

**Огляди літератури, оригінальні дослідження, погляд на проблему, короткі повідомлення, замітки з практики**

11. Бужівська Т.І. Основи медичної генетики. – Київ: Здоров'я, 2001. – С. 89-94.
12. Клінічна генетика / Т.В. Соркман, В.П. Пішак, І.С. Ластівка, О.П. Волосовець. – Чернівці: Медуніверситет, 2006. – С. 123-135.
13. Thorburn DR, Dahl HH (2001) Mitochondrial disorders: genetics, counseling, prenatal diagnosis and reproductive options. *Am J Med Genet* 106: 102-114.
14. Wallace DC (1999) Mitochondrial diseases in man and mouse. *Science* 283: 1482-1488.
15. Ozawa T., Tanaka M., Sudiama S. et al. (1991) Patient with idiopathic cardiomyopathy belonging to same mitochondrial DNA gene family of Parkinson's disease and mitochondrial encephalopathy. *Biophys. Res. Commun.*, 177: 518-525.
16. Parker W.E., Boyson S.J., Luder A.S., Parks J.K. (1990) Evidence for a defect in NADH: ubiquinone oxidoreductase (complex I) in Huntington's disease. *Neurology*, 40: 1231-1234.
17. Lin F.N., Lin R., Wiesniewski H.M. (1992) Detection of point mutation in codon 331 of mitochondrial NADH dehydrogenase subunit 2 in Alzheimer's brains. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 182: 238-246.
18. Shapira A.N., DiMauro S. (1994) Mitochondrial Disorders in Neurology. Oxford, Henemann, 450 p.
19. Durner M., Sander T., Greeberg D.A. et al. (1991) Localization of idiopathic generalized epilepsy on chromosomes 6p in families of juvenile myoclonic epilepsy patients. *Neurology*, 41: 1651-1655.
20. Delgado-Escueta A.V., Serratosa J.M., Liu A. et al. (1994) Progress in mapping human epilepsy genes. *Epilepsia*, 35(1): 29-40.
21. Schwartz M, Vissing J (2002). Paternal inheritance of mitochondrial DNA. *N. Engl. J. Med.* 347 (8): 576-80.
22. Finsterer J (2007). Hematological manifestations of primary mitochondrial disorders. *Acta Haematol.* 118 (2): 88-98.
23. Scarpulla RC. (2006). Nuclear control of respiratory gene expression in mammalian cells. *J Cell Biochem.* 97(4): 673-83.

## MEDICAL AND GENETIC ASPECTS OF MITOCHONDRIAL DISEASES

©T.V. Bihunyak

*Ternopil State Medical University by I.Ya. Horbachevsky*

**SUMMARY.** The paper gives a review of modern research data on the etiology, pathogenesis, the principles of diagnosis and treatment of mitochondrial diseases (MD). The mitochondrial disease-causing mutations seen in mitochondrial DNA (mtDNA) include more than 50 point mutations and more than 100 deletions or duplications. The biochemical evidences of MD are the disorders in oxidative phosphorylation and decrease in ATP synthesis. The discovery of mtDNA has speeded up the research of molecular mechanisms of mitochondrial cytopathology. It has been found out that a high cytoplasmic mutation rate is caused by the lack of introns and DNA-reparative system in mtDNA. Mitochondrial defects appear to contribute to the apoptosis and ageing-related neurodegenerative disorders, such as Parkinson's, Huntington's, Alzheimer's diseases and epilepsy. Mitochondria are the targets of some energytropic and toxic medicines.

**KEY WORDS:** mitochondria, mitochondrial DNA, mitochondrial diseases.

УДК 616.1:546.17

## ОКСИД АЗОТУ ТА СЕРЦЕВО-СУДИННА СИСТЕМА (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

©М.Р. Хара, А.М. Дорохіна

*Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського*

**РЕЗЮМЕ.** В огляді подано інформацію про роль оксиду азоту в підтримці серцево-судинного гомеостазу шляхом регулювання ряду функцій: модулювання тону судин, сили та частоти серцевих скорочень. Розглянуто необхідність та важливість системи оксиду азоту для підтримки балансу симпатичної та парасимпатичної ланок автономної нервової системи, що є необхідною умовою для сприятливого перебігу і завершення патологічного процесу в серці.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** оксид азоту, синтаза оксиду азоту, L-аргінін, ендотелій, кардіоміоцити.

**Вступ.** Величезний інтерес дослідників усього світу, в тому ж числі й вітчизняних [2-4, 6-9], до вивчення патогенетичної ролі оксиду азоту за умов розвитку патології серцево-судинної системи був обумовлений появою публікацій про

ендотелій-залежний фактор релаксації судин (ЕЗФР), ідентичний оксиду азоту (NO), а численні медикаментозні середники, наприклад нітрогліцерин, реалізують свою ангіотропну функцію завдяки вивільненню NO з нітратів. Суттєве збільшен-

ня кількості експериментальних та клінічних даних про спектр фізіологічних ефектів NO у тканинах-мішенях та наявність дискусії щодо ефектів в умовах патології свідчить про актуальність вивчення ролі даного метаболіту в життєдіяльності серця та судин з метою ширшого та ефективнішого застосування лікувальних засобів, здатних змінювати активність утворення та дії NO, зокрема в кардіології.

**Основна частина.** Оксид азоту (NO) є загальноновизнаним регулятором життєвих функцій організму людини і тварин. Ця молекула викликає розслаблення гладеньких м'язів стінок кровоносних судин, пригнічує агрегацію тромбоцитів та їх адгезію. NO є необхідним для роботи і центральної, і автономної нервової систем, регулює діяльність органів дихання, шлунково-кишкового тракту, сечостатевої системи. NO притаманна і цитостатична активність (один із основних компонентів клітинного захисту). Утворення цього агента імунікомпетентними клітинами забезпечує захист організму від бактеріальних та злоякісних клітин. Цікавими є дані про участь NO у процесі апоптозу (запрограмованій смерті клітин) [2, 3, 17].

NO – це автокринний та паракринний медіатор, оскільки синтезуючись в одних клітинах, він здатний впливати на метаболічні процеси як у цих клітинах, так і в сусідніх [11, 17]. На сьогодні вважають, що є два основні шляхи утворення ендогенного оксиду азоту: NO-синтазний та нітритредуктазний, що утворюють цикл оксиду азоту. У першому випадку NO синтезується *de novo* в результаті окислення L-аргініну з одночасним утворенням іншої амінокислоти L-цитруліну під впливом NO-синтаз [1–3, 5, 18]. Нітритредуктазний шлях передбачає утворення NO шляхом реутилізації за участі гемоглобінової, ксантиноксидазної, циклооксигеназної та цитохром P-450 нітритредуктазної систем [3].

NO-синтази (NOS) – це група АТФ-незалежних ферментів, які належать до класу гемумісних цитохромів і відрізняються амінокислотною послідовністю у білковій частині молекули та механізмами, що регулюють їх активність. Традиційно розрізняють три ізоформи NO-синтаз, які отримали свою назву відповідно до типу клітин, де їх вперше було ідентифіковано: NOS-1 – нейрональна або мозкова (nNOS), NOS-2 – індукційна або макрофагальна (iNOS) та NOS-3 – ендотеліальна (eNOS) [3, 5, 11, 16, 18]. Інколи виділяють ще й мітохондріальну NOS (mtNOS), яку з огляду на спорідненість амінокислотної послідовності відносять до підтипу nNOS [2].

Залежно від фізіологічного значення ізоформи NO-синтаз поділяються на конститутивну (cNOS) та індукційну (iNOS) синтази оксиду

азоту, які відрізняються каталітичними та кінетичними властивостями [2, 4, 11, 16]. Конститутивна NO-синтаза, до якої належать дві ізоформи – nNOS та eNOS, постійно знаходиться в цитоплазмі. Її активність залежить від концентрації кальцію та кальмодуліну, а також регулюється кальцій-незалежними механізмами: рівнем ендогенних інгібіторів NOS, фосфорилуванням серину та дефосфорилуванням треоніну [15, 16]. Конститутивні синтази мають переважно фізіологічне значення. Вони сприяють утворенню невеликої кількості NO у відповідь на рецепторну стимуляцію. Так, збільшення синтезу NO ендотеліальною NOS зазвичай є сприятливим для організму, оскільки запобігає розвитку тромбозу, спазму судин, вільнорадикальному ушкодженню [4, 17].

Індукційна (макрофагальна) NOS синтезується у відповідь на дію певних цитокінів чи ліпополісахаридів бактеріального походження, а також при гіпоксичних впливах. Ця форма проявляє свою активність лише через 6-8 год, що необхідно для активації генів та початку синтезу ферменту після зовнішнього впливу на клітину. У такому випадку продукується величезна кількість NO (в 100-1000 разів більше, ніж синтезують конститутивні форми). Оскільки великі дози NO токсичні для клітин, саме ця ізоформа ферменту відіграє важливу роль у пригніченні активності бактеріальних та пухлинних клітин [2, 3, 4, 11, 17].

Налічується 6 важливих кофакторів, які регулюють процес утворення NO синтазами; нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат; флавінаденіндинуклеотид; флавінмононуклеотид; тетрагідробіоптерин; гем; кальмодулін.

NO може вступати в реакцію з гемічною групою гемоглобіну та іншими гемумісними протеїнами і ферментами, утворюючи при цьому метгемоглобін, який можна розглядати як транспортну сполуку NO [4, 11, 14]. NO утворюється як у спокійній (базальній секреторній NO), так і у відповідь на різноманітні чинники (стимульована секреторія NO): підвищення тиску в судинному руслі, циркуляція біологічно активних субстанцій, таких як норадреналін, вазопресин, брадикінін, ацетилхолін, серотонін, гістамін, компоненти каскаду коагуляції, ендотеліальні вазоконстриктори – ендотелін – та ін. [2, 4, 11, 12, 17]. Одним із основних продуктів метаболізму NO є іони  $\text{NO}_2^-$  та  $\text{NO}_3^-$ . Перші в організмі ссавців перетворюються в NO та  $\text{NO}_3^-$ , а останні, як правило, виводяться з організму.

Утворення NO в процесі нітритредуктазної реакції в 1000 разів вище за інтенсивність NO-синтазної реакції. За фізіологічних умов значення низької активності шляху L-аргінін–NO полягає у лімітуванні надходження субстрату  $\text{NO}_2^-$  до

сильнішого нітритредуктазного компонента циклу оксиду азоту. Основним чинником, який забезпечує активну роботу нітритредуктазних систем з гемвмісними білками – гемоглобіном, міоглобіном, цитохромоксидазою та цитохромом P-450, є дефіцит кисню. Кисень інгібує нітритредуктазну активність гемвмісних білків, а гіпоксія/ішемія та функціональне навантаження активують цикл оксиду, за рахунок впливу на “сильніший” нітритредуктазний компонент [2, 3].

В клітинах серця представлені всі три ізоформи NO-синтаз. За даними літератури, nNOS розташована в неадренергічних–нехолінергічних нервових терміналях (так званих ніттергічних) провідної тканини серця та у симпатичних постгангліонарних нервових терміналях [11, 14]. Neil Herring вказує, що розташовуючись у клітинах серцевих гангліїв та нервових волокнах, які іннервують синоатріальний вузол, нейрональна NO-синтаза одночасно локалізована з ацетилхолінтрансферазою. Таким чином NOS-вмісні нейрони належать і до холінергічної ланки автономної нервової системи, а їхня кількість становить близько 15 % [15]. Ralph A. Kelly стверджує, що більшість nNOS розміщено в передсердях, вздовж епікардіальних вінцевих артерій та у провідній тканині серця, зокрема в синоатріальному та атріовентрикулярному вузлах, і знаходиться не лише в нервових волокнах та нейронах, а й на мембранах саркоплазматичного ретикулулу кардіоміоцитів [16]. В аналізованих літературних джерелах зустрічаються дані, що за умов обмеження доступності субстрату (L-аргініну) nNOS легко переходить до утворення супероксиданіону ( $O_2^-$ ) замість NO. Це має надзвичайно важливе значення при патології серця та судин, адже тоді повністю виключається механізм NO-ергічної регуляції та підвищується утворення вільних радикалів [2, 5, 6, 18].

NO синтезується і мітохондріальною NOS (mtNOS), а його рівень залежить від стану електротранспортного ланцюга мітохондрій. Тому NO, відіграючи регуляторну роль у мітохондріальному метаболізмі, здатний ініціювати розвиток мітохондріальних дисфункцій, результатом яких є апоптична загибель клітин чи некроз [2, 3]. На думку Andrea L. Fellet, у фізіологічній кількості в міокарді NO продукується двома ізоформами: mtNOS, яка синтезує 55-62 %, та цитозольною фракцією eNOS, яка продукує 38-45 % від загальної кількості оксиду азоту [14].

iNOS вперше було ідентифіковано та вивчено у макрофагах, проте, як виявилось пізніше, під впливом цитокінів індукція iNOS можлива практично в будь-яких типах клітин, включаючи клітини ендокарда та ендотелію, гладком'язові

клітини судин, фібробласти, кардіоміоцити [2, 4, 11, 18]. У здоровому серці iNOS відсутня (знаходиться лише в клітинах імунної системи – лімфоцитах та макрофагах, які наявні в крові). Проте за певних патологічних умов, таких як міокардит, кардіоміопатія, міокардіальна ішемія, під дією цитокінів відбувається експресія гена iNOS в міокардіальних (інтрамуральних) нейронах та кардіоміоцитах [17].

iNOS знаходиться у розчинній формі, а регуляція її активності відбувається на рівні експресії мРНК. Ця ізоформа синтезується не лише у відповідь на дію цитокінів, а й інших агентів, зокрема ендотоксину (ліпополісахариду), інтерлейкіну (IL)- $1\beta$ , фактора некрозу пухлин (TNF), інтерферону- $\gamma$ , IL-6. Виявилось, що у процес індукції цитокінами iNOS втягнуто багато факторів. Серед них особливе місце відводиться активації ангіотензину II та  $\alpha$ -адренорецепторів, протейінази, зростанню рівня цАМФ. Все це у кінцевому результаті призводить до експресії iNOS в кардіоміоцитах. І навпаки, коли iNOS вже індукована цитокінами в кардіоміоцитах, спостерігається зменшення утворення цАМФ при стимуляції агоністами  $\beta$ -адренорецепторів [14].

Цитокіни впливають не лише на iNOS, а й посилюють експресію інших білків, які в свою чергу підвищують її активність в кардіоміоцитах. TNF, стимулюючи експресію iNOS у фібробlastах, зменшує синтез зазначеного ензиму у відповідь на дію цитокінів в ендотелії мікроциркуляторного русла, в кардіоміоцитах та в гладком'язових клітинах судин. Саліцилати (аспірин) пригнічують активність iNOS серцевих фібробlastів *in vitro* [11]. Глюкокортикоїди також здатні пригнічувати індукцію iNOS цитокінами шляхом підвищення експресії фосфопротейну остеопонтину, який в свою чергу знижує синтез iNOS у відповідь на дію цитокінів в клітинах ренального епітелію, кардіоміоцитах та ендотелії мікроциркуляторного русла [16].

iNOS відіграє важливе значення при вірусних та бактеріальних ендо-, міо- і панкардитах, ревматичній хворобі серця, інфаркті міокарда. В даному випадку роль NO не однозначна. З одного боку він проявляє захисний антибактеріальний ефект, а з іншого, синтезуючись у великій кількості, зменшує скоротливість міокарда, індукуює апоптоз різних типів клітин серця, у тому числі й кардіоміоцитів, сприяючи таким чином виникненню та прогресуванню серцевої недостатності. Підвищення утворення NO в судинах на тлі інфекції може завершуватись розвитком інфекційно-токсичного шоку з розвитком стійкої вазодилатації, гіпотензії та нечутливості до судинозвужувальних середників [2, 5, 7, 11, 16].

eNOS постійно наявна в клітинах ендокарда, синоатріального та атріовентрикулярного вузлів серця, ендотелії артерій, вен, капілярів, у нирковому епітелії, скелетних м'язах, моноцитах та тромбоцитах. Існують літературні дані про наявність eNOS в кардіоміоцитах передсердь та шлуночків [11, 16, 18]. Встановлено, що активність eNOS у кардіоміоцитах зростає при збільшенні частоти серцевих скорочень та в умовах гіпоксії [17].

Особливістю цієї ізоформи є здатність перебувати як у розчинному стані, так і зв'язаною з мембраною. У більшості кардіоміоцитів та ендотеліоцитів eNOS знаходиться в кавеолах мембрани. Кавеолін-1 (знайдено в ендотелії мікроциркуляторного русла) та кавеолін-3 (розташований в кардіоміоцитах) – це головні структурні білки кавеоли мембрани клітини. Ці протеїни здатні циркулювати між плазматичною мембраною та апаратом Гольджі, на ендотелії якого також може розміщуватись eNOS, завдяки чому NO є внутрішньоклітинним месенджером. Локалізація eNOS в цитоплазматичній мембрані клітини відіграє важливе значення для передачі сигналу за участі NO при напруженні зсуву ендотеліоцитів, що виникає при зростанні сили та швидкості кровотоку [11, 16]. Посттрансляційна модифікація, а саме фосфорилування eNOS протеїнкіназами C та A, а також кальмодулінкіназою-2, забезпечує перехід ензиму в цитозольну (розчинну) фракцію. Існують окремі дані щодо здатності брадикініну шляхом депальмітизації ендотеліальної ізоформи перетворювати її в розчинну форму, які проте не були підтверджені іншими дослідженнями [11]. Проте встановлено, що застосування брадикініну та субстанції P призводить до підвищення утворення NO завдяки підвищенню активності eNOS. Ці біологічно активні речовини реалізують свої впливи через збільшення вмісту внутрішньоклітинного  $Ca^{2+}$ . Крім того, брадикінін може впливати на активність eNOS шляхом підвищення рівня pH у клітині [16].

NO, синтезований ендотеліальними клітинами вінцевих судин, бере участь у регуляції коронарного кровотоку, інгібує адгезію моноцитів та тромбоцитів до ендотелію, пригнічує агрегацію тромбоцитів. Впливаючи на гладеньком'язові клітини судин, NO здатний також викликати їх розслаблення, інгібувати міграцію та проліферацію [2, 5, 7, 11, 16].

З викладеного вище стає зрозумілим, що NO продукується практично всіма типами клітин, що знаходяться в серці, і здійснює регуляцію діяльності цього органа як судинно-залежним, так і судинно-незалежним шляхами. До першого на-

лежить регуляція тонусу вінцевих судин, тромботворення, проліферативних та запальних процесів, а останній передбачає прямий вплив NO на скоротливість кардіоміоцитів: від тонкої регуляції спряження процесів збудження та скорочення до модулювання (пре- та постсинаптичної) передачі сигналів автономної нервової системи [2, 11].

Оксид азоту здатний легко проникати крізь клітинні мембрани, тому концентрація даної речовини всередині клітини дорівнює сумі NO, синтезованого в ній, та NO, що утворився в сусідній клітині та надійшов шляхом дифузії. Біологічні ефекти NO залежать від кількості утвореного NO, кількості та різноманітності молекулярних мішеней вздовж усього шляху дифузії з місця синтезу та стану окисно-відновних процесів. Серед молекулярних мішеней чільне місце посідають гемові протеїни. Адже ефект NO пов'язаний із впливом на гемову групу розчинної форми гуанілатциклази, що призводить до активації ензиму та зростання синтезу циклічного гуанозинмонофосфату (цГМФ). Даний циклічний нуклеотид є активним внутрішньоклітинним посередником, що здатний модулювати роботу іонних каналів мембрани, активуючи протеїнкіназу G та інші кінази, регулювати процеси фосфорилування білків, змінювати активність фосфодіестерази. Саме завдяки цГМФ відбувається релаксація гладеньком'язових клітин судинної стінки, що і спричинює вазодилатацію; забезпечується контрактильна функція міокарда, через підсилення релаксації шлуночків та збільшення діастолічного розтягнення; інгібується адгезія та агрегація тромбоцитів [1, 4, 11, 14, 16, 18].

NO здатний регулювати антиоксидантні властивості кардіоміоцитів, через послаблення активності глутатіонпероксидази [2, 14]. Проте у великих концентраціях він діє на клітину токсично, що пов'язано як з прямою дією на залізовмісні ферменти, так і з утворенням високореактивної вільнорадикальної сполуки – пероксинітриту. Останній утворюється в реакції з супероксид аніоном ( $O_2^-$ ). Токсичний ефект NO полягає в інгібуванні мітохондріальних ферментів, що викликає зниження утворення АТФ, а також ферментів, які беруть участь у синтезі ДНК. Це призводить до активації захисних механізмів, зокрема стимуляції полі-АДФ-рибозо-синтази, що поглиблює дефіцит АТФ та в кінцевому результаті сприяє загибелі клітини. Саме таке пошкодження ДНК під впливом NO є одним із механізмів розвитку апоптозу (особливого типу клітинної смерті, що регулюється геномом самої клітини) [2, 11].

Вплив оксиду азоту на контрактильну функцію серця є двояким, залежно від кількості утвореного NO. Так, у малих кількостях він проявляє

позитивний інотропний ефект, а у великих – негативний. Увесь ланцюг дії молекули NO в серці обумовлений взаємодією з кисневими радикалами чи скевенджерами, такими як міоглобін, якого досить багато у кардіоміоцитах [17, 18].

Модулюючі ефекти ендогенного NO на  $\beta$ -адренергічний шлях реалізуються через гуанілатциклазу та протеїнкіназу G. NO через зростання кількості цГМФ стимулює фосфодіестеразу II типу, що призводить до зниження рівня цАМФ (екзогенний оксид азоту може викликати стимулювання фосфодіестерази III типу, яка призводить до протилежного ефекту – зростання вмісту цАМФ). NO активує протеїнкіназу G, яка викликає, з одного боку, пригнічення  $Ca^{2+}$ -току через канали L-типу, а з іншого – фосфорилування тропоніну-1, що призводить до зменшення чутливості кардіальних міофіламентів до  $Ca^{2+}$ . Обидва механізми призводять до зменшення  $\beta$ -адренергічних впливів [17].

Описані ефекти характерні і для автокринного NO, синтезованого eNOS кардіоміоцитів при стимулюванні  $M_2$ -холінергічних чи  $\beta_3$ -адренергічних рецепторів (кавеоларна локалізація останніх не встановлена), чи iNOS, стимульованою цитокінами, і для паракринного NO, синтезованого тими ж двома ізоформами в ендотеліальних клітинах вінцевих судин [16, 17]. Нещодавно доведено, що nNOS здатна специфічним чином пригнічувати кальцієвий потік через канали L-типу за відсутності  $\beta$ -адренергічної стимуляції. NO, синтезований конститутивними формами NOS (eNOS та nNOS) в симпатичній та парасимпатичній ланках автономної нервової системи, зменшує вивільнення норадреналіну, а потенціює – ацетилхоліну, таким чином підсилюючи антиадренергічне модулювання на пресинаптичному рівні [17].

Зменшення чутливості кардіальних міофіламентів до іонів кальцію під впливом NO (через активацію протеїнкінази G з наступним фосфорилуванням тропоніну-1) сприяє збільшенню довжини волокон у діастолі. На рівні цілого органа це призводить до формування діастолічного резерву і стає частиною механізму Франка-Старлінга – збільшення переднавантаження через збільшення розтягнення кардіоміоцитів. Цей механізм лежить в основі компенсації втрачених інотропних можливостей на початкових стадіях серцевої недостатності [1, 5, 15, 17].

Вплив NO на пейсмейкерні клітини важко трактувати, враховуючи багатогранність модуляції, часто з протилежністю ефектів, та різноманітність мішеней. На рівні цілого органа включаються у гру й інші механізми контролю через пресинаптичну модуляцію [14, 15]. Згідно з да-

ними літератури NO здатний підсилювати брадикардію, спричинену стимуляцією правого блукаючого нерва [14]. У подальших дослідженнях на ізольованих предсердно-вагусних препаратах дорослих гвінейських свинків було доведено, що блокатори nNOS зменшують серцеву відповідь на електричну стимуляцію n.vagus, а донатори синтезу NO та аналоги цГМФ навпаки – підсилюють брадикардію [17].

Саме nNOS відіграє важливу роль у автономному контролі серцевого ритму. Це пов'язано зі здатністю NO модулювати нейротрансмісію, зменшуючи вивільнення норадреналіну та потенціюючи вивільнення ацетилхоліну [14]. Генетична делеція чи селективне інгібування саме nNOS призводить до зменшення вагусного пригнічення серцевого ритму, зменшення його варіабельності [17]. Дані фармакологічних досліджень вказують на наявність впливу базальної активності пресинаптичної системи цАМФ–протеїнкіназа A (PKA) на вивільнення нейротрансмітерів, що контролюється N- та P-типами кальцієвих каналів. Підсилення вивільнення ацетилхоліну пов'язано зі стимуляцією оксидом азоту (синтезованим nNOS) розчинної гуанілатциклази та підвищенням рівня внутрішньоклітинного цГМФ, що зумовлює інгібування фосфодіестерази-3 і зростання цАМФ-та PKA-залежного фосфорилування кальцієвих каналів N-типу [14, 17]. Зазначені механізми забезпечують підтримку ефекту посилення вагусної передачі під впливом nNOS на пресинаптичному рівні, особливо в серцевих гангліях, де експресія цієї ізоформи виражена найкраще [14, 15].

На постсинаптичному рівні eNOS кардіоміоцитів модулює відповідь на стимуляцію холінергічних мускаринових рецепторів. У клітинах AV-вузла електрофізіологічні параметри демонструють цГМФ-залежне пригнічення потоку  $Ca^{2+}$  через фосфодіестеразу II типу, яка спричинює розщеплення цГМФ після  $\beta$ -адренергічної стимуляції. Це спочатку було підтверджено в експериментах, проведених на новонароджених та дорослих мишах, з видаленим геном eNOS [17]. Згодом було отримано дані, що NO-залежна мускаринова холінергічна передача та її регуляторна роль стосовно NO-незалежних механізмів виражені сильніше в ембріональних, ніж у дорослих особин. Це породжує можливість у майбутньому відроджувати зазначені захисні механізми як частину реекспресії фетальноподібної генетичної програми [14, 17]. Адже відносно переважання тону парасимпатичної ланки автономної нервової системи є позитивною прогностичною ознакою при захворюваннях серцево-судинної системи та однією з важливих патофізіологічно обґрунтованих ланок корекції даної патології [5, 14].

Важливим доказом холінергічного походження функціональних змін, викликаних оксидом азоту в умовах недостатнього кровопостачання, є спостереження за тваринами, які перебували в умовах стресу чи гострої гіпоксії, та дослідження на ізольованому серці. Експериментально доведено, що кількість спожитого кисню на одиницю виконаної міокардом роботи при застосуванні донаторів NO значно зменшується, а стимуляція скоротливої активності міокарда супроводжується істотним збільшенням в міокарді оксиду азоту [9]. На основі таких результатів були зроблені висновки, що саме цей метаболіт відповідає за зменшення кисневої вартості роботи міокарда при його стимуляції [9, 14], а одним із механізмів впливу на споживання кисню серцевим м'язом є безпосередня дія на мітохондріальне дихання. Крім того, значний дефіцит кисню та порушення енергетичного метаболізму в міокарді викликає експресію гена NO-синтази і це вважають одним із перших і досить швидких механізмів адаптації серця до нестачі кисню [8]. Ця закономірність корелює з результатами дослідження життєдіяльності міокарда тварин з різною резистентністю до гіпоксії. Встановлено, що в регуляції функцій серця високорезистентних особин домінує положення займає блукаючий нерв. Ця природна перевага є особливо цінною в умовах гіперадреналемії і проявляється більшою резистентністю кардіоцитів до пошкодження при кращих показниках енергоутворення [9, 10]. Загалом усі компенсаторні зміни за участі оксиду азоту дозволяють зберігати адекватну перфузію тканини серця та оптимальний обмін речовин, що в свою чергу є важливим для попередження розвитку ускладнень [9, 13].

Розвиток численних патологічних станів, таких як гіпертонічна хвороба, вазоспазм, атеросклероз, ішемічна хвороба серця, пов'язаний із нестачею чи зменшенням біодоступності NO [5, 11]. Для усіх цих захворювань характерним є

поява ендотеліальної дисфункції. Порушення звичайного функціонування ендотеліальних клітин при зазначених вище патологічних станах може проявлятися двома шляхами: втратою ендотелій-залежної вазодилатації та розвитком неадекватної вазоконстрикції і втратою звичайних антитромбогенних властивостей [5, 17, 18].

Ендотеліальна дисфункція є спільним кінцевим етапом дії таких факторів ризику серцево-судинних захворювань, як куріння, дисліпідемія, цукровий діабет, вік, що доведено багатьма клінічними дослідженнями [5, 11, 17, 18].

Зменшення утворення оксиду азоту може бути обумовлене зменшенням експресії eNOS чи змінами його субстратів та кофакторів, таких як L-аргінін та тетрагідробіоптерин. Проте найчастішою причиною розвитку ендотеліальної дисфункції є зменшення біодоступності NO, в результаті взаємодії його з вільними радикалами, особливо з  $O_2^-$ . Це призводить до утворення пероксинітриду та розвитку оксидативного стресу. Останній характеризується підвищенням утворенням вільних радикалів та обмеженням антиоксидантним захистом. Особливої уваги заслуговує стан "роз'єднаної NO-синтази", коли сама eNOS здатна утворювати супероксиданіон. Це спостерігається за умов низької концентрації L-аргініну чи тетрагідробіоптерину і не є раннім механізмом утворення  $O_2^-$ , оскільки зменшення кількості субстрату та кофактора до критичних рівнів вимагає значних змін в судинному руслі. Проте нещодавно стало відомим, що роз'єднання eNOS може бути і результатом тонких змін у біохімічному функціонуванні ензимів [2, 7, 17, 18].

**Висновок.** Наявність дискусії при трактуванні механізмів впливу оксиду азоту на функціонування клітин серця та судин свідчить про збереження актуальності досліджень, які проводяться в даній галузі, особливо тих, що стосуються вивчення патогенезу пошкоджень серця та можливостей їх профілактики.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Андрухов О.Я., Сагач В.Ф. Механізми впливу оксиду азоту на чутливість скорочувального апарату гладеньких м'язів до  $Ca^{2+}$  // Фізіол. журнал. – 2001. – Т. 47, № 5. – С. 41-47.
2. Бурлака А.П., Сидорик Є.П. Радикальні форми кисню та оксид азоту при пухлинному процесі. – К.: Наукова думка, 2006. – 227 с.
3. Куровська В.О., Пішак В.П., Ткачук С.С. Роль оксиду азоту в ішемічних та ішемічно-реперфузійних ушкодженнях головного мозку // Буковинський медичний вісник. – 2008. – Т. 12, № 4. – С. 143-149.
4. Лагодич Т.С. Вплив донаторів оксиду азоту на скоротливу функцію міокарда // Фізіол. журнал. – 2001. – Т. 47, № 1. – С. 34-39.

5. Лутай М.И., Слободской М.А. Дисфункция эндотелия при ишемической болезни сердца: значение и возможные пути коррекции. Часть 1. Эндотелий – универсальный регулятор функции сердечно-сосудистой системы // Укр. кард. журн. – 2001. – № 3. – С. 79-83.

6. Павлюченко В.Б., Мойбенко О.О., Даценко В.В. Роль біологічно активних речовин у формуванні кардіогенних рефлекторних впливів на кровообіг // Фізіол. журн. – 2001. – Т. 47, № 3. – С. 106-119.

7. Поливода С.Н., Черепок А.А. Роль оксидативного стресса в нарушении метаболизма оксида азота при гипертонической болезни // Серце і судини. – 2004. – № 1(5). – С. 39-45.

**Огляди літератури, оригінальні дослідження, погляд на проблему, короткі повідомлення, замітки з практики**

8. 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.

9. Сагач В.Ф., Шиманська Т.В., Надточій С.Н. Вивчення ролі оксиду азоту у змінах споживання кисню та кисневої вартості роботи серцевого м'яза // Фізіол. журн. – 2000. – Т. 46, № 2. – С. 33-40.

10. Хара М.Р. Зміни гліколізу, перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи в серці різностатевих щурів з адреналіновою міокардіодистрофією на тлі блокади холінорецепторів // Мед. хімія. – 2005. – Т. 7, № 1. – С. 21-24.

11. Balligand Jean-Luc, Cannon Paul J. Nitric Oxide Synthases and Cardiac Muscle // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biolog. – 1997. – V. 17. – P. 1846-1858.

12. Contribution of KATP+ channels to coronary vasomotor tone regulation is enhanced in exercising swine with a recent myocardial infarction /D. Merkus, B. Houweling, M. van Vliet, D.J. Duncker // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2005. – V. 288, N 3. – P. 1306-1313.

13. Function and production of nitric oxide in the coronary circulation of the conscious dog during exercise / R.D. Bernstein, F.Y. Ochoa, X. Xu et al. // Circulat. Res. – 1996. – V. 79. – P. 840-848.

14. Fellet A.L., Balaszczyk A.M., Arranz C., Lopez-Costa J.J., Boveris A., Bustamante J. Autonomic regulation of pacemaker activity: role of heart nitric oxide synthases // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2006. – V. 291. – P. 1246-1254.

15. Herring Neil, Danson Edward J.F., Paterson David J. Cholinergic Control of Heart Rate by Nitric Oxide is Site Specific // News Physiol. Sci. – 2002. – V. 17, N. 5. – P. 202-208.

16. Kelly Ralph A., Balligand Jean-Luc, Smith Thomas W. Nitric oxide and cardiac function // Circulation Research – 1996. – V. 79. – P. 363-380.

17. Massion P.B., Ferron O., Dessy C., Balligand J.-L. Nitric oxide and cardiac function // Circ. Res. – 2003. – V. 93. – P. 388-400.

18. Moncada S., Higgs E.A. The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology // British J. Pharm. – 2006. – V. 147. – P. 193-201.

## **NITRIC OXIDE AND CARDIOVASCULAR SYSTEM**

©**M.R. Khara, A.M. Dorokhina**

*Ternopil State Medical University by I.Ya. Horbachevsky*

**SUMMARY.** The authors presented information about physiological and pathophysiological roles of nitric oxide (NO) in the cardiovascular system, the modulatory mechanisms of the basal cardiac function by NO, pathogenetic mechanisms of the endothelial dysfunction, prevented vascular damages. They also showed the important role of the nitric oxide for the supporting sympatho-vagal balans, that would place this gaseous molecule among primary candidates for therapeutic agents in case of cardiovascular disease.

**KEY WORDS.** Nitric oxide, nitric oxide synthase, L-arginine, endothelium, cardiomyocytes.

УДК 616.12-008.1-02:96:577.175(048.8)

## **ХОЛІНЕРГІЧНІ РЕАКЦІЇ СЕРЦЯ, ЇХ СТАТЕВА ДИФЕРЕНЦІАЦІЯ, РОЛЬ У МЕХАНІЗМАХ ПОШКОДЖЕННЯ МІОКАРДА**

©**М.Р. Хара, Г.С. Сатурська, Р.С. Усинський**

*Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського*

**РЕЗЮМЕ.** У статті висвітлено сучасні позиції провідних науковців експериментальної та клінічної медицини щодо особливостей холінергічної регуляції серця при серцевій патології залежно від статі. Особлива увага відводиться нейрогуморальним механізмам регуляції серця, серед яких чимала роль належить впливу статевих гормонів. Наведено наукові докази статевих відмінностей у формуванні холінергічних реакцій в умовах серцевої патології.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** холінергічні реакції серця, пошкодження міокарда, статеві відмінності.

**Вступ.** На сьогодні багатьма науковцями доведено, що кардіоваскулярна активність навіть у стані спокою демонструє нерегулярний характер коливань [1–4], що є результатом складної взаємодії, яка включає нервові, гуморальні та клітинні системи контролю діяльності серцево-судинної системи (ССС) [1, 5–10]. Такі

взаємовідносини забезпечуються нейрогуморальними механізмами, що включають у себе здатність автономної нервової системи (АНС) здійснювати регуляторні впливи за посередництва нейротрансмітерів. Однак при дії на організм надмірних стресорних чинників їх наслідки будуть залежати від здатності холінергічної ланки