

легких улучшает антиоксидантную защиту, протеолическую активность и уменьшает проявления дисфункции эндотелия.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, хроническая обструктивная болезнь легких, карведилол.

CONSTELLATION OF CORONARY AND CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASES- SELECTION OF AN ADEQUATE THERAPY

T.M. Amelina

Abstract. The study found out that the administration of carvedilol β_1 , 2α -blocker in patients with combined coronary heart disease and chronic obstructive pulmonary disease improves antioxidant protection, proteolytic activity and reduces the number of signs of endothelial dysfunction.

Key words: coronary heart disease, chronic obstructive pulmonary disease, carvedilol.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Рецензент – д. мед.н. Т.О. Ілащук

Buk. Med. Herald. – 2013. – Vol. 17, № 4 (68). – P. 10-13

Надійшла до редакції 29.10.2013 року

© Т.М. Амеліна, 2013

УДК 616.12-005.4-053-092:612.015.113

A.C. Besedina

NO-СИНТАЗНА АКТИВНІСТЬ У ПАЦІЄНТІВ З ІШЕМІЧНОЮ ХВОРОБОЮ СЕРЦЯ РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУП

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

Резюме. Проведено вивчення стану NO-синтазної системи в пацієнтів з ішемічною хворобою серця (ІХС). Одержані дані свідчать про порушення функціонального стану ендотелію в пацієнтів з ІХС, який характеризується зниженням ендотеліального синтезу NO за участю eNOS на тлі зростання системного синтезу NO, зумовленого підвищеною активністю iNOS. Виявлено, що дефіцит ендотеліального NO та гіперпродукція

“шкідливого” NO за участю iNOS у пацієнтів з ІХС є більш вираженим у пацієнтів літнього віку. Припускається, що дисфункція NO-синтазної системи відіграє важливу роль у механізмах порушення NO-регуляторних властивостей та NO-гомеостазу ендотелію судин.

Ключові слова: ішемічна хвороба серця, оксид азоту, NO-синтаза.

Вступ. Згідно із сучасними уявленнями серед патогенетичних механізмів ініціації та прогресування ішемічної хвороби серця (ІХС) провідна роль належить порушенню функціонального стану ендотелію судин. Ендотелію є активною метаболічною системою, у регуляції фізіологічної активності якої важливу роль посідає оксид азоту. Відомо, що біорегуляторні функції NO за розвитку різних патологій серцево-судинної системи порушуються.

За фізіологічних умов ензиматичне утворення NO в організмі людини та тварин з амінокислоти L-аргініну відбувається під дією P-450-подібних гемопротеїнів – NO-синтаз (NOS, EC 1.14.13.39). За характером індукції та фізіологічними властивостями розрізняють конститутивну ізоформу NOS (eNOS) та індукційну NOS (iNOS). Конститутивні ізоформи є Ca^{2+} /кальмодулін-залежними і синтезують NO у клітині постійно (конститутивно) в невеликій кількості. eNOS є менш потужними ензимами, ніж індукційні, їх поділяють на нейрональну (nNOS) та ендотеліальну (eNOS) ізоформи.

iNOS є кальцій-незалежною ізоформою NOS, і, на відміну від eNOS, не експресується конститутивно. Активація iNOS відбувається при патологічних станах організму та забезпечує синтез NO протягом тривалого часу і в кількості, яка перевищує в тисячу разів продукцію оксиду азоту в нормі [7]. Усі ізоформи NOS є схожими за структурою і механізмом каталітичної активності та експресуються як продукти різних генів. Назви ізоформ NOS вказують на місце їх ідентифікації. Більшість типів клітин організму людини мають одну або декілька ізоформ NOS.

За фізіологічних умов домінуючим ензимом, що забезпечує синтез NO у кровоносному руслі, є eNOS, яка експресується на ендотелію судин і відіграє важливу роль у забезпеченні постійного “базального” (фізіологічно необхідного) рівня NO, який бере участь у реалізації механізмів локальної ендотеліальної цитопротекції та необхідний для підтримання гомеостазу судин (Dudzinski D.M. et al., 2006). Крім ендотеліоцитів, eNOS експресується в еритроцитах, тромбоцитах, кардіоміоцитах та інших клітинах. Відомо,

© А.С. Беседіна, 2013

що зниження активності eNOS веде до зниження ендогенної продукції NO ендотеліоцитами і є ключовою ланкою патогенезу ІХС. nNOS наявна в малих кількостях, тестуються в гладеньком'язових судинних клітинах [2, 11, 13, 15, 17].

Незважаючи на значну кількість робіт, присвячених дослідженню NO-синтазної системи за розвитку ІХС, недостатньо вивченими залишаються вікові зміни активності ізоензимів NO-синтази в пацієнтів з ІХС.

Мета дослідження. Визначити активність конститутивної та індукційної ізоформи NO-синтази в пацієнтів з ІХС різних вікових груп.

Матеріал і методи. Проведено обстеження 50 пацієнтів із ІХС (32 чоловіки та 18 жінок) віком 45-75 років. Середній вік хворих становив $56,8 \pm 1,7$ року. Діагноз ІХС верифікували на основі скарг і анамнезу хвороби, а також на основі інструментальних даних (ЕКГ (включаючи добовий моніторинг ЕКГ), ехокардіографічне дослідження, велоергометрія).

Відповідно до завдань дослідження пацієнтів з ІХС розподілили на дві вікові групи: група А – пацієнти середнього віку (45-60 років), група Б – пацієнти літнього віку (61-75 років) (ВООЗ, 1963). За статтю, тривалістю захворювання, частотою нападів стенокардії групи пацієнтів були зіставними. У дослідження включені пацієнти з ІХС, які не отримували курсового лікування нітропрепаратами, проте епізодично використовували нітрогліцерин для зняття нападів стенокардії. Групи контролю (порівняння) становили практично здорові донори без клінічних ознак серцево-судинної патології, репрезентативні за віком і статтю, яких також розподілили на аналогічні дві вікові групи.

Активність сумарної NOS тестували за кількістю нітрит-аніона, що утворюється в процесі реакції [8]. Середовище інкубації для визначення сумарної NOS-активності містило: 0,1 М трис-НCl (рН=7,4), 5 мМ MgCl₂, 1,0 мМ NADPH («Sigma», США), 1 мМ L-аргінін та 10 мМ CaCl₂. Реакцію ініціювали додаванням 0,2 мл крові до інкубаційної суміші (кінцевий об'єм 2,0 мл). Проби протягом 20 хв витримували на водяній бані при температурі 37 °С та постійному струшуванні. Ензиматичну реакцію зупиняли введенням до розчину 1,25 мл 85 мМ NaOH та 1,25 мл 75 мМ ZnSO₄. Контрольні зразки готували аналогічно, але до середовища не вносили субстрату. Після зупинки ензиматичної реакції проби центрифугували (15 хв, 3000 g). В аліквоті супернатанту визначали рівень NO₂⁻ з використанням реактиву Гриса [10]. Активність сумарної NOS виражали в нмолях NO₂⁻/хв на 1 мл крові.

Активність Ca²⁺-незалежної ізоформи NOS (iNOS), визначали аналогічно, додаючи в інкубаційне середовище хелатор Ca²⁺ EGTA (4 мМ) замість CaCl₂. Активність Ca²⁺-залежної ізоформи NOS (cNOS), розраховували як різницю між активністю сумарної NOS і активністю Ca²⁺-незалежної ізоформи NOS [1].

Результати досліджень обробляли статистично з використанням *t*-критерію Стьюдента. Розбіжності вважалися статистично вірогідними, якщо $P \leq 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення.

У результаті проведених досліджень встановлено, що активність cNOS у практично здорових донорів середнього та літнього віку становить $0,2 \pm 0,03$ та $0,18 \pm 0,02$ нмоль NO₂⁻/хв на 1 мл крові відповідно (рис. 1). Активність cNOS з віком дещо знижується, проте ці зміни не є статистично вірогідними.

Активність iNOS у плазмі крові здорових осіб середнього є низькою порівняно з cNOS та складає $0,05 \pm 0,009$ нмоль NO₂⁻/хв на 1 мл крові. В осіб літнього віку відмічається статистично вірогідне зростання активності iNOS, яка складає $0,13 \pm 0,014$ нмоль NO₂⁻/хв на 1 мл крові і становить різницю у 2,6 раза стосовно величини в осіб середнього віку.

У пацієнтів з ІХС активність cNOS статистично вірогідно знижується стосовно осіб групи контролю, причому зниження ензиматичної активності cNOS має більш виражений характер у пацієнтів середнього віку. Так, cNOS у пацієнтів з ІХС середнього віку знижується в 1,5 раза і становить $0,13 \pm 0,02$ нмоль NO₂⁻/хв на 1 мл крові, а в пацієнтів літнього віку – у 2,6 раза стосовно величин у відповідних за віком контрольних груп і складає $0,07 \pm 0,015$ нмоль NO₂⁻/хв на 1 мл крові.

Пригнічення активності cNOS у практично здорових донорів при старінні організму та в пацієнтів з ІХС свідчить про зниження синтезу ендогенного NO та ендотеліальну дисфункцію. Відомо, що факторами, які зумовлюють дисфункцію ендотелію судин у пацієнтів з ІХС, є дисліпідемія, оксидативний стрес, гемодинамічне навантаження підвищеним артеріальним тиском та ін.

На тлі інгібування cNOS у пацієнтів з ІХС спостерігається різке зростання активності iNOS. Так, активність iNOS у пацієнтів з ІХС середнього віку зростає в 9,2 раза і становить $0,46 \pm 0,06$ нмоль NO₂⁻/хв на 1 мл крові, а в пацієнтів літнього віку – у 4,5 раза стосовно величин у відповідних за віком контрольних груп і складає $0,58 \pm 0,04$ нмоль NO₂⁻/хв на 1 мл крові.

Отримані дані стосовно вікових змін узгоджуються з даними, отриманими дослідниками в експерименті на судинній стінці щурів [3, 4]. Ними показано, що з віком вміст нітрит-аніонів зменшувався на 40 %, що пов'язано зі зниженням eNOS, активність якої з віком знижується. При вивченні iNOS виявлено зростання її активності в старих тварин, що пов'язано з надлишковим утворенням і накопиченням продуктів ліпопероксидації в тканинах при старінні. Також дослідниками встановлено, що в міокарді дослідних дорослих і старих щурів рівень генерації NO забезпечується різними механізмами: у дорослих – конститутивною NO-синтазою, у старих – переважно індукційною формою ферменту [5].

Активність iNOS веде до гіперпродукції NO. Відомо, що cNOS продукує низькі концентрації

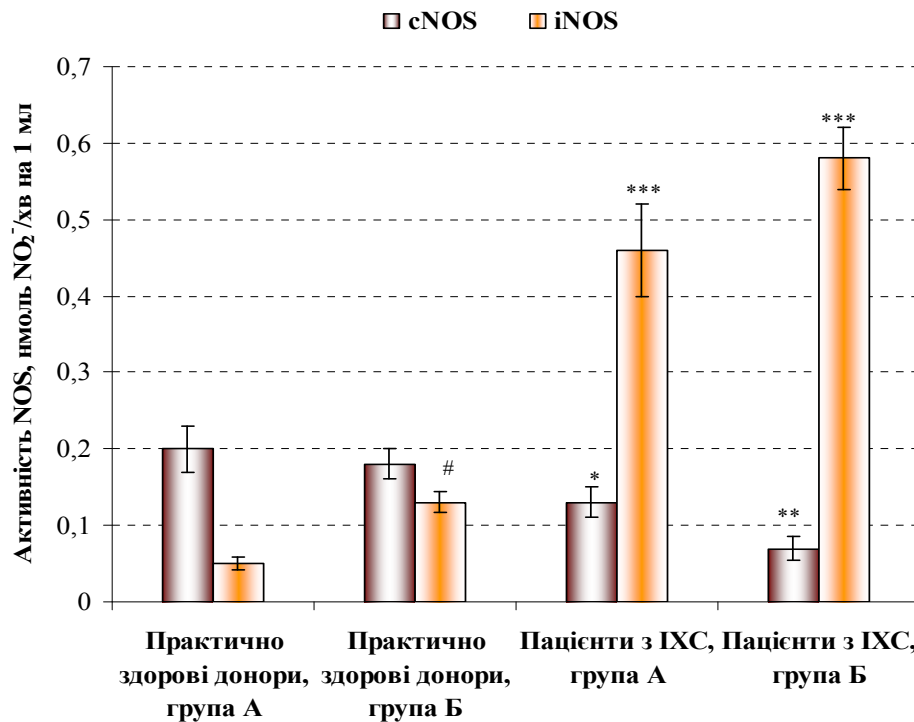


Рис. 1. Активність конститутивної (cNOS) та індукцйбельної (iNOS) NO-синтази у пацієнтів з ішемічною хворобою серця різних вікових груп

Примітка. *** – P < 0,001; ** – P < 0,01; * – P < 0,05 вірогідно порівняно з показниками групи контролю; # – P < 0,05 вірогідно стосовно показника в пацієнтів групи А

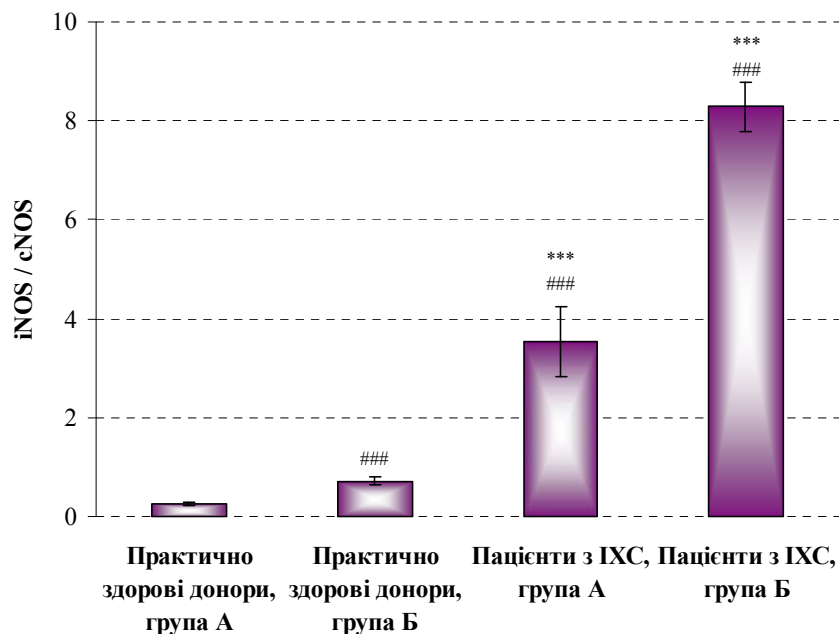


Рис. 2. Відношення iNOS до cNOS у пацієнтів з ішемічною хворобою серця різних вікових груп

Примітка. *** – P < 0,001 вірогідно порівняно з показниками групи контролю; ### – P < 0,001 вірогідно стосовно показника в пацієнтів групи А

NO, у той час як iNOS синтезує високі концентрації NO (> 300 нМ) [16]. Гіперпродукція NO за участю iNOS може виступати компенсаторним механізмом, спрямованим на покращання перфузії тканин. З іншого боку, надмірне генерування

NO є більш небезпечним, ніж його дефіцит. У високих концентраціях NO є фактором ендогенної інтоксикації, що визначає його цитотоксичну дію і викликає загибель клітин і тканин за механізмами апоптозу і некрозу. У результаті цього

відбувається активація апоптичних механізмів та ініціація деструктивних процесів у кардіоміоцитах, ендотеліоцитах та інших клітинах, що веде до прогресування дисфункції серцево-судинної системи [6].

iNOS спричинює надлишкову продукцію вільних радикалів, зокрема “шкідливого” NO, який бере участь в активації процесів пероксидного окиснення ліпідів, призводить до ушкодження клітин, а також до накопичення супероксидного аніон-радикала (O_2^-) [16].

Аналізуючи отримані дані, встановлено, що відношення активності iNOS до cNOS у практично здорових донорів із віком зростало у 2,9 раза, а в пацієнтів з ІХС значно зростало (у 14,2 раза для пацієнтів середнього віку та в 11,5 раза для пацієнтів літнього віку) (рис. 2). Це зумовлено зменшенням активності cNOS, яка продукує “корисний” NO, що бере участь у регуляції судинного тонуусу, і збільшенням активності iNOS, яка бере участь у синтезі “шкідливого” NO.

Отримані нами дані вказують на вікову різницю змін активностей ізоформ NOS за розвитку ІХС. Раніше вважали, що NOS-залежний синтез “базального” NO здійснюється за участю cNOS, а iNOS забезпечує продукцію додаткових кількостей NO в клітині за розвитку різних патологічних станів організму. Проте на сучасному етапі представлені докази конститутивної експресії iNOS у деяких тканинах та існування індукцибельних форм eNOS і pNOS [12, 14].

Зокрема, підтверджено участь iNOS у фізіологічному (“базальному”) синтезі NO, а також участь eNOS і pNOS при гіперпродукції NO за ряду патологій. Отже, “базальна” NO-синтазна активність iNOS у регуляції фізіологічних функцій, зокрема в регуляції судинного тонуусу, є вкрай важливою [9].

Наявність різних ізоформ NOS, їхня просторова розділеність, різна ензиматична активність свідчать про складний характер регуляції її функціональної активності. Зміна співвідношення iNOS/cNOS за розвитку ішемічної хвороби серця виступає визначальним механізмом, який зумовлює порушення NO-регуляторних властивостей. Отримані дані вказують на порушення NO гомеостазу, дефіцит ендотеліального NO у пацієнтів з ІХС, який є більш вираженим у пацієнтів літнього віку.

Висновок

У пацієнтів з ішемічною хворобою серця відбувається порушення активності NO-синтази, яка полягає в пригніченні активності конститутивної ізоформи ферменту та активації її індукцибельної ізоформи. При старінні організму та в пацієнтів з ішемічною хворобою серця літнього віку зростання співвідношення iNOS/cNOS є більш вираженим, ніж у пацієнтів середнього віку.

Перспективи подальших досліджень. Планується провести дослідження активності аргіна-

зо-NO-синтазної системи та прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у пацієнтів з ІХС різних вікових груп.

Література

1. Апихтіна О.Л. Модулюючий вплив екстракту *Serratula coronata* на обмін оксиду азоту в тканинах аорти шурів при свинцевій інтоксикації / О.Л. Апихтіна, А.В. Коцюруба, Ю.П. Коркач // Укр. біохім. ж. – 2007. – Т. 79, № 5. – С. 204-211.
2. Гуревич М.А. Дефицит оксида азота и поддержание сосудистого гомеостаза: роль мононитратов и проблемы цитопротекции / М.А. Гуревич, Н.В. Стуров // Трудный пациент. – 2006. – № 3. – С. 23-29.
3. Кульчицкий О.К. Система оксида азота та вік / О.К. Кульчицкий // Бук. мед. вісник. – 2005. – № 9 (2). – С. 143-144.
4. Кульчицкий О.К. Эндотелиальная функция и процесс старения / О.К. Кульчицкий // Лікування та діагностика. – 2002. – № 4. – Р. 6-9.
5. Оксид азоту, вік, стрес / О.К. Кульчицкий, Р.І. Потапенко, С.М. Новікова, М.К. Бурчинська // Пробл. старіння і довголіття. – 2010. – Т. 19, № 3. – С. 236.
6. Роль коррекции метаболизма оксида азота в организме при профилактике гипертонического ремоделирования сердечно-сосудистой системы / В.И. Бувальцев, С.Ю. Машина, Д.А. Покидышев [и др.] // Рос. кардиол. ж. – 2002. – № 5 (37). – С. 74-81.
7. Сибірна Н.О. Молекулярні механізми депонування оксиду азоту в еритроцитах / Н.О. Сибірна, М.Я. Люта, Н.І. Климишин // Біологічні Студії / *Studia Biologica*. – 2010. – Vol. 4, № 1. – С. 143-160.
8. Стан антиоксидантного захисту та системи L-аргінін-оксид азоту у крові хворих на урогенітальний хламідіоз / Г.К. Кондакова, О.В. Єрмошенко, К.О. Калекіна [та ін.] // Укр. біохім. ж. – 2008. – Т. 80, № 1. – С. 52-56.
9. Экзогенные доноры оксида азота и ингибиторы NO-синтаз (химический аспект) / А.П. Арзамасцев, И.С. Северина, Н.Б. Григорьев [и др.] // Вестн. РАМН. – 2003. – № 12. – С. 88-95.
10. Analysis of nitrate, nitrite, and [^{15}N] nitrate in biological fluids / L.C. Green, D.F. Wagner, J. Glogowski [et al.] // *Anal. Biochem.* – 1982. – Vol. 126, № 1. – P. 131-138.
11. Böger R.H. The pharmacodynamics of L-arginine / R.H. Böger // *J. Nutr.* – 2007. – Vol. 137. – P. 1650-1655.
12. Bryan N.S. Discovery of the nitric oxide signaling pathway and targets for drug development / N.S. Bryan, K. Bian, F. Murad // *Frontiers in Bioscience*. – 2009. – Vol. 14. – P.1-18.
13. Gkaliagkousi E. Platelet-derived nitric oxide signaling and regulation / E. Gkaliagkousi, J. Ritter, A. Ferro // *Circ. Res.* – 2007. – Vol. 101(7). – P. 654-662.
14. Lubos E. Role of oxidative stress and nitric oxide in atherothrombosis / E. Lubos, D.E. Handy, J. Loscalzo // *Front. Biosci.* – 2009. – Vol. 13. – P. 5323-5344.
15. Lusher T.E. Biology of the endothelium / T.E. Lusher, M. Barton // *Clin. Cardiol.* – 1997. – Vol. 10 (Suppl II). – P. 3-10.
16. The biphasic nature of nitric oxide responses in tumor biology / L.A. Ridnour, D.D. Thomas, S. Donzelli [et al.] // *Antioxidants & Redox Signaling*. – 2006. – Vol. 8, № 7-8. – P. 1329-1337.
17. The regulation and pharmacology of endothelial nitric oxide synthase / D.M. Dudzinski, J. Igarashi, D. Greif [et al.] // *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 2006. – Vol. 46. – P. 232-276.

**NO-СИНТАЗНА АКТИВНОСТЬ У ПАЦІЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ
СЕРДЦА РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП***A.C. Besedina*

Резюме. Проведено изучение состояния NO-синтазной системы у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС). Результаты исследования свидетельствуют о нарушении функционального состояния эндотелия у пациентов с ИБС, которое сопровождается снижением эндотелиального синтеза NO с участием cNOS на фоне роста системного синтеза NO, обусловленного повышенной активностью iNOS. Выявлено, что дефицит эндотелиального NO и гиперпродукция "вредного" NO с участием iNOS у пациентов с ИБС является более выраженным у пациентов пожилого возраста. Предполагается, что дисфункция NO-синтазной системы играет важную роль в механизмах нарушения NO-регуляторных свойств и NO-гомеостаза эндотелия сосудов.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, оксид азота, NO-синтаза.

**NO-SYNTHASE ACTIVITY IN PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE
OF DIFFERENT AGE GROUPS***A.S. Besedina*

Abstract. NO-synthase system in patients with ischemic heart disease (IHD) has been studied. The findings are indicative of a disturbance of the functional condition of the endothelium in patients with IHD which is characterized by an increase of the endothelial NO synthesis with the participation of cNOS with underlying systemic NO synthesis due to an enhanced activity of iNOS. It has been found out that the deficit of endothelial NO and a hyperproduction of "harmful" NO, involving iNOS in patients with IHD is more marked in patients of elderly age. It is assumed that a dysfunction of the NO-synthase system plays an important role in the mechanisms of a disturbance of the NO-regulatory properties and NO-homeostasis of the vascular endothelium.

Key words: ischemic heart disease, nitric oxide, NO-synthase.

Danylo Halytskyi National Medical University (L'viv)

Рецензент – проф. Л.П. Сидорчук

Buk. Med. Herald. – 2013. – Vol. 17, № 4 (68). – P. 13-17

Надійшла до редакції 15.07.2013 року

© А.С. Беседина, 2013

УДК 611.441.018:57.086.2

*Т.М. Бойчук, А.А. Ходоровська, Г.М. Чернікова, К.М. Чала, С.Б. Єрмоленко¹***ПОЛЯРИЗАЦІЙНІ ВЛАСТИВОСТІ ГІСТОЛОГІЧНИХ ЗРІЗІВ ТКАНИН
ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ НА ТЛІ СТРЕСОВОГО НАВАНТАЖЕННЯ**Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці
Чернівецький національний університет ім. Ю. Федьковича¹

Резюме. У роботі показані морфологічні особливості та поляризаційні властивості тканин щитоподібної залози у тварин, які піддавалися стресу. Вивчення морфології та дослідження методом лазерної поляриметрії тканин щитоподібної залози у тварин показали

зміни її поляризаційних властивостей на тлі стресового навантаження.

Ключові слова: щитоподібна залоза, морфологія, стрес, лазерна поляриметрія.

Вступ. Для визначення морфологічних особливостей та поляризаційних властивостей біологічних тканин щитоподібної залози є перспективним використання методу лазерної поляриметрії. Це один із методів, що дозволяє виявити просторово розмежені ознаки об'єкта, визначити наявність розподілу ділянок розсіювання, отримати локальну інформацію про залозисті клітини щитоподібної залози. Використання лазерів у біомедичній оптиці зумовило розвиток напрямку досліджень – лазерної поляриметрії біологічних тканин, яка заснована на статистичному аналізі

поляризаційно-неоднорідних об'єктних полів [3, 6]. Поле випромінювання, розсіяного біологічною тканиною, стає носієм інформації про їх властивості. Така інформація міститься у фотометричних, спектральних, поляризаційних і кореляційних характеристиках світлових коливань [1, 5]. Метод поляризаційної візуалізації архітектоніки біологічної тканини різного морфологічного типу дозволяє вивчити розподіл поляризаційних параметрів полів розсіяного лазерного випромінювання [2, 4]. Проте залишаються маловивченими питання використання методів лазерної поля-

© Т.М. Бойчук, А.А. Ходоровська, Г.М. Чернікова, К.М. Чала, С.Б. Єрмоленко, 2013