
СПІВЗАСНОВНИКИ

Національна академія медичних наук України •
Державна установа «Інститут фармакології та токсикології
Національної академії медичних наук України» •
Державне підприємство «Державний експертний центр
Міністерства охорони здоров'я України» •
Всеукраїнська громадська організація «Асоціація фармакологів України»

ФАРМАКОЛОГІЯ ТА ЛІКАРСЬКА ТОКСИКОЛОГІЯ PHARMACOLOGY AND DRUG TOXICOLOGY

Науково-практичне видання

Журнал заснований у серпні 2007 р.

Виходить 1 раз на 2 місяці

№ 4–5(50)/2016

ЗМІСТ

ОГЛЯДИ

- Бухтіарова Т. А., Губський Ю. І.* «Ліки-сироти» на основі нових молекулярних субстанцій, схвалені FDA у 2011–2015 роках (аналітичний огляд) 3
- Гладких Ф. В., Степанюк Н. Г.* Вінборон: перший український гастропротектор – агоніст ванілоїдних рецепторів (TRPV1) 20

СУЧАСНІ АСПЕКТИ НЕЙРОФАРМАКОЛОГІЇ

- Каврайський Д. П., Штриголь С. Ю., Цивунін В. В., Георгіянц В. А.* Гостра токсичність та ефективність 1-(4-метоксифеніл)-5-{2-[4-(4-метоксифеніл)піперазин-1-іл]-2-оксоетил}-1,5-дигідро-4Н-піразоло[3,4-*D*]піридин-4-ону на моделі пентилентетразолового кіндлінгу в мишей 30
- Мироненко С. І., Піяжко О. Р., Лесик Р. Б.* Вплив оригінальних похідних 4-тіазолідинону: Les-1205 та Les-2658, леветирацетаму та діазепаму на поведінку умовно-рефлекторного активного уникнення в шурів 35
- Сліпченко Т. Д., Штриголь С. Ю., Кудіна О. В., Таран А. В., Рубан О. А.* Порівняльне доклінічне дослідження психотропних властивостей препаратів шоломниці байкальської 41

У НАУКОВИХ ЛАБОРАТОРІЯХ

- Білай І. М., Цис О. В., Михайлюк Є. О., Коваленко С. І., Шабельник К. П.* Дослідження актопротекторної активності похідних 1,2,4-триазолу в експерименті 50
- Дринь Д. О., Мельник М. І., Соловйов А. І., Прилуцький Ю. І., Жолос О. В.* Вуглецеві наночастинки як новітні блокатори мускаринових катіонних струмів у міоцитах тонкого кишечника 55
- Кононенко А. Г., Кравченко В. М.* Вплив спиртової настойки листеця ряски малої на морфофункціональний стан щитоподібної залози за експериментального гіпотиреозу 62
-

<i>Нагорна О. О., Горчакова Н. О., Бєленічев І. Ф., Чекман І. С.</i> Дія ірбесартану, квінаприлу, ангіоліну та їхніх комбінацій на систему оксиду азоту в міокарді щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією	70
<i>Павлов С. В., Левченко К. В.</i> Цитопротективні ефекти селективних модуляторів естрогенових рецепторів за умов гіпоксії кардіоміоцитів <i>in vitro</i>	78
<i>Фалюш О. А., Полякова Л. І., Сачинська О. В., Резніков О. Г.</i> Зміни епітеліально-стромального співвідношення у трансплантатах раку передміхурової залози людини при застосуванні наночастинок золота	84
РОЗРОБКА НОВИХ МЕТОДИЧНИХ ПРИЙОМІВ	
<i>Кравець Д. С., Лук'янчук В. Д.</i> Новий методичний підхід до оцінки впливу ліків на кінетику вільнорадикальних реакцій у біосубстратах	90
ДОСЛІДЖЕННЯ МОЛОДИХ УЧЕНИХ	
<i>Садогурська К. В.</i> До питання безпечності нанохрому цитрату за умов повторного введення	95
ПИТАННЯ ФАРМАЦЕВТИКИ, ФАРМАЦЕВТИЧНОГО РИНКУ, ФАРМАКОЕКОНОМІКИ	
<i>Савіна Н. О., Кузнецова О. М., Черемєнко А. М., Брицун В. М., Останіна Н. В.</i> Дослідження кількісного вмісту та супровідних домішок цефепіму методом ВЕРХ	101
ОСОБИСТОСТІ	
До ювілею члена-кореспондента НАН і НАМН України, професора, доктора медичних наук, лауреата Державної премії України в галузі науки і техніки Івана Сергійовича Чекмана	108
СОДЕРЖАНИЕ	111
CONTENT	112

О. О. Нагорна¹, Н. О. Горчакова¹, І. Ф. Бєленічев², І. С. Чекман¹

Дія ірбесартану, квінаприлу, ангіоліну та їхніх комбінацій на систему оксиду азоту в міокарді щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією

¹Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ²Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: артеріальна гіпертензія, ірбесартан, квінаприл, ангіолін, оксид азоту

Роль ендотеліальної дисфункції у виникненні та прогресуванні серцево-судинних захворювань, таких як артеріальна гіпертензія, ішемічна хвороба серця, серцева недостатність, порушення мозкового кровообігу [1] вимагає включення в фармакотерапію цих захворювань лікарських засобів, здатних покращувати функцію ендотелію [2]. Серед сучасних антигіпертензивних лікарських засобів доведена ендотеліопротекторна дія інгібіторів АПФ та блокаторів рецепторів ангіотензину II [3], у тому числі ірбесартану [4] та квінаприлу [5]. Ендотеліопротекторний вплив дозволяє реалізувати цим засобам, крім антигіпертензивної дії, інші фармакологічні ефекти, а саме: поліпшувати показники систолічної та діастолічної функції лівого шлуночка, підвищувати толерантність до фізичного навантаження тощо [6, 7]. Одним з завдань сучасної фармакології є пошук малотоксичних лікарських засобів зі спрямованим ендотеліопротективним ефектом, які можуть бути включені в комплексну фармакотерапію серцево-судинних захворювань. До таких сполук належить похідне триазолу під умовною назвою ангіолін [8]. Головним механізмом, що лежить в основі ендотеліальної дисфункції, є пониження утворення та біодоступності оксиду азоту [9]. У свою чергу, оксид азоту синтезується з аргініну під впливом ендотеліальної NO-синтази [10]. Після активації останньої оксид азоту виступає як вазодилатуючий агент, а після

активації індукцйбельної NO-синтази – як токсичний агент [11]. При патологічних станах спостерігається пониження активності загальної NO-синтази [12], розвивається нітрозуючий стрес, накопичуються продукти перетворення, такі як нітротирозин і нітрити [13].

Мета дослідження – встановити вплив ірбесартану, квінаприлу, ангіоліну та їхніх комбінацій на показники системи оксиду азоту в цитозольній та мітохондріальній фракціях гомогенату міокарда щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією.

Матеріали та методи. Маніпуляції з тваринами проведено згідно з положенням про використання тварин у біомедичних дослідках (м. Страсбург, 1986 р., зі змінами, внесеними в 1998 р.) та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (м. Київ, 2001 р.), які узгоджені з положеннями «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та науковою метою» [14]. Експерименти проведено на 7 нормотензивних інтактних білих щурах-самцях лінії Wistar, 10 щурах-самцях зі спонтанною артеріальною гіпертензією (SHR) масою 320 г (АТ – 180 мм рт. ст.) – контроль, а також 40 щурах з (SHR) масою 320 г (АТ – 180 мм рт. ст.), яким вводили досліджувані препарати внутрішньошлунково протягом 3 місяців. Експериментальні тварини були розподілені на 7 груп: 1 – нормотензивні щури; 2 – щури з SHR; 3 – щури з SHR, яким вводили ангіолін (100 мг/кг); 4 – щури з SHR, яким вводили квінаприл (10 мг/кг); 5 – щури з SHR, яким вводили квінаприл (10 мг/кг) та ангіолін (100 мг/кг); 6 – щури з SHR, яким вводили

ірбесартан (30 мг/кг); 7 – щури з SHR, яким вводили ірбесартан (30 мг/кг) та ангіолін (100 мг/кг). Усіх тварин отримано з розплідника Інституту фізіології імені О. О. Богомольця НАН України. Тварин виводили з експерименту під етамінал натрієвим наркозом (40 мг/кг) [15]. Серце промивали охолодженою 0,15 моль/л KCl (4 °C) 1:10. Відмите серце очищали від жиру, сполучної тканини, вирізали судини, з внутрішніх порожнин видаляли згустки крові і ще раз відмивали 0,15 моль/л KCl (4 °C) 1:10. Потім подрібнювали в рідкому азоті до порошокподібного стану й гомогенізували в 10-разовому об'ємі середовища (при 2 °C), що містить (у ммоль/л): сахарози – 250, трис-HCl-буфера – 20, EDTA – 1 (pH 7,4) [16]. При температурі + 4 °C методом диференційного центрифугування на рефрижераторній центрифугі Sigma 3-30k (Німеччина) виділяли мітохондріальну та цитозольну фракції. Стабільні метаболіти NO визначали за рівнем нітритів у реакції з реактивом Грісса [17]. Активність загальної NOS визначали за різницею між швидкістю окиснення NADPH, яку реєстрували флюориметрично в двох паралельних зразках, як у тому, що не містить, так і в тому, що містить інгібітор NOS-N-нітро-L-аргінін [18]. Нітрогрозин визначали твердофазним імуносорбентним сендвіч-методом ELISA, ELISA Kit (Cat. № НК 501-02) фірми Nuncult Biotech і визначали в нмоль/г тканини. Концентрацію в цитоплазматичній фракції ендотеліальної NOS і індукцибельної NOS у мітохондріальній фракції гомогенату міокарда визначали методом Вестерн-блот аналізу. Білки розділяли в 10 % поліакриламідному гелі (ПААГ) шляхом електрофорезу при напрузі 100–200 V [17]. Використовували первинні антитіла та вторинні антитіла (1: 1000) (біотинізовані анти-мишачі IgG, SIGMA, USA, кат. № 051M4885). Для візуалізації комплексу використовували ExtrAvidin-пероксидази (SIGMA, USA, кат. № 051M4885) і AEK (Sigma, USA, кат. № a6926). Детекцію NOS-2 і NOS-1 здійснювали за допомогою денситометрії в програмі Adobe Photoshop,

артеріальний тиск (АТ) у тварин вимірювали методом плетизмометрії. Результати дослідження розраховували з застосуванням стандартного статистичного пакета ліцензійної програми «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoftInc., № AXXR712D833214FAN5), а також «SPSS 16.0», «Microsoft Office Excell 2003». Нормальність розподілу оцінювали за критерієм Shapiro-Wilk. Дані представлені у вигляді середнього значення. Вірогідність різниць між середніми значеннями визначали за критерієм Стьюдента за нормального розподілу. У разі розподілу, відмінного від нормального, або аналізу порядкових змінних використовували критерій U Mann-Whitney. Для порівняння незалежних змінних у більше ніж двох вибірках виконували дисперсійний аналіз (ANOVA) при нормальному розподілі або критерій Kruskal-Wallis для розподілу, відмінного від нормального. Для всіх видів аналізу статистично значущими вважали відмінності $P < 0,05$ (95 %).

Результати та їх обговорення. Попередніми біохімічними дослідженнями встановлено, що в цитозольній і мітохондріальній фракціях міокарда в групі спонтанно гіпертензивних щурів виявлені ознаки оксидативного стресу [19]. Показана депресія утворення оксиду азоту, про що свідчить достовірне зменшення вмісту його стабільного метаболіту – нітрит-аніона на фоні пониження активності загальної NO-синтази як у мітохондріях, так і в цитозолі міокарда щурів лінії SHR (табл. 1, 2). Методом імуноблотингу було встановлено значне підвищення експресії iNOS у мітохондріях SHR щурів порівняно з нормотензивними тваринами. Також методом імуноблотингу було визначено пониження експресії eNOS у цитозольній фракції міокарда SHR щурів порівняно з аналогічними показниками інтактної групи. Визначено дискоординацію між активністю загальної NOS у мітохондріях і утворенням стабільних метаболітів NO у міокарді за умов артеріальної гіпертензії, що може бути пов'язано з інтенсифікацією «паразитарних реакцій», коли NOS і, особливо її індукцибельна

Таблиця 1

Показники системи NO у мітохондріальній фракції гомогенату міокарда щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією за впливу ангіоліну, квінаприлу, ірбесартану та їхніх комбінацій, $M \pm m$, $n = 7-8$

Група тварин	Активність NOS, мкмоль НАДФ/хв · г білка	Нітротирозин, нмоль/г білка	Нітрити, мкмоль/г тканини	Концентрація iNOS, у. о./г білка
Інтактні (n = 7)	4,37 ± 0,26	1,04 ± 0,33	16,30 ± 1,06	0,11 ± 0,02
Спонтанна артеріальна гіпертензія (контроль) (n = 8)	1,87 ± 0,08*	2,56 ± 0,15*	6,0 ± 0,85*	1,88 ± 0,16*
Спонтанна артеріальна гіпертензія + ангіолін, 100 мг/кг (n = 8)	2,20 ± 0,02**	1,62 ± 0,07**	7,70 ± 0,03**	1,21 ± 0,07**
Спонтанна артеріальна гіпертензія + квінаприл, 10 мг/кг (n = 8)	1,84 ± 0,07	2,60 ± 0,14	6,7 ± 1,0	1,91 ± 0,14
Спонтанна артеріальна гіпертензія + ангіолін, 100 мг/кг + квінаприл, 10 мг/кг (n = 8)	2,35 ± 0,12**	1,48 ± 0,05**	8,2 ± 0,5**	1,10 ± 0,05**
Спонтанна артеріальна гіпертензія + ірбесартан, 30 мг/кг (n = 8)	2,88 ± 0,05*	2,46 ± 0,11	8,8 ± 1,2**	1,80 ± 0,12
Спонтанна артеріальна гіпертензія + ангіолін, 100 мг/кг + ірбесартан, 30 мг/кг (n = 8)	3,72 ± 0,10**	1,10 ± 0,07**	14,8 ± 0,4**	0,54 ± 0,02**

Примітка. Тут і в табл. 2: *зміни достовірні порівняно з показниками тварин інтактної групи ($p < 0,05$), **зміни достовірні порівняно з показниками тварин контрольної групи ($p < 0,05$).

Таблиця 2

Показники системи NO у цитозольній фракції гомогенату міокарда щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією за впливу ангіоліну, квінаприлу, ірбесартану та їхніх комбінацій, $M \pm m$, $n = 7-8$

Група тварин	Активність NOS, мкмоль НАДФ/хв · г білка	Нітрити, мкмоль/г тканини	Концентрація eNOS, у. о./г білка
Інтактні (n = 7)	11,75 ± 0,75	17,23 ± 0,84	15,20 ± 0,73
Спонтанна артеріальна гіпертензія (контроль) (n = 8)	5,15 ± 0,64*	6,76 ± 0,67*	4,10 ± 0,21*
Спонтанна артеріальна гіпертензія + ангіолін, 100 мг/кг (n = 8)	6,54 ± 0,11**	8,11 ± 0,15**	6,0 ± 0,20**
Спонтанна артеріальна гіпертензія + квінаприл, 10 мг/кг (n = 8)	5,21 ± 0,31	7,31 ± 0,42	6,0 ± 0,20**
Спонтанна артеріальна гіпертензія + ангіолін, 100 мг/кг + квінаприл, 10 мг/кг (n = 8)	7,72 ± 0,37**	10,70 ± 0,46**	11,0 ± 0,52**
Спонтанна артеріальна гіпертензія + ірбесартан, 30 мг/кг (n = 8)	7,21 ± 0,21**	9,61 ± 0,37**	7,20 ± 0,43**
Спонтанна артеріальна гіпертензія + ангіолін, 100 мг/кг + ірбесартан, 30 мг/кг (n = 8)	10,11 ± 0,48**	16,10 ± 0,81**	14,30 ± 0,71**

форма, продукує не тільки NO, а також супероксидрадикал. Це призводить до значного підвищення цитотоксичних дериватів NO – пероксинітриту, іона нітрозонію тощо, й ініціації нітрозуючого стресу. Подібні реакції можуть відбуватися в умовах дефіциту L-аргініну, антиоксидантної недостатності, дисфункції мітохондрій, підвищеній експресії iNOS під дією прозапальних факторів. Неконтрольоване утворення цитотоксичних дериватів NO веде до S-, N-, O-нітрузування найактивніших ділянок структур іонних каналів, рецепторів, трансмембранних пор, сигнальних молекул, тобто розвитку нітрозуючого стресу. Підтвердженням даного припущення є визначення в мітохондріях міокарда SHR щурів вмісту маркера нітрозуючого стресу – нітротирозину, що збільшився в 2,46 рази ($p < 0,05$) порівняно з нормотензивними тваринами на фоні підвищеної експресії в мітохондріях iNOS. У цитозолі міокарда SHR-щурів також був виявлений низький рівень стабільного метаболіту NO (зменшення в 2,7 разу) порівняно з нормотензивними щурами на фоні пригнічення активності загальної NOS та низької експресії ендотеліальної NOS. У групі SHR щурів у цитозольній фракції активність загальної NOS була в середньому в 2 рази нижчою, ніж у цитозолі нормотензивних тварин. Особливості змін активності закисної NOS у мітохондріях та цитозолі спонтанно гіпертензивних щурів можна пояснити локалізацією різних ізоензимів NOS у різних клітинах та клітинних органелах. У цитозолі міокарда, як і в судинах, методом імуноблотингу головним чином визначають eNOS, активність якої прямо корелює з концентрацією внутрішньоклітинного кальцію, та їй належить головна роль у забезпеченні постійного базисного рівня NO та фізіологічній регуляції артеріального тиску [20]. Саме в цитозолі нами була визначена значна депривація активності NOS, пропорційна підвищенню АТ. В останніх роботах показана наявність NOS у мітохондріях. Було показано, що ця ізоформа NOS локалізована у внутрішній мітохондріальній мембрані. mtNOS дуже схожа з

макрофагальною iNOS і визначається первинними антигенами до цього ізоензиму [21]. Поки не ясно, чи вважати mtNOS окремою ізоформою, або це iNOS, що містить посттрансляційні модифікації, які ведуть до іншої субклітинної локалізації. Показано, що mtNOS при дефіциті L-аргініну здатна продукувати супероксидрадикал [21]. Логічно припустити участь mtNOS у регуляції апоптозу через порушення тіол-дисульфідної рівноваги білків мітохондріальної пори в реакції нітрузування та окиснення. Крім того, отримані дані щодо ролі mtNOS у регуляції рівня кальцію в мітохондріях. У нормі mtNOS перешкоджає надходженню надлишку кальцію в мітохондрію, за умов ішемії при підвищенні активності mtNOS відбувається підвищення внутрішньомітохондріального кальцію і відкриття мітохондріальної пори. Можливо на початкових стадіях патологічного процесу ця реакція відіграє захисну роль, тому що регулюючи кальцій-залежні механізми відкриття гігантської пори, mtNOS здатна активувати компенсаторні енергетичні шунти [22]. Надалі наростаюча активність mtNOS призводить до неконтрольованого відкриття пори мітохондрій. Відомо, що mtNOS експресується під впливом прозапальних цитокинів, активних форм кисню, й її активність, у першу чергу, впливає на функціонування самих мітохондрій, а також бере безпосередню участь в індукції і регуляції апоптичної загибелі клітин [9–11]. У той самий час ефекти NO у клітині не слід розглядати тільки з позиції їхніх негативних, ушкоджуючих впливів. Саме дія NO у поєднанні з відповідним редокс-статусом мітохондрій обумовлює захисні ефекти, які підвищують резистентність клітини до несприятливих впливів. У зв'язку з цим важливо визначити той фактор, що сприяє проявам цитопротективних або цитотоксичних властивостей NO на певному етапі молекулярно-біохімічного каскаду. Напевно у міокарді спонтанно гіпертензивних тварин відбувається депривація активності eNOS, що призводить до дефіциту NO і підвищення експресії мітохондріальної iNOS, у зв'язку з чим

сприяє перетворенню мітохондрії на джерело цитотоксичних дериватів NO й ініціатора нітрозуючого стресу. Крім того, цитотоксичні деривати NO, що утворюються в надлишку, продовжують пригнічувати активність ендотеліальної NO-синтази, що в свою чергу призводить до подальшого підйому артеріального тиску та інтенсифікації механізмів пошкодження органів-мішеней. Саме в цитозолі визначали виражену депривацію активності загальної NOS, яка зворотно пропорційна значенню артеріального тиску. Встановлено коригуючу дію досліджуваних засобів (крім квінаприлу при монотерапії) щодо показників системи оксиду азоту в цитозольній і мітохондріальній фракціях гомогенату міокарда щурів з артеріальною гіпертензією. Найбільший нормалізуючий ефект щодо вмісту нітритів як у мітохондріях, так і в цитозолі гомогенату міокарда був визначений у щурів, яким вводили ірбесартан з ангіоліном. Уведення ірбесартану з ангіоліном ефективно знижувало інтенсивність нітрозуючого стресу, про що свідчить зниження в 2,4 разу концентрації ніротирозину в мітохондріях міокарда. Комбінація ангіоліну з ірбесартаном сприяла нормалізації співвідношення eNOS / iNOS у міокарді і достовірно підвищувала активність загальної NOS у цитозолі міокарда. Подібна дія ангіоліну узгоджується з нашими попередніми дослідженнями, якими показано, що препарат не чинить прямої стимулюючої дії на активність NOS (але може впливати на її експресію), але підвищує біодоступність NO за рахунок збереження відновлених тіолів [20]. Крім того, ми припускаємо, що ангіолін сам може бути переносником NO, утворюючи з ним стабільні S-нітрозильні комплекси. Ангіолін при монотерапії, особливо при сполученні з блокатором рецепторів ангіотензину II, у більшому ступені зменшував інтенсивність

нітрозуючого стресу, ніж у комбінації з квінаприлом. На підставі даних літератури [3] можна припустити, що ангіолін підвищував експресію ендогенної кардіопротекції за рахунок зростання вмісту білків теплового шоку в мітохондріях та цитозолі гомогенату міокарда щурів, що було нами попередньо встановлено [16]. Отримані дані свідчать про здатність ірбесартану, ангіоліну та їхніх сполучень впливати на показники системи NO. Квінаприл не змінював показники NO в мітохондріальній фракції, а в цитозольній лише достовірно підвищував концентрацію ендотеліальної NO-синтази. Результати досліджень свідчать про більш виражений вплив ірбесартану на метаболізм NO-системи в міокарді щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією порівняно з квінаприлом. Таким чином, на підставі отриманих молекулярно-біохімічних досліджень нітроксидергічної системи міокарда в SHR щурів були отримані докази ендотеліопротекторної дії ангіоліну [8], а також виявлено посилення цього виду активності при комбінуванні з модуляторами ренін-ангіотензин-альдостеронової системи (РААС).

Висновки

1. У цитозольній і мітохондріальній фракціях міокарда щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією зменшувалась активність загальної NO-синтази та концентрація нітритів, у цитозольній фракції – концентрація ендотеліальної NO-синтази. У мітохондріальній фракції міокарда щурів зростала концентрація індукбельної NO-синтази та ніротирозину.
2. Ангіолін, ірбесартан, сполучення ангіоліну з ірбесартаном та квінаприлом відновлювали показники NO системи в міокарді щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією при внутрішньошлунковому введенні протягом 3 місяців.

1. Роль ендотеліальної дисфункції та системного імунного запалення у виникненні ішемії міокарда при фізичному навантаженні у хворих з гемодинамічно незначущим атеросклерозом вінцевих артерій серця / К. М. Амосова, О. Т. Стременик, Є. В. Андреев [та ін.] // Укр. кардіол. журнал. – 2011. – № 4. – С. 14–19.
2. Корекція дисфункції ендотелію як актуальний напрямок превентивної судинної медицини / Л. Г. Воронков, І. Д. Мазур, М. Р. Ільницька, Л. С. Вайда / Кровообіг та гомеостаз. – 2015. – № 1. – С. 5–8.

3. The effects of stent injury on shear stress: Relevance to endothelial injury and repair / K. Van der Heiden, F. J. Gijzen, A. Narraco [et al.] // *Cardiovasc. Res.* – 2013. – V. 99. – P. 269–275.
4. Прусакова О. Ю. Коррекция эндотелиальной дисфункции, легочной гипертензии у больных с артериальной гипертензией в сочетании с бронхиальной астмой / О. Ю. Прусакова // *Совр. проблемы науки и образования.* – 2011. – № 6. – С. 13–20.
5. Канорский С. Г. Преимущества терапии квинаприлом у пациентов с артериальной гипертензией и хронической сердечной недостаточностью I–II функционального класса и сохранной фрикцией фиброза левого желудочка / С. Г. Канорский, В. Г. Трегубов, В. М. Покровский // *Кардиология.* – 2012. – Т. 5., № 4. – С. 18.
6. Подзолков А. И. Значение ирбесартана в клинической практике / А. И. Подзолков, А. И. Тарзианова // *Рациональная фармакотерапия в кардиологии.* – 2014. – Т. 10, № 6. – С. 659–664.
7. Pleiotropic effects of the acute and chronic inhibition of the renin-angiotensin system in hypertensives / K. Stamatelopoulos, D. Bramos, E. Manios [et. al] // *J Hum Hypertens.* – 2014. – № 28. – P. 378–383.
8. Belenichev I. F. The endothelium-protective effect of 3-methyl-1,2,4-triazolyl-5-thioacetate(s)-2,6-diaminohexanoic acid(Lysinium) effect on the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and the characteristics of animals with cerebral ischemia / I. F. Belenichev, I. A. Mazur, N. V. Bukhtiyarova // *Neurochemical journal.* – 2013. – V. 7, № 4.–P. 296–303.
9. Нейропротекция и нейропластичность / И. Ф. Беленичев, В. И. Черний, Е. А. Нагорная [и др.]. – Киев : Логос, 2015. – 512 с.
10. Nitric oxide metabolism / E. Kowalczyk, A. Kopff, M. Kopff [et al.] // *Wiad. Lek.* – 2006. – V. 59, № 11–12. – P. 889–893.
11. Garaliene V. Endothelium and nitric oxide / V. Garaliene // *Medicina.* – 2008. – V. 44, № 7.–P. 564–569.
12. Intermittent pneumatic compression regulates expression of nitric oxide synthases in skeletal muscles / X. Tan, W. Nqi, X. Gu [et al.] // *J. Biomechanics.* – 2006. – V. 13, № 39. – P. 2430–2437.
13. Механизмы развития эндотелиальной дисфункции и перспективы коррекции / С. Г. Дзучков, И. В. Можаева, Е. А. Такоева [и др.] // *Фундаментальные исследования.* – 2014. – № 4. – С. 198–204.
14. Науково-методичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожемякін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – Київ : ВД «Авіцена», 2002. – 156 с.
15. Доклинические исследования лекарственных средств : метод. рекомендации; под ред. А. В. Стефанова. – Киев : Авиценна, 2002. – 560 с.
16. Доклиническое изучение специфической активности эндотелиопротективных препаратов. Методические рекомендации / И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев, Н. А. Горчакова [и др.]. – Киев, 2014. – 60 с.
17. Доклінічне вивчення специфічної активності потейційних лікарських засобів первинної та вторинної нейропротекції. Методичні рекомендації / І. С. Чекман, І. Ф. Беленічев, О. О. Нагорна [и др.]. – Київ : ТОВ «Видавництво «Юстон», 2016. – 80 с.
18. Патент № 13132 України Спосіб визначення активності ферменту NO-синтази в гомогенатах тканин / І. Ф. Беленічев, А. В. Абрамов, Н. В. Бухтіярова, МПК JOIN 33/48. – (UA). – № 200509119. – Заявл. 27.09.2005.
19. Вплив ангіоліну, ірбесартану, квінаприлу та їх комбінацій на вміст аденілових нуклеотидів, білків теплового шоку та мітохондріальну функцію / О. О. Нагорна, І. С. Чекман, І. Ф. Беленічев, Н. О. Горчакова / *Актуальні проблеми сучасної медицини. Вісник ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія».* – 2015. – Т. 15, Вип. 3, ч. 2. – С. 240–246.
20. Functional nitric oxide conjugate systems state / restored heart thiols of rats in modeling isadrine-pituitrin's myocardial infarction using metabolite-tropic cardioprotector «Angiolin» / I. F. Belenichev, L. I. Kucherenko, E. A. Nagornaya // *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology.* – 2015. – V. 4, № 1. – P. 12–23.
21. Belenichev I. F. The Thiol-Disulfide Balance and the Nitric Oxide System in the Brain Tissue of Rats Subjected to Experimental Acute Impairment of Cerebral Blood Flow: The Therapeutic Effects of Nootropic Drugs / Belenichev I. F., Gorbacheva S. V., Bukhtiyarova N. V. // *Neurochemical Journal.* – 2014. – V. 8, № 1. – P. 24–27.
22. Підвищена чутливість мітохондріальної пори до Ca²⁺ у серці щурів зі спонтанною гіпертензією / Н. А. Стругинська, Н. О. Дорофеева, Г. Л. Вавілова, В. Ф. Сагач // *Фізіол. журнал.* – 2012. – Т. 52, № 6. – С. 3–8.

О. О. Нагорна, І. Ф. Беленічев, Н. О. Горчакова, І. С. Чекман

Дія ірбесартану, квінаприлу, ангіоліну та їхніх комбінацій на систему оксиду азоту в міокарді щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією

Ендотеліальна дисфункція має значення в патогенезі артеріальної гіпертензії. Можливість впливу на ендотелій визначена в ірбесартану, квінаприлу та нового похідного триазолу – ангіоліну.

Мета дослідження – встановити вплив ірбесартану, квінаприлу, ангіоліну та їхніх комбінацій на показники системи NO у цитозольній і мітохондріальній фракціях гомогенату міокарда щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією.

Протягом 3 місяців внутрішньошлунково щурам зі спонтанною артеріальною гіпертензією вводили ірбесартан (30 мг/кг), квінаприл (10 мг/кг), ангіолін (100 мг/кг), а також комбінації ірбесартану з ангіоліном та квінаприлу з ангіоліном. У цитозольній і мітохондріальній фракціях гомогенату міокарда щурів визначали загальну активність NO-синтази флюориметричним методом, вміст нітритів, які є стабільними метаболітами оксиду азоту, спектрофотометрично за Гріссом, у мітохондріальній фракції також – концентрацію нітротирозину імуноферментним методом кількісного вимірювання нітрозилізованих протеїнів. Концентрацію індукцибельної NO-синтази в мітохондріальній фракції та ендотеліальної NO-синтази в цитозольній фракції гомогенату міокарда щурів ідентифікували методом вестернблотингу.

У щурів з артеріальною гіпертензією в цитозольній і мітохондріальній фракціях гомогенату міокарда щурів понизилася активність загальної NO-синтази. У цитозольній фракції гомогенату щурів зменшилася концентрація ендотеліальної NO-синтази, у мітохондріальній фракції – підвищилася концентрація індукцибельної NO-синтази та вміст нітротирозину, що свідчить про розвиток нітрозуючого стресу.

Ірбесартан, ангіолін, їхня комбінація, а також сполучення квінаприлу з ангіоліном відновлюють показники NO-системи в цитозольній і мітохондріальній фракціях міокарда, що свідчить про наявність у них ендотеліопротекторної дії. Квінаприл не впливав на показники NO-системи в мітохондріальній фракції гомогенату міокарда щурів, у цитозольній фракції – лише підвищував концентрацію ендотеліальної NO-синтази. Це свідчить про те, що за ендотеліопротекторною активністю квінаприл поступається ірбесартану та ангіоліну.

Ключові слова: артеріальна гіпертензія, ірбесартан, квінаприл, ангіолін, оксид азоту

Е. А. Нагорная, И. Ф. Беленичев, Н. А. Горчакова, И. С. Чекман
Действие ирбесартана, квинаприла, ангиолина и их комбинаций на систему оксида азота в миокарде крыс со спонтанной артериальной гипертензией

Эндотелиальная дисфункция имеет значение в патогенезе артериальной гипертензии. Возможность влияния на эндотелий выявлена у ирбесартана, квинаприла и нового производного триазола – ангиолина.

Цель исследования – установить влияние ирбесартана, квинаприла, ангиолина и их комбинаций на показатели системы NO в цитозольной и митохондриальной фракциях гомогената сердца крыс со спонтанной артериальной гипертензией.

В течение 3 месяцев внутрижелудочно крысам со спонтанной артериальной гипертензией вводили ирбесартан (30 мг/кг), квинаприл (10 мг/кг), ангиолин (100 мг/кг), а также комбинации ирбесартана с ангиолином и квинаприла с ангиолином. В цитозольной и митохондриальной фракциях гомогената миокарда крыс определяли общую активность NO-синтазы флюориметрическим методом, содержание нитритов, которые являются стабильными метаболитами оксида азота, спектрофотометрически по Гриссу, в митохондриальной фракции также – концентрацию нитротирозина иммуноферментным методом количественного измерения нитрозиллизованных протеинов. Концентрацию индукцибельной NO-синтазы в митохондриальной фракции и эндотелиальной NO-синтазы в цитозольной фракции гомогената миокарда крыс идентифицировали методом вестернблоттинга.

У крыс с артериальной гипертензией в цитозольной и митохондриальной фракциях гомогената миокарда снизилась активность общей NO-синтазы. В цитозольной фракции гомогената крыс уменьшились концентрация эндотелиальной NO-синтазы, в митохондриальной фракции – повысилась концентрация индукцибельной NO-синтазы и содержание нитротирозина, что свидетельствует о развитии нитрозирующего стресса. Ирбесартан, ангиолин, их комбинация, а также сочетания квинаприла с ангиолином восстанавливают показатели NO-системы в цитозольной и митохондриальной фракциях миокарда, что свидетельствует о наличии у них эндотелиопротекторного действия. Квинаприл не влияет на показатели NO-системы в митохондриальной фракции гомогената миокарда крыс, в цитозольной фракции – только повышает концентрацию эндотелиальной NO-синтазы. Это свидетельствует о том, что по эндотелиопротекторной активности он уступает ирбесартану и ангиолину.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, ирбесартан, квинаприл, ангиолин, оксид азота

Е. А. Nagornaya, I. F. Belenichev, N. A. Gorchakova, I. S. Chekman
Action of irbesartan, quinapril, angiolin and their combinations on NO system in rat myocardium with spontaneous hypertension

Endothelial dysfunction is important in the pathogenesis of arterial hypertension. The ability of irbesartan, quinapril, and derivatives of triazole – angiolin to influence the endothelium function was detected.

The aim of the study was to determine the effect of irbesartan, quinapril, angiolin, and their combinations on NO metabolism in the cytosolic and mitochondrial fractions of hearts homogenate obtained from spontaneous hypertensive rats.

Within 3 months the rats with spontaneous arterial hypertension were intragastrically treated with irbesartan (30 mg/kg), quinapril (10 mg/kg), angiotensin (100 mg/kg) and the combinations of irbesartan with angiotensin and quinapril with angiotensin. In the cytosolic and mitochondrial fractions of rat myocardium homogenate the general activity of NO-synthase was determined by fluorimetric method, the nitrite content (stable metabolite of nitric oxide) was estimated by Griess spectrofluorimetric method: in the mitochondrial fraction the concentration of nitrotyrosine was also determined by enzyme immunoassay of nitrosyl proteins. The concentrations of inducible NO-synthase in the mitochondrial fraction and endothelial NO-synthase in cytosolic fraction of rat myocardium homogenate were identified by Western blotting method.

In rats with arterial hypertension in the cytosolic and mitochondrial fractions of myocardium homogenate the activity of general NO-synthase had decreased. Concentration of endothelial NO-synthase appeared to be decreased in the cytosolic fraction of rat homogenate while in the mitochondrial fraction concentration of inducible NO-synthase and nitrotyrosine content increased, indicating the development of nitrosating stress. Irbesartan, angiotensin, a combination of both, as well as the combination of quinapril with angiotensin restore the parameters of NO-system in the cytosolic and mitochondrial myocardium fractions, indicating their endothelium action. Quinapril does not affect the NO-system parameters in the mitochondrial fraction of rat myocardium homogenate, but increases the concentration of endothelial NO-synthase in cytosolic fractions, indicating that its endothelium activity is weaker than angiotensin and irbesartan have been demonstrated.

Key words: arterial hypertension, irbesartan, quinapril, angiotensin, nitric oxide

Надійшла: 24 березня 2016 р.

Контактна особа: Нагорна О. О., кандидат медичних наук, доцент, кафедра фармакології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, буд. 34, просп. Перемоги, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 97 922 88 88. Електронна пошта: E.nagornaya@ukr.net