікації процесів переокиснення мембранних ліпідів, сприяла нормалізації рівня нітрит-аніону, відновленню активності антиоксидантної системи та функціонального стану мітохондрій.

3. В умовах адреналінового пошкодження міокарда аргініновмісний препарат глутаргін сприяв нормалізації рівня нітрит-аніону та активності системи антиоксидантного захисту, виразніше, ніж L-аргінін, стримував накопичення продуктів переокиснення мембранних ліпідів, забезпечував повніше відновлення активності ферментів дихального ланцюга мітохондрій.

4. Глутамінова кислота при адреналіновому пошкодженні міокарда не впливала на рівень нітрит-аніону у серці та проявляла мінімальну активність щодо відновлення показників прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу та мітохондріальних ферментів.

5. Таким чином, повторне введення перед адреналіновим пошкодженням міокарда L-аргініну, кислоти глутамінової чи глутаргіну супроводжувалось зменшенням проявів гострої гіпоксії міокарда. За ефективністю переважали прекурсори синтезу оксиду азоту, серед яких виразніший вплив спричиняв комплексний аргініновмісний препарат глутаргін.

Результати досліджень, представлені у даному розділі, знайшли відображення у таких наукових працях: 82, 83, 85-89, 92, 93-96, 124-127, 129.

РОЗДІЛ 4

ВПЛИВ ІНГІБІТОРІВ РІЗНИХ ІЗОФОРМ NO-СИНТАЗ НА ПАТОГЕНЕТИЧНІ ПРОЯВИ АДРЕНАЛІНОВОГО УШКОДЖЕННЯ МІОКАРДА

У даному розділі представлені результати досліджень, проведених на 72 білих щурах-самцях, метою яких було встановлення особливостей впливу N-нітро-L-аргініну – неселективного блокатора конститутивних та індукцибельної ізоформ NO-синтази та інгібітора індукцибельної NO-синтази (iNOS) аміногуанідину на показники системи вільнорадикального окиснення, стан антиоксидантної системи, активність ферментів мітохондрій, вміст нітрит-аніону в тканинах і рівень сечовини у сироватці крові. Режим введення препаратів та розподіл тварин на серії експериментів представлено у 2 розділі (див. табл. 2.1).

4.1. Вплив неселективного блокатора синтезу оксиду азоту N-нітро-L-аргініну на перебіг адреналінового пошкодження міокарда

Встановлено, що під впливом N-нітро-L-аргініну у серці та сироватці крові при АПМ відбувалось подальше наростання, порівняно з тваринами, які не отримували блокатор, процесів перекисного окиснення ліпідів, активності ферментів антиоксидантної системи захисту, зниження вмісту відновленого глутатіону, нітрит-аніону та активності цитохромоксидази мітохондрій.

У серії дослідів, де вводили L-NAME, вміст ТБП і ГПЛ у міокарді, порівняно з групою тварин з АПМ, був більшим відповідно на 19 і 18 % – через 0,25 год патології, на 22 і 18 % – через 1 год, на 20 і 19 % – через 24 год; вміст ТБП у сироватці крові також достовірно зростав у всі терміни дослідження відповідно на 22, 28 і 23 % (табл. 4. 1).

**Вплив N-нітро-L-аргініну на вміст ТБК-активних продуктів,
гідроперекисей ліпідів та показники антиоксидантної системи при АПМ
($M \pm m$, $n=6$)**

Показник		Серія дослідів				
		Контроль	Контрольна патологія (АПМ)		N-нітро-L-аргінін+ АПМ	
			Серце	Кров	Серце	Кров
ГПЛ, $\times 10^3$ ум.од./кг	0,25 год	4,54 \pm 0,02	5,97 \pm 0,07 $p < 0,001$	–	7,06 \pm 0,02 $p_1 < 0,001$	–
	1 год		6,72 \pm 0,06 $p < 0,001$	–	7,95 \pm 0,04 $p_1 < 0,001$	–
	24 год		7,27 \pm 0,04 $p < 0,001$	–	8,68 \pm 0,05 $p_1 < 0,001$	–
ТБП, ммоль/кг, ммоль/л	0,25 год	C 2,31 \pm 0,04	3,45 \pm 0,09 $p < 0,001$	1,91 \pm 0,05 $p < 0,01$	4,09 \pm 0,09 $p_1 < 0,01$	2,34 \pm 0,04 $p_1 < 0,001$
	1 год	K 1,62 \pm 0,02	4,08 \pm 0,06 $p < 0,001$	2,32 \pm 0,03 $p < 0,001$	4,96 \pm 0,07 $p_1 < 0,001$	2,96 \pm 0,10 $p_1 < 0,01$
	24 год		4,67 \pm 0,07 $p < 0,001$	2,47 \pm 0,03 $p < 0,001$	5,61 \pm 0,07 $p_1 < 0,001$	3,04 \pm 0,07 $p_1 < 0,001$
СОД, ум.од./кг	0,25 год	2,02 \pm 0,11	2,59 \pm 0,07 $p < 0,01$	–	3,51 \pm 0,12 $p_1 < 0,001$	–
	1 год		3,00 \pm 0,05 $p < 0,001$	–	4,33 \pm 0,13 $p_1 < 0,01$	–
	24 год		3,57 \pm 0,07 $p < 0,001$	–	5,58 \pm 0,16 $p_1 < 0,001$	–
КАТ, кат/кг, кат/л	0,25 год	C 2,82 \pm 0,04	3,25 \pm 0,03 $p < 0,001$	12,56 \pm 0,38 $p < 0,01$	4,27 \pm 0,03 $p_1 < 0,001$	18,53 \pm 0,41 $p_1 < 0,001$
	1 год	K 9,85 \pm 0,43	3,82 \pm 0,02 $p < 0,001$	13,80 \pm 0,36 $p < 0,001$	5,18 \pm 0,03 $p_1 < 0,001$	19,00 \pm 0,13 $p_1 < 0,001$
	24 год		5,11 \pm 0,02 $p < 0,001$	15,40 \pm 0,18 $p < 0,001$	6,57 \pm 0,07 $p_1 < 0,001$	22,22 \pm 0,35 $p_1 < 0,001$
Г-SH, ммоль/кг	0,25 год	4,02 \pm 0,03	3,36 \pm 0,05 $p < 0,001$	–	2,87 \pm 0,05 $p_1 < 0,001$	–
	1 год		3,39 \pm 0,05 $p < 0,001$	–	2,66 \pm 0,04 $p_1 < 0,001$	–
	24 год		3,16 \pm 0,04 $p < 0,001$	–	2,10 \pm 0,04 $p_1 < 0,001$	–

Примітка. Тут і далі в таблицях даного розділу p – достовірність щодо контролю, p_1 – достовірність щодо АПМ

Вказані зміни супроводжувалися статистично значущим підвищенням активності СОД у гомогенатах міокарда на 36, 44 та 56 % відповідно у I, II і III терміни експерименту (див. табл. 4.1). На тлі попереднього застосування L-NAME при АПМ відбувалось також подальше зростання активності іншого ферменту антиоксидантної системи захисту – КАТ, як у серці, так і в сироватці крові: на 32 і 48 % (0,25 год), 36 і 38 % (1 год), 29 і 44 % (24 год) (див. табл. 4.1). Разом з тим, у цій серії дослідів спостерігалось вірогідне зменшення пулу Г-SH на всіх етапах розвитку АПМ: відповідно на 15, 21 і 34 % (табл. 4.1).

При попередньому введенні L-NAME перед АПМ відбувалися також зміни у функціонуванні електронотранспортного ланцюга мітохондрій в усі досліджувані терміни: зростала активність СДГ – на 55, 98 і 135 %, але одночасно пригнічувалася активність ЦХО – на 13, 11 і 11 % (рис. 4.1). Таким чином, L-NAME проявляє неоднозначний вплив на функціонування мітохондріальних ферментів – пригнічує активність цитохромоксидази та стимулює активність сукцинатдегідрогенази.

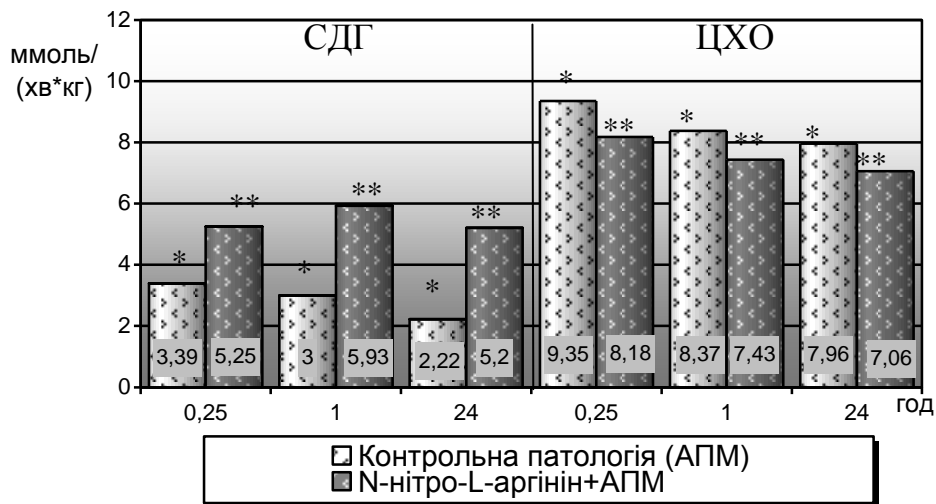


Рис. 4.1 Активність деяких ферментів мітохондрій за умов введення N-нітро-L-аргініну при АПМ

Примітка. Тут і в наступних рисунках даного розділу: * – достовірна різниця відносно контролю, ** – достовірна різниця відносно АПМ.

Вміст нітрит-аніону під впливом L-NAME достовірно знижувався в міокарді і сироватці крові на 22 і 24 %, 28 і 28 %, 33 і 29 % відповідно через 0,25, 1 і 24 год розвитку АПМ (рис. 4. 2).

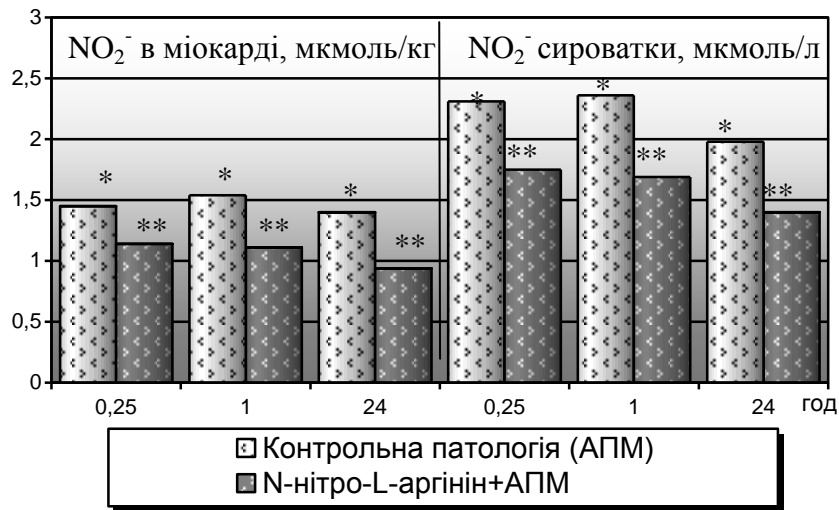


Рис. 4.2 Зміни вмісту NO₂⁻ в тканинах під впливом N-нітро-L-аргініну при АПМ

L-NAME при його попередньому введенні спричиняв зменшення рівня сечовини у сироватці крові на 20, 19 і 27 % відповідно у I, II і III терміни експерименту (рис. 4. 3).

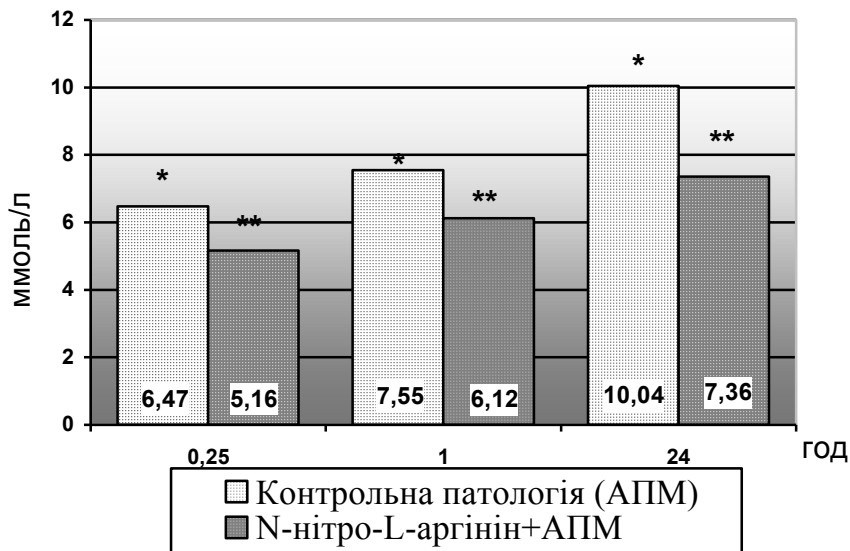


Рис. 4.3 Вплив N-нітро-L-аргініну на рівень сечовини в сироватці крові при АПМ

Таким чином, в результаті проведених досліджень встановлено, що застосування блокатора синтезу оксиду азоту неселективної дії N-нітро-L-

аргініну сприяло наростанню проявів експериментального адреналінового пошкодження міокарда, що проявлялося активацією процесів переокиснення мембранних ліпідів, різноспрямованими змінами компонентів системи антиоксидантного захисту (зростання активності супероксиддисмутази і каталази та виснаження пулу відновленого глутатіону), падінням рівня сечовини і нітрит-аніону, наростанням активності сукцинатдегідрогенази та зниженням активності цитохромоксидази мітохондрій.

4.2. Вплив селективного блокатора синтезу оксиду азоту аміногуанідину на перебіг адреналінового пошкодження міокарда

В результаті проведених експериментів встановлено, що під впливом селективного блокатора iNOS аміногуанідину, як і при застосуванні N-нітро-L-аргініну, активуються процеси переокиснення мембранних ліпідів. Так, вміст ТБП і ГПЛ зростав у серці на 11 і 12 %, на 13 і 13 %, на 13 і 15 % відповідно до термінів дослідження (табл. 4. 2). При введенні АГ достовірно зростала кількість ТБП і у сироватці крові: на 16, 13 і 14 % (див. табл. 4. 2). Причому, ступінь активації процесів переокиснення мембранних ліпідів у цій серії дослідів був достовірно нижчим, порівняно з тваринами, які отримували L-NAME (див. табл. 4. 2).

АГ при його попередньому введенні перед АПМ сприяв подальшому зростанню напруженості ферментів антиоксидантної системи, але ступінь їх активації був достовірно нижчим, порівняно з тваринами, яким вводили L-NAME (див. табл. 4. 2). Так, активність СОД у міокарді зростала у I, II і III терміни досліджень відповідно на 18, 25 і 20 %, у міокарді та сироватці крові відбувалось зростання активності КАТ відповідно на 16 і 16 % (0,25 год), 15 і 16 % (1 год), 13 і 18 % (24 год) (див. табл. 4.2). Достовірно, проте менш виразно, ніж у групі тварин із застосуванням L-NAME, зменшувався в міокарді вміст відновленого глутатіону – на 11, 14 і 22 % відповідно до термінів експерименту (див. табл. 4.2).

Вплив аміногуанідину на вміст гідроперекисей ліпідів, ТБК-активних продуктів та показники антиоксидантної системи при АПМ (M±m, n=6)

Показник		Серія дослідів			
		Контрольна патологія (АПМ)		Аміногуанідин+АПМ	
		Серце	Кров	Серце	Кров
ГПЛ, ×10 ³ ум.од./кг	0,25 год	5,97±0,07 p<0,001	–	6,66±0,03 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	–
	1 год	6,72±0,06 p<0,001	–	7,57±0,03 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	–
	24 год	7,27±0,04 p<0,001	–	8,34±0,04 p ₁ <0,001 p ₂ <0,01	–
ТБП, ммоль/кг, ммоль/л	0,25 год	3,45±0,09 p<0,001	1,91±0,09 p<0,01	3,85±0,10 p ₁ <0,05 p ₂ >0,05	2,21±0,08 p ₁ <0,05 p ₂ >0,05
	1 год	4,08±0,06 p<0,001	2,32±0,03 p<0,001	4,62±0,07 p ₁ <0,01 p ₂ <0,05	2,62±0,07 p ₁ <0,01 p ₂ <0,05
	24 год	4,67±0,07 p<0,001	2,47±0,03 p ₁ <0,001	5,26±0,09 p ₁ <0,01 p ₂ <0,05	2,81±0,08 p ₁ <0,01 p ₂ <0,05
СОД, ум.од./кг	0,25 год	2,59±0,07 p<0,01	–	3,07±0,18 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05	–
	1 год	3,00±0,05 p<0,001	–	3,77±0,13 p ₁ <0,01 p ₂ <0,05	–
	24 год	3,57±0,07 p<0,001	–	4,28±0,11 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	–
КАТ, кат/кг, кат/л	0,25 год	3,25±0,03 p<0,001	12,56±0,38 p<0,01	3,76±0,02 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	14,56±0,25 p ₁ <0,01 p ₂ <0,01
	1 год	3,82±0,02 p<0,001	13,80±0,36 p<0,001	4,41±0,05 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	16,01±0,24 p ₁ <0,01 p ₂ <0,001
	24 год	5,11±0,02 p<0,001	15,40±0,18 p<0,001	5,78±0,04 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	18,12±0,46 p ₁ <0,01 p ₂ <0,001

Г-SH, ммоль/кг	0,25 год	3,36±0,05 p<0,001	–	2,99±0,05 p ₁ <0,01 p ₂ >0,05	–
	1 год	3,39±0,05 p<0,001	–	2,90±0,07 p ₁ <0,01 p ₂ <0,05	–
	24 год	3,16±0,04 p<0,001	–	2,45±0,07 p ₁ <0,001 p ₂ <0,01	–
Примітка. p ₂ – достовірність щодо N-нітро-L-аргінін+АПМ					

Разом з тим, нашими дослідженнями встановлено, що на тлі попереднього введення селективного блокатора іNOS АГ при АПМ спостерігалися різноспрямовані зміни активності ЦХО та СДГ: відмічалось зниження активності ЦХО на 10, 9 і 8 % та зростання активності СДГ на 45, 84 і 118 % відповідно до термінів дослідження (рис. 4.4).

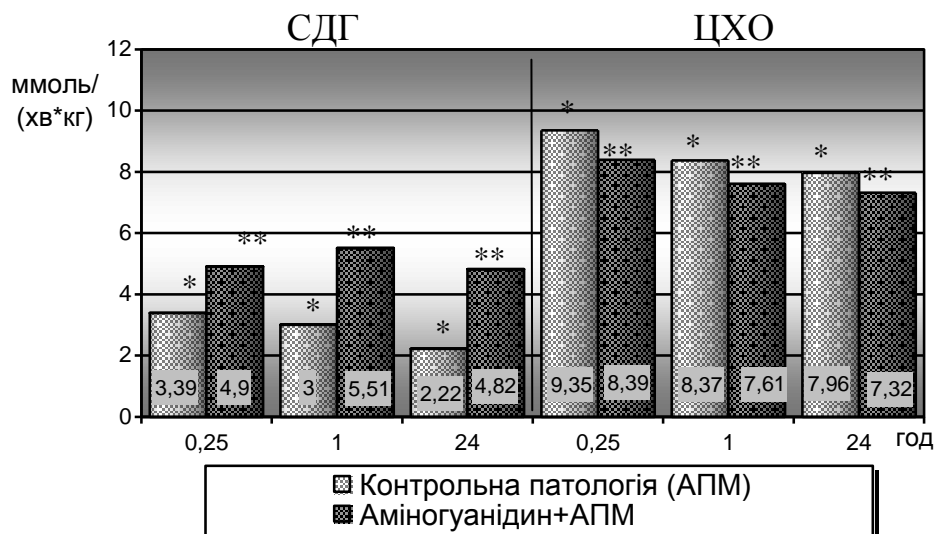


Рис. 4.4 Активність деяких ферментів мітохондрій за умов введення аміногуанідину при АПМ

Введення тваринам селективного блокатора індукцибельної NO-синтази АГ характеризувалося зменшенням вмісту NO₂⁻ у міокарді та сироватці крові відповідно на 16 і 15 % (через 0,25 год АПМ), 18 і 19 % (через 1 год) та 19 і 18 % (через 24 год), порівняно з тваринами, що перенесли АПМ (див. рис. 4.5).

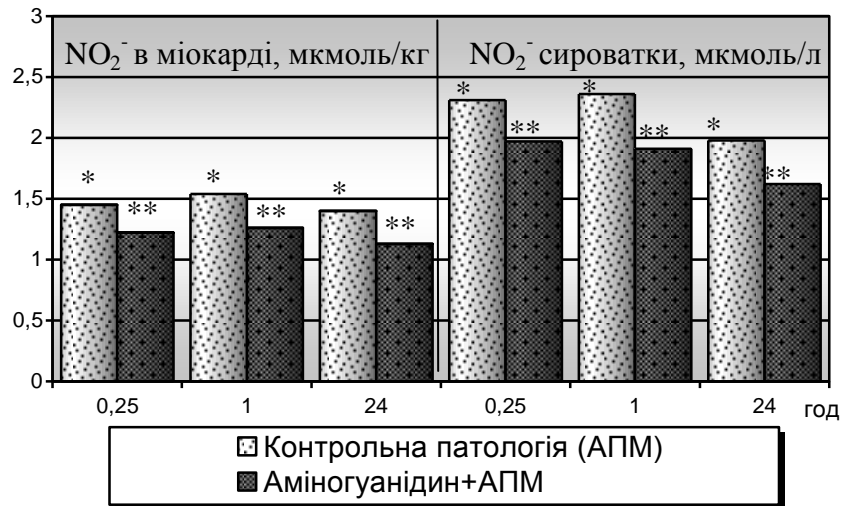


Рис. 4.5 Зміни вмісту NO_2^- під впливом аміногуанідину при АПМ

В цій серії дослідів відбувалося зменшення синтезу сечовини у сироватці крові. Її вміст достовірно падав у I і III терміни дослідження відповідно на 9 і 12 %, а у II термін – проявляв тенденцію до зниження (див. рис. 4.6).

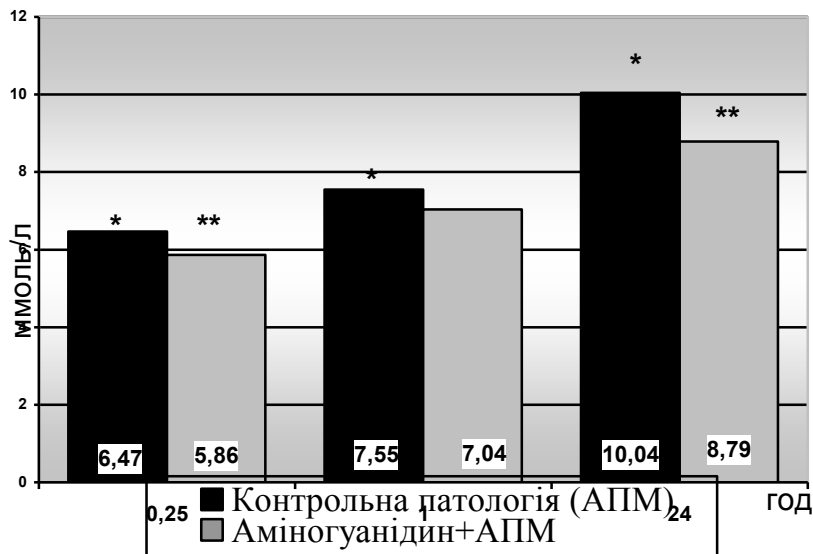


Рис. 4.6 Вплив аміногуанідину на рівень сечовини в сироватці крові при АПМ

Отже, введення селективного блокатора індукцибельної NO-синтази аміногуанідину перед АПМ викликало зменшення рівня синтезу оксиду азоту у міокарді та сироватці крові експериментальних тварин, яке поєднувалося зі зростанням продуктів ліпопероксидації та активності ферментів антиоксидантної системи, зменшенням вмісту відновленого глутатіону, неоднозначною реакцією ферментів мітохондрій – активацією

сукцинатдегідрогенази та пригніченням функціональної здатності цитохромоксидази. Дані зміни кількісно менш виражені, ніж при застосуванні N-нітро-L-аргініну.

На основі аналізу отриманих результатів, представлених у даному розділі, встановлення впливу на ланки патогенезу адреналінового пошкодження міокарда N-нітро-L-аргініну та аміногуанідину при їх 4-денному введенні тваринам перед моделюванням патології можна зробити такі висновки:

1. Введення перед моделюванням адреналінового пошкодження міокарда блокаторів синтезу оксиду азоту (N-нітро-L-аргініну або аміногуанідину) призводило до подальшого прогресування у серцевому м'язі дисбалансу у системах прооксиданти-антиоксиданти та мітохондріального транспорту електронів на тлі гальмування синтезу оксиду азоту у міокарді та сироватці крові експериментальних тварин.

2. Ступінь негативного впливу на стан міокарда при його гострій гіпоксії, викликаній надлишком катехоламінів, вищий при застосуванні неселективного блокатора NO-синтаз N-нітро-L-аргініну, ніж при введенні селективного інгібітора індукцибельної ізоформи даного ферменту аміногуанідину.

Результати, представлені у розділі 4, знайшли відображення у наступних наукових працях: 82-84, 87, 93, 124, 130.

РОЗДІЛ 5

ВПЛИВ ГЛУТАРГІНУ ТА ІНГІБІТОРІВ NO-СИНТАЗ
ПРИ ЇХ КОМБІНОВАНОМУ ВВЕДЕННІ НА ПЕРЕБІГ
АДРЕНАЛІНОВОГО ПОШКОДЖЕННЯ МІОКАРДА

У результаті досліджень, які описані у попередніх розділах 3 та 4, було встановлено, що попередник синтезу NO L-аргінін та, більшою мірою, комплексний аргініновмісний препарат глутаргін проявляють захисний ефект при гострій гіпоксії міокарда, спричиненій адреналіном, а неселективний блокатор NO-синтаз N-нітро-L-аргінін та селективний блокатор її індукційної ізоформи аміногуанідин погіршують перебіг цієї патології. Тому можна зробити припущення, що певною мірою протекторні властивості глутаргину при гострому адреналіновому пошкодженні міокарда реалізуються через активацію утворення NO. Для перевірки цієї тези ми вирішили вивчити ефективність глутаргину (L-аргініну-L-глутамату) при його поєднаному використанні з блокаторами синтезу NO при АПМ, що дозволило б з'ясувати роль оксиду азоту в реалізації кардіоцитопротекторної дії глутаргину.

Отже, метою досліджень, проведених на 48 білих щурах-самцях, результати яких представлені у даному розділі, було встановлення особливостей впливу комбінованого застосування глутаргину та блокаторів NO-синтаз – неселективного N-нітро-L-аргініну та селективного інгібітора індукційної NO-синтази (iNOS) аміногуанідину – на показники прооксидантно-антиоксидантної системи, активність ферментів тканинного дихання, вміст нітриг-аніону у тканинах і рівень сечовини у сироватці крові. Режим введення препаратів та розподіл тварин на серії експериментів представлено у 2 розділі (див. табл. 2.1). Вплив глутаргину та блокаторів NOS при їх комбінованому профілактичному введенні протягом 7 днів на вищезазначені параметри стану міокарда при його гострому адреналіновому пошкодженні вивчався через 1 годину та 24 години після розвитку патології.

Планувалось також порівняти результати при окремому використанні глутаргіну при АПМ та при його поєднаному застосуванні з інгібіторами NO-синтаз.

В результаті проведених експериментів встановлено, що після семиденного введення ГТГ з L-NAME або ГТГ і АГ у серцевому м'язі вірогідно зростав вміст ГПЛ – на 13 і 14 % та 10 і 9 % відповідно через 1 год та через 24 год розвитку патології, порівняно з групою тварин, яким вводили лише ГТГ (табл. 5.1). Вміст ТБП при цьому також достовірно зростав: у міокарді, за винятком одного досліджуваного терміну, – на 24 і 15 % через 1 год розвитку АПМ та на 21 і 14 % (проявляв тенденцію до зростання) через 24 год розвитку патології; в сироватці крові – на 26 і 12 % та на 24 і 14 % в обидва терміни експерименту (див. табл. 5.1). Причому, комбіноване застосування ГТГ і L-NAME більшою мірою (доведено статистично) спричиняло зростання вмісту ТБП у сироватці крові, ніж комбіноване застосування ГТГ і АГ (див. табл. 5.1). Отже, при поєднаному застосуванні глутаргіну з блокаторами NO-синтаз відмічалось зростання показників перекисного окиснення ліпідів, порівняно з групою тварин з АПМ, яким профілактично вводили лише ГТГ.

При АПМ поєднане застосування ГТГ і L-NAME та ГТГ і АГ супроводжувалось зростанням активності СОД в серцевому м'язі у II та III досліджувані терміни – на 41 і 38 % та 20 і 24 % відповідно (див. табл. 5.1). Під впливом ГТГ та L-NAME і ГТГ та АГ при їх комбінованому застосуванні відбувалось також підвищення активності КАТ у серці та сироватці крові відповідно на 33 і 27 % та 36 і 37 % (1 год), на 19 і 17 % та 18 і 16 % (24 год) (див. табл. 5.1). Вказані зміни активності антиоксидантних ферментів супроводжувались достовірним зменшенням у міокарді вмісту Г-SH: на 18 і 27 % та 10 і 13 % відповідно у II і III терміни експерименту (див. табл. 5.1).

Показники перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи на тлі поєднаного введення глютаргіну та блокаторів NO-синтаз при адреналіновому пошкодженні міокарда ($M \pm m$, $n=6$)

Показник		Серія дослідів			
		Термін АПМ	Глутаргін+ АПМ	Глутаргін+ N-нітро-L-аргінін+ АПМ	Глутаргін+ аміногуанідин+ АПМ
ГПЛ	Серце, $\times 10^3$ ум.од./кг	1 год	4,90 \pm 0,04 p<0,001	5,55 \pm 0,09 p ₁ <0,001	5,38 \pm 0,03 p ₁ <0,01 p ₂ >0,05
		24 год	5,12 \pm 0,05 p<0,001	5,83 \pm 0,07 p ₁ <0,001	5,58 \pm 0,03 p ₁ <0,01 p ₂ >0,05
ТБП	Серце, ммоль/кг	1 год	2,41 \pm 0,07 p<0,001	3,00 \pm 0,08 p ₁ <0,01	2,78 \pm 0,09 p ₁ <0,02 p ₂ >0,05
		24 год	2,62 \pm 0,11 p<0,001	3,16 \pm 0,07 p ₁ <0,01	2,97 \pm 0,11 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05
	Кров, ммоль/л	1 год	2,07 \pm 0,06 p<0,001	2,61 \pm 0,09 p ₁ <0,01	2,32 \pm 0,08 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05
		24 год	2,13 \pm 0,04 p<0,001	2,64 \pm 0,10 p ₁ <0,01	2,42 \pm 0,09 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05
СОД	Серце, ум.од./кг	1 год	1,91 \pm 0,08 p<0,01	2,69 \pm 0,09 p ₁ <0,001	2,29 \pm 0,11 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05
		24 год	2,07 \pm 0,10 p<0,01	2,86 \pm 0,11 p ₁ <0,01	2,57 \pm 0,11 p ₁ <0,02 p ₂ >0,05
КАТ	Серце, кат/кг	1 год	2,88 \pm 0,05 p<0,001	3,82 \pm 0,02 p ₁ <0,001	3,43 \pm 0,02 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
		24 год	3,44 \pm 0,02 p<0,001	4,38 \pm 0,06 p ₁ <0,001	4,03 \pm 0,07 p ₁ <0,001 p ₂ <0,01

Продовж. табл. 5.1

	Кров, кат/л	1 год	9,94±0,27 p<0,001	13,52±0,36 p ₁ <0,001	11,68±0,66 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05
		24 год	9,60±0,26 p<0,001	13,16±0,47 p ₁ <0,001	11,11±0,28 p ₁ <0,01 p ₂ <0,01
Г-SH	Серце, ммоль/кг	1 год	4,37±0,05 p<0,001	3,59±0,06 p ₁ <0,001	3,91±0,11 p ₁ <0,01 p ₂ <0,05
		24 год	4,14±0,05 p<0,001	3,01±0,14 p ₁ <0,001	3,60±0,05 p ₁ <0,001 p ₂ <0,01
Примітка. В цій таблиці достовірність p – щодо контрольної патології (АПМ), p ₁ – щодо глутаргін+АПМ, p ₂ – щодо глутаргін+N-нітро-L-аргінін+АПМ					

Встановлено, що попереднє введення ГТГ та L-NAME і ГТГ та АГ супроводжувалось достовірним зниженням активності ЦХО на 13 та 10 % (1 год) і на 12 та 8 % (24 год) і зростанням активності СДГ через 1 год АПМ – на 21 та 4 %, через 24 год – на 35 та 11 % (рис. 5.1). Зростання активності СДГ при введенні ГТГ з АГ носило характер тенденції та було недостовірним.

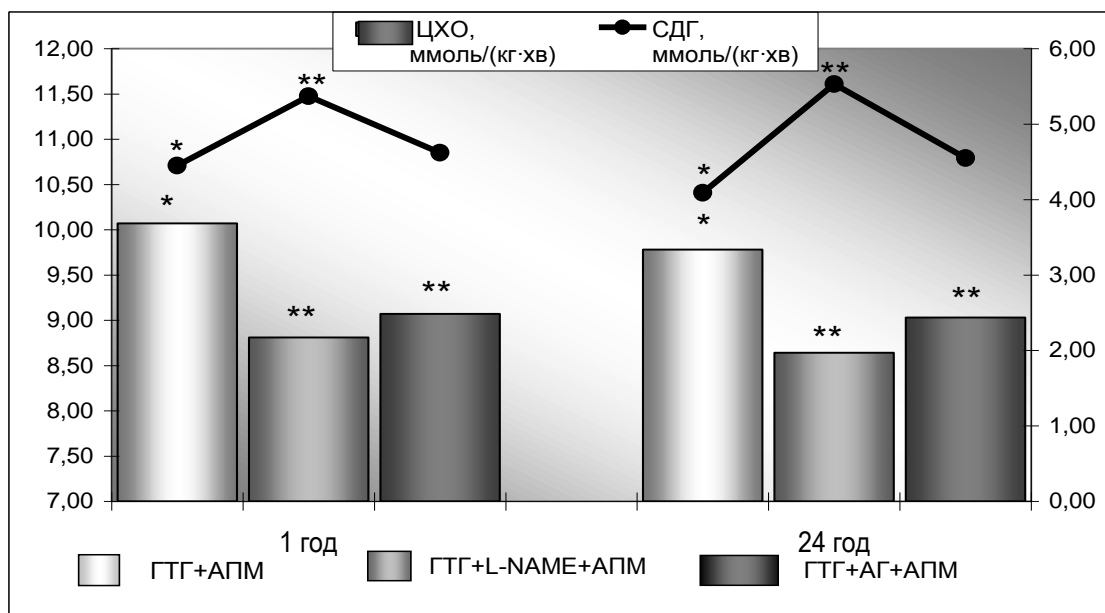


Рис. 5.1 Зміни активності мітохондріальних ферментів при АПМ на тлі попереднього введення глутаргіну та його комбінації з блокаторами NOS

Примітка. Тут і в наступних рисунках даного розділу: * – достовірна різниця відносно АПМ, ** – достовірна різниця відносно глутаргін+АПМ.

Поєднане введення ГТГ з L-NAME чи АГ перед АПМ супроводжувалося статистично значущим зниженням рівня NO_2^- у всі терміни дослідження як у міокарді, так і у сироватці крові – на 27 і 17 % та 31 і 20 % – через 1 год АПМ, 28 і 16 % та 36 і 27 % – через 24 год, порівняно з групою тварин, яким вводили лише ГТГ перед моделюванням адреналінового пошкодження міокарда (рис. 5.2).

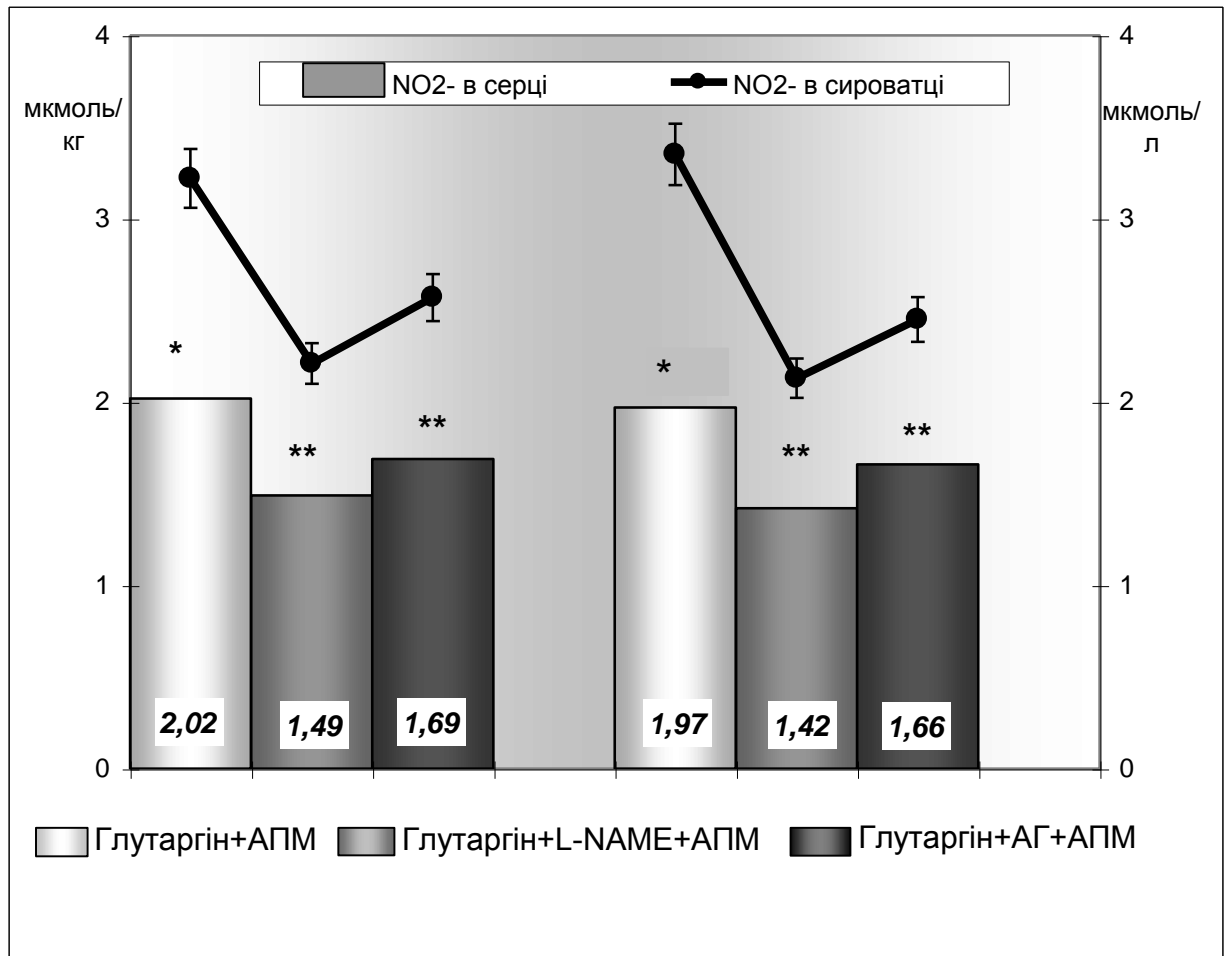


Рис. 5.2 Зміни вмісту NO_2^- при комбінованому застосуванні глутаргіну та інгібіторів NOS при адреналіновому пошкодженні міокарда

Встановлено, що ГТГ і L-NAME та ГТГ і АГ при їх комбінованому застосуванні перед адреналіновим пошкодженням міокарда призводили до зменшення рівня сечовини у сироватці крові: на 13 і 11 % – в 2-й термін експерименту, на 17 і 9 % – в 3-й термін (рис. 5.3).

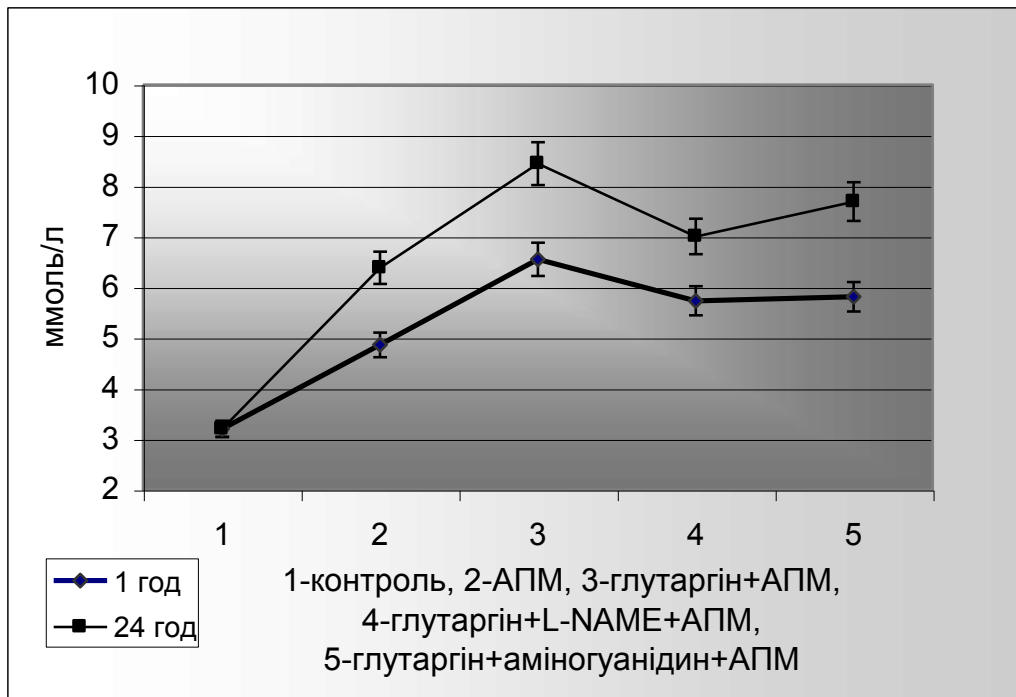


Рис. 5.3 Вплив глутаргіну та N-нітро-L-аргініну і глутаргіну та аміногуанідину на рівень сечовини в сироватці крові при адреналіновому пошкодженні міокарда

Таким чином, на основі аналізу отриманих результатів, представлених у даному розділі, з'ясування особливостей впливу поєднаного застосування глутаргіну та блокаторів NO-синтаз при їх введенні протягом 7 днів перед адреналіновим пошкодженням міокарда, можна зробити такі висновки:

1. Протекторна активність глутаргіну при гострому адреналіновому пошкодженні міокарда певною мірою зв'язана з його здатністю стимулювати синтез оксиду азоту, оскільки поєднане повторне введення тваринам перед моделюванням патології разом з глутаргіном блокаторів NO-синтаз (N-нітро-L-аргініну або аміногуанідину) достовірно зменшує його позитивний вплив на метаболічні процеси у міокарді. Так, комбіноване застосування глутаргіну з N-нітро-L-аргініном або аміногуанідином супроводжувалося зростанням показників перекисного окиснення ліпідів, підвищенням активності ферментів антиоксидантної системи та сукцинатдегідрогенази мітохондрій, зменшенням активності цитохромоксидази, вмісту відновленого глутатіону, нітрит-аніону

та рівня сечовини у досліджуваних тканинах, порівняно з групою тварин, яким вводили лише глутаргін перед моделюванням АПМ.

2. Ступінь гальмування позитивного впливу глутаргіну при гострому адреналіновому пошкодженні міокарда був вищим при його комбінованому застосуванні з неселективним блокатором NO-синтаз N-нітро-L-аргініном та нижчим у тварин, яким вводили глутаргін і аміногуанідин.

3. Зменшення позитивного впливу глутаргіну на стан міокарда за умов розвитку АПМ при його поєднаному застосуванні з блокаторами NO-синтаз, ймовірно, пов'язано з інгібуванням процесу утворення ендogenous оксиду азоту останніми, що підтверджується зменшенням вмісту NO_2^- .

4. Проведені експериментальні дослідження свідчать про доцільність корекції глутаргіном метаболічних порушень, які виникають при гострій гіпоксії міокарда на ґрунті гіперкатехолемії, що є передумовою для подальшого вивчення властивостей препарату з метою розширення показань для його клінічного застосування.

Результати досліджень, представлених у даному розділі, опубліковані в роботі 123.

РОЗДІЛ 6

ПОРІВНЯЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ГЛУТАРГІНУ ТА ТРИМЕТАЗИДИНУ
НА ПЕРЕБІГ АДРЕНАЛІНОВОГО ПОШКОДЖЕННЯ МІОКАРДА

Одним із традиційних методів попередження та лікування гіпоксичних розладів є призначення речовин-антигіпоксантив, які сприяють більш економному споживанню циркулюючого в крові кисню, покращують його утилізацію в організмі, зменшують потребу в ньому органів і тканин і, таким чином, підвищують стійкість організму до кисневої недостатності [131]. Серед фармакологічних препаратів з антигіпоксичними властивостями можна виділити цілий ряд високоефективних антигіпоксантив специфічної чи неспецифічної дії, зокрема емоксипін, натрію оксибутират, убіхінон, амтизол, мексидол, пірацетам, актовегін, бемітил, тіотріазолін, предуктал (триметазидин), токоферолу ацетат та ін. [99, 131]. Продовжується пошук нових антигіпоксантив серед природних метаболітів організму, зокрема амінокислот [60, 99, 131, 166]. Одним із таких засобів є глутаргін, який поєднує в своєму складі дві амінокислоти – глутамат і аргінін. Препарат є попередником синтезу оксиду азоту та проявляє антитоксичний, антиагрегантний, енергозабезпечуючий, антиоксидантний, антигіпоксичний, білоксинтезуючий, актопротекторний ефекти [9, 22, 27, 48, 105, 160, 166]. Нашими дослідженнями, результати яких описані у розділі 3, доведено позитивний вплив глутаргину на перебіг гострої гіпоксії міокарда, спричиненої адреналіном [85, 86, 88-90, 93, 94, 96, 126, 127, 129]. З огляду на вищесказане доцільним було б вивчення порівняльного впливу кардіоцитопротектора триметазидину як референс-препарату та глутаргину на перебіг гострого адреналінового пошкодження міокарда.

Отже, метою досліджень, проведених на 24 білих щурах-самцях, результати яких представлені у даному розділі, було порівняння особливостей впливу глутаргину та триметазидину на показники прооксидантно-

антиоксидантної системи, активність трансаміназ і ферментів тканинного дихання, вміст нітрит-аніону і сечовини у досліджуваних тканинах, толерантність тварин до фізичного навантаження, а також на функціональний стан серця (ЕКГ-дослідження) при АПМ. Режим введення препаратів та розподіл тварин на серії експериментів представлено у 2 розділі (див. табл. 2.1). Вплив глутаргіну та триметазидину на показники метаболічного стану міокарда при його гострому адреналіновому пошкодженні вивчався через 24 години після розвитку патології; вплив зазначених речовин на параметри електрокардіограми – на ранніх етапах АПМ, а визначення толерантності тварин до фізичного навантаження проводили, використовуючи тест на тривалість плавання, через 1 год та 1 добу від моменту розвитку гострої гіпоксії міокарда.

Щоденне введення глутаргіну та триметазидину, упродовж 7 днів до моделювання АПМ, попереджувало накопичення продуктів перекисного окиснення ліпідів у серці, супроводжувалося відновленням активності ферментів антиоксидантної системи, зменшенням активності амінотрансфераз та зростанням енергозабезпечувальних процесів у мітохондріях піддослідних тварин. Збільшувалася толерантність тварин до фізичного навантаження та відмічались позитивні зміни досліджуваних параметрів на ЕКГ. Вищевказані зміни були однотипними при застосуванні обох препаратів, відмінності носили лише кількісний характер. При введенні глутаргіну відбувалося зростання вмісту нітрит-аніону у серці та сироватці крові піддослідних тварин.

У процесі визначення толерантності тварин до фізичного навантаження встановлено, що через 1 та 24 год розвитку АПМ середній час тривалості плавання щурів зменшувався відповідно на 38 і 49 % у порівнянні з інтактними тваринами. При повторному лікувально-профілактичному введенні препаратів фізична працездатність зростала через 1 год експерименту: на тлі застосування глутаргіну – на 36 %, а при введенні триметазидину – на 29 %, порівняно з групою тварин з АПМ, однак ця різниця між групами тварин, яким вводили

глутаргін і триметазидин, не була статистично значимою. У тварин через 24 год розвитку АПМ, що отримували профілактично глутаргін чи триметазидин, тривалість плавання зростає відповідно на 39 та 27 %, порівняно з контролем патології, причому різниця між цим показником у групах щурів, яким вводили глутаргін та триметазидин, була достовірною.

Таким чином, ТМЗ та, більшою мірою, ГТГ при їх введенні перед гострим гіпоксичним пошкодженням міокарда сприяли зростанню толерантності тварин до фізичного навантаження.

Таблиця 6.1

Вплив глутаргіну та триметазидину на тривалість плавальної проби у щурів з модельованим АПМ ($M \pm m$, $n=6$)

Показник	Група досліджуваних тварин			
	Контроль	АПМ	Глутаргін+ АПМ	Триметазидин+АПМ
Тривалість плавання через 1 год АПМ, с	159,7±3,5	98,5±5,1 $p < 0,001$	134,2±5,9 $p_1 < 0,01$	127,5±7,6 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$
Тривалість плавання через 24 год АПМ, с	172,5±6,8	87,5±2,4 $p < 0,001$	121,7±2,3 $p_1 < 0,001$	110,8±2,6 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$
Примітка. Тут і далі в таблицях даного розділу p – достовірність щодо контролю, p_1 – достовірність щодо контрольної патології (АПМ), p_2 – достовірність щодо глутаргін+АПМ				

Розвиток патології супроводжувався порушенням функціонального стану міокарда, на що вказують достовірні зміни показників ЕКГ (табл. 6.2). Зокрема, при АПМ спостерігали розвиток тахікардії (зменшення інтервалу RR на 10 % та, відповідно, підвищення ЧСС на 11 %) та подовження інтервалу QRST, що було доведено статистично. Призначення протягом 7 днів перед моделюванням АПМ ГТГ або ТМЗ супроводжувалось на ЕКГ відновленням ЧСС, тривалості інтервалу RR та інтервалу QRST, які практично сягали рівня контрольних тварин (табл. 6.2).

**Вплив глутаргіну та триметазидину на деякі параметри ЕКГ у щурів з
модельованим АПМ (M±m, n=6)**

Показ- ник	Група досліджуваних тварин			
	Контроль	АПМ	Глутаргін+ АПМ	Триметазидин +АПМ
Інтервал RR, с	0,114±0,002	0,103±0,002 p<0,05	0,115±0,003 p ₁ <0,05	0,114±0,001 p ₁ <0,01 p ₂ >0,05
ЧСС, уд./хв	527,580±10,876	585,940±11,252 p<0,01	511,880±12,363 p ₁ <0,01	526,200±5,086 p ₁ <0,01 p ₂ >0,05
Інтервал QRST, с	0,0708±0,0003	0,0722±0,0002 p<0,05	0,0716±0,0007 p ₁ >0,05	0,0714±0,0009 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05
SP(сист.п оказн.), абс. вел.	62,322±1,290	69,889±0,740 p<0,01	62,132±1,052 p ₁ <0,01	62,662±0,807 p ₁ <0,01 p ₂ >0,05

Водночас, в групі тварин з модельованою патологією мало місце статистично значиме зростання систолічного показника за Фогельсоном-Чорногоровим на 12 % стосовно контрольних щурів. Після проведеної терапії експериментального АПМ за допомогою ГТГ, так само як і ТМЗ, спостерігалось вірогідне зниження даного показника відповідно на 11 і 10 % до рівня контрольних тварин.

При біохімічному дослідженні встановлено, що через 24 год розвитку АПМ у серці та сироватці крові знижувався вміст NO_2^- відповідно на 34 та 43 % (табл. 6.3). Пригнічення синтезу NO супроводжувалося зростанням вмісту в гомогенатах міокарда продуктів переокиснення мембранних ліпідів – ТБП на 86 %, ГПЛ на 64 %; активацією ферментів антиоксидантної системи – КАТ на 63 %, СОД на 52 %; зниженням активності мітохондріальних ферментів – ЦХО на 26 %, СДГ на 51 % та зниженням вмісту відновленого глутатіону на 22 % (див. табл. 6.3). При АПМ у сироватці крові нами встановлені такі зміни: посилювався синтез ТБП – на 72 %, зростала ферментативна активність КАТ на 52 %, зростав вміст сечовини в 2,6 раза порівняно з тваринами контрольної

групи (див. табл. 6.3). АПМ характеризувалося розвитком цитолізу кардіоміоцитів. Так, на момент закінчення моделювання патології, у сироватці крові відмічалось значне і достовірне, відносно контрольних щурів, зростання активності АсАТ та АлАТ відповідно на 114 та 31 % (рис. 6.1).

Прояви АПМ при профілактичному введенні ГТГ чи ТМЗ характеризувалися якісно однотипною метаболічною відповіддю. Відмінності між зрушеннями одних і тих же показників у серці подекуди носили лише кількісний характер (див. табл. 6.3).

Зокрема, застосування ГТГ, так само як і ТМЗ, справляло позитивний вплив на показники ліпопероксидації, що проявлялося статистично значимим зменшенням вмісту ТБП та ГПЛ в міокарді щурів відповідно на 45 і 32 % та 38 і 26 %, а також вмісту ТБП у сироватці крові на 27 та 22 % (див. табл. 6.3). Це супроводжувалося зниженням у серці активності ферментів антиоксидантної системи – СОД і КАТ відповідно на 21 і 33 % (при застосуванні ГТГ) та на 18 і 32 % (при застосуванні ТМЗ), достовірним зростанням пулу відновленого глутатіону на 33 і 19 % відповідно (див. табл. 6.3). Одночасно у сироватці крові при введенні ГТГ, як і ТМЗ, відмічено зниження активності КАТ відповідно на 34 і 20 % (див. табл. 6.3). Співставляючи отримані результати можна сказати, що профілактичне введення перед експериментальним АПМ глутаргіну, подібно до триметазидину, попереджувало надмірну активацію процесів переокиснення мембранних ліпідів (ГПЛ і ТБП) та супроводжувалося відновленням активності антиоксидантної системи: ферментів СОД і КАТ та вмісту відновленого глутатіону. При цьому за рівнем відновлення зазначених показників прооксидантно-антиоксидантної системи вплив глутаргіну практично співставлявся з триметазидином. Стабілізація процесів пероксидації на фоні застосування глутаргіну, так само як і триметазидину, може бути свідченням їх антиоксидантної активності.

Застосування ГТГ призводило до інтенсифікації енергозабезпечувальних процесів у мітохондріях серця (див. табл. 6.3), про що свідчить активування ЦХО на 23 % та СДГ на 70 %. ТМЗ також призводив до зростання активності

ЦХО і СДГ відповідно на 30 і 89 %. Позитивний вплив ТМЗ на функціонування електронотранспортного ланцюга мітохондрій переважав аналогічну дію ГТГ, що було доведено статистично (див. табл. 6.3).

Таблиця 6.3

Деякі показники активності процесів перекисного окиснення ліпідів, антиоксидантної системи та мітохондріальних ферментів на тлі введення глутаргіну чи триметазидину перед моделюванням адреналінового пошкодження міокарда ($M \pm m$, $n=6$)

Показник	Серія дослідів			
	Контроль	АПМ	Глутаргін+ АПМ	Триметазидин+АПМ
Гомогенат міокарда				
ГПЛ, $\times 10^3$ ум.од./кг	4,43 \pm 0,06	7,25 \pm 0,11 $p < 0,001$	4,92 \pm 0,05 $p_1 < 0,001$	5,36 \pm 0,08 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$
ТБП, ммоль/кг	2,29 \pm 0,15	4,27 \pm 0,08 $p < 0,001$	2,36 \pm 0,12 $p_1 < 0,001$	2,66 \pm 0,11 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$
СОД, ум.од./кг	1,86 \pm 0,11	2,81 \pm 0,14 $p < 0,01$	2,22 \pm 0,11 $p_1 < 0,02$	2,32 \pm 0,12 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$
КАТ, кат/кг	3,06 \pm 0,06	4,98 \pm 0,07 $p < 0,001$	3,34 \pm 0,19 $p_1 < 0,001$	3,37 \pm 0,14 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$
Г-SH, ммоль/кг	3,89 \pm 0,18	3,02 \pm 0,14 $p < 0,01$	4,01 \pm 0,10 $p_1 < 0,001$	3,59 \pm 0,06 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,05$
ЦХО, ммоль/(хв кг)	10,57 \pm 0,15	7,85 \pm 0,11 $p < 0,001$	9,66 \pm 0,09 $p_1 < 0,001$	10,21 \pm 0,17 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$
СДГ, ммоль/(хв кг)	4,84 \pm 0,12	2,36 \pm 0,10 $p < 0,001$	4,00 \pm 0,10 $p_1 < 0,001$	4,45 \pm 0,12 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$
NO ₂ ⁻ , мкмоль/кг	2,01 \pm 0,10	1,33 \pm 0,09 $p < 0,01$	1,99 \pm 0,08 $p_1 < 0,01$	1,32 \pm 0,12 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,01$

Сироватка крові				
ТБП, ммоль/л	1,68±0,05	2,89±0,05 p<0,001	2,10±0,06 p ₁ <0,001	2,25±0,07 p ₁ <0,001 p ₂ >0,05
КАТ, кат/л	9,49±0,15	14,46±0,41 p<0,001	9,58±0,30 p ₁ <0,001	11,58±0,35 p ₁ <0,001 p ₂ <0,01
NO ₂ ⁻ , мкмоль/л	2,98±0,14	1,69±0,12 p<0,001	2,89±0,12 p ₁ <0,001	1,73±0,10 p ₁ >0,05 p ₂ <0,001
Сечовина, ммоль/л	3,20±0,14	7,30±0,51 p<0,001	9,00±0,28 p ₁ <0,01	6,50±0,45 p ₁ >0,05 p ₂ <0,01

На тлі введення ГТГ при АПМ відмічено достовірне зростання у серці та сироватці крові рівня NO₂⁻ і сечовини в сироватці крові, введення триметазидину не змінювало вміст NO₂⁻, а рівень сечовини в сироватці проявляв тенденцію до зменшення (табл. 6.3).

Про наявність у ГТГ та ТМЗ мембраностабілізуючих властивостей свідчать результати вивчення їх впливу на активність ферментів АсАТ і АлАТ. Застосування ГТГ достовірно зменшувало процеси цитолізу в міокарді: активність маркерного ферменту АсАТ зменшувалася на 42 %, активність АлАТ – на 21 %. При застосуванні референс-препарату активність АсАТ і АлАТ також зменшувалася, але меншою мірою (доведено статистично): відповідно на 30 і 11 %. Як бачимо, вказані зміни активності трансаміназ при застосуванні триметазидину однотипні з тими, що відбуваються при застосуванні глутаргіну, але менш виражені (рис. 6.1).

Отже, введення перед моделюванням гострої гіпоксії міокарда, спричиненої адреналіном, як глутаргіну, так і триметазидину підвищує резистентність тварин до кисневого голодування.

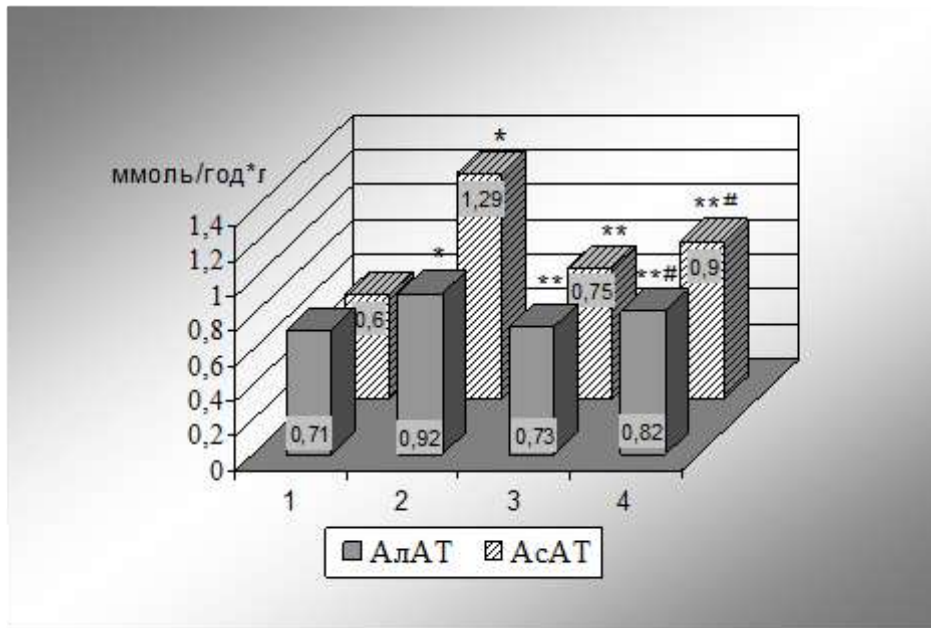


Рис. 6.1 Активність ферментів цитолізу в сироватці крові тварин при АПМ та на тлі застосування глутаргіну чи триметазидину

Примітка. * – $p < 0,05$ відносно контролю, ** – $p < 0,05$ відносно АПМ, # – $p < 0,05$ відносно глутаргін+АПМ; групи тварин: 1 – контроль, 2 – АПМ (24 год), 3 – глутаргін+АПМ, 4 – триметазидин+АПМ.

Таким чином, на основі аналізу отриманих результатів, представлених у даному розділі, з'ясування особливостей порівняльного впливу глутаргіну та триметазидину при їх введенні протягом 7 днів перед гострим адреналіновим пошкодженням міокарда, можна зробити такі висновки:

1. При гострій гіпоксії міокарда, спричиненій адреналіном, у серцевому м'язі відбувалося пригнічення продукції оксиду азоту, що супроводжувалося активацією процесів ліпопероксидації, зростанням активності ферментів антиоксидантної системи та маркерних ферментів цитолізу, зниженням енергозабезпечення мітохондрій. При цьому вірогідно зменшувалася толерантність тварин до фізичного навантаження, відбувалося порушення функціонального стану серця (за показниками ЕКГ).

2. Глутаргін при його профілактичному введенні значною мірою попереджував та послаблював ушкоджуючу дію адреналіну на серце. Доказом

цього було зростання у міокарді рівня стабільного метаболіту оксиду азоту, попередження надмірної активації процесів ліпопероксидації, відновлення активності ферментів і вмісту компонентів антиоксидантної системи та мітохондріального електротранспортного ланцюга, зниження активності маркерів цитолітичних процесів.

3. Триметазидин при його профілактичному введенні перед моделюванням патології сприяв якісно однотипній з глутаргіном метаболічній реакції міокарда, але більш інтенсивно, ніж глутаргін, запобігав розвитку порушень енергетичного обміну, меншою мірою впливав на порушення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу і активність ферментів цитолізу, не змінював рівень продукції оксиду азоту.

4. Глутаргін та триметазидин при їх попередньому введенні перед адреналіновим пошкодженням міокарда викликали зростання толерантності тварин до фізичного навантаження, що більшою мірою спостерігалось при застосуванні глутаргіну.

5. Обидва препарати попереджували зрушення біоелектричної активності міокарда, свідченням чого була позитивна динаміка параметрів ЕКГ.

6. Встановлення більш вираженого позитивного впливу глутаргіну, порівняно з триметазидином, на перебіг гострого гіпоксичного ушкодження міокарда відкриває перспективи для покращання корекції даної патології за допомогою засобів метаболічного типу дії, здатних активізувати утворення ендогенного оксиду азоту.

Результати досліджень, представлених у даному розділі, опубліковані в роботах 90, 91.

РОЗДІЛ 7

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Гіпоксія – поширений патологічний стан, який супроводжується функціонально-метаболічними порушеннями у внутрішніх органах внаслідок зменшення постачання тканин киснем. Гіпоксичні розлади, що виникають в результаті низької ефективності біологічного окиснення і, як наслідок, енергетичної незабезпеченості життєво необхідних процесів, супроводжують більшість патологічних станів [97, 98, 131]. Різноманітні форми гіпоксії спричиняють порушення діяльності дихальної, серцево-судинної систем, ушкодження головного мозку, серця, легень, нирок, печінки та інших органів, що нерідко стає причиною інвалідизації хворих людей [13]. Гіпоксичні стани спостерігаються при інфекційних захворюваннях, травмах, шоках, кровотечах, клінічній смерті. Разом з цим, гіпоксія виникає при фізичних навантаженнях [131]. Незалежно від причини виникнення гіпоксії, на певному етапі її розвитку виникають універсальні зміни. На біохімічному рівні ознаками гіпоксії прийнято вважати зниження інтенсивності обміну макроергічних сполук, що виникає внаслідок затруднення або блоку транспорту електронів у різних ділянках дихального ланцюга, активацію вільнорадикальних процесів, розлади кислотно-лужної та іонної рівноваги, порушення гемодинаміки та мікроциркуляції, втрату активності клітинних ферментів, ушкодження мембран лізосом з вивільненням аутолітичних ензимів, посилення анаеробного обміну, тощо [13, 98, 131].

Відомо, що значна і тривала активація симпатoadреналової системи та зростання рівня катехоламінів у крові також супроводжується дефіцитом кисню і є важливим фактором пошкодження міокарда різного генезу [13, 68, 104, 156]. Хоча механізм пошкоджуючої дії катехоламінів на серце остаточно не з'ясований, доведено, що в генезі цієї патології значна роль належить відносній

гіпоксії міокарда, порушенням мікроциркуляції, змінам проникності мембран, дії вільних радикалів та іншим факторам [67, 104].

На даний час є багато засобів, які з більшим чи меншим успіхом використовують для профілактики і лікування ішемічних чи гіпоксичних пошкоджень міокарда [25, 67, 99, 118, 119, 131, 156]. Однак, їх використання часто носить симптоматичний характер, що не може забезпечити необхідного лікувального ефекту. Складність патогенезу гіпоксичного пошкодження серця та участь у ньому різних факторів вимагають пошуку нових способів ефективного впливу на патогенетичні ланки цієї поширеної патології.

В останні роки велика увага дослідників приділяється системі оксиду азоту (NO). За даними літератури, NO розглядається як важливий регулятор фізіологічних та патологічних процесів в організмі, клітинного і тканинного метаболізму [16, 101, 102, 145, 153, 216]. Завдяки своїй судиннорелаксуючій властивості, оксид азоту відіграє важливу і неоднозначну роль в патогенезі ряду захворювань [15, 43, 82, 102, 110, 158], в тому числі і патології серця [21, 40, 111, 161, 240, 263]. Встановлено також, що за умов гіпоксичного ушкодження міокарда спостерігається зниження активності систем генерації NO [27, 138, 150]. Багатьма дослідниками обговорюється роль системи оксиду азоту (NO) у процесах адаптації міокарда до гіпоксії [21, 40, 80, 103, 139, 149, 150, 161, 163, 242, 268]. Доведено кардіопротективну активність попередників синтезу NO, зокрема L-аргініну, при ішемічно-реперфузійному пошкодженні серця в експерименті, що проявляється зменшенням розмірів вогнища ураження та покращанням ультраструктури міокарда [23, 40, 59, 66, 137, 144, 181, 182, 191, 199, 248, 255]. Вважається, що використання прекурсорів синтезу оксиду азоту може відігравати позитивну роль у лікуванні і профілактиці гіпоксичних пошкоджень міокарда [139, 169, 194, 218], тому зростає інтерес дослідників до речовин, які виступали б донорами цієї молекули при різних експериментальних станах, що супроводжуються гіпоксично-ішемічними змінами. З іншого боку, неоднозначною є роль блокаторів синтезу оксиду азоту

при патологічних станах, пов'язаних з ішемічно-гіпоксичними змінами у серці [188, 210, 224, 238, 258, 261, 270].

Суперечливість літературних даних щодо ролі оксиду азоту за умов гострого гіпоксичного пошкодження міокарда спонукала нас до проведення досліджень з метою встановлення зв'язку між змінами рівня синтезу NO у серці експериментальних тварин при його гострому адреналіновому пошкодженні при призначенні попередника синтезу оксиду азоту L-аргініну та блокаторів NO-синтаз N-нітро-L-аргініну і аміногуанідину та станом міокарда, який оцінювали за активністю системи прооксиданти-антиоксиданти, мітохондріального транспорту електронів, функціональними показниками електрофізіологічної активності серця. Була вивчена також профілактична активність при АПМ вітчизняного препарату глутаргіну – L-аргініну-L-глутамату та референс-препарату триметазидину.

Про стан міокарда піддослідних тварин робили висновки за показниками ПОЛ (вміст ГПЛ та ТБП), антиоксидантної системи (активність СОД, КАТ, вміст Г-SH), показниками функціонального стану мітохондрій (активність СДГ та ЦХО) і маркерних ферментів цитолізу (активність АлАТ та АсАТ). Визначали рівень сечовини в крові, який, з одного боку, свідчив про інтенсивність катаболічних процесів, а з іншого боку, сечовина є метаболітом L-аргініну [35, 41]. З метою контролю за функціональним станом серця проводили запис електрокардіограми з наступним аналізом її параметрів. За допомогою плавальної проби визначали рівень фізичної витривалості у щурів.

У результаті проведених експериментів встановлено, що при АПМ у міокарді білих нелінійних щурів-самців відбувались значні відхилення у системі прооксиданти – антиоксиданти, а саме, інтенсифікувались процеси перекисного окиснення ліпідів. Свідченням цього було істотне накопичення гідроперекисей ліпідів та ТБК-активних продуктів у міокарді та сироватці крові тварин. Вміст ГПЛ та ТБП у гомогенатах міокарда зростав у 2,0 і 2,0 рази – через 0,25 год АПМ, в 1,7 та 1,8 рази – через 1 год, в 1,6 і 1,6 рази – через 24 год

відповідно, а у сироватці крові вміст ТБП зростає відповідно до термінів дослідження у 2,6, 2,0 і 1,7 рази. Це підтверджується даними ряду авторів [13, 104, 157], які описали ініціювання процесів ПОЛ в результаті введення екзогенних КХА у великих кількостях або підвищення вмісту ендогенних КХА (особливо адреналіну надниркового походження) в крові і органах при стресах і шоках. Інтенсифікація ПОЛ за таких умов є наслідком двох процесів: 1) виникнення під впливом КХА генералізованих або локальних порушень гемодинаміки в окремих органах і процесу ішемії (чи гіпоксії), який в свою чергу веде до посилення процесів ПОЛ (цей шлях ініціації ПОЛ особливо характерний для серця); 2) індукції процесів ПОЛ первинно самими КХА, попередниками їх синтезу або продуктами метаболізму [12, 13]. Етіологічним фактором першого шляху гіпоксичного пошкодження клітини є припинення доставки до тканин кінцевого акцептора електронів водню – кисню і, як наслідок цього, зниження його концентрації в клітині. Це, в свою чергу, призводить до ішемічної дезінтеграції мембран, порушення їх проникності, до втрати ними належної структури та функції [146]. Останній шлях ініціації ПОЛ може реалізуватися за рахунок утворення активних форм O_2 (O_2^-) як при синтезі адреналіну (при переході тираміну в октопамін), так і при окисненні адреналіну в адренохром (перехід адреналіну в семіхінон, а семіхінону в хінон), причому адренохром удесятеро активніший за адреналін [13, 67, 104]. Участь КХА в продукції активних форм O_2 може також опосередковуватися через інтенсифікацію гексозомонофосфатного шунта в нейтрофілах і посилення ними продукції O_2^- [13]. Вихід первинних і вторинних продуктів ПОЛ (гідроперекисів, дієнових кон'югат, шифових основ) в кров і кореляція їх кількості з важкістю пошкоджень міокарда виявлені у тварин і іншими дослідниками на різних моделях гіпоксії серця [13, 146].

Суттєву роль в процесах ПОЛ, як відомо [4, 13, 119], відіграє не тільки і не стільки абсолютний вміст в тканинах O_2 , скільки співвідношення між вмістом O_2 і активністю (збереженістю) систем, які захищають тканини від O_2^- (антиоксидантних систем), оскільки саме від цього співвідношення залежить і

запуск, і подальше розгалуження ланцюгових вільнорадикальних реакцій. Речовини, що нейтралізують потенційно небезпечний ефект вільних радикалів і належать до антиоксидантної системи, – це, зокрема, антиоксидантні ферменти СОД і КАТ та кофактор антиоксидантної системи глутатіон [4, 12, 44, 146,].

Результати наших досліджень доводять, що у серці при АПМ спостерігалось достовірне підвищення активності ферментів антиоксидантної системи: так активність КАТ і СОД зростала відповідно в 1,3 і 1,5 раза (0,25 год), в 1,5 і 1,6 раза (1 год), в 1,2 і 1,4 раза (24 год). Індукція СОД на фоні активації ПОЛ – специфічний механізм, який відіграє основну роль у стійкості організму до супероксидного аніон-радикалу [4, 45, 104, 119]. Синергістом СОД у клітинах є КАТ, яка перешкоджає нагромадженню продукту супероксиддисмутазної реакції – перекису водню [4, 44]. Аналогічне зростання активності КАТ спостерігалось і у сироватці крові: активність даного ферменту зростала через 0,25 год АПМ на 28 %, через 1 год – на 37 %, через 24 год – на 42 %.

Компенсаторне напруження ферментів антиоксидантної системи зв'язане, за даними О.О. Маркової [104], із необхідністю забезпечення захисту міокарда від активних форм кисню – супероксидних аніон-радикалів та перекису водню, утворення яких зростає на цих стадіях АПМ. Статистично значимим при АПМ у наших дослідках було також зниження вмісту Г-SH у міокарді піддослідних тварин, порівняно із тваринами контрольної групи: кількість його зменшувалась відповідно до термінів дослідження на 17, 13 і 20 %. Г-SH бере безпосередню участь у знешкодженні вільних радикалів та їх токсичних продуктів, перетворюючись при цьому в окиснену форму. Він перешкоджає накопиченню вторинних радикалів, які утворюються внаслідок розкладання ліпопероксидів [4, 118]. Головна його роль полягає у відновленні сульфгідрильних груп ферментів [4, 44, 118]. З одного боку, якщо Г-SH “використовується” в реакціях ПОЛ, то його дефіцит може бути непрямим доказом протікання процесів ПОЛ в ішемізованому органі. З іншого ж боку, дефіцит сполуки з антиоксидантними властивостями може виникнути як

наслідок її катаболізму і тоді зниження її вмісту буде ще однією умовою ініціації ПОЛ.

Головні постачальники енергії – аеробні окиснювальні процеси у мітохондріях клітин. Саме до мітохондрій спрямований основний потік кисню з позаклітинного середовища, а мітохондріями таких клітин як нейрони та кардіоміоцити використовується до 80-90 % внутрішньоклітинного кисню [98]. На внутрішній мембрані мітохондрій та кристах локалізується група ферментів і білків, які беруть участь у процесах окисного фосфорування та утворення АТФ – мітохондріальний дихальний ланцюг [44, 98]. Його ланки акцептують відновлені еквіваленти від донорів-субстратів та сприяють їх транспортуванню до молекулярного кисню за допомогою переносників, об'єднаних у послідовні мітохондріальні комплекси. При розвитку гіпоксії система аеробного синтезу енергії, сприймаючи сигнал про зменшення концентрації кисню в оточуючому середовищі, на певному етапі здатна компенсувати цю нестачу кисню шляхом регулювання інтенсивності енергоутворюючих процесів [98]. Але, зважаючи на те, що більшість продуктів, утворених в процесах ліпопероксидації, є активними роз'єднувачами дихання і окисного фосфорування в мітохондріях, подальша інтенсифікація ПОЛ неминуче призводить до підвищення проникності мембран, розвитку мітохондріальної дисфункції та дезорганізації біоенергетичних процесів у клітинах, що, у свою чергу, негативно позначається на інтенсивності енергозалежних процесів клітинного обміну [97, 98, 108,].

Як свідчать результати наших досліджень, при АПМ відбувалося зменшення інтенсивності тканинного дихання. Зокрема, встановлене суттєве пригнічення швидкості окиснення сукцинату, про що свідчило зниження активності СДГ при АПМ: через 15 хв – на 39 %, 1 год – 46 %, 24 год – 57 %. Відомо, що зміни електротранспортної функції дихального ланцюга починаються на його субстратному рівні та первинно пов'язані з порушенням мітохондріального комплексу, що супроводжується стимуляцією сукцинатоксидазного шляху окиснення (компенсаторна стадія біоенергетичної гіпоксії) [98]. При зростанні тривалості та важкості гіпоксичного впливу

відбувається послідовне гальмування транспорту електронів на різних етапах дихального ланцюга, починаючи від специфічного флавопротеїну СДГ до цитохромів b-c (стадія декомпенсації) і аж до ЦХО, яка інактивується останньою. При тяжких гіпоксичних розладах інтенсивність енергопродукції залежатиме від активності термінального ферменту дихального ланцюга – цитохромоксидази [98]. Результати наших досліджень показують, що при АПМ відбувалося пригнічення активності ЦХО: в 1-й термін експерименту – на 15 %, 2-й – на 19 %, 3-й – на 25 %. Інгібування ЦХО при АПМ, на нашу думку, не може бути зв'язане з надзвичайно низьким парціальним тиском кисню в середовищі, оскільки відомо [98], що вміст кисню при гострій гіпоксії є достатнім для функціонування ЦХО. До того ж останній притаманна велика спорідненість до кисню, в силу чого її інактивація можлива лише за умови повної відсутності кисню в середовищі (аноксичні умови). Зниження активності ЦХО при АПМ, яке спостерігається при порівняно високому рівні кисню в середовищі, може бути пов'язане з обмеженням у цих умовах надходження електронів від субстратної ланки дихального ланцюга через цитохроми b-c [98]. Встановлені зміни активності ферментів дихального ланцюга мітохондрій в умовах дефіциту кисню свідчать про порушення енергетичного обміну, що може супроводжуватись зниженням вмісту макроергічних сполук, пригніченням енергозалежних функцій та метаболічних процесів в кардіоміоцитах [25, 98, 138]. Така дисфункція мітохондріального апарату, поряд з підвищеною активністю процесів переокиснення мембранних ліпідів, вважається одним із провідних патогенетичних механізмів пошкодження міокарда при гіпоксії [25, 67, 118, 159].

Грунтуючись на даних літератури, можна стверджувати, що об'єктивним, хоча й опосередкованим, показником інтенсивності синтезу NO в організмі може бути вміст його стабільного метаболіту NO_2^- [15, 45, 134, 204]. Отримані нами результати показують, що достовірним при АПМ у проведених експериментах було зниження вмісту NO_2^- у міокарді та сироватці крові піддослідних тварин, порівняно із тваринами контрольної групи. Зокрема, його

вміст при АПМ зменшувався як у міокарді, так і у сироватці крові: через 0,25 год відповідно – на 21 і 30 %, 1 год – 37 і 38 %, 24 год – 26 і 28 %. На думку деяких дослідників, зниження фонду NO при гіпоксії, ймовірно, пов'язано із порушенням його синтезу (синтез NO з L-аргініну – це кисеньзалежний процес, оскільки саме з кисню утворюється супероксидний радикал, який включається в гуанідинову групу L-аргініну) чи може бути зумовлене посиленням процесів його інактивації вільними радикалами, які утворюються за умов зростання процесів перекисного окиснення ліпідів [41, 66, 121, 150]. Можливим механізмом, що веде до зменшення синтезу NO, є надмірна активність ферменту аргінази, тобто альтернативного шляху споживання L-аргініну й нестача його для достатнього синтезу NO [41, 116, 136, 161]. Добре відомо, що при серцево-судинній патології в організмі активується неокисний (аргіназний) шлях та пригнічується окисний (NO-синтазний) шлях і, як наслідок інгібування окисного шляху метаболізму L-аргініну, спостерігається зниження рівнів циркулюючих стабільних метаболітів NO [61, 66, 122, 136, 161]. У разі неокисного гідролізу L-аргініну різними ізоформами аргінази утворюються ще й інгібітори NO-синтаз – орнітин і карбамід, що також може спричинити обмеження синтезу оксиду азоту [41]. Інші дані свідчать про те, що гіпоксія здатна пригнічувати синтез попередника оксиду азоту L-аргініну в ендотелії артерій через зменшення активності аргініносукцинатсинтетази [155]. Існують відомості, що фермент гемоксигеназа, експресія якого зростає при окисному стресі, може інгібувати NO-синтазу [63]. Про подібні зміни рівня NO знаходимо інформацію і в інших авторів [81, 143], які вказують на те, що при будь-якому виді стресу, в тому числі при гіпоксії, порушується співвідношення оксид азоту/ендотеліни в бік збільшення частки останніх, що призводить до вторинної гіпоксії тканин і поглиблення ураження.

Про зростання процесів деградації клітинних та субклітинних мембран кардіоміоцитів при АПМ у наших дослідках також свідчила інтенсифікація процесів сечовиноутворення. Причиною зростання рівня аміаку при АПМ може

бути активація катаболічних процесів у міокарді [44]. Зокрема, рівень сечовини в сироватці крові за умов АПМ зростав через 0,25 год – на 37 %, через 1 год – на 59 %, через 24 год – на 33 %. Інші дослідники теж вказують на зростання рівня сечовини при різноманітних пошкодженнях (наприклад, при гострих і хронічних гепатитах, цирозах печінки, при масивних шлунково-кишкових кровотечах та розпаді великої кількості білків, еклампсії, набряку легень, при інтоксикаціях різного генезу), в тому числі при серцевій патології [22, 35, 60, 66]. Це, на їх думку, відбувається внаслідок посилення утворення аміаку та розвитку продукційної азотемії, продукти якої знешкоджуються в циклі уреогенезу [35, 105, 160]. З іншого боку, зростання рівня сечовини при серцево-судинній патології в організмі може відбуватися внаслідок активації неокисного (аргіназного) шляху метаболізму L-аргініну [61, 66, 122, 136, 161].

Ключовою ланкою в забезпеченні нормального рівня життєдіяльності клітини є її мембрани, від структури яких залежить виконання бар'єрної функції й активність її ферментних систем. Гіпоксичне ушкодження супроводжується порушенням цілісності оболонки клітин і втратою останніми ензимів [44, 146, 159]. Так, на момент закінчення моделювання патології у наших дослідах, у сироватці крові відмічалось значне і достовірне, відносно інтактних щурів, зростання активності АсАТ та АлАТ відповідно на 114 та 31 %, що свідчить про цитоліз кардіоміоцитів. Як відомо, АсАТ та АлАТ є внутрішньоклітинними ферментами, тому підвищення їх активності в плазмі крові слід розглядати як прояв патологічної проникності мембран [44, 159].

Виходячи із вищенаведених даних та враховуючи багатоконпонентність змін, які виникають при гострому гіпоксичному пошкодженні міокарда, було доцільно вивчити при цьому профілактичну активність прекурсора оксиду азоту L-аргініну, який володіє антиоксидантними властивостями та здатний виступати донором NO в тканинах, та комбінованого препарату глутаргіну, до складу якого входить L-аргінін та кислота глутамінова.

За результатами наших експериментів, L-аргінін, який вводили перед моделюванням АПМ, попереджував надмірну активність процесів ПОЛ як у

міокарді, так і у сироватці крові. Так, вміст ГПЛ у цій серії дослідів був менший на 14, 22 і 27 % відповідно термінам експерименту, а вміст ТБП в міокарді та у сироватці крові також знижувався в усі терміни дослідження відповідно на 14 і 20 % (через 0,25 год розвитку АПМ), на 34 і 14 % (через 1 год) та на 26 і 19 % (через 24 год). Це узгоджується із даними про здатність L-аргініну запобігати індукованому гіпоксією підвищенню шифових основ у плазмі крові щурів [35] та результатами інших дослідників [41-43, 76, 99, 113, 215], які показали, що L-аргінін є інгібітором як початкових, так і кінцевих стадій ПОЛ, завдяки своїй здатності вступати в реакцію з супероксидним аніон-радикалом, синглетним киснем і гідроксильним радикалом. Метаболіти L-аргініну – пролін, сечовина, агматин, гуанідинові сполуки – також мають антиоксидантні і мембраностабілізуючі властивості [35, 41]. Все це призводить до уповільнення процесів ПОЛ, нормалізації структури та властивостей мембран кардіоміоцитів в умовах експериментальної гіпоксії. Препарат глутаргін більшою мірою (доведено статистично), ніж L-аргінін, попереджував надмірну активацію процесів перекисного окиснення у тварин, що, на наш погляд, обумовлено наявністю в його складі, крім L-аргініну, кислоти глутамінової (див. нижче обговорення антиоксидантної дії останньої).

Встановлено, що на тлі застосування L-аргініну відмічалися достовірні зміни у функціонуванні ферментів антиоксидантної системи: у серці відновлювалась активність СОД і КАТ (через 0,25 год – на 17 і 16 %, 1 год – на 27 і 34 %, 24 год – на 25 і 29 % відповідно), у сироватці – активність КАТ (зменшувалася на 20, 19 і 19 % відповідно до термінів розвитку АПМ). Глутаргін, в свою чергу, при його попередньому введенні перед АПМ спричиняв у серці зниження активності СОД на 19, 28 і 34 %. Активність іншого ферменту антиоксидантної системи КАТ під впливом препарату також знижувалася в серці та сироватці крові відповідно на 8 і 20 % (0,25 год), 25 і 32 % (1 год), 33 і 40 % (24 год). Відомо, що L-аргінін виступає потужним перехоплювачем супероксидного аніон-радикалу [35, 41, 76], що призводить до уповільнення вільнорадикальних процесів. За умови зниженого вмісту

продуктів ПОЛ не виникає потреби у активації СОД та КАТ. L-аргінін та глутаргін при їх попередньому введенні перед АПМ призводили до достовірного підвищення вмісту Г-SH в усі досліджувані терміни – відповідно на 19, 22 і 23 % та на 21, 22 і 25 %, а отже сприяли перемикаючому функціонуванню антиоксидантної системи з СОД і КАТ на захисну антиокиснювальну систему глутатіону [76].

Відомо, що на етапі пригнічення основного шляху окиснення субстратів дихального ланцюга в умовах гіпоксії, як правило, може відбуватися активація альтернативних метаболічних потоків, що виконують функцію компенсаторних механізмів [98]. Це обумовлює можливість надходження відновлених еквівалентів на цитохромну ділянку дихального ланцюга, завдяки чому не порушується енергосинтезуюча функція. Особливу роль у цьому процесі відіграє сукцинатоксидазний шлях окиснення, посилення якого попереджує зменшення на ранній стадії рівня гіпоксичного пошкодження внутрішньоклітинних енергетичних структур, що розцінюється як головний механізм термінової адаптації до дефіциту кисню [98]. Як свідчать дані наших експериментів, при застосуванні L-аргініну та глутаргіну вірогідно зростає активність мітохондріального ферменту СДГ: через 0,25 год АПМ – на 11 і 27 %, через 1 год – на 70 і 70 %, через 24 год – на 74 і 97 %. Це може бути доказом того, що прекурси NO сприяють збереженню електронотранспортної функції дихального ланцюга мітохондрій [77, 98], що, в свою чергу, забезпечує поступлення електронів на цитохромну ділянку і підтримання тим самим здатності останньої до синтезу енергії. Відповідно до цього у серіях експериментів, де піддослідним тваринам перед моделюванням АПМ профілактично вводили L-аргінін чи глутаргін, вірогідно зростала активність іншого мітохондріального ферменту – ЦХО: через 0,25, 1 та 24 год розвитку патології на 7 і 16 %, 18 і 20 % та 23 і 26 %. Аналіз літературних даних свідчить про важливу роль NO у формуванні захисних механізмів за гіпоксично-ішемічних умов, пов'язаних з функціонуванням цитохромоксидази [30], яка поряд з цитохромом P-450, гемоглобіном і міоглобіном у відповідь на дефіцит

кисню здатна здійснювати перемикання обміну в клітинах з кисневого на нітратно-нітритний [165]. Тобто, у разі гіпоксії створюються умови, коли посилено утилізується з крові L-аргінін з утворенням оксиду азоту і продуктів його метаболічного обміну – NO_3^- і NO_2^- . Саме з останнього здійснюється акцептування електронів цитохромоксидазою за гіпоксичних умов [41, 116, 262]. Це може запобігати розвитку порушень у ділянці електронотранспортного ланцюга мітохондрій. Переваги, які отримує клітина за умов посилення роботи циклу NO або при введенні його прекурсорів у фізіологічних концентраціях, полягають, крім додаткового постачання електронів від іонів нітриту, у можливості використання продуктів метаболізму оксиду азоту – нітратів і нітритів для економних в енергетичному відношенні реакціях, пов'язаних з функціонуванням цГМФ [77, 180]. Останній здатний знижувати потребу тканин у кисні і вміст активних форм кисню за допомогою прямого їх зв'язування [23, 30]. Отже, генерація оксиду азоту за L-аргінін залежним шляхом з утворенням нітратів та нітритів може виступати додатковим альтернативним і не менш важливим, порівняно з окисненням сукцинату, чинником корекції за умов зниженого вмісту кисню.

При визначенні вмісту NO_2^- (стабільного метаболіту NO) у тварин з АПМ на тлі попереднього введення прекурсорів синтезу NO нами відмічено достовірне зростання цього показника у досліджуваних тканинах. Так, при застосуванні L-аргініну вміст NO_2^- зростав у гомогенатах міокарда та сироватці крові на 57 і 49 %, 27 і 79 %, 35 і 69 % відповідно через 0,25, 1 і 24 год з моменту моделювання ушкодження серця і сягав рівня показників контрольних тварин. У роботах [41, 141] також доведено, що продукція NO судинним епітелієм збільшувалася за умов підвищення у плазмі крові вмісту L-аргініну. Зростання рівня стабільного метаболіту NO в наших дослідженнях можна пояснити його синтезом або з екзогенно введеного L-аргініну, або ж внаслідок його звільнення з депо. Ймовірно, депо було сформоване внаслідок профілактичного введення нами попередника синтезу NO L-аргініну. За даними [31, 32, 46, 47, 73], підвищена концентрація NO у крові може призводити до

його накопичення в клітинах у вигляді відносно стабільного депо, яке, за необхідності, слугує додатковим ендogenous джерелом оксиду азоту. Депонування є пристосувальною реакцією, яка забезпечує захист організму від пошкоджуючої дії високих концентрацій NO в умовах його гіперпродукції, викликаній, наприклад, введенням прекурсорів NO. Причому, у такому випадку депо NO виконує пряму захисну дію [47]. Доведено також, що вивільнений з депо NO має довготривалу кардіопротекторну дію [31, 265]. Крім того, за гіпоксії підвищується стабільність вивільненого оксиду азоту, що посилює його біологічну дію [116]. Рівень NO_2^- під впливом глутаргіну при АПМ також повністю відновлювався, про що свідчило достовірне підвищення його вмісту у всі терміни дослідження як у серці, так і у сироватці крові – на 87 і 58 % (0,25 год), 25 і 70 % (1 год), 36 і 86 % (24 год), що обумовлено наявністю в його складі L-аргініну – основного субстрату для синтезу NO під впливом NO-синтаз. Така субстратна індукція синтезу NO доведена й іншими дослідниками [35, 105, 141, 155], які вважають, що застосування глутаргіну при “дефіциті оксиду азоту” дає можливість ефективно відновлювати його синтез, забезпечувати адекватний рівень мікроциркуляції, вирішувати проблему циркуляторної гіпоксії, запобігати незворотнім структурно-функціональним порушенням органів і тканин тощо.

L-аргінін при його попередньому введенні перед АПМ спричиняв подальше зростання рівня сечовини у сироватці крові: на 12, 13 і 17 % відповідно через 0,25, 1 і 24 год. Даний ефект можна пояснити тим, що одним із шляхів біотрансформації L-аргініну у клітинах, крім синтезу NO за участю NO-синтаз, є утворення сечовини [41]. Відомо, що L-аргінін під впливом NO-синтази перетворюється в NO і цитрулін, частина якого поступає в печінку і метаболізується до сечовини [19].

Аналогічні результати відмічено і при АПМ на фоні застосування глутаргіну, введення якого супроводжувалося подальшим зростанням рівня сечовини у сироватці крові: на 47 % в 1-й термін експерименту, на 74 % – в 2-й термін, на 25 % – в 3-й термін. Одержані нами дані співпадають з результатами

досліджень інших науковців [22, 35, 48, 105], які пов'язують такий результат застосування глутаргіну з його вираженою аміакнейтралізуючою дією, яка проявляється за рахунок активації орнітинового циклу синтезу сечовини – кінцевого продукту уреогенезу. Аналіз і систематизація літературних даних, а також результати власних досліджень дозволяють припустити можливі механізми реалізації гіпоамонійемічної дії глутаргіну: активація циклу синтезу сечовини Кребса-Генселейта і глутамінсинтезної реакції; зменшення гіперпродукції аміаку внаслідок численних механізмів кіллінгу патогенної мікрофлори кишечника (послаблення контамінації кишечника і, як наслідок, зменшення утворення аміаку); завдяки оксиду азоту глутаргін бере участь у підтриманні системної і локальної гемодинаміки, прискорюючи тим самим процеси елімінації аміаку з організму [35, 60, 105]. Більш високий аміакнейтралізуючий ефект комплексного амінокислотного препарату глутаргіну (L-аргініну L-глутамату) у порівнянні із окремим застосуванням кожного з його компоненту (L-аргініну чи кислоти глутамінової) може мати наступне пояснення. Для знешкодження аміаку необхідним є конденсація його з іоном бікарбонату. Але при ацидозі, який виникає за гіпоксії, зменшується кількість даного іону (іон бікарбонату зв'язує надлишкову кількість іонів водню), що призводить до зниження синтезу сечовини. На тлі пригнічення уреогенезу зростає роль глутамінсинтезної реакції нейтралізації аміаку, яка вимагає додаткового надходження глутамінової кислоти [35]. Глутаргін активує зв'язування аміаку в нетоксичний глутамін при одночасній стимуляції знешкодження аміаку в орнітиновому циклі синтезу сечовини [22, 35]. Саме аміакнейтралізуюча функція забезпечує суттєві антитоксичні властивості препарату. Зростання вмісту сечовини також може свідчити про інгібування окисного та активацію аргіназного шляху обміну L-аргініну [41, 61, 136]. Отже, препарат глутаргін при профілактичному введенні попереджує розвиток продукційної азотемії, що виникає внаслідок посиленого розпаду тканинних білків і порушення процесів детоксикації аміаку.

Щоб з'ясувати роль кислоти глутамінової у захисних ефектах глутаргіну, було досліджено вплив цієї амінокислоти на метаболічні процеси в ушкодженому адреналіном міокарді. Кислоті глутаміновій приділяється особлива увага серед засобів метаболічної дії, адже вона здатна підвищувати стійкість міокарда до гіпоксії шляхом покращання його енергозабезпечення [52, 74, 175]. Причому, за даними [74, 184, 198], при гіпоксії та ішемії-реперфузії міокарда спостерігається зниження внутрішньоклітинного вмісту цієї амінокислоти. Доведено також кардіопротективну активність кислоти глутамінової при ішемічно-реперфузійному пошкодженні серця в експерименті [192, 198, 214].

Нашими дослідженнями встановлено, що глутамінова кислота при АПМ проявляла меншу активність щодо відновлення показників прооксидантно-антиоксидантного стану. Так, попереднє введення перед АПМ кислоти глутамінової призводило до зменшення вмісту ГПЛ та ТБП у міокарді відповідно через 0,25 год – на 13 і 15 %, 1 год – 17 і 25 %, 24 год – 18 і 22 %. Аналогічні результати були одержані при дослідженні вмісту ТБП у сироватці крові тварин. Доведено, що кислота глутамінова і деякі її метаболіти, змінюючи активність фосфорилази A_2 , сприяють видаленню токсичних продуктів переокиснених жирнокислотних залишків фосфоліпідів [52]. Крім того, кислота глутамінова бере активну участь у синтезі глутатіону (є його складовою частиною) і ГАМК, що мають виражені антиоксидантні властивості, сприяє активації глутатіонпероксидази, яка бере участь у детоксикації ліпідних перекисів [35, 118]. Нашими дослідженнями встановлено зростання під впливом кислоти глутамінової вмісту Г-SH (на 12, 17 і 15 % відповідно через 0,25 год, 1 год та 24 год експерименту) з одночасним відновленням активності СОД і КАТ (через 0,25 год – зменшення на 9 і 8 %, 1 год – на 19 і 24 %, 24 год – на 17 і 25 %). Як бачимо, кількісні зміни у системі прооксидантно-антиоксиданти є менш вираженими у порівнянні з групами тварин, яким вводили L-аргінін чи глутаргін, а подекуди вони мали лише характер тенденції.

Зважаючи на властивість амінокислот, в тому числі і глутамінової, нормалізувати процеси енергозабезпечення, було досліджено і цей бік метаболізму кардіоміоцитів. Встановлено, що активність СДГ та ЦХО під впливом глутамінової кислоти зростала на всіх етапах розвитку АПМ: відповідно на 26 і 8 % (0,25 год), 45 і 15 % (1 год) та 56 і 19 % (24 год), що може свідчити про деяке відновлення у кардіоміоцитах процесів окисного фосфорування та рівня синтезу макроергічних сполук [175].

Кислота глутамінова не впливала на синтез оксиду азоту, про що свідчили недостовірні зміни вмісту NO_2^- як у гомогенатах міокарда, так і в сироватці крові на всіх етапах АПМ.

Рівень сечовини у сироватці крові в результаті семиденного введення кислоти глутамінової перед моделюванням патології зростав на 14, 13 і 14 % відповідно у 1-й, 2-й і 3-й терміни експерименту, що, можливо, є наслідком гіпоамонійемічної дії даної амінокислоти [22, 35]. Проте, рівень синтезу сечовини був нижчим, ніж у групах тварин із використанням попередників синтезу NO, що, ймовірно, пов'язано із деяким пригнічення уреогенезу на фоні відсутності екзогенного введення прекурсорів NO, проте знешкодження аміаку все ж відбувалося у глутамінсинтетазній реакції – реакції зв'язування аміаку L-глутаматом з наступним утворенням нетоксичного глутаміну, який включається в процес синтезу сечовини [22, 44]. В такому випадку зростає роль субстрату для вищезгаданої реакції – глутамінової кислоти, додаткове введення якої ззовні може призводити до підвищення потужності реакцій нейтралізації аміаку [22, 35, 74].

Таким чином, позитивний вплив кислоти глутамінової на метаболічні процеси у міокарді при АПМ не зв'язаний із впливом на рівень синтезу NO, а зумовлений іншими механізмами. Відомо, що амінокислоти виконують життєво важливу для організму роль “будівного” матеріалу у біосинтезі специфічних тканинних білків, ферментів, пептидних гормонів, ендогенних амінів, вазо- і нейроактивних ендогенних субстанцій, пуринів, піримідинів, тощо [60, 166]. Крім того, роль амінокислот як незамінних субстратів у метаболічних процесах

нерозривно пов'язана з іншою не менш важливою їх функцією регуляторів багатьох біохімічних і фізіологічних реакцій: пластичний і енергетичний обмін у міокарді, гепатоцитах, скелетних м'язах; глюконеогенез у печінці; трансамінування в азотистому обміні; знешкодження проміжних токсичних продуктів обміну, перш за все аміаку в реакціях дезамінування; багатьох інш. [60, 74, 166].

Наступним етапом наших досліджень стало встановлення впливу на перебіг АПМ речовин з інгібуючим впливом на активність NOS. Вивчено дію неселективного блокатора NOS – N-нітро-L-аргініну та селективного блокатора індукбельної форми NOS – аміногуанідину. Ми встановили, що застосування N-нітро-L-аргініну тваринам перед моделюванням АПМ супроводжувалось виразнішими негативними змінами метаболізму у порівнянні з групою тварин, яким вводили аміногуанідин, що, ймовірно, пов'язано із блокуванням усіх ізоформ NO-синтази, в тому числі й тих, що забезпечують численні фізіологічні процеси за участю NO. При з'ясуванні змін показників ПОЛ, системи антиоксидантного захисту, активності мітохондріальних ферментів при АПМ на тлі пригнічення синтезу NO встановлено зменшення вмісту нітрит-аніону у досліджуваних тканинах, статистично значущі негативні зрушення показників прооксидантно-антиоксидантної системи та активності ферментів тканинного дихання, особливо у серії дослідів, де вводили N-нітро-L-аргінін. Так, у тварин з АПМ і L-NAME вміст ТБП і ГПЛ, порівняно з АПМ, переважав у серці на 19 і 18 % – через 0,25 год патології, на 22 і 18 % – через 1 год, на 20 і 19 % – через 24 год відповідно; вміст ТБП у сироватці крові також достовірно зростав в усі терміни дослідження відповідно на 22, 28 і 23 %. Отримані нами дані підтверджуються результатами інших дослідників, які встановили, що під впливом N-нітро-L-аргініну відбувається підвищення вмісту субстратів і первинних молекулярних продуктів ПОЛ та достовірно зростання відносного вмісту шифових основ [62, 108]. Оскільки система L-аргінін–NO функціонує як ефективна пастка супероксиду та є його потужним перехоплювачем [76], то, відповідно, блокада

синтезу NO супроводжується накопиченням O_2^- -радикалів та посиленням процесів ПОЛ, що, в свою чергу, призводить до активації ферментів антиоксидантної системи. Так, в наших експериментах під впливом N-нітро-L-аргініну у гомогенатах міокарда спостерігалось достовірне підвищення активності СОД – на 36, 44 та 56 % відповідно у I, II і III терміни експерименту. Відбувалось також підвищення активності іншого ферменту антиоксидантної системи – КАТ як у міокарді, так і у сироватці крові – на 32 і 48 % (0,25 год), 36 і 38 % (1 год), 29 і 44 % (24 год). Причиною активації КАТ у серці та сироватці крові в даному випадку, можливо, стало посилене утворення перекису водню в процесі супероксиддисмутазної реакції, викликане як гіпоксією міокарда, так і введенням блокаторів синтезу NO. Така активація антиоксидантної системи, ймовірно, є компенсаторною. N-нітро-L-аргінін також сприяв достовірному зниженню вмісту Г-SH у всі досліджувані терміни – відповідно на 15, 21 і 34 %, що свідчило про обмеження його захисного впливу та, ймовірно, обумовлене негативним впливом вільних радикалів на функціонування цієї ланки антиоксидантної системи.

Селективний блокатор iNOS аміногуанідин викликав аналогічні зміни процесів ПОЛ, проте, ступінь їх активації у цій серії дослідів був нижчим, порівняно з тваринами, які отримували N-нітро-L-аргінін. Так, вміст ТБП і ГПЛ зростав у серці, але меншою мірою: на 11 і 12 %, на 13 і 13 %, на 13 і 15 % відповідно до термінів дослідження. При введенні аміногуанідину достовірно збільшувалась кількість ТБП і у сироватці крові: на 16, 13 і 14 %. Аміногуанідин при його попередньому введенні перед АПМ сприяв подальшому зростанню напруженості системи антиоксидантного захисту. Активність СОД в серці підвищувалась у I, II і III терміни досліджень відповідно на 18, 25 і 20 %, а у серці та сироватці крові відбувалось зростання активності КАТ відповідно на 16 і 16 % (0,25 год), 15 і 16 % (1 год), 13 і 18 % (24 год). Проте, достовірно, порівняно з групою тварин з АПМ, знижувався в серці вміст Г-SH – на 11, 14 і 22 % відповідно до термінів експерименту.

Під впливом блокаторів NOS нами відмічено різноспрямовані зміни у функціонуванні ферментів електронотранспортного ланцюга мітохондрій. Так, застосування N-нітро-L-аргініну чи аміногуанідину супроводжувалось статистично значущим зростанням активності СДГ – на 55 і 45 % (через 0,25 год АПМ), на 98 і 84 % (1 год), на 135 і 118 % (24 год), яке може відбуватися за рахунок порушення надходження субстратів у дихальний ланцюг, що, в свою чергу, коригується зростанням активності мітохондріальної СДГ [76, 98].

Одночасно при введенні N-нітро-L-аргініну чи аміногуанідину відбувалося зниження активності мітохондріальної ЦХО: через 0,25 год розвитку патології – на 13 і 10 %, через 1 год – на 11 і 9 %, через 24 год – на 11 і 8 %, що може розцінюватися як часткова блокада кінцевої ланки переносу електронів по дихальному ланцюгу з обмеженням утворення макроергічних сполук [97, 98]. Ймовірно, ці зміни пов'язані з неможливістю використання NO_2^- і NO_3^- як додаткових донорів електронів для енергозабезпечувальних реакцій при гіпоксичному ураженні внаслідок пригнічення їх синтезу на тлі застосування блокаторів NOS [135, 212].

Вміст NO_2^- під впливом N-нітро-L-аргініну достовірно зменшувався в серці та сироватці крові на 22 і 24 %, 28 і 28 %, 33 і 29 % відповідно через 0,25, 1 і 24 год розвитку АПМ. Аналогічні зміни відбувались і при застосуванні перед АПМ селективного блокатора іNO-синтази аміногуанідину: вміст NO_2^- зменшувався у міокарді та сироватці крові у всі досліджувані терміни – на 16 і 15 % (0,25 год), 18 і 19 % (1 год), 19 і 18 % (24 год), порівняно з тваринами, що перенесли АПМ. Зазначені зміни узгоджуються з результатами Marcelo et al. [225], які відмічали зменшення продукції NO у піддослідних тварин, які отримували блокатори NO-синтаз. Пригнічення синтезу NO може супроводжуватися зниженням його захисних ефектів [47].

N-нітро-L-аргінін і аміногуанідин при їх попередньому введенні перед моделюванням патології спричиняли, порівняно з тваринами з АПМ, зменшення рівня сечовини у сироватці крові: на 20 і 9, 19 і 7, 27 і 12 %

відповідно у I, II і III терміни експерименту, що, за даними літератури, може свідчити про пригнічення циклу уреогенезу [35].

З огляду на сучасні дані про роль NO – найважливішого біологічного медіатора й на те, що глутаргін є попередником синтезу NO та для підтвердження припущення про те, що екзогенні прекурсори NO (L-аргінін, глутаргін) мають властивість зменшувати розлади, які виникають при гострому гіпоксичному пошкодженні міокарда, і це може бути пов'язане з їх активуючим впливом на синтез NO, ми дослідили зміни досліджуваних показників ПОЛ, АОС, активності мітохондріальних ферментів, вмісту NO_2^- та СЧ при АПМ за поєданого введення глутаргіну та N-нітро-L-аргініну і глутаргіну та аміногуанідину. В результаті проведених експериментів було встановлено, що L-аргінін відіграє важливу роль у реалізації ефектів глутаргіну. Так, поєдане застосування глутаргіну з N-нітро-L-аргініном або аміногуанідином супроводжувалось зростанням показників ПОЛ, підвищенням активності ферментів АОС та СДГ мітохондрій, зменшенням активності ЦХО, вмісту NO_2^- , Г-SH та СЧ у досліджуваних тканинах, порівняно з групою тварин, яким вводили лише глутаргін перед моделюванням АПМ. Як бачимо, на тлі блокади синтезу NO позитивні ефекти препарату істотно слабшають.

Так, після семиденного введення зазначеного поєднання речовин у серці вірогідно зростав вміст ГПЛ – на 13 і 14 % та 10 і 9 % відповідно через 1 год та через 24 год розвитку патології. Вміст ТБП при цьому також достовірно зростав як у серці, так і в сироватці крові, за винятком одного досліджуваного терміну: на 24 і 15 % та 26 і 12 % – через 1 год, на 21 і 14 % та 24 і 14 % – через 24 год. Отже, при поєданому застосуванні глутаргіну і N-нітро-L-аргініну та, меншою мірою, глутаргіну і аміногуанідину відмічалось зростання показників ПОЛ, порівняно з групою тварин з АПМ та попереднім введенням глутаргіну. Позитивні ефекти глутаргіну на процеси переокиснення мембранних ліпідів при застосуванні його в комбінації з блокаторами NO-синтази були меншими, порівняно з результатами, отриманими при

застосуванні лише глутаргіну, що, ймовірно, пов'язано з порушенням процесів утворення оксиду азоту під впливом блокаторів NOS.

На тлі АПМ застосування глутаргіну з N-нітро-L-аргініном і глутаргіну з аміногуанідином супроводжувалось зростанням активності СОД у серці у II та III досліджувані терміни – на 41 і 38 % та 20 і 24 % відповідно. Під впливом глутаргіну і N-нітро-L-аргініну та глутаргіну і аміногуанідину при їх комбінованому застосуванні відбувалось також підвищення активності КАТ в серці та сироватці крові відповідно на 33 і 27 % та 36 і 37 % (1 год), на 19 і 17 % та 18 і 16 % (24 год). Вказані зміни активності антиоксидантних ферментів супроводжувались достовірним зменшенням вмісту Г-SH у серці: на 18 і 27 % та 10 і 13 % відповідно у II і III терміни експерименту.

Встановлено, що попереднє введення глутаргіну і N-нітро-L-аргініну та глутаргіну і аміногуанідину супроводжувалось змінами активності мітохондріальних ферментів: достовірно пригнічувалася активність ЦХО на 13 і 10 % (1 год) і на 12 і 8 % (24 год) та зростала активність СДГ через 1 год АПМ – на 21 і 4 %, через 24 год – на 35 і 11 %. І в цьому випадку блокатори NO-синтаз зменшували позитивні ефекти глутаргіну при АПМ.

Поєднане введення блокаторів NOS і глутаргіну нівелювало позитивний вплив останнього на показники ПОЛ, АОС та перешкоджало відновленню активності мітохондріальних ферментів при АПМ, що опосередковано свідчить про зв'язок ефективності глутаргіну при даній патології з його здатністю стимулювати синтез NO.

Введення глутаргіну з N-нітро-L-аргініном чи аміногуанідином перед АПМ супроводжувалося статистично значущим зниженням рівня NO_2^- у всі терміни дослідження як у серці, так і у сироватці крові – на 27 і 17 % та 31 і 20 % – через 1 год розвитку патології, на 28 і 16 % та 36 і 27 % – через 24 год, а також зменшенням кількості сечовини у сироватці крові на 13 і 17 % чи на 11 і 9 %, порівняно з групою тварин, яким вводили лише глутаргін перед моделюванням АПМ. Як бачимо, на тлі блокади синтезу NO антитоксичний

ефект глутаргіну, який проявляється зменшенням азотемії та реалізується через активацію синтезу сечовини, істотно слабшає.

Отже, протекторна активність глутаргіну при АПМ в тому числі зв'язана з його здатністю стимулювати синтез NO, оскільки поєднане повторне введення тваринам перед АПМ разом з глутаргіном блокаторів NOS (N-нітро-L-аргініну або аміногуанідину) помітно зменшує його позитивний вплив на метаболічні процеси у серці. Ступінь гальмування позитивного впливу глутаргіну при АПМ вищий при його комбінованому застосуванні з неселективним блокатором NOS N-нітро-L-аргініном.

Доведення ролі активації утворення NO у кардіоцитопротекторній дії глутаргіну при гострій гіпоксії міокарда є підґрунтям для пошуку нових сполук – активаторів синтезу NO – з метою корекції патологічних змін, що виникають при цій патології серця.

Нашими дослідженнями, результати яких описані у розділі 3, доведено виразний, у порівнянні з L-аргініном, позитивний вплив глутаргіну на перебіг гострої гіпоксії міокарда, спричиненої адреналіном. З огляду на вищесказане було здійснено порівняльне вивчення впливу кардіоцитопротектора триметазидину як референс-препарату та глутаргіну на перебіг АПМ. Цитопротекторна активність триметазидину при гіпоксичних ушкодженнях серця та механізми його впливу доведені іншими авторами [5, 131, 179, 227, 257, 260].

Розвиток патології маніфестувався порушенням функціонального стану міокарда, на що вказують достовірні зміни показників ЕКГ. Так, через 6 год АПМ спостерігали розвиток тахікардії (зменшення інтервалу RR на 10 % та, відповідно, підвищення ЧСС на 11 %), що було доведено статистично. Призначення протягом 7 днів перед моделюванням АПМ глутаргіну або триметазидину супроводжувалось на ЕКГ відновленням (зменшенням) ЧСС, величини інтервалу RR та інтервалу QRST, які наприкінці введення препаратів практично сягали рівня контрольних тварин. На фоні негативної хронотропної дії глутаргіну його судинорозширюючі властивості, в т. ч. і коронаро-

розширюючі, забезпечують серцевий м'яз адекватною кількістю субстратів окиснення та об'ємом кисню, необхідних для відновлення виснажених за умов АПМ енергетичних джерел. Водночас, в групі тварин з модельованою патологією мало місце статистично значиме зростання систолічного показника за Фогельсоном-Чорногоровим на 12 % стосовно контрольних щурів, що є свідченням порушення скоротливої функції серця [104, 164]. Після проведеної терапії експериментального АПМ за допомогою глутаргіну, так само як і триметазидину, спостерігалось вірогідне зниження даного показника (відповідно на 11 і 10 %) до рівня контролю. Позитивна динаміка ЕКГ та систолічного показника Фогельсона-Чорногорова може бути свідченням покращення скоротливої функції міокарда щурів з експериментальним АПМ [1, 68, 104].

На користь такого твердження вказує також динаміка плавальної проби, яка, за даними [39], є віддзеркаленням стану насосної функції серця. АПМ призводить до прогресуючого зниження скоротливої функції міокарда [1, 68, 104, 157]. У процесі визначення толерантності тварин до фізичного навантаження нами встановлено, що через 1 та 24 год розвитку АПМ середній час тривалості плавання щурів зменшувався відповідно на 38 і 49 % у порівнянні з контрольними тваринами. При повторному профілактичному введенні препаратів фізична працездатність зростала через 1 год експерименту: на тлі застосування глутаргіну – на 36 %, а при введенні триметазидину – на 29 %, порівняно з групою тварин з АПМ, однак різниця між цими двома групами не була статистично значимою. У тварин з тривалістю АПМ 24 год, що отримували профілактично глутаргін чи триметазидин, тривалість плавання зросла відповідно на 39 та 27 %, порівняно з контролем патології, причому різниця між цим показником у групах щурів, яким вводили глутаргін та триметазидин, була достовірною. Тобто, в групі тварин з АПМ, яким попередньо вводили глутаргін, толерантність до фізичного навантаження була вищою, ніж в групі тварин з АПМ та триметазидином. Н.П. Аймашева і співавт. також стверджують, що донор NO (динітрозильні комплекси заліза) в 1,5 рази

збільшував витривалість тварин до важкого фізичного навантаження, що супроводжувалося гіпоксією [51]. Таким чином, триметазидин та, більшою мірою, глутаргін при їх профілактичному введенні перед гострим гіпоксичним ушкодженням міокарда сприяли зростанню толерантності тварин до фізичного навантаження, що можна розцінювати як функціональне підтвердження покращення метаболічних процесів в організмі в цілому та у серці експериментальних тварин зокрема.

Прояви АПМ при попередньому введенні глутаргіну чи триметазидину характеризувалися якісно однотипною метаболічною відповіддю. Відмінності між зрушеннями одних і тих же показників у серці подекуди носили лише кількісний характер.

Зокрема, застосування глутаргіну, так само як і триметазидину, справляло позитивний вплив на показники ліпопероксидації, що проявлялося статистично значимим зменшенням вмісту ТБП та ГПЛ в міокарді щурів відповідно на 45 і 32 % та 38 і 26 %, а також вмісту ТБП у сироватці крові на 27 та 22 %. Це супроводжувалось зменшенням у серці активності ферментів антиоксидантної системи – СОД і КАТ відповідно на 21 і 33 % (при застосуванні глутаргіну), на 18 і 32 % (при застосуванні триметазидину) та достовірним зростанням пулу відновленого глутатіону на 33 і 19 % відповідно. Одночасно у сироватці крові при введенні глутаргіну, як і триметазидину, відмічено зменшення активності КАТ відповідно на 34 і 20 %. Співставляючи отримані результати можна сказати, що профілактичне введення перед експериментальним АПМ глутаргіну, подібно до триметазидину, супроводжувалося відновленням активності антиоксидантної системи та попереджувало інтенсифікацію процесів ліпідпереокичення. При цьому за рівнем відновлення зазначених показників прооксидантно-антиоксидантної системи вплив глутаргіну практично співставлявся (був рівнозначним) з предукталом. Стабілізація процесів пероксидації на фоні застосування глутаргіну, так само як і триметазидину, може бути свідченням їх антиоксидантної та цитопротекторної дії [5, 105, 119, 160].

Застосування глутаргіну призводило до покращання енергозабезпечувальних процесів у мітохондріях серця, про що свідчить активування ЦХО на 23 % та СДГ на 70 %. Триметазидин також призводив до зростання активності ЦХО і СДГ відповідно на 30 і 89 %. Позитивний вплив триметазидину на функціонування електронотранспортного ланцюга мітохондрій переважав аналогічну дію глутаргіну, що було доведено статистично.

На тлі введення глутаргіну відмічено достовірне зростання у серці та сироватці крові рівня NO_2^- і СЧ в сироватці крові, введення триметазидину не змінювало вміст NO_2^- , а рівень СЧ в сироватці дещо зменшувався, однак різниця з тваринами з АПМ не була статистично значимою.

Про наявність у глутаргіну та триметазидину мембраностабілізуючих властивостей свідчать результати подальших наших досліджень, зокрема вивчення впливу цих препаратів на активність ферментів АсАТ і АлАТ. Застосування глутаргіну достовірно зменшувало процеси цитолізу в міокарді: активність маркерного ферменту АсАТ зменшувалася на 42 %, активність АлАТ – на 21 %. При застосуванні референс-препарату активність АсАТ і АлАТ також зменшувалася, але меншою мірою (доведено статистично), відповідно на 30 і 11 %. Як бачимо, вказані зміни активності трансаміназ при застосуванні глутаргіну однотипні з тими, що відбуваються при застосуванні триметазидину, але більш виражені. Такий вплив на динаміку активності АсАТ і АлАТ може бути пов'язаний із спроможністю препаратів стабілізувати мембрани клітин і зменшувати прояви цитолізу, що відповідає даним інших дослідників, які підтверджують їх мембраностабілізуючу дію [27, 35, 119].

В принципі результати наших досліджень є близькими до сформульованої у літературі тези про те, що відмінною особливістю і безумовною перевагою глутаргіну є той факт, що його можна використовувати як профілактично (як прекурсор синтезу NO і цитопротектор), так і з лікувальною метою в гостру стадію захворювання (як дезінтоксикант і прекурсор синтезу NO) та в період реконвалесценції (як цитопротектор) [35].

Отже, введення перед моделюванням гострої гіпоксії міокарда, спричиненої адреналіном, як глутаргіну, так і триметазидину підвищує резистентність серця тварин до кисневого голодування. Так, триметазидин при його профілактичному введенні перед АПМ, сприяв якісно однотипній з глутаргіном метаболічній реакції міокарда, але більш інтенсивно, ніж глутаргін, запобігав розвитку порушень енергетичного обміну. Глутаргін при його профілактичному введенні ефективніше за триметазидин попереджував та послаблював ушкоджуючу дію адреналіну на міокард. Доказом цього був виразніший вплив на прооксидантно-антиоксидантний стан і активність ферментів цитолізу в міокардіоцитах. Глутаргін більшою мірою у порівнянні з триметазидином підвищував толерантність тварин до фізичного навантаження. Обидва препарати попереджували зрушення біоелектричної активності міокарда, свідченням чого була позитивна динаміка параметрів ЕКГ.

Встановлення більш вираженого позитивного впливу глутаргіну, порівняно з триметазидином, на перебіг гострого гіпоксичного ушкодження міокарда, спричиненого адреналіном, відкриває перспективи для його подальшого вивчення в якості кардіоцитопротектора метаболічного типу дії та пошуку шляхів покращання лікування даної патології за допомогою засобів, здатних активізувати утворення ендогенного оксиду азоту.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено нове вирішення актуального наукового завдання, що полягає у встановленні ролі системи оксиду азоту у патогенезі гострого адреналінового пошкодження міокарда та ефективності його експериментальної корекції попередниками синтезу оксиду азоту.

1. Гостре адреналінове пошкодження міокарда на різних етапах свого розвитку (0,25, 1 і 24 год) супроводжується зменшенням вмісту нітрит-аніону у серцевому м'язі (відповідно на 46, 20 і 29 %) та сироватці крові (на 32, 40 і 44 %), активацією процесів перекисного окиснення ліпідів та ферментів супероксиддисмутази і каталази відповідно на 28 і 10 % (через 0,25 год), 51 і 39 % (1 год), на 78 і 87 % (24 год), зниженням активності сукцинатдегідрогенази і цитохромоксидази (на 39 і 15 % – 0,25 год, 46 і 19 % – 1 год, 57 і 25 % – 24 год) мітохондрій, зменшенням пулу відновленого глутатіону.

2. Попередник синтезу оксиду азоту L-аргінін та, більшою мірою, аргініновмісний препарат глутаргін при їх введенні перед експериментальним адреналіновим пошкодженням міокарда запобігають надмірній активації процесів переокиснення мембранних ліпідів, сприяють відновленню активності антиоксидантної системи та функціонального стану мітохондрій, активації процесів синтезу оксиду азоту, що супроводжується відновленням вмісту його стабільного метаболіту нітрит-аніону як у серцевому м'язі, так і у сироватці крові.

3. Застосування неселективного інгібітора NO-синтаз N-нітро-L-аргініну перед моделюванням адреналінового пошкодження міокарда спричиняє подальше прогресування у серцевому м'язі дисбалансу у системах прооксиданти-антиоксиданти та мітохондріального транспорту електронів на тлі гальмування синтезу оксиду азоту на 22, 28 і 33 % у гомогенатах міокарда та на 24, 28 і 29 % у сироватці крові тварин відповідно через 0,25, 1 і 24 год

розвитку патології. Селективний блокатор індукцибельної NO-синтази аміногуанідин також негативно впливає на перебіг гострої гіпоксії міокарда, але інтенсивність негативних змін є меншою, ніж при введенні N-нітро-L-аргініну.

4. Глутаргін та кардіоцитопротектор триметазидин при їх профілактичному введенні перед моделюванням патології зменшують негативні прояви останньої, спричиняючи односпрямовані позитивні зміни досліджуваних показників, підвищують толерантність тварин до фізичного навантаження, попереджують зрушення біоелектричної активності міокарда, свідченням чого є позитивна динаміка параметрів ЕКГ. За здатністю знижувати рівень вільнорадикальних процесів та активність ферментів цитолізу, відновлювати активність антиоксидантної системи та збільшувати толерантність тварин до фізичного навантаження переважає глутаргін, за позитивним впливом на функціональний стан мітохондрій – триметазидин.

5. При поєднаному застосуванні глутаргіну з блокаторами NO-синтаз, більшою мірою з N-нітро-L-аргініном, ніж з аміногуанідином, при гострому адреналіновому пошкодженні міокарда спостерігається зменшення позитивного впливу глутаргіну, що супроводжується гальмуванням утворення стабільного метаболіту NO та проявляється меншим ступенем відновлення показників системи прооксиданти-антиоксиданти та електронотранспортного ланцюга мітохондрій, ніж при монопрофілактиці глутаргіном.

6. Позитивний вплив L-аргініну та глутаргіну (L-аргініну-L-глутамату) на стан міокарда при його гострому адреналіновому пошкодженні певною мірою завдячує їх здатності збільшувати утворення оксиду азоту, що підтверджується односпрямованістю позитивних змін, що виникають під їх впливом, зростанням вмісту нітрит-аніону в серцевому м'язі та крові експериментальних тварин, істотно меншою профілактичною активністю глутамінової кислоти при цій патології та зменшенням позитивного впливу глутаргіну при його поєднаному застосуванні з речовинами, які пригнічують синтез оксиду азоту.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Амосова Е.Н. Кардиомиопатии / Е.Н. Амосова. – Киев : Книга плюс, 1999. – 420 с.
2. Амосова Е.Н. Метаболическая терапия повреждений миокарда, обусловленных ишемией: новый подход к лечению ИБС и сердечной недостаточности / Е.Н. Амосова. – Киев, 2000. – 8 с.
3. Андреева Л.И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л.И. Андреева, Л.А. Кожемякин, А.А. Кишкун // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.
4. Антиоксидантна система захисту організму (огляд) / І.Ф. Беленічев, Е.Л. Левицький, Ю.І. Губський [та ін.] // Соврем. пробл. токсикол. – 2002. – № 2. – С. 14–23.
5. Антиоксидантные эффекты амтизола и триметазидина / А.В. Смирнов, Б.И. Криворучко, И.В. Зарубина, О.П. Миронова // Эксперимент. и клин. фармакол. – 1999. – Т. 62, № 5. – С. 59–62.
6. Антистрессорное и ангиопротекторное влияние оксида азота на крыс линии Крушинского-Молодкиной, генетически предрасположенных к аудиогенной эпилепсии / О.Е. Фадюкова, В.С. Кузенков, В.П. Реутов [и др.] // Росс. физиол. журн. им И.М. Сеченова. – 2005. – Т. 91, № 1. – С. 89–96.
7. Аргинин в медицинской практике / Ю.М. Степанов, И.Н. Кононов, А.И. Журбина А.Ю. Филиппова // Журн. АМН України. – 2004. – Т. 10, № 2. – С. 339–351.
8. Бабак О.Я. Артериальная гипертензия и ишемическая болезнь сердца – эндотелиальная дисфункция: современное состояние вопроса / О.Я. Бабак, Ю.Н. Шапошникова, В.Д. Немцова // Укр. терапевт. журн. – 2004. – № 1. – С. 14–20.

9. Бабак О.Я. Применение нового отечественного препарата глутаргин в гастроэнтерологии / О.Я. Бабак // Сучасна гастроентерологія. – 2003. – № 2 (12). – С. 85–89.
10. Базілюк О.В. Нові механізми порушення ендотеліальної регуляції судинного тонуусу при гіпертензії / О.В. Базілюк, А.В. Коцюрuba // Фізіол. журн. – 1998. – Т. 44, № 3. – С. 95.
11. Безруков В. Вікові особливості впливу нітровоазодилататорів на серцево-судинну систему / В. Безруков, Н. Сикало // Клін. фармак. – 2003. – № 10. – С. 2–7.
12. Бєленічев І.Ф. Антиоксиданти: сучасні уявлення, перспективи створення / І.Ф. Бєленічев, С.І. Коваленко, В.В. Дунаєв // Ліки. – 2002. – № 1–2. – С. 43–47.
13. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов / М.В. Биленко. – М. : Медицина, 1989. – 368 с.
14. Блокада β -адренорецепторов и М-холинорецепторов модулирует влияние оксида азота на частоту сердечных сокращений крыс / А.Г. Насырова, Р.Р. Нигматуллина, И.А. Латфуллин, Ф.Ф. Рахматуллина // БЭБИМ. – 2005. – Т. 140, № 7. – С. 9–13.
15. Бондарь Т.Н. Роль нарушений метаболизма оксида азота в развитии атеросклероза / Т.Н. Бондарь, Л.Н. Яковлева // Укр. терапевт. журнал. – 2002. – Т. 4, № 4. – С. 16–19.
16. Братусь В.В. Оксид азота как регулятор защитных и гомеостатических реакций организма / В.В. Братусь // Укр. ревматол. журн. – 2003. – № 4 (14). – С. 3–10.
17. Ванин А.Ф. Оксид азота в биомедицинских исследованиях / А.Ф. Ванин // Вестник РАМН. – 2000. – № 4. – С. 3–5.
18. Виноградов Н.А. Антимикробные свойства окиси азота и регуляция ее биосинтеза в макроорганизме / Н.А. Виноградов // Антибиотики и химиотерапия. – 1998. – Т. 43, № 2. – С. 24–29.

19. Виноградов Н.А. Многоликая окись азота / Н.А. Виноградов // Росс. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 1997. – № 2 – С. 6–11.
20. Вікові особливості порушень функції ендотелію та їх фармакологічна корекція / В.В. Безруков, Н.В. Сикало, О.К. Кульчицький, О.В. Ніжанковська // Журн. АМН України. – 2005. – Т. 11, № 1. – С. 128–135.
21. 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.
22. Влияние L-аргинина L-глутамата на показатели азотистого обмена в условиях аммиачной интоксикации / Ю.В. Меркулова, Л.А. Чайка, О.Н. Гомон, Л.И. Белостоцкая // Укр. біохім. журн. – 2002. – Т. 74, № 4а (додаток 1). – С. 62.
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, Л. П. Купраш // Пробл. старения и долголетия. – 2007. – Т. 16, № 2. – С. 113–121.
24. Влияние ингибитора NO-синтазы L-NAME на развитие окклюзионных и реперфузионных аритмий у кошек / О.И. Кукушкина, Л.К. Федоткина, В.П. Балашов [и др.] // БЭБИМ. – 1999. – Т. 127, № 5. – С. 509–511.
25. Влияние убихинона-10 на энергетический обмен и ПОЛ в миокарде крыс при ишемии / В.Н. Крылов, Л.Д. Лукьянова, А.С. Корягин [и др.] // БЭБИМ. – 2000. – Т. 130, № 7. – С. 35–38.
26. Вовлечен ли оксид азота в адаптационную защиту органов от стрессорных повреждений? / Е.Б. Маленюк, Н.П. Аймашева, Е.Б. Манухина [и др.] // БЭБИМ. – 1998. – Т. 126, № 9. – С. 274–277.
27. Волчик І.В. Гепатозахисна активність глутаргіну *in vitro* / І.В. Волчик, Л.М. Малоштан // Клін. фармація. – 2004. – Т. 8, № 4. – С. 46–49.
28. Вплив L-аргініну на антиоксидантну систему та активність НАДН₂-залежної метгемоглобінредуктази у крові щурів / О.Я. Склярів,

- Ю.М. Федевич, О.Я. Мелех, В.В. Стадник // Фізіол. журн. – 2006. – Т. 52, № 5. – С. 74–79.
29. Вплив L-аргініну на ультраструктуру кардіоміоцитів передсердя за умов експериментальної гіперхолестеринемії / Л.О. Стеченко, В.Ф. Сагач, М.М. Ткаченко [та ін.] // Фізіол. журн. – 1999. – Т. 45, № 1–2. – С. 72–79.
30. Вплив інтервальних гіпоксичних тренувань та екзогенного оксиду азоту на процеси енергозабезпечення та ліпопероксидації у печінці щурів за умов гострої гіпоксії / Т.В. Серебровська, Н.М. Кургалюк, В.І. Носар, Є.Е. Колеснікова // Фізіол. журн. – 2001. – Т. 47, № 1. – С. 85–92.
31. Выявление и оценка депо NO в организме бодрствующей крысы / С.Ю. Машина, А.Ф. Ванин, В.А. Сереженков [и др.] // БЭБИМ. – 2003. – Т. 136, № 7. – С. 32–36.
32. Выявление и характеристика разных пулов депо оксида азота в стенке сосуда / М.А. Власова, А.Ф. Ванин, Б. Мюллер [и др.] // Общая патол. и патолог. физиол. – 2003. – Т. 136, № 9. – С. 260–264.
33. Гаврилов В.Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В.Б. Гаврилов, М.И. Мишкорудная // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33–35.
34. Гаргін В.В. Взаємодія оксиду азоту та симпатичної іннервації при ішемічній хворобі серця / В.В. Гаргін // Вісник наукових досліджень. – 2004. – № 2. – С. 8–9.
35. Глутаргін – механізм реалізації антитоксичних фармакологічних властивостей при гострих і хронічних ураженнях печінки / Ю.В. Меркулова, Л.О. Чайка, О.Н. Гомон [та ін.] // Ліки. – 2004. – № 1–2. – С. 91–98.
36. Гоженко А.И. Роль оксида азота в физиологии и патологии системы гемостаза / А.И. Гоженко, С.Г. Котюжинская, В.П. Реутов. – Одесса, 2005. – 139 с.

37. Гоженко А.И. Эмиграция лейкоцитов и обмен оксида азота при воспалительных и опухолевых процессах / А.И. Гоженко, В.П. Бабий, В.В. Бабиенко. – Одесса : Черноморье, 2005. – 223 с.
38. Гоженко А.І. Вплив аргініну на функціональний стан нирок щурів при сулемовій нефропатії / А.І. Гоженко, О.С. Федорук, І.В. Погоріла // Фізіол. журн. – 2002. – Т. 48, № 6. – С. 26–30.
39. Гончаров С.И. Определение работоспособности лабораторных животных / Гончаров С.И., Кузьменко С.Д. // Гигиена и санитария. – 1991. – № 4. – С. 25–27.
40. Гостра ішемія-реперфузія міокарда: роль системи оксиду азоту / О.О. Мойбенко, М.Я. Юзьків, Л.В. Тумановська, А.В. Коцюрубa // Фізіол. журн. – 2004. – Т. 50, № 2. – С. 34–42.
41. Граник В.Г. Метаболизм L-аргинина / В.Г. Граник // Химико-фармацевт. журн. – 2003. – Т. 37, № 3. – С. 3–20.
42. Гриців О.В. Вплив глутаргіну та бемітилу на прояви хронічної гемічної гіпоксії, спричиненої монооксидом вуглецю / О.В. Гриців // Експерим. та клін. фізіологія і біохімія. – 2005. – № 1 (29). – С. 75–80.
43. Гріднева С.В. Роль окису азоту і процесів ліпопероксидації у розвитку хронічного невиразкового коліту / С.В. Гріднева // Сучасна гастроентерологія. – 2003. – № 2 (12). – С. 43–46.
44. Губський Ю.І. Біологічна хімія / Ю.І. Губський. – Київ-Тернопіль : Укрмедкнига, 2000. – 508 с.
45. Данилович Ю.В. Взаимосвязь образования NO и H₂O₂ и их роль в регуляции ионного гомеостаза клеток / Ю.В. Данилович // Укр. біохім. журн. – 2001. – Т. 73, № 3. – С. 5–20.
46. Депонирование оксида азота в кровеносных сосудах in vivo / Б.В. Смирин, А.Ф. Ванин, И.Ю. Малышев [и др.] // БЭБИМ. – 1999. – Т. 127, № 6. – С. 629–632.

47. Депонирование оксида азота как фактор адаптационной защиты / Б.В. Смирин, Д.А. Покидышев, И.Ю. Малышев [и др.] // Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2000. – Т. 86, № 4. – С. 447–454.
48. Дзяк Г.В. Эффективность глутаргина в лечении цирроза печени / Г.В. Дзяк, Ю.М. Степанов, И.Н. Кононов // Глутаргін – нові принципи фармакотерапії захворювань печінки : зб. робіт наук.-практ. конф. – Харків, 2003. – С. 29–30.
49. Долгосрочный кардиопротекторный эффект оксида азота: роль HSP 70 / И.Ю. Малышев, Е.Б. Маленюк, Е.Б. Манухина [и др.] // БЭБИМ. – 1998. – Т. 125, № 1. – С. 23–26.
50. Донатори і стимулятори синтезу оксиду азоту у клінічній практиці / Т.В. Звягіна, І.М. Дьяков, О.О. Губанова, А.А. Кривоший // Ліки. – 2002. – № 3–4. – С. 55–59.
51. Донор оксида азота повышает, а блокатор NO-синтазы снижает способность организма выполнять тяжёлую физическую нагрузку и адаптироваться к ней / Н.П. Аймашева, Е.Б. Манухина, М.Г. Пшенникова [и др.] // БЭБИМ. – 1998. – Т. 125, № 4. – С. 381–384.
52. Експериментальне вивчення антиангінальних, протиішемічних, кардіопротекторних засобів / Н.О. Горчакова, І.С. Чекман, А.І. Соловійов [та ін.] // Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації за ред. член-коресп. АМН України О.В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – С. 240–251.
53. Експресія іNOS та активність іNOS у лівому та правому шлуночках при ішемії-реперфузії ізольованого серця щурів / О.Ю. Гарматина, А.Г. Портниченко, О.О. Мойбенко [та ін.] // Фізіол. журн. – 2003. – Т. 49, № 1. – С. 13–17.
54. Ехнева Т. Л. Динамика заболеваемости и смертности населения Украины старше трудоспособного возраста за 10-летний период (1996–2005 гг.) / Т.Л. Ехнева, В.Н. Веселова, В.М. Норинская // Пробл. старения и долголетия. – 2006. – Т. 15, № 3. – С. 247–262.

55. Ехнева Т.Л. Заболеваемость болезнями системы кровообращения и смертность от них населения Украины / Т.Л. Ехнева, В.Н. Веселова, В.М. Норинская // Пробл. старения и долголетия. – 2007. – Т. 16, № 2. – С. 171–185.
56. Ещенко Н.Д. Определение количества янтарной кислоты и активности сукцинатдегидрогеназы / Н.Д. Ещенко, Г.Г. Вольский // Методы биохимических исследований. – Л. : Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. – С. 207–210.
57. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 142–145.
58. Збільшений вміст стабільних метаболітів оксиду азоту в крові мешканців високогір'я / В.Ф. Сагач, Л.Б. Доломан, А.В. Коцюруба [та ін.] // Фізіол. журн. – 2002. – Т. 48, № 5. – С. 3–8.
59. 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.
60. Использование аминокислот в патогенетической терапии различных заболеваний // Здоров'я України. – 2003. – № 19. – С. 46.
61. Інгібітори аргіназного шляху метаболізму L-аргініну як новий клас антигіпертензивних сполук: дія карбаміду на окисний метаболізм ліпідів і судинний тонус при артеріальній гіпертензії / В.Ф. Сагач, А.В. Коцюруба, О.В. Базилюк [та ін.] // Фізіол. журн. – 2001. – Т. 47, № 5. – С. 3–11.
62. Інтервальні гіпоксичні тренування та L-аргінін як засоби корекції енергозабезпечення міокарда за умов гострої гіпоксії / Н.М. Кургалюк, Т.В. Серебровська, В.І. Носар [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2002. – Т. 74, № 1. – С. 82–88.
63. Калиман П.А. Метаболизм гема и оксидативный стресс / П.А. Калиман, Т.В. Баранник // Укр. біохім. журн. – 2001. – Т. 73, № 1. – С. 5–15.

64. Капелько В.И. Регуляторная роль кислородных радикалов в миокардиальных клетках / В.И. Капелько // Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2004. – Т. 90, № 6. – С. 681–692.
65. Карвацький І.М. Вплив оксиду азоту на хроноіотропну залежність міокарда при експериментальній гіперфункції та гіпертрофії серця / І.М. Карвацький, Т.С. Лагодич, В.Г. Шевчук // Фізіол. журн. – 2001. – Т. 47, № 3. – С. 3–10.
66. Кардіопротективна роль L-аргініну / М.Я. Юзьків, Л.В. Тумановська, А.В. Коцюруба, О.О. Мойбенко // Буков. мед. вісник. – 2003. – Т.7, № 1–2. – С. 173–176.
67. Карнаух Е.В. Патогенетичний аспект кардіопротекторної дії антистресових засобів / Е.В. Карнаух, Л.Т. Киричок // Ліки. – 1999. – № 2. – С. 7–11.
68. Коваленко В.Н. Некоронарогенные болезни сердца / В.Н. Коваленко, Е.Г. Несукай. – Киев : МОРИОН, 2001. – 480 с.
69. Колесник Ю.М. Эффекты NO в иммунной системе: NO и тимус / Ю.М. Колесник, А.М. Камышный, А.В. Абрамов // Запорожский мед. журн. – 2006. – № 2 (35). – С. 5–11.
70. Коркушко О.В. Вплив гострої гіпоксичної гіпоксії на індукцію синтази оксиду азоту у щурів / О.В. Коркушко, М.І. Василенко, О.О. Мойбенко // Фізіол. журн. – 2003. – Т. 49, № 3. – С. 47–49.
71. Коркушко О.В. Деякі механізми розвитку ендотеліальної дисфункції при старінні / О.В. Коркушко, В.Ф. Сагач, В.Ю. Лішневська // Фізіол. журн. – 2004. – Т. 50, № 2. – С. 43–48.
72. Коробов В.М. Роль оксиду азоту в регуляції транспорту газів / В.М. Коробов // Укр. біохім. журн. – 2001. – Т. 73, № 4. – С. 13–18.
73. Коррекция NO-зависимых сердечно-сосудистых нарушений с помощью адаптации к гипоксии / С.Ю. Машина, Б.В. Смирин, И.Ю. Малышев [и др.] // Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2001. – Т. 87, № 1. – С. 110–117.
74. Коханов І.В. Фармакодинаміка глютамінової кислоти та її похідних / І.В. Коханов, Н.О. Горчакова, І.С. Чекман // Ліки. – 2004. – № 5–6. – С. 24–27.

75. Кривченкова Р.С. Определение активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий / Р.С. Кривченкова // Современные методы в биохимии : под ред. В.Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 47–49.
76. Кургалюк Н.М. Вплив модифікації продукції оксиду азоту L-NNA на стан системи антиоксидантного захисту і перекисного окиснення ліпідів у крові та тканинах щурів з різною резистентністю до гіпоксії / Н.М. Кургалюк // Фізіол. журн. – 2001. – Т. 47, № 2. – С. 52–59.
77. Кургалюк Н.М. Роль циклу трикарбонових кислот у процесах енергозабезпечення та антиоксидантного захисту клітин при гострій гіпоксії / Н.М. Кургалюк, Т.В. Серебровська // Фізіол. журн. – 2003. – Т. 49, № 3. – С. 104–109.
78. Кургалюк Н.М. Стан мітохондріального дихання і кальцієвої ємності печінки щурів з різною резистентністю до гіпоксії за умов введення L-аргініну / Н.М. Кургалюк // Фізіол. журн. – 2001. – Т. 47, № 3. – С. 64–72.
79. Кургалюк Н.М. Функціонування мітохондрій за умов іонізуючого опромінення: ефект інтервальної гіпоксії та L-аргініну / Н.М. Кургалюк, Г.М. Ткаченко, О.В. Іккерт // Мед. хімія. – 2003. – Т. 5, № 1. – С. 18–22.
80. Лагодич Т.С. Вплив донаторів оксиду азоту на скоротливу функцію міокарда / Т.С. Лагодич // Фізіол. журн. – 2001. – Т. 47, № 1. – С. 34–38.
81. Летик В.І. Активність NO/цГМФ системи у хворих на гострий інфаркт міокарда з Q-зубцем та без нього / В.І. Летик // Ліки. – 1998. – № 5. – С. 96–97.
82. Лебедева Т. Вплив L-аргініну та N-нітро-L-аргініну на показники прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в міокарді / Тетяна Лебедева, Марта Кушнір // IX Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих учених, ТДМУ ім. І.Я. Горбачевського, 21–22 квітня 2005 р. : матеріали конгресу. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2005. – С. 187.
83. Лебедева Т. Вплив попередника та блокатора синтезу оксиду азоту на показники прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в тварин з адреналіновою міокардіодистрофією / Тетяна Лебедева // VIII міжнар.

- медичний конгрес студентів і молодих учених, ТДМУ імені І.Я. Горбачевського, 10–12 травня 2004 р. : матеріали конгресу. – Тернопіль, 2004. – С. 142.
84. Лебедева Т. Експериментальне дослідження впливу блокатора індукцибельної NO-синтази аміногуанідину на метаболічні процеси в серці при його гострому гіпоксичному пошкодженні / Тетяна Лебедева, Олександр Марців // VIII міжнар. медичний конгрес студентів і молодих учених, ТДМУ ім. І.Я. Горбачевського, 10–12 травня 2004 р. : матеріали конгресу. – Тернопіль, 2004. – С. 143.
85. Лебедева Т. Експериментальне дослідження детоксикаційних властивостей L-аргініну та глутаргіну при гострій адреналіновій міокардіодистрофії / Тетяна Лебедева, Валентина Черняшова, Олена Дуць // IX Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих учених, ТДМУ імені І.Я. Горбачевського, 21–22 квітня 2005 р. : матеріали конгресу. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2005. – С. 188.
86. Лебедева Т. Метаболічна корекція проявів оксидативного стресу при гострому адреналіновому пошкодженні міокарда в експерименті / Тетяна Лебедева, Анатолій Герасимець, Рахма Валід Ахмед // VIII міжнар. медичний конгрес студентів і молодих учених, ТДМУ імені І.Я. Горбачевського, 10–12 травня 2004 р. : матеріали конгресу. – Тернопіль, 2004. – С. 142.
87. Лебедева Т.А. Вплив L-аргініну та N-нітро-L-аргініну на показники прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в тварин з гострим адреналіновим ушкодженням міокарда / Т.А. Лебедева, О.О. Казанська // Актуальні проблеми сучасної медицини : 58 наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених НМУ ім. О.О. Богомольця, 29–31 жовтня 2003 р. : збірник тез. – Київ, 2003. – С. 32.
88. Лебедева Т.А. Вплив L-аргініну та глутаргіну на показники прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в тварин з гострим адреналіновим ушкодженням міокарда / Т.А. Лебедева, О.О. Казанська // Актуальні

- проблеми клінічної, експериментальної, профілактичної медицини та стоматології : Всеукр. 66 підсумк. наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених, 9 квітня 2004 р. : матеріали конф. – Донецьк, 2004. – С. 189–190.
89. Лебедева Т.А. Вплив глутаргіну на метаболічні процеси у міокарді / Т. А. Лебедева // Ювілейний VIII з'їзд Всеукр. Лікарського Товариства, Івано-Франківськ, 21–22 квітня 2005 р. : тези доповідей. – Київ, 2005. – С. 75.
90. Лебедева Т.А. Вплив глутаргіну та триметазидину на прояви гострого гіпоксичного ушкодження міокарда, спричиненого адреналіном / Т.А. Лебедева // Вісник наукових досліджень. – 2007. – № 4. – С. 74–77.
91. Лебедева Т.А. Вплив глутаргіну та триметазидину на толерантність до фізичного навантаження у тварин з гострим гіпоксичним пошкодженням міокарда / Т.А. Лебедева // Актуальні проблеми фармакології та токсикології : II наук.-практ. конф. молодих вчених та спеціалістів, 22 грудня 2005 р. : тези конф. – Київ, 2005. – С. 33–34.
92. Лебедева Т.А. Вплив кислоти глутамінової на метаболічні процеси у серці при експериментальній адреналіновій міокардіодистрофії / Т.А. Лебедева // Мед. хімія. – 2005. – Т. 7, № 1. – С. 59–62.
93. Лебедева Т.А. Вплив модуляторів синтезу оксиду азоту на перебіг гострої міокардіодистрофії / Т.А. Лебедева // Фармакологія 2006 – крок у майбутнє : III Національний з'їзд фармакологів України, 17-20 жовтня 2006 р. : тези доповідей. – Одеса, 2006. – С. 95.
94. Лебедева Т.А. Експериментальне дослідження ефективності глутаргіну при адреналіновому ушкодженні міокарда / Т.А. Лебедева // Наук. конф. студентів та молодих вчених з міжнар. участю, 25-26 березня 2004 р. : матеріали конф. – Вінниця : НОВА КНИГА, 2004. – С. 321.
95. Лебедева Т.А. Експериментальне дослідження ефективності кислоти глутамінової при гострому адреналіновому ушкодженні міокарда / Т.А. Лебедева // 78 підсумкова наукова конф. студентів та молодих вчених з

- міжнар. участю, 24-26 березня 2004 р. : збірник тез [спецвипуск ж-лу „Хист”]. – Чернівці, 2004. – № 5. – С. 84–85.
96. Лебедева Т.А. Порівняльна оцінка можливостей корекції гострого гіпоксичного ушкодження міокарда в експерименті / Т.А. Лебедева // Актуальні питання фармакології : ІУ Укр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю з клін. фармакології, 7–8 жовтня 2004 р. : матеріали конф. – Вінниця, 2004. – Частина II. – С. 83–84.
97. Лукьянова Л.Д. Биоэнергетическая гипоксия: понятие, механизмы и способы коррекции / Л.Д. Лукьянова // БЭБИМ. – 1997. – Т. 124, № 9. – С. 244–254.
98. Лукьянова Л.Д. Молекулярные механизмы тканевой гипоксии и адаптация организма / Л.Д. Лукьянова // Фізіол. журн. – 2003. – Т. 49, № 3. – С. 17–35.
99. Лукьянчук В.Д. Антигипоксантаы: состояние и перспективы / В.Д. Лукьянчук, Л.В. Савченкова // Эксперимент. и клин. фармакол. – 1998. – Т. 61, № 4. – С. 72–79.
100. Малая Л.Т. Эндотелиальная дисфункция при патологии сердечно-сосудистой системы / Л.Т. Малая, А.Н. Корж, Л.Б. Балковая. – Харьков : Торсинг, 2000. – 428 с.
101. Малкоч А.В. Физиологическая роль оксида азота в организме / А.В. Малкоч, В.Г. Майданник, Э.Г. Курбанова // Нефрология и диализ. – 2000. – Т. 2, № 1–2. – С. 45–49.
102. Малышев И.Ю. Введение в биохимию оксида азота. Роль оксида азота в регуляции основных систем организма / И.Ю. Малышев // Росс. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 1997. – № 1. – С. 49–55.
103. Манухина Е.Б. Оксид азота в сердечно-сосудистой системе: роль в адаптационной защите / Е.Б. Манухина, И.Ю. Малышев, Ю.В. Архипенко // Вестн. РАМН. – 2000. – № 4. – С. 16–21.
104. Маркова О.О. Міокардіодистрофія і реактивність організму / О.О. Маркова. – Тернопіль : Укрмедкнига, 1998. – 152 с.

105. Меркулова Ю.В. Фармакологические исследования препарата глутаргин / Ю.В. Меркулова, О.Н. Гомон, Л.А. Чайка // Глутаргин – нові принципи фармакотерапії захворювань печінки : зб. робіт наук.-практ. конф. – Харків, 2003. – С. 7–10.
106. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
107. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Под ред. М.И. Прохоровой. – Л. : Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. – 272 с.
108. Модуляція екзогенним L-аргініном мітохондріального та мікосомального окиснення при гострій та періодичній нормобаричній гіпоксії / Н.М. Кургалюк, Т.В. Серебровська, Є.Є. Колеснікова, Л.І. Алексюк // Фізіол. журн. – 2002. – Т. 48, № 5. – С. 67–73.
109. Моссе І.В. Порівняльна характеристика ефективності дії NO-донорів на коронарні артерії свині в нормі та при гіпоксії / І.В. Моссе, С.М. Тишкін, А.І. Соловйов // Ліки. – 1998. – № 5. – С. 9–12.
110. Мухин И.В. Роль оксида азота в патогенезе хронического гломерулонефрита / И.В. Мухин, В.Ю. Николенко, Г.А. Игнатенко // Нефрология. – 2003. – Т. 7, № 1. – С. 41–45.
111. Нарушение эндотелийзависимой регуляции сердечно-сосудистой системы как фактор патогенеза острого инфаркта миокарда / А.А. Мойбенко, М.Я. Юзькив, В.И. Азаров [и др.] // Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования : II междунар. научно-практ. конф. : материалы конф. – Витебск, 2002. – С. 22–25.
112. Недоспасов А.А. Биогенный NO в конкурентных отношениях / А.А. Недоспасов // Биохимия. – 1998. – № 7. – С. 881–904.
113. Непорада К.С. Метаболічні зміни в слинних залозах за пептичної виразки шлунка та їх корекція L-аргініном / К.С. Непорада // Фізіол. журн. – 2003. – Т. 49, № 6. – С. 70–74.

114. Ніжанковська О.В. Особливості системи оксиду азоту при старінні в судинній стінці та плазмі крові щурів / О.В. Ніжанковська // Медична хімія. – 2004. – Т. 6, № 3. – С. 146.
115. Ніколаєва В.В. Вплив глутаргіну та пірацетаму на толерантність до фізичного навантаження при гострому отруєнні монооксидом вуглецю / В.В. Ніколаєва // Медична хімія. – 2004. – Т. 6, № 3. – С. 161–162.
116. NO-залежні ефекти адаптації щурів до гіпоксії в інтервальному режимі / Н.М. Кургалюк, А.В. Коцюруба, О.М. Буханевич, Г.В. Косякова // Укр. біох. журн. – 2003. – Т. 75, № 6. – С. 123–128.
117. Оксид азота и адаптация к гипоксии / Е.Б. Манухина, С.Ю. Машина, Б.В. Смирин [и др.] // Фізіол. журн. – 2001. – Т. 47, № 1 (ч.2). – С. 28–35.
118. Окуневич И.В. Антиоксиданты: эффективность природных и синтетических соединений в комплексной терапии сердечно-сосудистых заболеваний / И.В. Окуневич, Н.С. Сапронов //Обзоры по клин. фармакол. и лек. терапии. – 2004. – Т. 3, № 3. – С. 2–17.
119. Оптимізація вибору антиоксидантів у терапії серцево-судинних захворювань : методичні рекомендації / О.В. Стефанов, Л.В. Деримедвідь, С.М. Дроговоз [та ін.] – Харків : НФаУ, 2003. – 24 с.
120. Орлова Е.А. Анализ нитритов и нитратов в ткани при экспериментальной острой почечной недостаточности / Е.А. Орлова // Укр. журн. екстрем. медицини ім. Г.О. Можасва. – 2002. – Т. 3, № 1. – С. 79–82.
121. Петренко Ю.М. Новые источники окиси азота, их возможная физиологическая роль и значение / Ю.М. Петренко, Д.А. Шашурин, В.Ю. Титов // Эксперимент. и клин. фармакол. – 2001. – Т. 64, № 2. – С. 72–80.
122. Порушення ендотелійзалежних судинних реакцій, аргіназного та NO-синтазного шляхів обміну L-аргініну при артеріальній гіпертензії / В.Ф. Сагач, О.В. Базилюк, А.В. Коцюруба, О.М. Буханевич // Фізіол. журн. – 2000. – Т. 46, № 3. – С. 3–13.

123. Посохова К.А. Блокатори NO-синтази зменшують позитивний вплив глутаргіну при гострому адреналіновому пошкодженні міокарда / К.А. Посохова, Т.А. Лебедева // Вісник наукових досліджень. – 2005. – № 3. – С. 131–133.
124. Посохова К.А. Вплив L-аргініну, N-нітро-L-аргініну та аміногуанідину на метаболічні процеси в ушкодженному адреналіном міокарді / К.А. Посохова, Т.А. Лебедева // Буков. мед. вісн. – 2004. – Т. 8, № 1. – С. 141–145.
125. Посохова К.А. Вплив попередника синтезу оксиду азоту L-аргініну на метаболічні процеси в ушкодженному адреналіном міокарді / К.А. Посохова, Т.А. Лебедева // Здобутки клін. і експеримент. медицини : XLVI підсумкова наук.-практ. конф., ТДМА ім. І.Я. Горбачевського, 9 червня 2003 р. : матеріали конф. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2003. – № 1. – С. 148.
126. Посохова К.А. Деякі показники перекисного окислення ліпідів та антиоксидантної системи при адреналіновій міокардіодистрофії та корекції глутаргіном / К.А. Посохова, Т.А. Лебедева // Здобутки клін. і експеримент. медицини : XLVII підсумкова наук.-практ. конф., ТДМА ім. І.Я. Горбачевського, 3–4 червня 2004 р. : матеріали конф. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2004. – С. 135–136.
127. Посохова К.А. Ефективність L-аргініну при адреналіновому пошкодженні міокарда в експерименті / К.А. Посохова, Т.А. Лебедева, О.М. Олещук // Вісник фармації. – 2004. – № 2 (38). – С. 65–67.
128. Посохова К.А. Ефективність L-аргініну та глутаргіну при адреналіновому пошкодженні міокарда в експерименті / К.А. Посохова, Т.А. Лебедева // Ліки. – 2004. – № 1–2. – С. 44–48.
129. Посохова К.А. Ефективність глутаргіну при патологічних станах різного генезу / К.А. Посохова, О.М. Олещук, Т.А. Лебедева, В.В. Буковська, О.В. Гриців, О.О. Казанська, Л.Й. Плосканич // X конгрес Світової Федерації Укр. Лікарськ. Товариств, Чернівці-Київ-Чикаго, 26–28 серпня 2004 р. : тези доповідей. – Чернівці, 2004. – С. 516.

130. Посохова К.А. Результати застосування блокаторів синтезу оксиду азоту N-нітро-L-аргініну та аміногуанідину при деяких патологічних станах / К.А. Посохова, О.М. Олещук, Л.Й. Плосканич, Т.А. Лебедева, О.О. Чернухіна, В. В. Черняшова // Здобутки клін. і експеримент. медицини : XLIX підсумкова наук.-практ. конф., ТДМА ім. І.Я. Горбачевського, 2 червня 2006 р. : матеріали конф. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2006. – С. 162–164.
131. Пошук і експериментальне вивчення потенційних протигіпоксичних засобів / В.Д. Лук'янчук, Л.В. Савченкова, О.Д. Немятих, В.М. Радіонов. – Київ, 2002. – 27 с.
132. Пшенникова М.Г. Оксид азота как фактор генетически детерминированной устойчивости к стрессорным повреждениям и адаптационной защиты / М.Г. Пшенникова, Н.А. Бондаренко, М.В. Шимкович // БЭБИМ. – 2001. – Т. 132, № 11. – С. 510–513.
133. Рахматуллина Ф.Ф. Течение экспериментального инфаркта миокарда в условиях угнетения и усиления синтеза NO / Ф.Ф. Рахматуллина, А.Г. Насырова, А.Л. Зефирова // БЭБИМ. – 2005. – Т. 139, № 4. – С. 371–375.
134. Реутов В.П. Медико-биологические аспекты циклов оксида азота и супероксидного анион-радикала / В.П. Реутов // Вестн. РАМН. – 2000. – № 4. – С. 35–41.
135. Реутов В.П. Цикл оксида азота в организме млекопитающих и принцип цикличности / В.П. Реутов // Биохимия. – 2002. – Т. 67, № 3. – С. 353–376.
136. Рівні циркулюючих метаболітів окисного та неокисного обміну L-аргініну залежно від рівня холестерину у пацієнтів з ішемічною хворобою серця та есенціальною гіпертензією / В.Н. Коваленко, Т.М. Корнієнко, Т.В. Семикопна [та ін.] // Укр. кардіол. журн. – 2003. – № 5. – С. 14–17.
137. Роль оксиду азоту та мітохондріальної пори в зміні кисневих режимів працюючого скелетного м'яза / В.Ф. Сагач, А.Ю. Богуславський, А.В. Дмитрієва, С.Н. Надточий // Фізіол. журн. – 2004. – Т. 50, № 2. – С. 19–26.

138. Савченкова Л.В. Биохимические основы патогенеза гипоксического синдрома / Л.В. Савченкова // Укр. мед. альм. – 1998. – № 1. – С. 90–98.
139. Сагач В.Ф. Вивчення ролі оксиду азоту у змінах споживання кисню та кисневої вартості роботи серцевого м'яза / В.Ф. Сагач, Т.В. Шиманська, С.Н. Надточий // Фізіол. журн. – 2000. – Т. 46, № 2. – С. 33–40.
140. Сагач В.Ф. Вплив гіперхолестеринемії та стимуляції синтетичної активності ендотелію на реактивність серця до навантажень / В.Ф. Сагач, Т.В. Шиманська // Буков. мед. вісник. – 1998. – Т. 2, № 2. – С. 20–25.
141. Сагач В.Ф. Дисфункція ендотелію та серцево-судинні порушення / В.Ф. Сагач // Фізіол. журн. – 2000. – Т. 46, № 2 (додаток). – С. 13.
142. Сагач В.Ф. Ендотелій і серцево-судинна система / В.Ф. Сагач // Фізіол. журн. – 1998. – Т. 44, № 1–2. – С. 103–111.
143. Сагач В.Ф. Роль ендотелію в регуляції кровообігу / В.Ф. Сагач // Фізіол. журн. – 1998. – Т. 44, № 3. – С. 115.
144. Саприн А.Н. Окислительный стресс и его роль в механизмах апоптоза и развития патологических процессов / А.Н. Саприн, Е.В. Калинина // Успехи биологии и химии. – 1999. – № 39. – С. 294–326.
145. Северина И.С. Активация растворимой гуанилатциклазы новыми донорами NO как основа направленного поиска эффективных вазодилататоров и антиагрегантов / И.С. Северина, О.Г. Бусыгина, Н.В. Пятакова // Вестн. РАМН. – 2000. – № 4. – С. 25–30.
146. Серебровська Т.В. Вільнорадикальні процеси за умов різного кисневого постачання організму / Т.В. Серебровська, О.С. Сафронова, С.К. Гордій // Фізіол. журн. – 1999. – Т. 45, № 6. – С. 92–103.
147. Сидоренко Б.А. Небиволол – суперселективный бета-адреноблокатор и индуктор синтеза оксида азота в эндотелии сосудов / Б.А. Сидоренко, Д.Б. Преображенский // Кардиология. – 2001. – Т. 4, № 7. – С. 96–103.
148. Система оксиду азоту за умов хронічного дефіциту церебрального дофаміну та гіпоксії / В.Ф. Сагач, О.В. Базилюк, М.М. Олешко, А.В. Коцюруба // Фізіол. журн. – 1999. – Т. 45, № 1–2. – С. 16–25.

149. Современные подходы к назначению органических нитратов у больных ишемической болезнью сердца / В.И. Волков, Л.Н. Яковлева, Т.Н. Бондарь, Т.А. Ченчик // *Врачебная практика.* – 2001. – № 2. – С. 99–109.
150. Соловйов А.І. Терапевтичні донори оксиду азоту: клітинні механізми дії та перспективи клінічного застосування / А.І. Соловйов, О.В. Стефанов // *Ліки.* – 1996. – № 5–6. – С. 50–54.
151. Соловьев А.И. Два “лица” одной молекулы / А.И. Соловьев // *Здоров'я України.* – 2003. – № 15–16. – С. 12.
152. Соловьев А.И. Метаморфозы в “семействе” оксида азота / А.И. Соловьев // *Лікування та діагностика.* – 2003. – № 3. – С. 8–14.
153. Стефанов А.В. Оксид азота в современной фармакологии – от нитроглицерина до виагры / А.В. Стефанов // *Лікування та діагностика.* – 1999. – № 2–3. – С. 8–10.
154. Сучасні проблеми смертності та інвалідності при серцево-судинних та судинно-мозкових захворюваннях населення України / В. М. Корнацький, А. П. Дорогой, О. І. Прокопишин [та ін.] // *Охорона здоров'я України.* – 2003. – Т. 11, № 4. – С. 31–33.
155. Сучасні уявлення про механізми впливу гіпоксії на тонус кровоносних судин / І.В. Кізуб, О.О. Павлова, В.Ф. Сагач, А.І. Соловйов // *Фізіол. журн.* – 2002. – Т. 48, № 1. – С. 112–122.
156. Сысолятина Н.А. Действие натрия оксибутирата и эмоксипина на функциональное состояние поврежденного адреналином миокарда в эксперименте / Н.А. Сысолятина, В.В. Артамонова // *Эксперимент. и клин. фармакол.* – 1998. – Т. 61, № 2. – С. 30–32.
157. Ткаченко Г.М. Вплив модуляторів K_{ATP} -каналів на функціональний стан мітохондрій печінки мурчаків за адреналінової міокардіодистрофії / Г.М. Ткаченко, Н.М. Кургалюк, О.Є. Кордунська // *Мед. хімія.* – 2004. – Т. 6, № 2. – С. 11–16.
158. Ткаченко М.М. Оксид азоту та судинна регуляція / М.М. Ткаченко // *Журн. АМН України.* – 1997. – Т. 3, № 2. – С. 241–254.

159. Третьякова О.С. Технологія лікування та вторинна профілактика гіпоксично ушкодженого міокарда у новонароджених / О.С. Третьякова // Охорона здоров'я України. – 2003. – № 1. – С. 70–74.
160. Фролов В.М. Новый отечественный гепатопротектор глутаргин: клиническая эффективность и перспективы лечебного применения / В.М. Фролов // Новости медицины и фармации. – 2003. – № 8 (136). – С. 5–6.
161. 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.
162. Ходосовский М.Н. Влияние нитроглицерина на некоторые показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса и функциональное состояние печени при ишемии-реперфузии / М.Н. Ходосовский, В.В. Зинчук // БЭБИМ. – 2006. – Т. 142, № 12. – С. 631–634.
163. Хомазюк А.И. Влияние нитроглицерина на кровоснабжение, метаболитизм и функцию миокарда / А.И. Хомазюк, А.П. Нещерет, И.В. Гончар // Укр. кардіол. журн. – 2003. – № 2. – С. 99–105.
164. Храпак В.В. Нормовані величини основних структурних елементів ЕКГ статевозрілих шурів-самців : методичні рекомендації / В.В. Храпак. – Київ : Авіцена, 2001. – 19 с.
165. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих / В.П. Реутов, Е.Г. Сорокина, В.Е. Охотин, Н.С. Косицин. – М. : Наука, 1998. – 159 с.
166. Чайка Л.О. Лікарські засоби на основі амінокислот – перспективний напрямок наукових розробок ДНЦЛЗ і виробництва фармацевтичної компанії “Здоров'я” / Л.О. Чайка // Глутаргін – нові принципи фармакотерапії захворювань печінки : зб. робіт наук.-практ. конф. – Харків, 2003. – С. 10–16.

167. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения её в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, И. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–684.
168. Чекман И.С. Эндотелий сосудов и действие лекарственных средств / И.С. Чекман, Л.И. Казак // Фармакол. вісник. – 2000. – № 2. – С. 34–38.
169. Чекман І.С. Оксид азоту в механізмі дії серцево-судинних засобів / І.С. Чекман, Н.О. Горчакова, Л.І. Казак // Лікарська справа. – 1995. – № 5–6. – С. 36–40.
170. Шуклин А.В. NO-синтаза во внутрисердечных ганглиях человека в норме и при ишемии миокарда / А.В. Шуклин, В.Н. Швалев // Морфология. – 2006. – Т. 129, № 3. – С. 34–36.
171. Adaptation of hearts to chronic hypoxia increases tolerance to subsequent ischemia by increased nitric oxide production / J.E. Baker, P. Holman, B. Kalyanaraman [et al.] // Adv. Exp. Med. Biol. – 1999. – 454. – P. 203–217.
172. Alderton W.K. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition / W.K. Alderton, C.E. Cooper, R.G. Knowles // Biochem. J. – 2001. – № 357. – P. 593–615.
173. Analysis of nitrate, nitrite and [¹⁵N] nitrate in biological fluids / L.C. Green, A.W. David, J. Glogowski [et al.] // Analyt. Biochem. – 1982. – Vol. 126, № 1. – P. 131–138.
174. Appleton J. Arginine: Clinical potential of a semi-essential amino / J. Appleton // Altern. Med. Rev. – 2002. – Vol. 7, № 6. – P. 512–522.
175. Arsenian M. Potential cardiovascular applications of glutamate, aspartate, and other amino acids / M. Arsenian // Clin. Cardiol. – 1998. – Vol. 21, № 9. – P. 620–624.
176. Atlas of health in Europe. – Copenhagen : The WHO Regional Office for Europe, 2003. – 111 p.
177. Augmentation of hypoxia – induced nitric oxide generation in the rat carotid body adapted to chronic hypoxia: an involvement of constitutive and inducible

- nitric oxide synthases / Y.S. Ye, G.L. Tipoe, P.C. Fung, M.L. Fung // *Pflug. Arch.* – 2002. – Vol. 444, № 1–2. – P. 178–185.
178. Beneficial effects of inducible nitric oxide synthase inhibitor on reperfusion injury in the pig liver / M. Isobe, T. Katsuramaki, K. Hirata [et al.] // *Transplantation.* – 1999. – Vol. 68, № 6. – P. 803–813.
179. Beneficial effects of trimetazidine in ex vivo working ischemic hearts are due to a stimulation of glucose oxidation secondary to inhibition of long-chain 3-ketoacyl coenzyme a thiolase / G.D. Lopaschuk, R. Barr, P.D. Thomas, J.R. Dyck // *Circ. Res.* – 2003. – Vol. 93, № 3. – P. e33–e37.
180. Brown G.C. Nitric oxide and mitochondrial respiration in the heart / G.C. Brown, V. Borutaite // *Cardiovasc. Res.* – 2007. – Vol. 75, № 2. – P. 283–290.
181. Captopril and L-Arginine have a synergistic cardioprotective effect in ischemic-reperfusion injury in the isolated rat heart / S. Greenberg, G. Chernin, I. Shapira [et al.] // *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.* – 2000. – Vol. 5, № 4. – P. 281–290.
182. Cardioprotective effect of L-arginine in myocardial ischemia and reperfusion in an isolated working rat heart model / U. Izhar, H. Schwalb, J.B. Borman, G. Merin // *J. Cardiovasc. Surg. (Torino).* – 1998. – Vol. 39, № 3. – P. 321–329.
183. Cardioprotective effects of FK 409, a nitric oxide donor, after isolated rat heart preservation for 16 hours / J.M. Zhang, K. Orihashi, T. Sueda, Y. Matsuura // *Ann. Thorac. Surg.* – 2000. – Vol. 70, № 5. – P. 1601–1606.
184. Changes in myocardial concentration of glutamate and aspartate during coronary artery surgery / M.S. Suleiman, W.C. Dihmis, M. Caputo [et al.] // *Am. J. Physiol.* – 1999. – Vol. 272, № 3. – P. H1063–H1069.
185. Concentration-dependent effect of nitric oxide on mitochondrial permeability transition and cytochrom c release / P.S. Brookes, E.P. Salinas, K. Darley-Usmar [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2000. – Vol. 275. – P. 20474–20479.
186. *Crataegus tanacetifolia* leaf extract prevents L-NAME-induced hypertension in rats: a morphological study / Z.C. Koçyildiz, H. Birman, V. Olgaç [et al.] // *Phytother. Res.* – 2006. – Vol. 20, № 1. – P. 66–70.

187. David A. Chemical biology of nitric oxide: insights into regulatory, cytotoxic and cytoprotective mechanisms of nitric oxide / A. David, W. Mitchell, J.B. Mitchell // *Free Radical Biology & Medicine*. – 1998. – Vol. 25, № 4/5. – P. 434–456.
188. Delayed 24 hours N-omega-nitro-L-arginine methyl ester injection induces pharmacological cardioprotection against reperfusion injury / S. Davani, C. Vergely, B. Royer [et al.] // *Cell. Mol. Biol.* – 2007. – № 52. – P. OL868–873.
189. Desjardins F. Nitric oxide-dependent endothelial function and cardiovascular disease / F. Desjardins, J.L. Balligand // *Acta Clin. Belg.* – 2006. – Vol. 61, № 6. – P. 326–334.
190. Dusting G.J. Nitric oxide in cardiovascular disorders / G.J. Dusting // *J. Vasc. Res.* – 1995. – Vol. 32. – P. 143–161.
191. Effect of ACE inhibitor captopril and L-Arginine on the metabolism and on ischemia-reperfusion injury of the isolated rat heart / J. Divisova, H. Vavrinkova, M. Tutterova [et al.] // *Physiol. Res.* – 2001. – Vol. 50, № 2. – P. 143–152.
192. Effect of amino acid cardioplegia on myocardial metabolism and function of ischemic canine heart / K. Zhang, H. Lan, G. Cheng [et al.] // *J. Tongji Med. Univ.* – 2004. – Vol. 17, № 4. – P. 239–243.
193. Effect of chronic treatment with the inducible nitric oxide synthase inhibitor N-iminoethyl-L-lysine or L-arginine on progression of coronary and aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits / D. Behr-Roussel, A. Rupin, S. Simonet [et al.] // *Circulation*. – 2000. – Vol. 102, № 9. – P. 1033–1036.
194. Effect of L-Arginine on overhydration and ultrastructure preservation of rat's heart exposed to cold cardioplegic ischaemia / P. Okonski, S. Szram, M. Banach [et al.] // *Ann. Transplant.* – 2003. – Vol. 8, № 2. – P. 57–62.
195. Effect of L-arginine on oxygen consumption and haemodynamic function of rat's heart exposed to cold cardioplegic ischaemia and reperfusion / P. Okonski, S.M. Szram, M. Mussur [et al.] // *Ann. Transplant.* – 2002. – Vol. 7, № 2. – P. 28–31.

196. Effect of nitric oxide on the transport and release of oxygen in fetal blood / M.E. Clementi, F. Orsini, M.E. Schinina [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2003. – V. 302, № 3. – P.515–519.
197. Effects of *Cudrania tricuspidata* water extract on blood pressure and renal functions in NO-dependent hypertension / D.G. Kang, T.Y. Hur, G.M. Lee [et al.] // *Life Sci.* – 2002. – Vol. 70, № 22. – P. 2599–2609.
198. Effects of L-glutamine on post-ischaemic cardiac function: protection and rescue / S.E. Khogali, A.A. Harper, J.A. Lyall, M.J. Rennie // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 1998. – Vol. 30, № 4. – P. 819–827.
199. Effects of nitric oxide on cardioprotection prior to ischemia-reperfusion / S. Davani, Y. Yan, M. Bouhaddi [et al.] // *Therapie.* – 2002. – Vol. 57, № 2. – P. 157–162.
200. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups / G.L. Ellman // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1959. – № 82. – P. 70–77.
201. Endogenous nitric oxide modulates myocardial oxygen consumption in canine right ventricle / S. Setty, X. Bian, J.D. Tune, H.F. Downey // *Amer. J. Physiol.* – 2001. – Vol. 281, № 9. – P. H831–H837.
202. Endothelial dysfunction after arterial thrombosis is ameliorated by L-arginine in combination with thrombolysis / M.R. Davis, D.P. Ortegon, J.D. Kerby [et al.] // *J. Vasc. Interv. Radiol.* – 2003. – Vol. 14, № 2. – P. 233–239.
203. Evidence for a ceiling of cardioprotection with a nitric oxide donor-induced delayed preconditioning in rabbits / R. Tissier, K. Aouam, A. Berdeaux [et al.] // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2003. – Vol. 306, № 2. – P. 528–531.
204. Farrell A.J. Nitric oxide / A.J. Farrell, D.R. Blake // *Ann. Rheum. Dis.* – 1996. – № 55. – P. 7–20.
205. Haemoglobin: NO transporter, NO inactivator or NO of the above? / A. Hobbs, M.T. Gladwin, R.P. Patel [et al.] // *Trends Pharmacol. Sci.* – 2002. – Vol. 23, № 9. – P. 406–411.

206. Hepatic cytoprotection by nitric oxide and the cGMP pathway after ischaemia-reperfusion in the rat / C.H. Cottart, V. Nivet-Antoine, L. Do [et al.] // *Nitric Oxide*. – 2003. – Vol. 2, № 5. – P. 57–63.
207. Herring N. Cholinergic control of heart rate by nitric oxide is site specific / N. Herring, E.J. Danson, D.J. Paterson // *News Physiol. Sci.* – 2002. – Vol. 17, № 5. – P. 202–206.
208. Hobbs A.J. Inhibition of nitric oxide synthase as a potential therapeutic target / A.J. Hobbs, A. Higgs, S. Moncada // *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 1999. – № 39. – P. 191–220.
209. Ignarro L.J. Novel features of nitric oxide, endothelial nitric oxide synthase, and atherosclerosis / L.J. Ignarro, C. Napoli // *Curr. Diab. Rep.* – 2005. – Vol. 5, № 1. – P. 17–23.
210. Influence of peroxynitrite on energy metabolism and cardiac function in a rat ischemia-reperfusion model / W.H. Lee, J.S. Gounarides, E.S. Roos, M.S. Wolin // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2003. – Vol. 285, № 4. – P. H1385–H1395.
211. Ingwall J. Nitric oxide, myocard oxygen consumption, and ATP synthesis / J. Ingwall, R. Kelly // *Circulat. Res.* – 1998. – № 83. – P. 1067–1068.
212. Inhibition of nitric oxide synthesis by aminoguanidine increases intestinal damage in the acute phase of rat TNB-colitis / N. Dikopoulos, A.K. Nussler, S. Liptay [et al.] // *Eur. J. Clin. Invest.* – 2001. – Vol. 31, № 3. – P. 234–239.
213. Inhibition of nitric oxide synthesis increases apoptotic cardiomyocyte death and myocardial angiotensin-converting enzyme gene expression in ischemia/reperfusion-injured myocardium of rats / T. Youn, H. Kim, H. Kang [et al.] // *Heart Vessels*. – 2001. – Vol. 16, № 1. – P. 12–19.
214. Is glutamine beneficial in ischemic heart disease? / S.E. Khogali, S.D. Pringle, B.V. Weryk, M.J. Rennie // *Nutrition*. – 2002. – Vol. 18, № 2. – P. 123–126.
215. Ischia M. Interactions of nitric oxide with lipid peroxidation products under aerobic conditions: inhibitory effects on the formation of malondialdehyde and

- related thiobarbituric acid-reactive substances / M. Ischia, A. Palumbo, F. Buzzo // Nitric Oxide. – 2000. – Vol. 4, № 1. – P. 4–14.
216. Jones S.P. The ubiquitous role of nitric oxide in cardioprotection / S.P. Jones, R. Bolli // J. Mol. Cell. Cardiol. – 2006. – Vol. 40, № 1. – P. 16–23.
217. Kelly R.G. Nitric oxide and cardiac function / R.G. Kelly, J.L. Baffigand, T.W. Smith // Circ. Res. – 1996. – № 79. – P. 363–380.
218. L-arginine decreases infarct size in rats exposed to environmental tobacco smoke / B. Zhu, Y. Sun, R.E. Sievers [et al.] // Am. Heart Journal. – 1996. – Vol. 132, № 1. – P. 91–100.
219. L-Arginine given after ischaemic preconditioning can enhance cardioprotection in isolated rat hearts / Y. Seumatsu, T. Ohtsuka, K. Maeda [et al.] // Eur. J. Cardiothorac. Surg. – 2001. – Vol. 19, № 6. – P. 873–879.
220. L-Arginine in cardiovascular disease: dream or reality? / D. Tousoulis, C. Antoniades, C. Tentolouris [et al.] // Vasc. Med. – 2002. – Vol. 7, № 3. – P. 203–211.
221. L-Arginine infusion after ischaemia-reperfusion of rat kidney enhances lipid peroxidation / J.P. Cristol, C. Thiemermann, M.C. Guérin [et al.] // J. Lipid. Mediat. Cell. Signal. – 1996. – Vol. 13, № 1. – P. 9–17.
222. Lefer D.J. Myocardial protective actions of nitric oxide donors after myocardial ischemia / D.J. Lefer // New Horizons. Nitric Oxide edited by M. Finck. – Los Angeles : Williams & Wilkins. – 1995. – Vol 3. – P. 105–112.
223. Li H. Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease / H. Li, U. Forstermann // J. Pathol. – 2000. – Vol. 190, № 3. – P. 244–254.
224. L-NAME enhances microcirculatory congestion and cardiomyocyte apoptosis during myocardial ischemia-reperfusion in rats / P. Liu, B. Xu, L. Forman [et al.] // Shock. – 2002. – Vol. 17, № 3. – P. 185–192.
225. Marcelo N. Therapeutic potential of nitric oxide donors and inhibitors / N. Marcelo, M.L. Wallace, J.L. Wallace // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 1999. – Vol. 276, № 6. – P. 1313–1316.

226. Mechanisms of endothelial dysfunction after ionized radiation: selective impairment of the nitric oxide component of endothelium-dependent vasodilation / A.I. Soloviev, S.M. Tishkin, A.V. Parshikov [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* – 2003. – Vol. 138, № 5. – P. 837–844.
227. Modulation of fatty acids oxidation in heart failure by selective pharmacological inhibition of 3-ketoacyl coenzyme-A thiolase / G. Fragasso, R. Spoladore, A. Cuko, A. Pallosi / *Curr. Clin. Pharmacol.* – 2007. – Vol. 2, № 3. – P. 190–196.
228. Nebivolol: a selective beta(1)-adrenergic receptor antagonist that relaxes vascular smooth muscle by nitric oxide- and cyclic GMP-dependent mechanisms / L.J. Ignarro, R.E. Byrns, K. Trinh [et al.] // *Nitric Oxide.* – 2002. – Vol. 7, № 2. – P. 75–82.
229. Nitric oxide and atherosclerosis: an update / C. Napoli, F. de Nigris, S. Williams-Ignarro [et al.] // *Nitric Oxide.* – 2006. – Vol. 15, № 4. – P. 265–279.
230. Nitric oxide and cardiac function: ten years after, and continuing / P.B. Massion, O. Feron, C. Dessy, J.L. Balligand // *Circ. Res.* – 2003. – Vol. 93, № 5. – P. 388–398.
231. Nitric oxide and myocardial ischemia / A.A. Moibenko, V.M. Brovkovich, G.I. Marchenko [et al.] // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 1999. – Vol. 31, № 6. – P. 52.
232. Nitric oxide as a signaling molecule in the vascular system: an overview / L.G. Ignarro, G. Cirino, A. Casini, C. Napoli // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 1999. – № 34. – P. 879–886.
233. Nitric oxide inhibition of lipid peroxidation: kinetics of reaction with lipid peroxy radicals and comparison with α -tocoferol / V.B. O'Donnell, P.H. Chumley, N. Hogg [et al.] // *Biochemistry.* – 1997. – № 3b. – P. 15216–15223.
234. Nitric oxide modulates mitochondrial respiration in failing human heart / K.E. Loke, S.K. Laycock, S. Mital [et al.] // *Circulation.* – 1999. – Vol. 100, № 12. – P. 1291–1297.

235. Nitric oxide synthase inhibitors decrease coronary sinus-free radical concentration and ameliorate myocardial stunning in an ischemia-reperfusion model / Y. Zhang, J. Bissing, L. Xu [et al.] // *J. Amer. Coll. Cardiol.* – 2001. – Vol. 38, № 2. – P. 546–554.
236. Nitric oxide-dependent vasodilatation in young spontaneously hypertensive rats / A. Radaelli, L. Mircolli, I. Mori [et al.] // *Hypertension.* – 1998. – Vol. 32. – P. 735–739.
237. Nitrite as a vascular endocrine nitric oxide reservoir that contributes to hypoxic signaling, cytoprotection, and vasodilation / M.T. Gladwin, N.J. Raat, S. Shiva [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* – 2006. – Vol. 291, № 5. – P. H2026–H2035.
238. Non-specific inhibitors of nitric oxide synthase cause myocardial necrosis in the rat / J.H. Moreno, L.P. Nathan, K. Metze, S.K. Costa // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 1997. – Vol. 24, № 5. – P. 349–352.
239. Peripheral vagal control of heart rate is impaired in neuronal NOS knockout mice / J.K. Choate, E.J. Danson, J.F. Morris, D.J. Paterson // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* – 2001. – Vol. 281, № 6. – P. H2310–H2317.
240. Pernow J. The role of the L-arginine/nitric oxide pathway in myocardial ischaemic and reperfusion injury / J. Pernow, Q.D. Wang // *Acta Physiol. Scand.* – 1999. – Vol. 167, № 2. – P. 151–159.
241. Peroxynitrite scavenging activity of indole derivatives: interaction of indoles with peroxynitrite / Y. Soung, H.R. Choi, J.Y. Kim [et al.] // *J. Med. Food.* – 2004. – Vol. 7, № 1. – P. 84–89.
242. Pravastatin reduces myocardial infarct size via increasing protein kinase C-dependent nitric oxide, decreasing oxyradicals and opening the mitochondrial adenosine triphosphate-sensitive potassium channels in rabbits / N. Bao, S. Minatoguchi, H. Kobayashi [et al.] // *Circ. J.* – 2007. – Vol. 71, № 10. – P. 1622-1628.
243. Protective effects of BAY 41-2272 (sGC stimulator) on hypertension, heart, and cardiomyocyte hypertrophy induced by chronic L-NAME treatment in rats /

- M. Zanfolin, R. Faro, E.G. Araujo [et al.] // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 2006. – Vol. 47, № 3. – P. 391–395.
244. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O.H. Lowry, N.I. Rosenbrough, A.L. Farr, R.I. Randall // *Journ. Biol. Chem.* – 1951. – Vol. 193, № 1. – P. 265–275.
245. Reduction of myocardial infarct size by inhibition of inducible nitric oxide synthase / D. Wang, X. Yang, Y. Liu [et al.] // *Amer. J. Hypertens.* – 1999. – № 12. – P. 174–182.
246. Retrograde infusion of lidocaine or L-Arginine before reperfusion reduces myocardial infarct size / R. Lee, T. Nitta, R.A. Schmid [et al.] // *Ann. Thorac. Surg.* – 1998. – Vol. 65, № 5. – P. 1353–1359.
247. Role of nitric oxide in adaptation to hypoxia and adaptive defence / E.B. Manukhina, S.Yu. Mashina, B.V. Smirin [et al.] // *Physiol. Res.* – 2000. – № 40 (1). – P. 89–97.
248. Role of the anion nitrite in ischemia-reperfusion cytoprotection and therapeutics / C. Dezfulian, N. Raat, S. Shiva, M.T. Gladwin // *Cardiovasc. Res.* – 2007. – Vol. 75, № 2. – P. 327–338.
249. Role of the nitric oxide pathway on ischemia-reperfusion injury in an isolated perfused guinea pig heart / E. Oz, G. Arsakay, S. Dincer [et al.] // *Gen. Pharmacol.* – 2000. – Vol. 34, № 1. – P. 3–7.
250. Rossi M.A. Chronic inhibition of nitric oxide synthase induces hypertension and cardiomyocyte mitochondrial and myocardial collagen remodelling in the absence of hypertrophy / M.A. Rossi, S.G. Ramos, C.M. Prado // *J. Hypertens.* – 2003. – Vol. 21, № 5. – P. 993-1001.
251. Rubbo H. Nitric oxide and peroxynitrite in lipid peroxidation / H. Rubbo // *Medicina.* – 1998. – Vol. 58, № 4. – P. 361–366.
252. Schulz R. Nitric oxide in myocardial ischemia/reperfusion injury / R. Schulz, M. Kelm, G. Heusch // *Cardiovasc. Res.* – 2004. – Vol. 61, № 3. – P. 402–413.
253. Severina I.S. Nitric oxide. The role of guanylate cyclase in its physiological effects / I.S. Severina // *Vopr. Med. Khim.* – 2002. – Vol. 48, № 1. – P. 4–30.

254. Spontaneous, L-arginine-induced and spironolactone-induced regression of protein remodeling of the left ventricle in L-NAME-induced hypertension / F. Simko, A. Potáková, V. Pelouch [et al.] // *Physiol. Res.* – 2007.– Vol. 56, № 2. – P. S55–S62.
255. Synergistic myoprotection of L-arginine and adenosine in a canine model of global myocardial ischaemic reperfusion injury. / L. Du, K. Dian, H.J. Chen [et al.] // *Chin. Med. J. (Engl).* – 2007. – Vol. 120, № 22. – P. 1975–1981.
256. Taimor G. Apoptosis induction by nitric oxide in adult cardiomyocytes via cGMP-signaling and its impairment after simulated ischemia / G. Taimor, B. Hofstaetter, H.M. Piper // *Cardiovasc. Res.* – 2000. – Vol. 45. – P. 588–594.
257. The antianginal drug trimetazidine shifts cardiac energy metabolism from fatty acid oxidation to glucose oxidation by inhibiting mitochondrial long-chain 3-ketoacyl coenzyme A thiolase / P.F. Kantor, A. Lucien, R. Kozak, G.D. Lopaschuk // *Circ. Res.* – 2000. – Vol. 86, № 5. – P. 580–588.
258. The dual effects of nitric oxide synthase inhibitors on ischemia-reperfusion injury in rat hearts / M. Kobara, T. Tatsumi, M. Takeda [et al.] // *Basic. Res. Cardiol.* – 2003. – Vol. 98, № 5. – P. 319–328.
259. The effects of antioxidants and nitric oxide modulators of hepatic ischemic-reperfusion injury in rats / J.E. Rhec, S.E. Jung, S.D.Shin [et al.] // *J. Kor. Med. Sci.* – 2002. – Vol. 17, № 4. – P. 502–506.
260. The effects of chronic trimetazidine treatment on mechanical function and fatty acid oxidation in diabetic rat hearts / A. Onay-Besikci, S. Guner, E. Arioglu [et al.] // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* – 2007. – Vol. 85, № 5. – P. 527–535.
261. The influence of N-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) on hydroxyl free radical formation in the post-ischemic heart of anesthetized rats / K. Ikeya, S. Kashimoto, M. Kume, T. Kumazawa // *Masui.* – 2001. – Vol. 50, № 4. – P. 365–370.
262. The nitric oxide oxidase and peroxynitrite reductase activities of cytochrome oxidase / L.L. Pearce, A.J. Kanai, L.A. Birder [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2002. – Vol. 277, № 16. – P. 13556–13562.

263. The role of nitric oxide in ischemia/reperfusion injury of isolated hearts from severely atherosclerotic mice / S. Tokuno, P. Thoren, C. Lowbeer, G. Valen // *Life Sci.* – 2001. – Vol. 69, № 17. – P. 2067–2080.
264. The roles of iNOS in liver ischemia-reperfusion injury / V.G. Lee, M.L. Johnson, J. Baust [et al.] // *Shock.* – 2001. – Vol. 16, № 5. – P. 355–360.
265. Triggering role of nitric oxide in the delayed protective effect of monophosphoryl lipid A in rat heart / K. György, B. Muller, A. Vegh [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* – 1999. – Vol. 127, № 8. – P. 1892–1898.
266. Vergely C. Nitric oxide synthases and peripheral cardiovascular system / C. Vergely, L. Rochette // *Ann. Cardiol. Angeiol.* – 2002. – Vol. 51, № 2. – P. 109–116.
267. Wu Ch.-Ch. Nitric oxide synthase in spontaneously hypertensive rats / Wu Ch.-Ch., Yen M.-H. // *J. Biomed. Sci.* – 1997. – № 4. – P. 249–255.
268. Xi L. Pivotal role of nitric oxide in delayed pharmacological preconditioning against myocardial infarction / L. Xi, R.C. Kukreja // *Toxicology.* – 2000. – Vol. 155, № 1. – P. 37–44.
269. Xie Y. Role of endothelium-derived nitric oxide in the modulation of canine myocardial mitochondrial respiration in vitro. Implications for the development of heart failure / Y. Xie, W. Shen, G. Zhao // *Circulat. Res.* – 1996. – Vol. 73, № 3. – P. 381–387.
270. Zaloga G.P. Inhibition of nitric oxide synthase enhances the myocardial toxicity of phenylpropanolamine / G.P. Zaloga, J.D. Clark, P.R. Roberts // *Crit. Care Med.* – 2000. – Vol. 28, № 11. – P. 3679–3683.
271. Zicha J. Antihypertensive mechanisms of chronic captopril or N-acetylcysteine treatment in L-NAME hypertensive rats / J. Zicha, Z. Dobesová, J. Kunes // *Hypertens. Res.* – 2006. – Vol. 29, № 12. – P. 1021–1027.