

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ СТАНУ СИСТЕМИ L-АРГІНІН-ОКСИДУ АЗОТУ У ПАЦІЄНТІВ З ІШЕМІЧНОЮ ХВОРОБОЮ СЕРЦЯ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (м. Львів)

Робота є самостійним фрагментом науково-дослідної роботи кафедри сімейної медицини факультету післядипломної освіти Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького «Вплив професійних шкідливостей та алкоголю на особливості клінічного перебігу і лабораторні показники крові у хворих на токсичну кардіоміопатію та гострі форми ІХС», державний реєстраційний № 0106U012664.

Вступ. У структурі кардіоваскулярної патології в Україні перше місце належить ішемічній хворобі серця (ІХС). Згідно сучасних уявлень, одним із провідних патогенетичних чинників ІХС є ендотеліальна дисфункція, що розглядається як зміна функціонального стану ендотелію, яка не відповідає потребам організму [25]. Ендотеліальна дисфункція є первинною ланкою в патофізіології серцево-судинного континууму, в основі якого лежить зниження синтезу NO, що пов'язано із зниженням біодоступності L-аргініну або прискореним розпадом NO [18].

In vivo NO утворюється ензиматичним або неензиматичним шляхами. Неензиматично нітрат або нітрит відновлюється до NO. Розрізняють два основні механізми: реакція диспропорціонування нітриту і відновлення нітриту в присутності гемовмісних протеїнів, які володіють нітритредуктазною активністю. У фізіологічних умовах ензиматичне утворення NO в організмі людини та тварин з L-аргініну відбувається під дією P-450-подібних гемопротеїнів – NO-синтаз (EC 1.14.13.39.) [11].

Незважаючи на значну кількість робіт, присвячених дослідженню системи L-аргінін-NO при ІХС, недостатньо дослідженими залишаються регуляторні механізми підтримання NO-гомеостазу. Водночас, вікові зміни різних ланок системи L-аргінін-NO також є маловивченими. Тому дослідження показників обміну NO у пацієнтів з ІХС різних вікових груп та з'ясування регуляторних механізмів підтримання NO-гомеостазу має, безперечно, актуальне значення.

Мета дослідження. Визначити вміст вільного L-аргініну, активність NO-синтази та вміст стабільних метаболітів NO – нітрит-аніонів (NO_2^-) та нітрат-аніонів (NO_3^-) у плазмі крові пацієнтів з ІХС різних вікових груп.

Об'єкт і методи дослідження. Проведено обстеження 50 пацієнтів із ІХС (32 чоловіків 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 похилого віку (61-75 років) (ВООЗ, 1963). За статтю, тривалістю захворювання, кількістю нападів болю чи відчуття стискання за грудниною групи пацієнтів були співставними. У дослідження включені пацієнти з ІХС, які не отримували курсового лікування нітропрепаратами, проте епізодично використовували нітрогліцерин для знаття 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.

Для оцінки стану системи синтезу L-аргінін-NO визначали концентрацію вільного L-аргініну, активність сумарної NO-синтази та вміст стабільних метаболітів NO – нітрит-аніону (NO_2^-) та нітрат-аніону (NO_3^-).

Для визначення концентрації вільного L-аргініну у плазмі крові пацієнтів з ІХС та осіб груп контролю, протеїни осаджували 20%-ю трихлороцтовою кислотою. Одержаний супернатант інкубували протягом 20 хв при кімнатній температурі у суміші такого складу (у %): NaOH – 20, α -нафтол – 0,02, сечовина – 10, гіпобромідний реактив (Br_2 та 5%-й NaOH, співвідношення 1:100). Абсорбцію світла вимірювали при довжині хвилі 500 нм. Концентрацію L-аргініну у плазмі крові розраховували, користуючись калібрувальним графіком, побудованим у відповідності до умов проведення дослідів і виражали в мг/мл [7].

Активність сумарної NO-синтази тестували за кількістю нітрит-аніона, що утворюється у процесі реакції [3]. Середовище інкубації для визначення сумарної NO-синтазної активності містило: 0,1 М трис-HCl (pH=7,4), 5 мМ MgCl_2 , 1,0 мМ NADPH («Sigma», США), 1 мМ L-аргінін та 10 мМ CaCl_2 . 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 °C та постійному струшуванні. Ензиматичну реакцію зупиняли введенням до розчину 1,25 мл 85 мМ NaOH та 1,25 мл 75 мМ ZnSO_4 . Контрольні зразки готували аналогічно, але до середовища не вносили субстрат. Після зупинки ензиматичної реакції проби центрифугували (15 хв, 3000 г). В

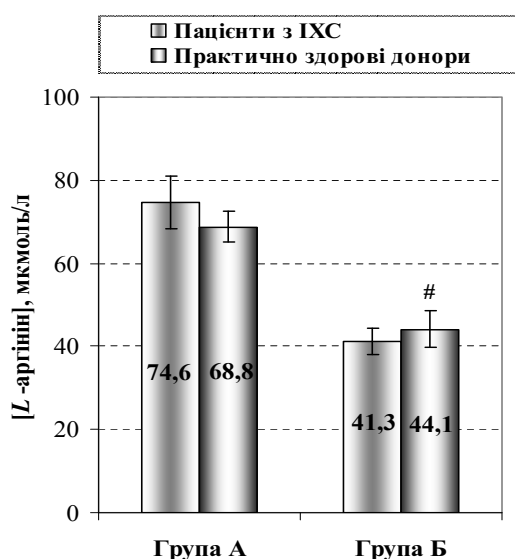


Рис. 1. Концентрація вільного L-аргініну у плазмі крові пацієнтів з ІХС різних вікових груп.

Примітка: # – вірогідно у порівнянні з показником групи А ($P < 0,05$).

аліквоті супернатанту визначали рівень NO_2^- з використанням реактиву Гриса [20]. Активність сумарної NOS виражали в нмолях $\text{NO}_2^-/\text{хв}$ на 1 мл крові.

Для оцінки інтенсивності утворення ендogenous NO визначали рівень NO_2^- та NO_3^- , оскільки саме вони є одними з кінцевих стійких метаболітів NO, в той час як молекула NO в біологічних рідинах інактивується через декілька секунд під впливом кисневих радикалів. Концентрацію NO_2^- в плазмі крові визначали спектрофотометричним методом з використанням реактиву Гриса, вміст суми метаболітів NO ($\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$) – з використанням реактиву Гриса після відновлення NO_2^- до NO_3^- цинковим пилом. Отримані результати виражали в мікромолях на 1 літр крові.

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

Результати досліджень та їх обговорення.

L-аргінін є єдиним субстратом для синтезу NO всіма ізоформами NO-синтаз. Біодоступність внутрішньоклітинного L-аргініну є лімітуючим чинником синтезу NO та потенційним механізмом контролю його регуляторної функції. Більшість типів клітин не здатні синтезувати L-аргінін і потребують його екзогенного надходження. Відомо, що позаклітинний L-аргінін відіграє важливу роль у регуляції синтезу NO. Концентрація L-аргініну в плазмі крові людини і тварин коливається в межах 50-200 мкМ залежно від віку та дієти. Модулюючий ефект L-аргініну на ендотеліальну функцію залежить від його концентрації у плазмі крові. За низьких концентрацій L-аргінін вибірково покращує ендотеліальну функцію, за середніх концентрацій має прямий вазодилатаційний ефект,

а за високих концентрацій викликає неспецифічну вазодилатацію [27].

Одержані нами дані свідчать, що концентрація вільного L-аргініну у плазмі крові практично здорових донорів з віком статистично вірогідно знижується в 1,6 рази. Отримані нами дані узгоджуються з результатами інших досліджень, в яких також встановлено зниження рівня L-аргініну в сироватці крові практично здорових осіб [1].

У пацієнтів з ІХС різних вікових груп концентрація вільного L-аргініну у плазмі крові статистично вірогідно не відрізняється від цих величин в осіб груп контролю аналогічного віку (рис. 1).

Внутрішньоклітинна концентрація L-аргініну є значно вищою у порівнянні із плазмою крові. Дослідниками показано, що позаклітинний L-аргінін може швидко захоплюватись ендотеліальними клітинами для синтезу NO [16]. Тому концентрація L-аргініну в плазмі крові не відображає змін системи L-аргінін-NO при патологічних станах та не може вважатися достатньо цінним діагностичним і прогностичним показником.

Оскільки L-аргінін є субстратом NO-синтази (NOS), то було важливо дослідити інтенсивність його окисного метаболізму при патологічному процесі. В результаті проведених досліджень встановлено, що в практично здорових осіб активність сумарної NOS з віком дещо зростає, проте ці зміни не є статистично вірогідними (рис. 2). За ІХС активність сумарної NOS статистично вірогідно зростає у пацієнтів середнього віку в 2,2 рази, а у пацієнтів похилого віку – в 2,3 рази.

Зростання активності сумарної NOS свідчить про гіперпродукцію NO і може бути зумовлене зростанням експресії індукцйбельної ізоформи NOS (iNOS), яка забезпечує утворення додаткових

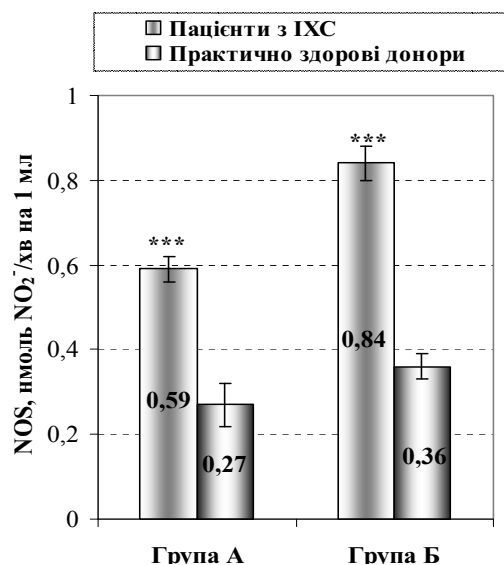


Рис. 2. Активність сумарної NO-синтази (NOS) у плазмі крові пацієнтів з ІХС різних вікових груп.

Примітка: *** – вірогідно у порівнянні з показниками групи контролю ($P < 0,001$);

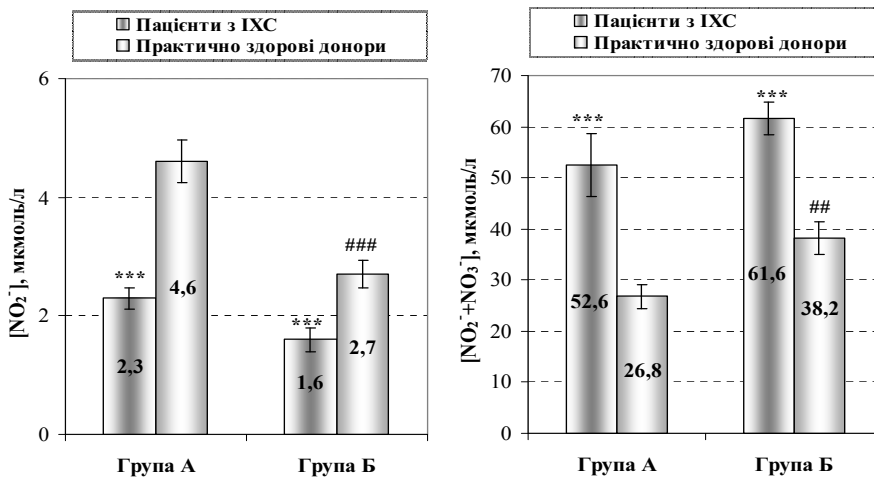


Рис. 3. Вміст стабільних метаболітів NO (NO₂⁻ та суми (NO₂⁻+NO₃⁻)) в плазмі крові пацієнтів з ІХС різних вікових груп.

Примітка: *** – $P < 0,001$ вірогідно у порівнянні з показниками контрольної групи; ## – $P < 0,01$, ### – $P < 0,001$ вірогідно у порівнянні з показниками групи А.

кількостей NO в клітині за розвитку різних патологічних станів організму. Під час патології iNOS постійно надекспресується на рівні транскрипції. Активація iNOS веде до синтезу NO в кількостях, які значно перевищують його синтез за участю eNOS [14].

Гіперпродукція NO за участю iNOS може виступати компенсаторним механізмом, напрямленим на покращення перфузії тканин. З іншого боку, надлишок NO є більш небезпечним, ніж його дефіцит. Високі концентрації NO активують в організмі процеси оксидативного та нітрозивного стресу, які ведуть до порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги. NO у високих концентраціях викликає утворення токсичної вільнорадикальної сполуки – пероксинітриту, який володіє цитостатичним і цитотоксичним ефектами. В результаті цього відбувається активація апоптичних механізмів та ініціація деструктивних процесів в кардіоміоцитах, ендотеліоцитах та інших клітинах, що веде до прогресування дисфункції серцево-судинної системи [2].

Поряд з NO-синтазним шляхом NO утворюється також через нітрат- та нітритредуктазні реакції. Вважається, що ця складова циклу NO є фізіологічно необхідною за умов зниження активності NOS. Вміст NO₂⁻ у плазмі крові у значній мірі відображає активність NOS ендотеліальних клітин (eNOS), адже 90 % всіх нітрит-аніонів плазми є стабільними метаболітами оксиду азоту NO-синтазного походження [26]. За багатьох патологічних станів зміна цього показника дає можливість оцінити функціональний стан ендотелію судин.

Вміст у плазмі NO₂⁻ та NO₃⁻ виступає маркером системної ендогенної продукції NO, тоді як плазматичний рівень NO₂⁻ віддзеркалює зміни локальної активності eNOS [17, 22]. Неорганічний нітрит є регулятором фізіологічних функцій і відповіді тканин на ішемію, тоді як більш стабільний нітрат-аніон вважається біологічно інертним.

Проте, ендогенний нітрат залучений до регуляції гомеостазу нітриту й NO [11]. Експериментально показано, що тканини ссавців відновлюють нітрат до нітриту і потім до NO за участі ксантиноксидази [21].

В результаті досліджень нами виявлено, що з віком кількість стабільного метаболіту NO – NO₂⁻ в плазмі крові практично здорових осіб статистично вірогідно знижується в 1,7 рази (рис. 3). При дослідженні вмісту NO₂⁻ у плазмі крові пацієнтів з ІХС виявлено статистично достовірне зниження його

рівня в обох досліджуваних групах пацієнтів. У групі А цей показник знижується в 2 рази, а у групі Б – в 1,7 рази. Отже, зниження рівня нітрит-аніонів є більш вираженим для пацієнтів групи середнього віку, проте ці зміни не є статистично вірогідними стосовно величини у пацієнтів похилого віку.

Частка NO₂⁻ в загальному пулі (NO₂⁻+NO₃⁻) стабільних метаболітів NO в плазмі крові практично здорових осіб з віком статистично вірогідно знижується в 2,2 рази (рис. 4). Водночас, частка NO₂⁻ в загальному пулі стабільних метаболітів NO в плазмі крові пацієнтів з ІХС середнього віку знижується в 3,5 рази, а у пацієнтів похилого віку в 2,6 рази.

Вважається, що вміст NO₂⁻ є пропорційним відображенням ендотеліального синтезу NO [19]. Оскільки основним джерелом NO₂⁻ є окиснений NO, синтезований за участю eNOS, то зниження рівня нітрит-аніонів в плазмі крові пацієнтів з ІХС та здорових донорів при старінні свідчить про зниження NO-продукуючої здатності ендотелію, що веде до порушення NO-опосередкованої регуляції судинного тонуусу.

Виявлено, що концентрація NO₂⁻+NO₃⁻ в плазмі крові практично здорових осіб з віком статистично вірогідно зростає в 1,4 рази, а концентрація NO₂⁻+NO₃⁻ в плазмі крові пацієнтів з ІХС в обох досліджуваних групах виявилась істотно вищою, ніж в осіб груп контролю (в 2 рази для пацієнтів середнього віку та 1,6 рази для пацієнтів похилого віку). Статистично вірогідне зростання рівня NO₂⁻+NO₃⁻ в плазмі крові практично здорових осіб з віком, а також у пацієнтів з ІХС, ймовірно обумовлено збільшенням синтезу NO за рахунок надлишкової експресії iNOS. Оскільки продукція NO за участю iNOS значно перевищує синтез NO за участю eNOS, то зростання рівня метаболітів NO в плазмі крові відображає інтенсивність синтезу NO саме за участю iNOS.

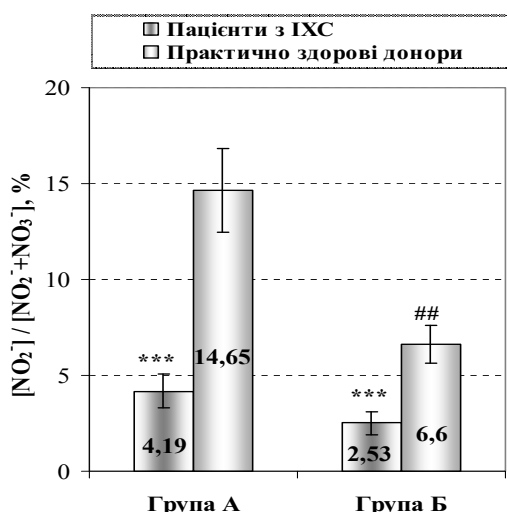


Рис. 4. Частка NO_2^- в загальному пулі ($\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$) стабільних метаболітів NO в плазмі крові пацієнтів з ІХС різних вікових груп.

Примітка: *** – $P < 0,001$ вірогідно у порівнянні з показниками контрольної групи; ## – $P < 0,01$ вірогідно у порівнянні з показником групи А.

Одержані нами результати співпадають із результатами досліджень інших авторів, якими також встановлено зниження рівня NO_2^- на фоні збільшення $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ в плазмі крові пацієнтів з ІХС [12]. Отримані дані стосовно вікових змін узгоджуються з даними, отриманими дослідниками в експерименті на судинній стінці щурів [4, 5]. Ними показано, що з віком вміст нітрит-аніонів зменшувався на 40 %. Це зумовлено інгібуванням eNOS, активність якої з віком знижується. При вивченні iNOS виявлено зростання її активності у старих тварин, що пов'язано з надлишковим утворенням і накопиченням продуктів ліпопероксидації в тканинах при старінні. Дослідниками встановлена негативна кореляція сильного ступеня між рівнем нітрит-аніонів та віком [6].

Водночас, відомості стосовно змін сумарної кількості стабільних метаболітів NO в науковій літературі є суперечливими. Виявлено як зниження, так і значне зростання рівня нітрит- та нітрат-аніонів у крові пацієнтів з ІХС, іншими [13, 23].

Збільшення рівня $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ веде до активації нітритредуктазних систем, наявність яких

забезпечує перетворення нітратів та нітритів знову на NO, що дозволяє зменшити токсичний вплив внаслідок їх накопичення.

Вважають, активація ензимів, що виявляють нітритредуктазну активність відіграє важливу роль в умовах гіпоксії та функціональних навантажень, оскільки функціонування NO-синтазного шляху, який забезпечує синтез NO у фізіологічних умовах при достатній оксигенації, може знижуватися. При цьому активується більш потужна нітритредуктазна компонента, активність якої є на три порядки вищою, ніж NO-синтазної [9, 28]. Встановлено, що практично всі патологічні процеси, які протікають на фоні гіпоксії та ішемії, активують нітритредуктазну компоненту циклу NO [8, 10]. Функціонування цієї системи розглядається як фактор корекції, що підвищує виживання в умовах гострої гіпоксії [15].

Вважається, що вміст NO, нітратів і нітритів в організмі перебуває у певному гомеостазі, і у разі зниження якогось із них відбувається компенсаторний зсув даної рівноваги в бік утворення необхідного компонента [24]. Тонкий динамічний баланс регуляторних процесів, які забезпечують підтримання NO-гомеостазу, є вкрай необхідним для нормального функціонування організму. Синтез NO не лише із L-аргініну, а й із нітрит- і нітрат-аніонів, свідчить про складний характер регуляції функціональної активності NO та впливу цієї фізіологічно активної сполуки на численні біохімічні процеси.

Висновки.

1. У пацієнтів з ІХС виявлено статистично вірогідне зростання активності сумарної NO-синтази, яке є більш вираженим у пацієнтів похилого віку, ніж у пацієнтів середнього віку.

2. Встановлено статистично вірогідне зниження частки нітрит-аніонів у загальному пулі стабільних метаболітів NO в плазмі крові практично здорових осіб та пацієнтів з ІХС при старінні організму.

3. Виявлено достовірне зростання суми нітрит- і нітрат-аніонів у плазмі крові практично здорових осіб та у пацієнтів з ІХС при старінні організму.

Перспективи подальших досліджень.

На наступному етапі досліджень планується вивчити вікові особливості ензиматичної системи неокисного (аргіназного) шляху метаболізму L-аргініну у пацієнтів з ІХС.

Література

1. Андрушко І. І. Рівні гомоцистеїну, цистеїну та аргініну у практично здорових осіб: вікові та статеві особливості / І. І. Андрушко // Укр. кардіол. журн. – 2008. – № 5. – С. 89-95.
2. Бувальцев В. І. Роль корекції метаболізму оксида азота в організмі при профілактиці гіпертонічного ремоделювання серцево-судинної системи / В. І. Бувальцев, С. Ю. Машина, Д. А. Покидышев [и др.] // Рос. кардіол. журн. – 2002. – № 5 (37). – С. 74-81.
3. Кондакова Г. К. Стан антиоксидантного захисту та системи L-аргінін-оксид азоту у крові хворих на урогенітальний хламідіоз / Г. К. Кондакова, О. В. Ермошенко, К. О. Калекіна [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2008. – Т. 80, № 1. – С. 52-56.
4. Кульчицкий О. К. Система оксида азоту та вік / О. К. Кульчицкий // Буков. мед. вісн. – 2005. – № 9 (2). – С. 143-144.
5. Кульчицкий О. К. Эндотелиальная функция и процесс старения / О. К. Кульчицкий // Лікування та діагностика. Лапшина Л. А., Титова А. Ю., Горбач Т. В. 2002. – № 4. – Р. 6-9.
6. Лапшина Л. А. Уровень S-нитрозотиола и нитритов-нитратов в сыворотке крови при хронической сердечной недостаточности у больных пожилого и старческого возраста / Л. А. Лапшина, А. Ю. Титова, Т. В. Горбач // Эксперим. і клін. медицина. – 2005. – № 2. – С. 61-64.

7. Перетятко Ю. В. Особливості аргіназного та NO-синтазного шляхів метаболізму L-аргініну в лейкоцитах периферичної крові щурів за хронічного рентгенівського опромінення / Ю. В. Перетятко, Н. О. Сибірна // Укр. біохім. журн. – 2009. – Т. 81, № 2. – С. 40-48.
8. Реутов В. П. Медико-биологические аспекты циклов оксида азота и супероксидного анион-радикала / В. П. Реутов // Вестн. РАМН. – 2000. – № 4. – С. 35-41.
9. Реутов В. П. Цикл оксида азота в организме млекопитающих и принцип цикличности / В. П. Реутов // Биохимия. – 2002. – Т. 67, №3. – С. 353-376.
10. Реутов В. П. Биохимическое предопределение NO-синтазной и нитритредуктазной компонент цикла оксида азота / В. П. Реутов // Биохимия. – 1999. – Т. 64. – № 5. – С. 634-651.
11. Сибірна Н. О. Молекулярні механізми депонування оксиду азоту в еритроцитах / Н. О. Сибірна, М. Я. Люта, Н. І. Климишин // Біологічні Студії / Studia Biologica. – 2010. – Т. 4, № 1. – С. 143-160.
12. Топчий І. І. Морфологічний і функціональний стан ендотелію у хворих з ішемічною хворобою серця та хронічним гломерулонефритом / І. І. Топчий, О. М. Кірієнко, О. І. Циганков // Український журнал нефрології та діалізу. – 2013. – № 1 (37). – С. 10-14.
13. Яковлева О. О. Антиоксидантна корекція ендотеліальної дисфункції у хворих на ішемічну хворобу серця / О. О. Яковлева, Н. П. Савченко, О. В. Стопінчук // Новости медицины и фармации. – 2004. – № 4(144). – С. 6.
14. Akizuki E. Role of NO and superoxide in acute cardiac allograft rejection in rats / E. Akizuki, T. Akaike, S. Okamoto [et al.] // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. – 2000. – Vol. 225(2). – P. 151-159.
15. Bernatova I. Chronic low-dose L-NAME treatment increases nitric oxide production and vasorelaxation in normotensive rats / I. Bernatova, J. Kopincova, A. Puzserova [et al.] // Physiol. Res. – 2007. – Vol. 2. – P. 17-24.
16. Buger R. H. The pharmacodynamics of L-arginine / R. H. Buger // J. Nutr. – 2007. – Vol. 137. – P. 1650S-1655S.
17. Bryan N. S. Nitrite is a signaling molecule and regulator of gene expression in mammalian tissues / N. S. Bryan, B. O. Fernandez, S. M. Bauer [et al.] // Not. Chem. Biol. – 2005. – Vol. 1. – P. 290-297.
18. Chatterjee A. Endothelial nitric oxide (NO) and its pathophysiologic regulation / A. Chatterjee, J. D. Catravas // Vascul. Pharmacol. – 2008. – Vol. 49, № 4-6. – P. 134-140.
19. Dejam A. Erythrocytes are the major intravascular storage sites of nitrite in human blood / A. Dejam, C. J. Hunter, M. M. Pelletier // Blood. – 2005. – Vol. 106 (2). – P. 734-739.
20. Green L. C. Analysis of nitrate, nitrite, and [¹⁵N] nitrate in biological fluids / L. C. Green, D. F. Wagner, J. Glogowski [et al.] // Anal. Biochem. – 1982. – Vol. 126, N. 1. – P. 131-138.
21. Jansson E. A mammalian functional nitrate reductase that regulates nitrite and nitric oxide homeostasis / E. Jansson, L. Huang, R. Malkey [et al.] // Nature Chemical Biology. – 2008. – Vol. 4(7). – P. 411-417.
22. Lauer T. Plasma nitrite rather than nitrate reflects regional endothelial nitric oxide synthase activity but lacks intrinsic vasodilator action / T. Lauer, M. Preik, T. Rassaf [et al.] // Proceedings of National Academy of Sciences of the USA. – 2001. – Vol. 98. – P. 12814-12819.
23. Prabhu S. D. Nitric oxide protects against pathological ventricular remodeling: reconsideration of the role of NO in the failing heart / S. D. Prabhu // Circ. Res. – 2004. – Vol. 94 (9). – P. 1155-1157.
24. Shao B. Tyrosine 192 in apolipoprotein A-I is the major site of nitration and chlorination by myeloperoxidase, but only chlorination markedly impairs ABCA1-dependent cholesterol transport / B. Shao, C. Bergt, X. Fu [et al.] // J. Biol. Chem. – 2005. – Vol. 280 (7). – P. 5983-5993.
25. Wang J. J. Effects of tumor necrosis factor, endothelin and nitric oxide on hyperdynamic circulation of rats with acute and chronic portal hypertension / J. J. Wang, G. W. Gao, R. Z. Gao [et al.] // World J. Gastroenterol. – 2004. – Vol. 10. – P. 689-693.
26. Weitzberg E. Nitrate-nitrite-nitric oxide pathway: implications for anesthesiology and intensive care / E. Weitzberg, M. Hezel, J. O. Lundberg // Anesthesiology. – 2010. – Vol. 113, N. 6. – P. 1460-1475.
27. Yi J. L-Arginine and Alzheimer's disease / J. Yi, L. L. Horky, A. L. Friedlich [et al.] // Int. J. Clin. Exp. Pathol. – 2009. – Vol. 3. – P. 211-238.
28. Zweier J. L. Non-enzymatic nitric oxide synthesis in biological systems / J. L. Zweier, A. Samouilov, P. Kupposamy // Biochem. Biophys. Acta. – 1999. – Vol. 1411. – P. 250-262.

УДК 616. 12-005. 4-053-092:612. 014. 6

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ СТАНУ СИСТЕМИ L-АРГІНІН-ОКСИДУ АЗОТУ У ПАЦІЄНТІВ З ІШЕМІЧНОЮ ХВОРОБОЮ СЕРЦЯ

Беседіна А. С.

Резюме. Вивчено стан системи L-аргінін-оксид азоту у крові пацієнтів з ішемічною хворобою серця (ІХС) різних вікових груп. Виявлено статистично вірогідне зниження частки нітрит-аніонів у загальному пулі стабільних метаболітів NO в плазмі крові практично здорових осіб та пацієнтів з ІХС при старінні організму, що свідчить про зниження NO-продукуючої здатності ендотелію та порушення NO-опосередкованої регуляції судинного тону. Встановлено статистично вірогідне зростання активності сумарної NO-синтази та суми нітрит- і нітрат-аніонів у плазмі крові практично здорових осіб та пацієнтів з ІХС при старінні організму, що вірогідно відображає активацію індукбельного синтезу NO та може сприяти ураженню ендотелію судин. З іншого боку, активація сумарної NO-синтази свідчить про гіперпродукцію NO, який може виступати компенсаторним механізмом, спрямованим на покращення перфузії тканин. Отримані дані вказують на порушення NO-гомеостазу, дефіцит ендотеліального NO та гіперпродукцію "шкідливого" NO за участю iNOS у пацієнтів з ІХС, який є більш вираженим у пацієнтів похилого віку.

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

УДК 616. 12-005. 4-053-092:612. 014. 6

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СОСТОЯНИЯ СИСТЕМЫ L-АРГИНИН-ОКСИДА АЗОТА У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

Беседина А. С.

Резюме. Изучено состояние системы L-аргинин-оксид азота в крови пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) различных возрастных групп. Выявлено статистически достоверное снижение доли нитрит-анионов в общем пуле стабильных метаболитов NO в плазме крови практически здоровых лиц и пациентов с ИБС при старении организма, что свидетельствует о снижении NO-продуцирующей способности эндотелия и нарушении NO-опосредованной регуляции сосудистого тонуса. Установленное статистически достоверное возрастание активности суммарной NO-синтазы и суммы нитрит-и нитрат-анионов в плазме крови практически здоровых лиц и пациентов с ИБС при старении организма, достоверно отражает активацию индуцибельной NO-синтазы и может способствовать поражению эндотелия сосудов. С другой стороны, активация суммарной NO-синтазы свидетельствует о гиперпродукции NO, которая может выступать компенсаторным механизмом, направленным на улучшение перфузии тканей. Полученные данные указывают на нарушение NO-гомеостаза, дефицит эндотелиального NO и гиперпродукции «вредного» NO с участием iNOS у пациентов с ИБС, которая является более выраженной у пациентов пожилого возраста.

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

UDC 616. 12-005. 4-053-092:612. 014. 6

Age-Related Peculiarities of L-Arginine-Nitric Oxide System in Patients with Ischemic Heart Disease

Besedina A. S.

Summary. Although a considerable amount of research in L-arginine-NO system has been done, the exact regulatory mechanisms underlying NO-homeostasis remains unclear. Age-related changes in L-arginine-NO system are poorly understood. Research of L-arginine-NO system in patients with ischemic heart disease (IHD) in different age groups and clarification of the regulatory mechanisms maintaining NO-homeostasis has great importance.

Objective: to determine the L-arginine level, NO-synthase activity and the level of NO stable metabolites – nitrite anion (NO_2^-) and nitrate anions (NO_3^-) in blood plasma of patients with IHD of different age groups.

50 patients with IHD (32 men and 18 women) aged 45-75 years (average age 56.8 ± 1.7 years) were enrolled in this research. The patients were divided into two groups with respect to their ages: group A – middle-aged patients (45-60 years), group B – elderly patients (61-75 years) (WHO, 1963). The patients of two groups matched for sex, disease duration, number of pain attacks. In the research were included patients with IHD who have not received treatment by nitro medication, but occasionally used nitroglycerin for angina pectoris. Control groups (divided into two age groups) were practically healthy donors with no clinical symptoms of cardiovascular disease, matched by age and sex.

It has been shown that L-arginine level in blood plasma of healthy donors decreases by 1.6 times with aging ($P < 0.05$). In patients with IHD of different age groups, the L-arginine level in blood plasma is not statistically significantly different from control group of similar age ($P > 0.05$).

Since L-arginine is a substrate for NO-synthase (NOS), it was important to examine the intensity of its oxidative metabolism in the pathological process. It has been found that total NOS activity slightly increases with aging in healthy donors, but these changes are not statistically significant ($P > 0.05$). Total NOS activity in middle-aged patient with IHD is increased in 2.2 times, in elderly patient – in 2.3 times ($P < 0.001$).

It has been shown that concentration of NO stable metabolite – NO_2^- in the blood plasma of healthy donors decreases by 1.7 times with aging ($P < 0.001$). NO_2^- level in blood plasma of patients with IHD statistically significant decreases in comparison with its level in control groups. NO_2^- level decreases by 2 times in group A, and by 1.7 times in group B ($P < 0.001$). Thus, the reduction of nitrite anion is more expressed in middle-age patients, but these changes are not statistically significant in relation to the value in the elderly patient ($P > 0.05$).

The nitrite level in total level of NO stable metabolites ($\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$) in blood plasma of healthy donors reduced in 2.2 times with aging ($P < 0.01$). In middle-age patient with IHD NO_2^- level in total level of NO stable metabolites decreased 3.5 times ($P < 0.05$), in elderly patient – 2.6 times ($P < 0.001$).

Statistically significant reduction in the nitrite level in total level of NO stable metabolites in blood plasma of healthy donors with aging and patients with IHD, indicating a decrease in NO production in endothelial cells and disturbance of NO-mediated regulation of vascular tone.

It has been found that total level of $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ in blood plasma of healthy donors with aging increased by 1.4 times ($P < 0.01$). In middle-age patient with IHD $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ level increases 2 times ($P < 0.05$), in elderly patient – 2.6 times ($P < 0.001$).

Significant increase in the total activity of NO-synthase and total level of NO stable metabolites in plasma of healthy donor with aging and patients with IHD that probably reflects activation of inducible NO synthesis and may contribute to endothelial violation. On the other hand, the activation of total NO-synthase indicates hyperproduction NO, which may be a compensatory mechanism, aimed at improving tissue perfusion. These data indicate a disturbance of NO-homeostasis, lack of endothelial NO and hyperproduction of "harmful" NO by iNOS in patients with IHD, which is more expressed in elderly patients.

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

Рецензент – проф. Катеренчук І. П.

Стаття надійшла 4. 06. 2013 р.