

УДК 577.334.61; 577.152.6

РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА В РЕГУЛЯЦИИ РАБОТЫ МИОКАРДА ЦИКЛ ОКСИДА АЗОТА И NO-СИНТАЗНЫЕ СИСТЕМЫ В МИОКАРДЕ

**Реутов В.П., Гоженко Е.А., Охотин В.Е., Котюжинская С.Г., Шуклин А.В.,
Сорокина Е.Г.**

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва;
valentinreutov@mtu-net.ru;*

*Российский кардиологический научно-производственный комплекс МЗ РФ,
Институт Биологии Гена РАН, Москва;*

*Государственное Учреждение Научный Центр Здоровья Детей РАМН, Москва;
Одесский национальный медицинский университет, Одесса*

Физиологически активная молекула – оксид азота (NO), обладает широким спектром действия [2, 6, 12, 63, 64]. NO, являясь одним из мессенджеров [78, 106, 175-177], участвует в регуляции систем внутри- и межклеточной сигнализации [114, 128, 177]. NO идентичен эндотелиальному фактору релаксации (EDRF) [144, 163], расслабляющему гладкие мышцы сосудов [107, 111] и предотвращающему агрегацию тромбоцитов к эндотелию [74, 82, 153]. Наряду с регуляторными функциями [98, 99, 127, 133] NO обладает цитотоксическими, цитостатическими и многими другими свойствами и функциями в различных органах и тканях [2, 82, 151, 178, 188]. Многие регуляторные функции, обнаруженные ранее в различных органах и тканях были в дальнейшем обнаружены в сердце [108, 109, 169, 171].

Синтез NO в миокарде осуществляется не только в нейронах и эндотелии сосудов, но и в самих миоцитах [40, 41-44]. В образовании NO участвуют не только конститутивные и индуцибельные NO-синтазы, но и нитритредуктазные системы, которые связаны с гемсодержащими белками, способными в дезокси-форме восстанавливать нитриты в NO [56, 59, 60, 62, 63, 80, 112, 179, 194]. Это свидетельствует о важной роли NO в миокарде [13, 40]. В настоящее время все функции NO в сердце еще нельзя назвать [40, 66-69]. Одна-

ко можно с определенностью сказать, что в миокарде NO может регулировать функцию органа как непосредственно, так и через влияние на сосуды [4, 7, 40, 49, 85, 87]. Данное физиологически активное соединение способно регулировать тонус коронарных сосудов, свертываемость крови, воспалительные процессы, а также влиять на клеточные и межклеточные взаимодействия [25, 29, 30]. Оксид азота может оказывать прямое влияние на сократимость миокарда: от тонкой регуляции электромеханического сопряжения до модуляции вегетативного влияния на пре- и постсинаптическом уровне [95, 96, 104, 105].

В основе многостороннего участия NO в физиологии сердца лежит сложная система регуляции на молекулярном уровне всех трех типов NO-синтаз [8, 100, 108, 113, 154, 166, 169, 170, 190]. Показано, что локализация той или иной NO-синтазы влияет на клеточный ответ [113, 170, 189]. Это обстоятельство послужило основанием для формулировки и обоснования концепции клеточной и субклеточной компартиментализации NO-синтаз [100, 108, 109, 142, 143, 164]. Эта концепция включает представления о пространственной аллостерической модуляции NO-синтаз специальными белками-посредниками, которые ограничивают и направляют влияние NO на клеточные мишени для специфического от-

вета на заданный стимул [100, 109, 143, 181-183].

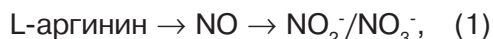
Важную роль в регуляции содержания оксида азота в организме человека и животных играет механизм циклического превращения NO: L – аргинин \rightarrow NO \rightarrow NO₂⁻/NO₃⁻ \rightarrow NO [56-59]. Нарушение механизмов регуляции содержания NO в условиях ишемии/гипоксии [27, 29, 30, 32, 33], при воспалении [17, 41], действии специфических факторов (например, стимуляции цитокинами) [98, 99, 181-183] может приводить к глубоким нарушениям в кардиомиоцитах, ведущим к сердечной недостаточности [89, 90].

Настоящий обзор включает обобщение результатов исследования авторов по циклическим превращениям оксида азота в организме млекопитающих [56-59, 62-64] и анализ данных литературы о внутриклеточной локализации NO-синтазных и нитритредуктазных систем, которые участвуют в механизмах регуляции содержания NO в миокарде [89, 90, 100, 108, 109]. Кроме того, проанализированы данные литературы о регуляции NO-синтаз на уровне транскрипции и о модуляции активности конститутивных и индуцибельных форм этого фермента на посттрансляционном уровне [123, 124]. Для анализа данных литературы о регуляции содержания NO в миокарде в норме и при некоторых видах патологии были использованы концепция цикла оксида азота и принцип цикличности, ранее предложенный и обоснованный в работах [56-59, 62, 63].

Цикл оксида азота в организме млекопитающих

Ранее нами было показано, что продукты превращения NO – ионы NO₂⁻ могут весьма эффективно в условиях дефицита кислорода снова превращаться в NO [56-59, 62-64]. Нитритные ионы, восстанавливаясь в миокарде в NO, образуют R-конформеры Mb-NO комплексов, поскольку Mb может с лигандом NO образовывать только эти конформеры. В отличие от Mb, комплексы NO с Hb могут находиться как в R-, так и в T-конформации. Таким образом, наличие NO-синтазного механизма

обеспечивает эндогенный синтез NO, ионов NO₂⁻ и NO₃⁻:



а высокая активность нитритредуктазных систем создает условия для того, чтобы цепочка (1) функционировала как замкнутый цикл, который был назван нами циклом NO. Для ферментативного окисления L-аргинина при участии NO-синтаз, как указывалось выше, требуется кислород. Поэтому при ишемии/гипоксии NO-синтазный механизм должен ингибироваться. В то же время дефицит кислорода является тем фактором, который обеспечивает активную работу нитритредуктазных систем, связанных с гемсодержащими белками - Hb, Mb, цитохромоксидазой и цитохромом P-450.

Действительно, как указывалось ранее, восстановление ионов NO₂⁻ в NO происходит в крови и клетках тканей [56, 62]. Важную роль в восстановлении NO₂⁻ в крови играет Hb, причем восстанавливать ионы NO₂⁻ в NO может лишь дезокси-Hb [62, 80, 112]. Кислород, связанный с Hb, препятствует превращению NO₂⁻ в NO [56-59, 62, 80, 112]. В миокарде и скелетных мышцах такую же нитритредуктазную активность может проявлять Mb, находящийся в дезоксиформе [62, 179]. В тканях, содержащих и не содержащих Mb, восстановление ионов NO₂⁻ в NO осуществляется в митохондриях и микросомах [59, 63]. В митохондриях, как указывалось выше, нитритредуктазной активностью обладает цитохромоксидаза [59,63], а в микросомах - цитохром P-450 [63]. Таким образом, гемсодержащие белки - Hb, Mb, цитохромоксидаза и цитохром P-450, обычно взаимодействующие с кислородом, - в дезоксиформе могут восстанавливать ионы NO₂⁻ в NO и таким образом замыкать цепочку превращений (1), как указывалось выше, в единый цикл NO.

В настоящее время стали известны работы, авторы которых вслед за нами стали рассматривать возможность цикли-

ческих реакций с участием NO и продуктов его превращения [4, 5, 9, 14, 17, 23-27, 36, 41, 159, 187]. При дефиците кислорода роль NO-синтазного механизма может снижаться. При этом может активироваться более мощная нитритредуктазная компонента, которая, как было показано ранее, почти на три порядка выше, чем NO-синтазная [59, 62, 63, 194]. Имеются основания полагать, что активация этой мощной компоненты в условиях ишемии/гипоксии может быть дополнительным фактором и одной из составляющих ишемического повреждения миокардиоцитов в период реоксигенации.

Известно также, что вклад в несинтазный путь образования NO могут вносить ксантиноксидоредуктаза и гемсодержащие белки – дезоксигемоглобин, а также дезоксимиоглобин, цитохромоксидаза и цитохром P-450 [59, 63, 112, 179, 187, 194]. Кроме того, ряд ученых, изучающих неэнзиматический путь образования NO, пришли к выводу о том, что NO может образовываться из нитрита в зоне ишемии в результате снижения pH с 7.4 до 5.5 (после 30 мин ишемии сердца) [194]. При этом они наблюдали 100-кратное увеличение концентрации NO по сравнению с исходной [194]. Таким образом, в настоящее время уже нельзя ограничиваться лишь рассмотрением действия NO-синтазной реакции в клетках тканей и в организме в целом [112]. Необходимо также учитывать действие мощной нитритредуктазной компоненты, связанной с гемсодержащими белкам, находящимися в дезокси-форме [25-28, 59, 63, 112, 179, 194]; нитратредуктазной компонентой, обусловленной действием Mo-содержащих белков и, в первую очередь, ксантиноксидоредуктазного комплекса [59, 63]; и, наконец, с действием неэнзиматического пути образования NO, связанного с превращением нитритов в NO в зоне с пониженным pH [194].

Однако при физиологических условиях сила «слабой» NO-синтазной компоненты заключается в том, что именно она лимитирует поступление субстрата NO_2^- для «сильной» нитритредуктазной, состо-

ящей из гемсодержащих белков, находящихся в дезокси-форме [59, 63], и неэнзиматической [194] компонент цикла оксида азота. Другими словами, по-видимому, здесь действует принцип, аналогичный принципу дополнительности, хорошо известный физикам: сила «слабой» компоненты - в слабости «сильной».

Таким образом, благодаря взаимосвязи четырех компонент, участвующих в образовании NO в присутствии кислорода и в условиях гипоксии (NO-синтазной, нитритредуктазной, нитратредуктазной и неэнзиматической), достигается универсальная целостность цикла оксида азота. Три из этих компонент – NO-синтазная, нитрит- и нитратредуктазная являются энзиматическими, поскольку их функционирование связано с работой NO-синтаз, гемсодержащих белков и Mo-содержащего ксантиноксидоредуктазного комплекса. Последняя компонента связана с протонированием ионов NO_2^- и образованием азотистой кислоты при кислых значениях pH. В этом, по-видимому, заключается и парадокс цикла NO: в каждой отдельной компоненте наиболее полно осуществляется одна из природных закономерностей, существующих именно этой компоненте.

В связи с тем, что восстанавливать ионы NO_2^- в NO могут лишь восстановленные формы гемсодержащих белков, нельзя не учитывать роль ферментных и неферментных систем, принимающих участие в переносе электронов на эти гемсодержащие белки. В первую очередь к ним нужно отнести метгемоглобин- и метмиоглобинредуктазы, а также электронно-транспортные цепи митохондрий и эндоплазматического ретикулума. Эти ферментные системы, как известно, переносят электроны от NADPH или NADH через флавопротеин на гемсодержащие белки. Среди низкомолекулярных систем, способных участвовать в восстановлении гемсодержащих белков, следует отметить аскорбиновую кислоту и восстановленный глутатион [59, 63].

Когда обнаружилось, что способностью восстанавливать ионы NO_2^- в NO об-

ладают гемсодержащие белки, находящиеся в дезоксиформе, стало ясно, что дефицит O_2 является тем первичным метаболическим сигналом, который инициирует последующие изменения активности остальных ферментов метаболического пути, участвующих в восстановлении ионов NO_2^- . Таким образом, *практически все патологические процессы, которые протекают на фоне гипоксии и ишемии, будут в той или иной степени активировать нитритредуктазную компоненту цикла NO* [56, 57, 62, 167-170]. Эта же компонента, как указывалось выше, замыкает цепочку метаболических превращений NO в цикл. Однако до сих пор эта компонента в большинстве случаев остается вне поля зрения исследователей.

Локализация и распределение NO-синтаз в миокарде

В миокарде имеются все типы NO-синтаз (NOS) [108, 109, 155, 156]: нейрональная (NOS-1), открытая в саркоплазматическом ретикулуме миокарда сердца только в 1999 г. [190], индуцибельная (NOS-2) [98, 99, 141, 169, 171, 181] и, наконец, эндотелиальная (NOS-3) [103, 108, 117-121]. Кроме того, в митохондриях кардиомиоцитов экспрессируется митохондриальная NOS (mtNOS) [102, 145-147, 160], которую многие исследователи по признаку сходства аминокислотной последовательности относят к NOS-1 [144-147].

Имеются данные, что при патологии у человека (ишемическая болезнь сердца, дилатационная кардиомиопатия) повышается иммунореактивность к NOS-2 и NOS-3 [125], а в условиях экспериментальной гипертрофии миокарда крыс наблюдается усиление интенсивности окрашивания миоцитов на NADPH-d [83]. Следует отметить хорошо известный факт, что индукция NOS-2 в кардиомиоцитах человека и животных [141, 149, 167, 169, 171, 183, 190] вызывается провоспалительными цитокинами [98, 99], повышение уровня которых сопровождается сердечную недостаточность [190].

NOS-3 на ультраструктурном уровне локализована в кавеолах кардиомиоцитов

– небольших (70-90 нм в диаметре) впячиваниях плазматической мембраны [114 - 120, 150]. Известно, что кавеолы локально обогащены холестерином и гликофинголипидами [117, 118-120]. Известно также, что кавеолы содержат олигомеризованный белок – кавеолин, который структурно их поддерживает [118 - 121, 150]. Кавеолами богаты мембраны Т-трубочек, которые принимают участие в электромеханическом сопряжении при передаче возбуждения в миокарде [114, 118-121, 135, 136, 140]. Что касается субклеточной локализации NOS-2, то характер иммуногистохимического окрашивания позволяет предположить, что фермент находится в цитозоле клетки [98, 99, 141, 149, 167, 169, 171, 181, 183, 190].

При классификации NO-синтаз на конститутивные и индуцибельные, мы прежде всего обнаруживаем два проявления NO-ергического воздействия, обусловленные в сотни раз различающимися концентрациями нарабатываемого NO. Конститутивные кальций-зависимые NOS-1 и NOS-3 продуцируют небольшие концентрации NO. Они осуществляют главным образом регуляторные NO-ергические воздействия. Регуляторное влияние NOS-1 и NOS-3 чаще всего связано с образованием низких концентраций NO, активацией растворимой гемсодержащей гуанилатциклазы и выходом на регуляторный путь вторичного мессенджера cGMP [13-15, 17-19, 41, 62, 73, 77]. Регуляторное влияние NO, как правило, характеризуется такими влияниями как вазодилатация, уменьшение сократимости миоцитов и частоты сердечных сокращений (ЧСС), облегчение парасимпатического влияния и подавление симпатического, что в некоторых экспериментах может приводить к облегчению работы биологической системы и косвенно вызывать цитопротекторные эффекты [17, 41, 43-46]. Активацию ADP-рибозилтрансферазы также, по-видимому, следует отнести к регуляторным влияниям NO [17, 41, 62].

Кальций-независимая индуцибельная NOS-2 продуцирует большие количе-

ства NO, высокореактивная молекула которого способна участвовать в метаболических превращениях с образованием еще более активных свободно-радикальных соединений и неспецифически повреждать белки [60] и ненасыщенные жирные кислоты клетки [60, 61]. С ее функцией связаны цитотоксическое и проапоптотическое влияния NO [17, 41, 93, 138].

Какова роль NO-синтаз в кардиомиоцитах?

Известно, что NO продуцируется NO-синтазами эндотелия сосудов и эндокарда [36, 37, 40, 41, 62]. Какова же роль NOS в самих мышечных клетках сердца?

NOS-1 регулирует активность белков саркоплазматического ретикулула кардиомиоцита. После открытия NOS-1 [190] стало очевидно, что в пределах мышечного волокна сердца сосуществуют две различные конститутивные изоформы NOS [94, 100, 190]. Было показано также, что *in vitro* NO способен увеличивать вероятность открытой конформации рианодиновых рецепторов второго типа (RyR2) путем прямого поли-S-нитрозилирования белков каналов, связанных с этими рецепторами [122, 174, 189]. Предполагается, что изменения в кальциевом цикле внутриклеточных цистерн вызывает прямое нитрозилирование рианодиновых рецепторов [189] и, возможно, белков кальциевых насосов.

Эти данные позволяли предположить, что NOS-1 должна участвовать в регуляции цикла "сокращение-расслабление" кардиомиоцитов [100]. Исследования кардиомиоцитов мышей, нокаутных по NOS-1, также как специфическое ингибирование фермента в миоцитах сердца животных без нокаута, показали, что NOS-1 уменьшает сократимость мышечных клеток миокарда [93, 172]. По мнению ряда исследователей, эти данные еще не позволяют сделать однозначного вывода о роли NOS-1 в механизмах влияния образуемого этой формой NOS оксида азота на процесс сокращения миокарда и на кальциевый цикл в миоцитах [94, 100, 172, 173]. Что же касается митохондриальной NOS, то ее аминокислотная последовательность

дает основание рассматривать фермент как один из подтипов NOS-1. Митохондриальная NOS влияет на синтез ATP в митохондриях, модулируя транспорт Ca^{2+} в этих органеллах [147].

NOS-2 опосредует цитотоксическое воздействие NO в миокарде. Индукция NOS-2 в миокарде была установлена еще в 1992 [171]. В здоровом миокарде NOS-2 присутствует практически только в иммунных клетках, главным образом в макрофагах, которые маркирует CD68 [125]. NOS-2 опосредует качественно иные воздействия на миокард [125, 171]. История вопроса исследования NOS-2 начиналась с изучения механизма резкого падения сократительной функции миокарда под влиянием провоспалительных цитокинов, уровень которых, как известно, часто повышен при дисфункции сердца [180]. В 1993-1995 гг. было обнаружено снижение сократимости отдельных кардиомиоцитов в среде, содержащей активированные макрофаги легких [97, 99]. В последующие годы механизм этого явления был охарактеризован как цитокин-зависимая аутокринная индукция NOS-2 в кардиомиоцитах [98, 99, 149, 183].

В 90-х годах XX в. появились многочисленные работы, выполненные на миокарде после экспериментального инфаркта [20, 52-54, 169]. Специфическое ингибирование NOS-2 у крыс с инфарктом, вызванным перевязкой коронарной артерии, приводило к улучшению функции сердца, уменьшению зоны инфаркта и достоверному снижению смертности животных [167, 169]. Повреждающее действие NO связывают с образованием пероксинитрит-аниона ($ONOO^-$), который после протонирования превращается в неустойчивое соединение $ONOOH$. Последнее соединение легко распадается с образованием диоксида азота – $\cdot NO_2$ и $\cdot OH$ -радикалов [82, 151, 177, 188]. Биологическая роль NOS-2 очевидно связана с индукцией апоптоза в поврежденных тканях [93, 138].

В литературе имеются данные, авторы которых оспаривают вклад NOS-2 в нарушение сократительной функции сер-

дца [141]. Отметим, что последняя работа выполнена на модели трансгенных животных с постоянной избыточной экспрессией NOS-2 в сердце. Следует учитывать, что индукция NOS-2 в организме – это быстротекущий процесс и повышение ее экспрессии в течение всего онтогенеза, по-видимому, не является адекватной моделью патологического процесса. Существуют также защитные механизмы от повреждающего действия NOS-2 в миокарде. Примером может служить защитное действие миоглобина на мышечные клетки в условиях оксидативного стресса, связанного с образованием NO и продуктов его превращения [25-28, 79, 129, 130, 138].

NOS-3 в плазмалемме кардиомиоцита и ее регуляторная функция. Физиологическая роль и регуляция NOS-3 в мышечных клетках сердца является наиболее изученной [108, 109, 142, 143, 155, 156]. Локализация NOS-3 на внешней мембране кардиомиоцита определяет влияние фермента на пейсмейкерные и входящие кальциевые токи, а также на регуляторные пути холин- и в-адренорецепторов [123, 124, 125, 131, 134, 143].

В плазматической мембране NOS-3 связывается с кавеоломином-3, что обеспечивает ее специфическую локализацию в кавеолы сарколеммы и поддерживает фермент в инактивированном состоянии [155, 156]. Кальмодулин, наоборот, вызывает активацию NOS-3, что указывает на наличие реципрокной регуляции фермента, когда с одной стороны его ингибирует кавеолин, а с другой – активирует кальций/кальмодулин [157, 158]. Предполагают, что увеличение внутриклеточного кальция в результате стимуляции специфическими агонистами инициирует каталитическую активность NOS-3 путем удаления ингибиторного кавеолина и связывания активирующего кальция/кальмодулина с соответствующей последовательностью фермента [155, 156, 158]. Вопрос о том, требуется ли для этого обязательная транслокация NOS-3 за пределы кавеолы, остается до сих пор не выясненным [155, 156, 158].

Генетический нокаут мышей по кавеолину-3 демонстрирует функциональную важность этого «кавеолинового стопора». У таких животных наблюдается значительная гипореактивность сосудов к вазоконстрикторным агентам, что связано с избыточным синтезом NO [114, 168]. Известно также, что регуляция NOS-3 происходит на уровне транскрипции [123, 124]. На посттрансляционном уровне активность NOS-3 модулируется фосфорилированием серина и, при некоторых условиях, аминокислотных остатков тирозина и треонина. Такие стимулы как инсулин или механическое растяжение (в кардиомиоцитах) [163] индуцируют фосфорилирование серинового остатка 1177 (у человека) через PI3K-зависимую активацию Akt (протеинкиназы B), с последующим усилением активности за счет уменьшения чувствительности фермента к флуктуациям концентрации внутриклеточного кальция. Другие киназы, например протеинкиназа A, протеинкиназа G и AMP-активируемая киназа, также фосфорилируют NOS-3 по серину 1177. Кроме того, AMP-активируемая киназа и протеинкиназа C индуцируют фосфорилирование по треонину 495, что инактивирует NOS-3 [163, 165].

Все функции NOS требуют ее димерной формы, которая стабилизируется гемовой группой, L-аргинином и BH4 [110, 154]. Важно заметить, что при отсутствии достаточных количеств L-аргинина или BH4 “неспаренная” NOS может нарабатывать супероксид-анионы (O_2^-) вместо NO [167], что приводит к образованию пероксинитрита ($ONOO^-$) в результате эквимольной реакции NO с O_2^- . В свою очередь, пероксинитрит может индуцировать дальнейшую продукцию O_2^- эндотелиальной NOS, окисляя ее цинково-серный кластер [193].

Считают, что начало изучения физиологической роли NOS-3 связано с обнаружением факта уменьшения под влиянием доноров NO частоты спонтанных сокращений адренергически престаимулированных пейсмейкерных клеток [98, 99]. Ингибирование NOS в этих клетках, вызывает

противоположный эффект. В 1995 г. было выяснено, что уменьшение частоты потенциалов действия пейсмейкерных клеток и, соответственно, NOS-3 вызывает отрицательный хронотропный эффект в сердце при физиологических условиях, опосредуя в этой ситуации холинергическое влияние [98]. Данное направление получило развитие в работах [108, 109, 132-134], в которых было показано, что в пейсмейкерных клетках NOS-3 взаимодействует с активированными M-холинорецепторами, что в свою очередь вызывает повышение синтеза NO, активацию растворимой гуанилатциклазы и повышение концентрации cGMP в клетке. Последний, через активацию фосфодиэстеразы 2 (PDE2), способен снижать концентрацию циклического AMP (сAMP), что блокирует в-адренергическое влияние [108, 109, 132-134].

Представляют также интерес новые данные о взаимодействии ингибиторных регуляторных путей в миоцитах предсердий. При инактивации ингибиторной субъединицы (Gi) G-белка с помощью токсина коклюша происходит компенсаторная гипертрофия параллельного NO-ергического регуляторного пути, что проявляется в виде увеличения тотального содержания протеина NOS-3 в предсердиях мышей и в сердце крыс [135-140].

Существуют работы, авторы которых оспаривают роль регуляторного пути NOS-3–NO–cGMP в регуляции частоты сердечных сокращений [103, 129, 130, 184]. Однако анализ, проведенный в работе [142], показал, что расхождения точек зрения разных авторов могут быть связаны с различным возрастом использованных экспериментальных животных, с проведением процедур пэтч-клампинга при комнатной, а не при температуре 37°C и некоторыми другими методическими особенностями [81, 84-86]. Кроме того, имеются и межвидовые различия участия NOS-3 в контроле потенциал-зависимого тока ионов Ca²⁺ через каналы L-типа (I_{Ca,L}) [157, 184-186]. Вместе с тем не найдено изменений в реактивности сердца к ацетилхолину (АХ) на фоне ингибирования NOS-3 у лягушек

[157] и морских свинок [192].

В ряде случаев доноры NO увеличивают частоту сердечных сокращений (ЧСС), независимо от влияния со стороны вегетативной нервной системы. Причиной увеличения ЧСС в данном случае может служить cGMP-зависимая стимуляция входящих катионных токов, активируемых гиперполяризацией мембраны I_f (I_n) [162]. на фоне которой не зависит даже в присутствии физиологических концентраций норадреналина (Herring et al., 2001). В ситуации, которая характеризуется повышенным адренергическим фоном, неспецифические ингибиторы NOS способны лишь отсрочить наступление снижения ЧСС, которое вызывает АХ [173]. Этот эффект снимается избытком L-аргинина. Блокаторы I_f приводят к ускорению наступления ответа на действие АХ. На основании этих данных можно полагать, что NO играет роль своеобразного «тормоза», препятствующего резкому снижению ЧСС путем усиления I_f [142, 143]. Таким образом, может существовать взаимодействие между NO-ергическим усилением брадикардии через ослабление I_{Ca,L} и свойством NO замедлять наступление снижения ЧСС, путем стимуляции I_f.

В рабочих кардиомиоцитах NOS-3 участвует в тоническом ингибировании потенциал-зависимых кальциевых токов L-типа (I_{Ca,L}), которые определяют инотропный ответ сердца [1, 65, 126]. NO-ергическое ослабление сократимости происходит здесь даже в отсутствие адренергической пререстимуляции, причем, по-видимому, существует система с отрицательной обратной связью, поскольку приток кальция в кардиомиоциты повышает активность в них NOS-3 [148]. На этот процесс не влияет инактивация G-белков, а его регуляторный путь идет через NO - рГЦ - цГМФ - PDE2. Тоническое ингибирование I_{Ca,L} в рабочих кардиомиоцитах морской свинки маскируется карбахолом – агонистом холинэргических рецепторов [126, 127, 148].

Данные, приведенные выше, по-видимому, свидетельствуют о том, что в рабочих кардиомиоцитах NOS-3 участвует в

аутогенной релаксации, которая работает по принципу отрицательной обратной связи и не требует обязательного наличия внешних регуляторных сигналов. У человека патофизиологическое значение NOS-3 и ассоциированного с ней кавеолина в мышечных клетках сердца еще не достаточно изучено. У собак в условиях экспериментальной гипертрофической кардиомиопатии, вызванной почечной гипертензией происходит уменьшение содержания кавеолина и NOS-3 в ткани левого желудочка. Сходные изменения происходят и у спонтанно гипертензивных крыс (SHR) [166].

Компартментализация NO-синтаз в кардиомиоцитах

Как уже было отмечено выше, в пределах кардиомиоцита экспрессируются все изоформы NOS, в том числе и митохондриальный подтип NOS-1 (mtNOS). Естественно возникает вопрос: для чего необходимо клеткам такое разнообразие ферментов, катализирующих одну и ту же реакцию?

Поворотным пунктом в развитии представлений о роли NO в миокарде явилось открытие нейрональной изоформы NOS в саркоплазматическом ретикулуме кардиомиоцитов [190]. Это дало толчок к исследованиям, показавшим, что каждая изоформа NOS обладает собственной физиологической функцией и местом субклеточной локализации или компартментом, где она экспрессируется [100, 108, 109, 155, 142, 190]. Этот факт лег в основу представлений о субклеточном разграничении NO-ергической регуляции или концепции о внутриклеточной «пространственной компартментализации» (spatial confinement) различных изоформ NOS, обеспечивающих специфичность регуляции NO в клетке [100].

Суть концепции пространственной компартментализации состоит в том, что NO-ергическое воздействие определяется не столько самим NO, сколько биологически активными белками, непосредственно окружающими NOS [100, 108, 109, 142, 155, 156]. Причем, согласно этой концеп-

ции, свободный NO, нарабатываемый конститутивными NOS, не диффундирует на значительные расстояния, а оказывает модулирующее влияние на активность белков своего субклеточного компартмента. Ранее представление об аналогичном характере активности NO в биологических системах было показано в работе [2]. В этой работе было продемонстрировано, что в такой химически гетерогенной и активной среде, как цитозоль, молекула NO практически мгновенно связывается различными ловушками оксида азота, к которым относится и растворимая гемсодержащая гуанилатциклаза – основная физиологическая мишень NO, или как ее еще называют «рецептор» NO [2, 51, 62, 73, 77, 91, 92, 108, 109]. Таким образом, в рамках этой концепции возможно сосуществование различных изоформ NOS, и выполнение ими различных функций даже в пределах одной клетки, что ярко демонстрируют кардиомиоциты. И хотя данные пионерской работы [100] о противоположном характере влияния NO на сократимость кардиомиоцитов, нарабатываемым NOS-1 и NOS-3, не подтвердились [94, 172], сейчас становится очевидным, что названные изоформы NOS участвуют в модуляции различных внутриклеточных процессов. Вместе с тем следует отметить, что механизмы, посредством которых NOS-1 саркоплазматического ретикулума вызывает снижение сократимости кардиомиоцитов, детально не изучены [94, 101, 172].

Сокращение и расслабление кардиомиоцита: роль Ca²⁺ и NO

Циклические перемещения Ca²⁺ из саркоплазматического ретикулума (CP) в цитозоль являются ключевыми в сокращении и расслаблении миоцита [1, 22, 40, 155]. Сокращению кардиомиоцита предшествует ряд последовательных процессов: 1) электрическая деполяризация плазмалеммы (сарколеммы); 2) вход небольшого количества кальция из межклеточного вещества в кардиомиоцит; 3) поступление больших количеств кальция из CP в цитозоль кардиомиоцита; и, наконец, 4) связывание кальция с тропонином С мио-

филаментов. Изменения концентрации и транслокация ионов кальция в механизмах сокращения кардиомиоцита является одним из связующих звеньев между потенциалом действия и скольжением миозина вдоль актиновых филаментов, что в итоге приводит к сокращению миоцита. Выше описанный механизм известен как «excitation-contraction coupling» или электро-механическое сопряжение [1, 40, 155]. В результате деполяризации сарколеммы в кардиомиоцитах активируются потенциал-зависимые токи Ca^{2+} L-типа ($I_{Ca,L}$) [1, 40, 126, 155]. Каналы для их обеспечения находятся в углублениях плазмалеммы – Т-трубочках [155], а к ним примыкают цистерны эндоплазматического ретикулума, которые в диастолу содержат высокие концентрации Ca^{2+} .

Итак, начало электро-механического сопряжения в миокарде инициируется поступлением в миоциты небольших количеств Ca^{2+} через $I_{Ca,L}$ [1, 40, 104, 105, 136, 155]. Этот небольшой ток приводит к мощному сбросу Ca^{2+} по каналам саркоплазматического ретикулума, идентичным в кардиомиоцитах рианодиновым рецепторам типа 2 (RyR2) [122, 136, 174, 189, 190]. В свою очередь, поступивший в цитозоль Ca^{2+} связывается с тропонином С, что вызывает активацию миофиламентов и последующее сокращение мышцы [104, 105, 116].

Если сокращение кардиомиоцита требует поступления кальция, как из саркоплазматического ретикулума, так и из межклеточного пространства в цитозоль, то, напротив, при релаксации происходит «закачивание» кальция из цитозоля в саркоплазматический ретикулум и выход его в межклеточное пространство [1, 40, 101, 104, 105].

При релаксации происходит обратное поступление кальция в саркоплазматический ретикулум против градиента концентрации через фосфоламбан-регулируемую Ca^{2+} -АТФазу (SERCA2), которой богаты мембраны СР [34, 40, 104, 105]. Кроме того, кальций может выводиться через сарколемму при помощи Na^+/Ca^{2+} -обмен-

ника, работающего одновременно с насосом ретикулума [101, 104, 105]. Эти процессы приводят к понижению концентрации кальция в цитозоле и диссоциации комплекса кальций–тропонин С, что вызывает освобождение миозина от актиновых филаментов и расслабление кардиомиоцита [1, 34, 40, 104, 105].

Следует отметить, что оборот кальция в рабочем кардиомиоците характеризуется периодическим изменением его концентрации в цитозоле от 100 нМ в расслабленном состоянии до 1 мМ при сокращении [104, 105]. Вполне естественно, что из описанной картины кальциевого цикла вытекает вопрос: в каком отношении между собой находятся факторы, влияющие на прекращение сброса кальция через каналы, сопряженные с рианодиновыми рецепторами? Поскольку активация, деактивация RyR2 [174], и их адаптация [122], равно как и истощение пула Ca^{2+} в СР имеют место в кардиомиоците при различных функциональных состояниях, то, как полагают некоторые авторы, происходит синергичное воздействие всех этих механизмов [40, 104, 105].

Циклическое изменение концентрации Ca^{2+} в рабочем кардиомиоците не может не влиять на циклический (или периодический) характер изменения активности конститутивных NO-синтаз, которые по своей природе являются Ca^{2+} -зависимыми. Установлено, что одновременно с входом ионов Ca^{2+} активируются конститутивные NO-синтазы (NOS-1 и NOS-3) [100, 158, 189, 190]. Вместе с циклическим изменением концентрации Ca^{2+} , могут циклически изменяться концентрации NO и продуктов его метаболизма – NO_2^- и NO_3^- ионов. Однако многие интересные вопросы, связанные с синхронным изменением Ca^{2+} , NO, NO_2^- , NO_3^- и активных форм кислорода, еще ждут своих исследователей. Вместе с тем следует отметить, что NO, выделяемый эндотелием коронарных сосудов, оказывает сильное влияние на сократимость миокарда, в том числе на длительность систолы, а также на начало периода релаксации [17, 40, 41]. Некоторые

авторы, используя ингибиторы NO-синтаз и доноры NO, установили действие NO на длительность систолы и сократимость миокарда. Эти изменения в длительности систолы и сократимости миокарда сопровождались повышением уровня cGMP на различных объектах: изолированных папиллярных мышцах, выделенных сердцах, а также на изолированных миоцитах [40, 170-173].

Результаты этих исследований не противоречили другим данным, полученным в эксперименте и в клинике на больных. В работе Х.М. Маркова и его коллег было показано, что NO-генерирующее соединение (нитропруссид натрия) вызывает не только расширение коронарных сосудов и увеличение коронарного кровотока, но и значительное увеличение амплитуды и скорости сокращения сердца [40]. Вместе с тем нельзя при этом исключить и непосредственного влияния NO на концентрацию Ca^{2+} в миокарде [165]. В результате такого действия NO может не только участвовать в регуляции сократимости миокарда, но и ограничивать повреждающее действие избыточной концентрации ионов Ca^{2+} на сердце и сосуды [165, 170].

Может ли нарушение внутриклеточной компартментализации конститутивных по-синтаз в кардиомиоцитах привести к развитию сердечной недостаточности?

Нарушение субклеточного распределения NOS-1 и NOS-3 в кардиомиоцитах связывают с развитием различных патологических состояний миокарда [113, 139]. При дилатационной кардиомиопатии у человека происходит транслокация NOS-1 из эндоплазматического ретикулума в плазмалемму [113]. Этот процесс осуществляется в результате ассоциации этой формы NO-синтазы с кавеолином-3, локализованным в сарколемме, что приводит к перераспределению одной из форм конститутивных NOS в кардиомиоците. В кавеолах эти процессы сопровождаются увеличением образования NO, что нарушает регуляцию кальциевых токов через плазмалемму.

Уменьшение содержания NOS-1 в саркоплазматическом ретикулуме влияет на регуляцию рианодиновых рецепторов RyR2 [122], что может приводить к нарушениям цикла кальция. Взаимодействие кальциевого цикла сарколеммы и саркоплазматического ретикулума происходит на фоне нарастания притока Ca^{2+} [101, 104, 105, 116]. Более быстрое увеличение концентрации Ca^{2+} в цитозоле может увеличивать сопряжение, что приводит к развитию более быстрого и/или более сильного сокращения. Десинхронизация этих процессов в результате нарушения регуляции кальциевого цикла может привести к снижению скорости повышения концентрации Ca^{2+} [104, 105]. А это, в свою очередь, способно вызывать несинхронное связывание кальция с тропонином С и, таким образом, приводить к более медленной скорости сокращения [101, 105, 116]. Уменьшение содержания Ca^{2+} в саркоплазматическом ретикулуме, как правило, вызывает снижение порога, при котором наступает частичный сброс Ca^{2+} , что усиливает вероятность аберрантного сброса (или спонтанной утечки Ca^{2+}) при низких концентрациях внутриклеточного Ca^{2+} в цитозоле. Спонтанная утечка Ca^{2+} может также приводить к задержке релаксации, что в свою очередь способно вызывать нарушение ритма сокращения миокарда (аритмию) [101, 139].

Цикл оксида азота как один из возможных механизмов регуляции содержания Ca^{2+} в кардиомиоцитах

Ранее нами впервые было экспериментально показано, а затем и обосновано в виде концепции, что одним из механизмов экономного использования источника NO – L-аргинина и поддержания NO в пределах физиологической нормы являются циклические превращения NO в организме млекопитающих с участием гемсодержащих белков, находящихся в дезоксиформе [56-59, 62-64]. В 1997 г. наши данные были подтверждены в ходе независимых исследований белорусскими учеными – И.И. Степурой и коллегами [80]. Ими была показана возможность участия де-

зоксигемоглобина в механизме восстановления ионов NO_2^- в NO. В исследованиях украинских ученых – В.Н. Коробова и соавторов было подтверждено участие дезоксиоглобина в восстановлении нитритов в NO [25-28]. В 1997 г. японские исследователи [179] показали возможность участия миоглобина в восстановлении нитритов в NO, что подтверждало данные наших работ и В.Н. Коробова. В 2003 г. группа исследователей из Бетезды (США) опубликовала работу в *Nature medicine* [112], в которой, используя многочисленные методы исследования, показала, что дезоксигемоглобин может восстанавливать ионы NO_2^- в NO, и тем самым окончательно подтвердила наши данные [60]. После работ В.Н. Коробова [25-28] и Дж. Звайера и соавторов [194] стало ясно, что наши более ранние работы хорошо подтверждаются этими новыми исследованиями и свидетельствуют, что сердечно-сосудистая система, как и система крови [56-59, 62-64, 112], имеют автономные механизмы синтеза NO, которые работают по принципу безотходного воспроизводства этого физиологически активного соединения. Кроме того, механизмы синтеза NO очень сильно зависят от степени оксигенации крови и способны активироваться при гипоксиях и ишемиях различного генеза [56, 60, 112]. В связи с указанными работами многие исследователи осознали, что NO-синтазная и мощная нитритредуктазная компоненты цикла оксида азота [56-59] способны не только взаимодействовать между собой, но и эффективно координируют деятельность сердечно-сосудистой системы с работой системы крови [3-5, 23, 24, 31, 40]. Наличие различных изоформ NO-синтаз, их пространственная разделенность, неодинаковая их активность, а также возможность синтеза NO не только из L-аргинина, но также из нитритных и нитратных ионов свидетельствуют о сложном характере влияния этого физиологически активного соединения на многочисленные функции в организме [9-11, 16, 21, 35-39, 47-50, 55, 70-72, 88].

Основываясь на способности нитрит-

ных ионов акцептировать электроны с дыхательной цепи митохондрий, можно предположить, что цикл оксида азота обеспечивает экономное использование L-аргинина и NO в организме млекопитающих, а активация NOS-2 необходима миокарду в тех случаях, когда дефицит кислорода (вследствие гипоксии или ишемии) ставит перед организмом гамлетовский вопрос: “быть или не быть?” В этих условиях активация индуцибельной NO-синтазы, способной продуцировать в сотни раз больше NO, а также продуктов метаболизма этого соединения – нитритов и нитратов, может быть оправданной для обеспечения миокарда альтернативными акцепторами электронов [56-59, 62]. Именно в этих условиях клетки миокарда включают свою “генетическую память” о нитратно-нитритном дыхании, как предшественнике кислородного дыхания. В этих же условиях экспрессируется синтез индуцибельной NO-синтазы. Поэтому гиперпродукция нитритов и нитратов в условиях дефицита кислорода любой ценой (даже за счет потери части клеток, во имя спасения целого органа) становится жизненно необходимой задачей. Осознание роли нитритредуктазных систем в организме млекопитающих и механизма циклического превращения нитратов, нитритов и NO может объяснить не только физиологическую роль индуцибельной NO-синтазы в миокарде, но и высокую эффективность нитроглицерина, а также других нитропроизводных при сердечно-сосудистой патологии [3, 7, 40, 75, 76, 152]. Кроме того, развиваемая нами концепция цикла оксида азота и следствия, вытекающие из этой концепции, могут не только дополнить представления о роли нитратов, нитритов и NO как веществ, вызывающих расширение сосудов, но и понять биохимическое и физиологическое значение митохондриальных NO-синтаз, способных синтезировать альтернативные акцепторы электронов в условиях ишемии и гипоксии.

Заключение

Ранее мы указывали, что в настоящее время проявилась тенденция считать, что

познание биологических систем идет от монофункционального их восприятия к полифункциональному [56-62]. Роль NO-синтаз, а также оксида азота, нитритов и нитратов в живых организмах имеют функциональную многозначность [1, 6–11, 13, 14, 16-20, 56-62, 161, 185, 191]. Об этом же свидетельствуют сотни тысяч работ, посвященные проблеме оксида азота в биологии и медицине, появившиеся за последние 25 лет. Эти многочисленные работы, открыв новые научные направления, обеспечили реальный прорыв в биологии и медицинской химии. Однако простые решения, которые можно было реализовать с использованием доноров NO и ингибиторов NO-синтаз, оказались недостаточно эффективными. Поэтому появилась потребность в более глубоком изучении этой проблемы, в создании концепций и теорий, объясняющих универсальность действия NO в биологических системах.

Основной трудностью в изучении физиологической роли NO является способность одной и той же молекулы опосредовать как регуляторные, так и цитотоксические влияния [3-6, 7, 9, 11-13]. Такой биологический характер соединения в литературе часто сравнивают с двуликим Янусом [48, 130, 151, 161, 161, 174]. В сердце NO способен тонко регулировать холинергическую трансмиссию и вызывать пероксинитритный стресс, участвовать в аутогенной релаксации миоцитов и способствовать их элиминации путем апоптоза, вызывать релаксацию коронарных сосудов и усугублять течение инфаркта миокарда [10, 14-17, 19-22, 138].

Яркой особенностью сердца, еще более затруднившей изучение в нем роли NO и NO-синтаз, является неоднородность, а часто противоположность регуляторных эффектов этой молекулы [23, 24, 26, 27]. Оксид азота способен как уменьшать, так и увеличивать частоту потенциалов действия пейсмейкерных клеток, регулировать перенос ионов кальция как через плазматическую мембрану, так и в цистернах саркоплазматического ретикулума, ослаблять сократимость миокарда в

систоле и усиливать диастолическую релаксацию [31-33, 40, 42-45].

Изучение распределения NO-синтаз в миокарде привело к созданию концепции о внутриклеточной (пространственной) их компарментализации, разрешившей, казалось бы, многие противоречия, связанные с NO-ергическим влиянием на деятельность сердца [100, 139]. Однако еще совсем недавно предполагали, что разные эффекты одного и того же регулятора – NO, можно объяснить различной клеточной и субклеточной локализацией NO-синтаз, что могло быть связано с многочисленными точками приложения NO-ергического воздействия. Между тем, как указывалось выше, данные пионерской работы [100], о противоположном характере влияния NO на сократимость кардиомиоцитов, нарабатываемого NOS-1 и NOS-3, не подтвердились [94, 172, 173]. В связи с этим стало очевидно, что, несмотря на то, что указанные выше изоформы NOS участвуют в модуляции различных внутриклеточных процессов, необходимо также учитывать и другие механизмы, нарушение которых может приводить к переходу от физиологической нормы к развитию различных патологий миокарда [18, 38, 39, 46, 47, 50, 52, 55].

Классики науки неоднократно указывали о важной роли сохранения регуляторных механизмов в живых организмах. В 1922 г. Вирхов писал: “не жизнь в ненормальных условиях, не нарушение как таковое вызывает болезнь, напротив, болезнь начинается с недостаточности регуляторного аппарата”. Спустя 70 лет к такому же выводу пришел Кордюм: “... первая и самая мощная система защиты – это его метаболизм, протекающий в диапазоне нормы, т.е. в том диапазоне, который может обеспечить регуляция [цит. по 62]. Какие же механизмы обеспечивают регуляцию содержания NO в пределах физиологической нормы?”

Ранее мы указывали, что циклическая регуляция содержания оксида азота в живых организмах с участием NO-синтазных и нитритредуктазных систем может

быть основой поддержания концентрации NO в пределах физиологической нормы [56-59]. Концепция цикла оксида азота позволила объяснить механизмы экономного использования L-аргинина и поддержания концентрации NO в пределах физиологической нормы [56, 62]. После работ [4, 5, 7, 9-11, 56, 58, 62, 159] стало ясно, что сердечно-сосудистая система, а также система крови с ее автономными механизмами восстановления продуктов превращения NO – ионов NO_2^- способны работать по принципу безотходного воспроизводства этого физиологически активного соединения. Благодаря указанным выше работам стали ясны многие аспекты регуляции сердечно-сосудистой системы с помощью нитроглицерина и других нитропрепаратов, в которых активной группой являются ионы NO_2^- [66-69, 78, 81, 84]. Результаты этих исследований были подтверждены в многочисленных работах, проведенных в России, странах СНГ и за рубежом [23-27, 36, 69, 80, 112, 159, 179, 187, 194].

Однако нельзя не отметить, что еще многие медико-биологические проблемы NO ждут своего разрешения [35, 70-72, 74-76, 85, 87, 88, 91, 92]. Требуют дальнейшего выяснения механизмы регуляторного влияния NOS-1 в саркоплазматическом ретикулуме кардиомиоцита. Не вполне представляется ясной регуляция экспрессии конститутивных изоформ, особенно, когда речь идет о компенсаторном усилении синтеза белка NOS-1 или NOS-3. В настоящее время недостаточно изучено распределение NOS в различных отделах сердца, а также патофизиологические аспекты экспрессии конститутивных NOS.

И, наконец, коснемся вопроса о необходимости наличия всех изоформ NO-синтазы в мышечных клетках сердца. Окончательного ответа на этот вопрос все еще нет. Наиболее корректный ответ на этот вопрос ученые, вероятно, смогли бы получить, используя генетический нокаут NOS-1 и NOS-3 или обеих этих изоформ. В настоящее время имеются лишь отдельные работы, выполненные на мышцах [118,

155, 185]. Как показали эти исследования «выключение» различных изоформ NOS не является летальным и приводит к развитию артериальной гипертензии. Таким образом, по мнению ряда исследователей, оксид азота не является универсальным («облигаторным») мессенджером в сердце. Это физиологически активное соединение, по мнению ряда авторов [95-97, 118, 155, 185], опосредует параллельные регуляторные пути. Однако в таком органе, как сердце, любая регуляторная система имеет большое значение, особенно для потенциального терапевтического воздействия с участием, например, нитропрепаратов, способных в процессе метаболизма высвобождать NO [9, 11, 15, 45, 46, 62, 75, 81]. Кроме того, как показывают эксперименты, тонкий динамический баланс регуляторных процессов является необходимым условием нормального функционирования этого важного для жизнедеятельности органа [89, 90]. В заключении хотелось бы отметить, что развиваемые нами представления о цикле оксида азота и нитритредуктазной активности гемсодержащих белков [56-59, 62] не только хорошо согласуются с новыми данными литературы и концепцией пространственной компарментализации [100, 139], но и дополняют эту концепцию. Исходя из этих двух концепций, можно предполагать, что NO-синтазные и несинтазные пути образования оксида азота имеют свои (специфические) функциональные особенности и свои мишени или точки приложения действия NO [60-62, 100, 139].

Работа выполнялась при частичной поддержке грантов РФФИ-БРФФИ (гранты №№ 94-04-12149-а; 98-04-48679-а, 00-04-48412-а, 00-04-81096 Бел2000_а; 04-04-49398-а; 04-04-81019 Бел2004_а)

Литература

1. Алипов Н.Н. Пейсмейкерные клетки сердца: электрическая активность и влияние вегетативных нейромедиаторов // Успехи физиол. наук. 1993. Т. 24. №2. С. 37-69.

2. *Ванин А.Ф.* Динитрозильные комплексы и S-нитрозотиолы – две возможные формы стабилизации и транспорта оксида азота в биосистемах // Биохимия. 1998. Т. 63. №7. С. 924-938.
3. *Владимиров О.А., Цыпкун А.Г., Тофан Н.И., Касянчук Н.Р.* Показатели параметров суточных ритмов, характеризующих систему L-аргинин/NO у беременных с сердечно-сосудистой патологией в оценке эффективности санаторно-курортного лечения // Укр. мед. альманах. 2001. Т.4. №3. С.36-40.
4. *Гоженко А.И., Котюжинская С.Г., Котюжинский А.И.* Роль оксида азота в регуляции микроциркуляции и агрегатного состояния крови // Укр. мед. альманах. 2000. Т.3. №1. С.197-200.
5. *Гоженко А.И., Котюжинская С.Г., Котюжинский А.Л.* Влияние острой нитритной интоксикации на гемостаз // Мед. хімія. 2000. Т.2. №4. С. 51-53.
6. *Голиков П.П.* Оксид азота в клинике неотложных заболеваний. М.: Медпрактика. 2004. 179 с.
7. *Гомазков О.А.* Молекулярные и физиологические аспекты эндотелиальной дисфункции. Роль эндогенных химических регуляторов // Успехи физиол. наук. 2000. Т.31. №4. С.48-62.
8. *Горрен А.К., Майер Б.* Универсальная и комплексная энзимология синтазы оксида азота // Биохимия. 1998. Т. 63. №7. С. 870-880.
9. *Граник В.Г., Рябова С.Ю., Григорьев Н.Б.* Экзогенные доноры оксида азота и ингибиторы его образования (химический аспект) // Успехи химии. 1997. Т.66. №8. С.792-807.
10. *Грибкова И.В., Шуберт Р., Серебряков В.Н.* Исследование действия NO на кальций-активируемый канал гладкомышечных клеток артерии крысы // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2002. Т.88. №9. С. 1199-1205.
11. *Григорьев Н.Б., Калинин М.А., Чечкин Г.В.* Новый класс генераторов оксида азота // Химико-фармакол. журн. 1998. №3. С. 15-19.
12. *Гурин А.В.* Функциональная роль оксида азота в центральной нервной системе // Успехи физиол. наук. 1997. Т.28. №1. С. 53-60.
13. *Даценко В.В., Павлюченко В.Б., Мойбенко А.А.* О роли системы оксида азота в реализации кардиогенных и синокаротидных рефлексов // Архив клин. и эксперим. медицины. 2003. Т.12. №1. С.8-9.
14. *Драпкина О.М., Задорожная О.О., Ивашкин В.Т.* Особенности синтеза оксида азота у больных инфарктом миокарда // Клин. мед. 2000. Т.78. №3. С.19-23.
15. *Журавлева И.А., Мелентьев И.А., Виноградов Н.А.* Роль окиси азота в кардиологии и гастроэнтерологии // Клин. мед. 1997. Т.75. №4. С. 18-21.
16. *Заббарова И.В.* Активные формы кислорода и азота в митохондриях сердца и модельных системах: Дис. ... канд. физ.-мат. наук. Москва. 2004. 114 с.
17. *Зенков Н.К., Меньшикова Е.Б., Реутов В.П.* NO-синтазы в норме и при патологии различного генеза // Вестн. РАМН. 2000. №4. С.30-34.
18. *Зефирова А.Л., Халиуллина Р.Р., Анучин А.А., Яковлев А.В.* Влияние эндогенного оксида азота на функцию нервно-мышечного синапса // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2001. Т.87. №4. С. 499-506.
19. *Ивашкин В.Т., Горбатенкова С.В., Драпкина О.М.* Особенности синтеза оксида азота у больных с хронической сердечной недостаточностью // Клин. мед. 2004. Т.82. №2. С. 20-23.
20. *Исмаилова А.И., Муранова Л.Н., Рахматуллина Ф.Ф.* Определение оксида азота в сердце и печени крыс методом ЭПР-спектроскопии при инфаркте миокарда // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2004. Т.90. №8. С.432.
21. *Казакевич В.Б., Сидоров А.В., Гурин В.Н.* Блокада синтеза монооксида азота

- та приводит к повышению частоты сердечных сокращений и локомоторной активности моллюска *Lymnea stagnalis* // Вести национ. АН Беларуси. Сер. мед.-биол. наук. 2001. №2. С. 34-36.
22. Карвацкий И.М., Лагодич Т.С., Шевчук В.Г. Влияние оксида азота на хроноинотропную зависимость миокарда при экспериментальной гиперфункции и гипертрофии сердца // Фізіол. журн. (Укр.). 2001. Т.47. №3. С. 3-10.
 23. Каштанов С.И., Звягинцева М.А., Кошарская И.Л. и др. Монооксид азота в механизмах устойчивости сердечно-сосудистых функций при эмоциональном стрессе // Вестн. РАМН. 2000. №4. С. 21-25.
 24. Козлов И.А., Попцов В.Н. Клиническое использование ингаляционной окиси азота // Анестезиология и реаниматология. 1997. №5. С. 80- 87.
 25. Коробов В.Н. Механизмы адаптации млекопитающих к гипоксии с участием дыхательных гемопротеинов: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Киев, 2003. 29 с.
 26. Коробов В.Н. Роль оксида азота в регуляции транспорта газов // Укр. біохім. журн. 2001. Т.73. №4. С. 13-18.
 27. Коробов В.Н. Биохимия оксида азота в норме и в патологиях, сопровождающихся гипоксическим состоянием организма // Укр. біохім. журн. 2002. Т.74. №4а. С. 101 - 102.
 28. Коробов В.Н., Коробова О.В. Влияние гипоксической гипоксии на динамику синтеза миоглобина в скелетных мышцах крыс // Вестн. Львов. ун-та. Сер. биол. 2001. №27. С. 36-40.
 29. Косицын Н.С., Реутов В.П., Свинов М.М. и др. Механизм морфо-функциональных изменений клеток тканей млекопитающих при гипоксии // Мол. биол. 1998. Т.32. №2. С. 369-370.
 30. Кошелев В.Б., Реутов В.П., Кузенков В.С., и др. Протекторный эффект умеренной экзогенной и гемической гипоксии на развитие стрессорных повреждений у крыс линии КМ // Второй Российский Конгресс по Патолофизиологии. М.: Ин-т патофизиологии, 2000. С. 122 - 123.
 31. Кукушкина О.И., Федоткина Л.К., Балашов В.П. и др. Влияние ингибитора NO-синтазы на развитие окклюзионных и реперфузионных аритмий у кошек // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1999. Т.127. №5. С. 509-511.
 32. Кургалюк Н.М. Оксид азота как фактор адаптационной защиты при гипоксии // Успехи физиол. наук. 2002. Т.33. №4. С. 65-79.
 33. Кургалюк Н.М., Серебровская Т.В., Носар В.И. и др. Интервальные гипоксические тренировки и L-аргинин как способы коррекции энергообеспечения миокарда в условиях острой гипоксии // Укр. биохим. журн. (Укр.). 2002. Т.74. №1. С. 82-87.
 34. Левитский Д.О., Левченко Т.С., Сакс В.А. и др. Функциональная взаимосвязь между Ca^{2+} -АТФазой и креатинфосфокиназой саркоплазматического ретикулума сердечной мышцы // Биохимия. 1977. Т. 42. №10. С. 1766-1773.
 35. Лишманов Ю.Б., Маслов Л.Н., Крылатов А.В. и др. Пептиды ноцицептин и DALDA увеличивают антиаритмическую устойчивость сердца: возможный механизм действия // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2003. Т.135. №1. С. 66-70.
 36. Лямина Н.П., Сенчихин В.Н., Сипягина А.Г. Оксид азота и артериальная гипертензия // Междунар. мед. журн. 2002. №1-2. С. 218-223.
 37. Мазур Н.А. Дисфункция эндотелия, монооксид азота и ишемическая болезнь сердца // Тер. архив. 2003. №4. С.84-86.
 38. Марков Х.М. Окись азота и окись углерода – новый класс сигнальных молекул // Успехи физиол. наук. 1996. Т.27. №4. С. 30-43.

39. Марков Х.М. О биорегуляторной системе L-аргинин-окись азота // Пат. физиологии и эксперим. терапия. 1996. №1. С. 34-39.
40. Марков Х.М. Оксид азота и сердечно-сосудистая система // Успехи физиол. наук. 2001. Т.32. №3. С. 49-65.
41. Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К., Реутов В.П. Оксид азота и NO-синтазы в организме млекопитающих при различных функциональных состояниях // Биохимия. 2000. Т. 65. №4. С. 485-503.
42. Мойбенко А.А., Павлюченко В.Б., Даченко В.В. Влияние ингибирования NO-синтаз на кардиогенные депрессорные рефлексы у животных разных видов // Нейрофизиология. 2003. Т.35. №5. С. 418-424.
43. Мойбенко А.А., Павлюченко В.Б., Даченко В.В. и др. Исследование роли эндотелийзависимых факторов в реализации кардиогенных рефлексов при нормальных и патологических условиях // Физиол. журн. 2000. Т.46. №2. С. 19-32.
44. Мойбенко А.А., Павлюченко В.Б., Даченко В.В., Майский В.А. Роль оксида азота в механизмах формирования рефлекторных вазомоторных реакций // Успехи физиол. наук. 2005. №4. С. 3-14.
45. Нигматуллина Р.Р., Насырова А.Г., Рахматуллина Ф.Ф. Доноры оксида азота дозо-зависимо урежают частоту сердечных сокращений на фоне снижения артериального давления крови крыс / Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2002. Т.134. №7. С. 40-43.
46. Ольбинская Л.И., Лазебник Л.Б. Донаторы оксида азота в кардиологии. М.: "Русский дом", 1998. 172 с.
47. Охотин В.Е., Калиниченко С.Г. Локализация NO-синтазы в клетках Люгаро и механизмы NO-ергического взаимодействия между тормозными интернейронами коры мозжечка кролика // Морфология. 1999. Т.115. №3. С. 52-61.
48. Охотин В.Е., Калиниченко С.Г., Дудина Ю.В. NO-ергическая трансмиссия и NO как объемный нейротрансмиттер. Влияние NO на механизмы синаптической пластичности и эпилептогенез // Успехи физиол. наук. 2002. Т. 33. №2. С. 41-55.
49. Охотин В.Е., Шуклин А.В. Значение нейрональной, эндотелиальной и индуцибельной изоформ NO-синтаз в гистофизиологии сердечной мышцы / Морфология. 2006. Т.129. №1. С. 7-17.
50. Попцов В.Н. Ингаляционная окись азота при операциях с искусственным кровообращением и трансплантациях сердца: Дис. ... канд. мед. наук. М.: НИИ трансплантологии и искусственных органов МЗ РФ, 1999. 142 с.
51. Проскуряков С.Я., Конопляников А.Г., Иванников А.И., Скворцов В.Г. Биология окиси азота // Успехи соврем. биологии. 1999. Т.119. №4. С. 380-395.
52. Рахматуллина Ф.Ф. Влияние оксида азота веществ, участвующих в его метаболизме на показатели сердечно-сосудистой системы крыс при экспериментальном инфаркте миокарда: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Казань: Каз. мед. 2005. 21 с.
53. Рахматуллина Ф.Ф., Насырова А.Г., Зефирова А.Л. Течение экспериментального инфаркта миокарда: усиление синтеза оксида азота // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2005. Т.139. №4. С.40-43.
54. Рахматуллина Ф.Ф., Челышев Ю.А., Зефирова А.Л. Морфофункциональные сдвиги в ишемизированном миокарде крыс на фоне изменения содержания оксида азота // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2004. Т.90. №8. С.449.
55. Реброва Т.Ю., Маслов Л.Н., Лишманов А.Ю., Там С.В. Стимуляция m- и d-опиатных рецепторов и устойчивость изолированного сердца к окислительному стрессу: роль NO-синтазы // Биохимия. 2001. Т.66. №4. С.520-528.
56. Реутов В.П. Цикл окиси азота в орга-

- низме млекопитающих // Успехи биол. химии. 1995. Т.35. С.189-228.
57. *Реутов В.П.* Биохимическое предопределение NO-синтазной и нитритредуктазной компонент цикла оксида азота // Биохимия. 1999. Т.64. №5. С. 634-651.
 58. *Реутов В.П.* Медико-биологические аспекты циклов оксида азота и супероксидного анион-радикала // Вестн. РАМН. 2000. №4. С.35-41.
 59. *Реутов В.П.* Цикл оксида азота в организме млекопитающих и принцип цикличности // Биохимия. 2002. Т.67. №3. С. 353-376.
 60. *Реутов В.П., Ажипа Я.И., Каюшин Л.П.* Кислород как ингибитор нитритредуктазной активности гемоглобина // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1983. №3. С.408-418.
 61. *Реутов В.П., Ажипа Я.И., Каюшин Л.П.* Исследование парамагнитных центров, возникающих при взаимодействии двуокиси азота с олеиновой кислотой и тирозином // ДАН СССР. 1978. Т.241. №6. С. 1375-1377.
 62. *Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Охотин В.Е., Косицын Н.С.* Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих. М.: Наука, 1997. 156 с.
 63. *Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Косицын Н.С., Охотин В.Е.* Проблема оксида азота в биологии и медицине и принцип цикличности: ретроспективный анализ идей принципов и концепций. М.: Едиториал УРСС, 2003. 96 с.
 64. *Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Косицын Н.С. и др.* Что можно назвать самым главным в проблеме оксида азота на данном этапе развития биологии и медицины? // В кн.: Пурины и монооксид азота. Регуляторная функция в организме. Минск: Технопринт. 2003. С.102-105.
 65. *Розенштраух Л.В., Сакс В.А., Юриавичус И.А. и др.* Влияние креатинфосфата на медленные входящие кальциевые токи, потенциалы действия и силу сокращений предсердий и желудочков лягушки // Биохим. медицины. 1979. Т. 21. №1. С. 1-15.
 66. *Сагач В.Ф.* Роль оксида азота в регуляции кровообращения // В кн.: Пурины и монооксид азота. Регуляторная функция в организме. Минск: Технопринт, 2003. С. 110-113.
 67. *Сагач В.Ф., Андрухов О.Я.* Влияние оксида азота на уменьшение активности препаратов гладких мышц воротной вены крысы // Физиол. журн. 2000. Т.46. №1. С.3-9.
 68. *Сагач В.Ф., Базилюк О.В., Коцюрuba А.В.* Дисфункция эндотелия как следствие изменения его ферментативной активности при артериальной гипертензии // Роль монооксида азота в процессах жизнедеятельности. Минск: Полибиг. 1998. С.144-146.
 69. *Сагач В.Ф., Базилюк О.В., Олешко М.М. и др.* Система оксида азота в условиях хронического дефицита мезостриатного дофамина: действие нитроглицерина // Физиол. журн. 2000. Т. 46. №2. С.55-63.
 70. *Сазонова Е.Н., Пикалова В.М., Тимошин С.С.* Влияние ингибитора NO-синтазы L-NAME на синтез ДНК в миокарде белых крыс в раннем постнатальном периоде // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2002. Т.133. №1. С.27-29.
 71. *Самосудова Н.В., Реутов В.П., Ларионова Н.П.* Оксид азота как модулятор контрастности основных элементов цитоскелета // Цитология. 2000. Т.42. №1. С.72-78.
 72. *Самосудова Н.В., Реутов В.П., Ларионова Н.П., Чайлахян Л.М.* Возможное участие оксида азота в межнейронном взаимодействии // ДАН. 2001. Т.378. №3. С.417-420.
 73. *Серая И.П., Нарциссов Я.Р.* Современные представления о биологической роли оксида азота // Успехи соврем. биологии. 2002. Т.122. №3. С.249-258.

74. *Созыкин А.В., Ноева Е.А., Балахонова Т.В. и др.* Влияние L-аргинина на агрегацию тромбоцитов, функцию эндотелия и толерантность к физической нагрузке у пациентов со стабильной стенокардией напряжения // Тер. архив. 2000. №8. С.24-27.
75. *Соловьев А.И., Стефанов А.В.* Фармакология и токсикология оксида азота: два лица одной и той же молекулы // Современ. проблемы токсикологии. 1998. №1. С.35- 38.
76. *Солодков А.П., Беляева Л.Е., Шебеко В.И.* Ауторегуляция коронарных сосудов после острой кровопотери и ее сочетания с предварительно перенесенным стрессом // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2001. Т.87. №9. С.1250-1259.
77. *Сорокина Е.Г., Реутов В.П., Пинелис В.Г., Коршунова Т.С.* Взаимосвязь между содержанием окиси азота, циклического гуанозинмонофосфата и эндотелина в крови при нитритной гипоксии // Успехи физиол. наук. 1994. Т.25. №4. С.70-71.
78. *Сосунов А.А.* Оксид азота как межклеточный посредник // Соросов. образов. журн. 2000. Т.6. №12. С. 27-34.
79. *Стародуб Н.Ф., Коробов В.Н., Назаренко В.И.* Миоглобин: структура, свойства, синтез биологическая роль. Киев: Наук. Думка, 1992. 284 с.
80. *Степура И.И., Чайковская Н.А., Солодунов А.А., Артсукевич А.Н.* Генерация оксида азота при окислении ферроформы гемоглобина нитритом // Биохимия. 1997. Т.62. №9. С. 1122-1129.
81. *Стефанов А.В.* Оксид азота в современной фармакологии – от нитроглицерина до виагры // Лікування та діагностика. 1999. №2-3. С.8-11.
82. *Стокле Ж.-К., Мюлле Б., Андрианциотхайна Г., Клецев А.* Гиперпродукция оксида азота в патофизиологии кровеносных сосудов // Биохимия. 1998. Т. 63. №7. С. 976 - 983.
83. *Тищенко О.В., Елисеева Е.В., Мотавкин П.А.* Значение оксида азота в развитии гипертрофии сердца в условиях экспериментальной почечной гипертензии // Цитология. 2002. Т. 44. №3. С. 263-269.
84. *Ткаченко Б.И., Евлахов В.И., Поясов И.З.* О роли изменений соотношения встречных потоков в полых венах в определении характера сдвигов правопредсердного давления при применении нитроглицерина // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2003. Т.136. №9. С.244-247.
85. *Ткаченко М.Н.* Оксид азота и сосудистая регуляция // Клин. мед. 1997. Т.75. №2. С.241-254.
86. *Ткаченко М.Н., Яроцкий В.В., Марченко С.М., Сагач В.Ф.* Влияние ацетилхолина и аденозинтрифосфата на мембранный потенциал интактного эндотелия аорты крыс в условиях старения // Физиол. журн. 2002. Т.48. №3. С.3-8.
87. *Щебеко В.И.* Эндотелий и система комплемента. Витебск. Изд-во ВГМУ. 1999. 149 с.
88. *Халиуллина Р.Р.* Влияние оксида азота на функцию нервно-мышечного синапса: Дис. ... канд. биол. наук. Казань: Каз. гос. мед. ун-т. 2000. 101 с.
89. *Чазов Е.И.* Вклад нарушений регуляторных механизмов в развитие сердечно-сосудистых патологий // Тер. архив. 1999. Т. 71. №9. с. 8-12.
90. *Чазов Е.И., Смирнов В.Н., Сакс В.А. и др.* Энергетический метаболизм и ионные токи через мембраны сердца // Adv. миокардиол., 1980. Т. 1. С. 139-153.
91. *Чекман И.С., Горчакова Н.О., Козак И.И.* Оксид азота в механизме действия сердечно-сосудистых препаратов // Лечебное дело. 1995. №5-6. С.36-39.
92. *Яковлев А.В., Ситдикова Г.Ф., Зефиоров А.Л.* Роль циклических нуклеотидов в реализации эффектов NO на секрецию медиаторов и электрогенез

- двигательного нервного окончания // ДАН. 2002. Т.302. №2. С. 273-276.
93. *Arstall M.A., Sawyer D.B., Fukazawa R. and Kelly R.A.* Cytokine-mediated apoptosis in cardiac myocytes: the role of inducible nitric oxide synthase induction and peroxynitrite generation // *Circ. Res.* 1999. V. 85. №9. P. 829-840.
 94. *Ashley E.A., Sears C.E., Bryant S.M. et al.* Cardiac nitric oxide synthase 1 regulates basal and beta-adrenergic contractility in murine ventricular myocytes // *Circ.* 2002. V. 105. №25. P. 3011-3016.
 95. *Balligand J.L., Kelly R.A., Marsden P.A. et al.* Control of cardiac muscle cell function by an endogenous nitric oxide signaling system // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1993. V. 90. №1. P. 347-351.
 96. *Balligand J.L., Kobzik L., Han X. et al.* Nitric oxide-dependent parasympathetic signaling is due to activation of constitutive endothelial (type III) nitric oxide synthase in cardiac myocytes // *J. Biol. Chem.* 1995. V.270. №24. P.14582-14586.
 97. *Balligand J.L., Ungureanu D., Kelly R.A. et al.* Abnormal contractile function due to induction of nitric oxide synthesis in rat cardiac myocytes follows exposure to activated macrophage-conditioned medium // *J. Clin. Invest.* 1993. V. 91. №5. P. 2314-2319.
 98. *Balligand J.L., Ungureanu-Longrois D., Simmons W.W. et al.* Induction of NO synthase in rat cardiac microvascular endothelial cells by IL-1 beta and IFN-gamma // *Am. J. Physiol.* 1995. V.268. №3. Pt. 2. H1293-H1303.
 99. *Balligand J.L., Ungureanu-Longrois D., Simmons W.W. et al.* Cytokine-inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression in cardiac myocytes. Characterization and regulation of iNOS expression and detection of iNOS activity in single cardiac myocytes in vitro // *J. Biol. Chem.* 1994. V. 269. №44. P. 27580-27588.
 100. *Barouch L.A., Harrison R.W., Skaf M.W. et al.* Nitric oxide regulates the heart by spatial confinement of nitric oxide synthase isoforms // *Nature.* 2002. V. 416. № 6878. P. 337-339.
 101. *Bassani, J.W., Bassani, R.A. and Bers D.M.* Relaxation in rabbit and rat cardiac cells: speciesdependent differences in cellular mechanisms // *J. Physiol.* 1994. V. 476. P. 279-293.
 102. *Bates T.E., Loesch A., Burnstock G. and Clark J.B.* Mitochondrial nitric oxide synthase: A ubiquitous regulator of oxidative phosphorylation? // *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 1996. V.218. P. 40-44.
 103. *Belevych A.E. and Harvey R.D.* Muscarinic inhibitory and stimulatory regulation of the L-type Ca²⁺ current is not altered in cardiac ventricular myocytes from mice lacking endothelial nitric oxide synthase // *J. Physiol.* 2000. V. 528. Pt. 2. P. 279-289.
 104. *Bers D.M.* Excitation-contraction coupling and cardiac contractile force. Dordrecht (The Netherlands), Kluwer Academic Publishers. 2001. 427 p.
 105. *Bers D.M.* Cardiac excitation-contraction coupling // *Nature.* 2002. V. 415. P.198-205.
 106. *Bredt D.S. and Snyder S.H.* Nitric oxide: a physiologic messenger molecule // *Annu. Rev. Biochem.* 1994. V. 63. P. 175-195.
 107. *Cannon R.O.* Role of nitric oxide in cardiovascular disease: focus on the endothelium // *Clin. Chem.* 1998. V.44. №8. Pt. 2. P. 1809-1819.
 108. *Champion H.C., Georgakopoulos D., Takimoto E. et al.* Modulation of in vivo cardiac function by myocyte-specific nitric oxide synthase-3 // *Circ. Res.* 2004. V. 94. №5. P.657-663.
 109. *Champion H.C., Skaf M.W. and Hare J.M.* Role of nitric oxide in the pathophysiology of heart failure // *Heart Fail. Rev.* 2003. V.8. №1. P. 35-46.
 110. *Crane B.R., Arvai A.S., Ghosh D.K., Wu C. et al.* Structure of nitric oxide synthase oxygenase dimer with pterin and

- substrate // *Science*. 1998. V. 279. P. 2121-2126
111. *Cohen R.A.* The role of nitric oxide and other endothelium-derived vasoactive substances in vascular disease // *Prog. Cardiovasc. Dis.* 1995. V.8. P.105–128.
112. *Cosby K., Partovi K.S., Crawford J.H.* Nitrite reduction to nitric oxide by deoxyhemoglobin vasodilates the human circulation // *Nature medicine*. 2003. V.9. №12. P. 1498-1505.
113. *Damy T., Ratajczak P., Shah A.M. et al.* Increased neuronal nitric oxide synthase-derived NO production in the failing human heart // *Lancet*. 2004. V. 363. P.1365-1367.
114. *Danson E.J., Paterson D.J.* Cardiac neurobiology of nitric oxide synthases // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2005. V. 1047. P.183-196.
115. *Drab M., Verkade P., Elger M., et. al.* Loss of caveolae, vascular dysfunction, and pulmonary defects in caveolin-1 gene-disrupted mice // *Science*. 2001. V. 293. P. 2449-2452
116. *Fabiato A.* Calcium-induced release of calcium from the cardiac sarcoplasmic reticulum // *Am. J. Physiol.* 1983. V. 245. P. 1–14.
117. *Feron O.* Endothelial nitric oxide synthase expression and its functionality // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 1999. V. 2. №4. P.291-296.
118. *Feron O.* Intracellular localization and activation of endothelial nitric oxide synthase // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 1999. V. 8. №1. P. 55-59.
119. *Feron O., Belhassen L., Kobzik L. et. al.* Endothelial nitric oxide synthase targeting to caveolae. Specific interactions with caveolin isoforms in cardiac myocytes and endothelial cells // *J. Biol. Chem.* 1996. V. 271. №37. P.22810-22814.
120. *Feron O., Dessy C., Desager J.P. and Balligand J.L.* Hydroxy-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibition promotes endothelial nitric oxide synthase activation through a decrease in caveolin abundance // *Circ.* 2001. V. 103. P. 113-118
121. *Feron O., Michel J.B., Sase K. and Michel T.* Dynamic regulation of endothelial nitric oxide synthase: complementary roles of dual acylation and caveolin interactions // *Biochem.* 1998. V. 37. P. 193-200
122. *Fill M.* Ryanodine receptor adaptation / // *J. Gen. Physiol.* 2000. V.116. P. 873–882.
123. *Forstermann U., Boissel J.P. and Kleinert H.* Expressional control of the 'constitutive' isoforms of nitric oxide synthase (NOS I and NOS III) // *FASEB J.* 1998. V. 12. P. 773-790.
124. *Forstermann U., Schmidt H.H., Pollock J.S. et. al.* Isoforms of nitric oxide synthase. Characterization and purification from different cell types // *Biochem. Pharmacol.* 1991. V. 42. №10. P. 1849-1857.
125. *Fukuchi M., Hussain S.N.A. and Giaid A.* Heterogeneous Expression and Activity of Endothelial and Inducible Nitric Oxide Synthases in End-Stage Human Heart Failure. Their Relation to Lesion Site and α -Adrenergic Receptor Therapy // *Circ.* 1998. V. 98. P.132-139.
126. *Gallo M.P., Ghigo D., Bosia A. et. al.* Modulation of guinea-pig cardiac L-type calcium current by nitric oxide synthase inhibitors // *J. Physiol.* 1998. V. 506. Pt.3. P. 639-651.
127. *Gallo M.P., Malan D., Bedendi I. et. al.* Regulation of cardiac calcium current by NO and cGMP-modulating agents // *Pflugers Arch.* 2001. V. 441. №5. P. 621-628.
128. *Garthwaite J.* Glutamate, nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system // *Trends Neurosci.* 1991. V. 14. №2. P. 60-67.
129. *Godecke A., Molojavyi A., Heger J. et. al.* Myoglobin protects the heart from inducible nitric-oxide synthase (iNOS)-mediated nitrosative stress // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. P. 21761-21766.
130. *Godecke A. and Schrader J.* The Janus faces of NO? // *Circ. Res.* 2004. V. 94.

- №6. P. e55-e57.
131. *Han X., Kobzik L., Severson D. and Shimoni Y.* Characteristics of nitric oxide-mediated cholinergic modulation of calcium current in rabbit sino-atrial node // *J. Physiol.* 1998. V. 509. P. 741-754.
 132. *Han X., Kubota I., Feron O. et. al.* Muscarinic cholinergic regulation of cardiac myocyte I_{Ca-L} is absent in mice with targeted disruption of endothelial nitric oxide synthase // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998. V. 95. P. 6510-6515.
 133. *Han X., Shimoni Y. and Giles W.R.* An obligatory role for nitric oxide in autonomic control of mammalian heart rate // *J. Physiol.* 1994. V. 476. P.309-314.
 134. *Han X., Shimoni Y., Giles W.R.* A cellular mechanism for nitric oxide-mediated cholinergic control of mammalian heart rate // *J. Gen. Physiol.* 1995. V. 106. №1. P. 45-65.
 135. *Hare J.M., Kim B., Flavahan N.A. et al.* Pertussis toxin-sensitive G proteins influence nitric oxide synthase III activity and protein levels in rat heart // *J. Clin. Invest.* 1998. V.101. №6. P.1424-1431.
 136. *Hare J.M.* Nitric oxide and excitation-contraction coupling // *J. Mol. Cell Cardiol.* 2003. V. 35. №7. P.719-729.
 137. *Hare J.M., Stamler J.S.* NOS: modulator, not mediator of cardiac performance // *Nat. Med.* 1999. V. 5. №3. P. 273-274.
 138. *Hare J.M.* Oxidative stress and apoptosis in heart failure progression // *Circ. Res.* 2001. V.89. №3. P.198-200.
 139. *Hare J.M.* Spatial confinement of isoforms of cardiac nitric-oxide synthase: unravelling the complexities of nitric oxide's cardiobiology // *Lancet.* 2004. V.363. №9418. P.1338-1339.
 140. *Hare J.M., Lofthouse R.A., Juang G.J. et. al.* Contribution of caveolin protein abundance to augmented nitric oxide signaling in conscious dogs with pacing-induced heart failure // *Circ. Res.* 2000, v. 86, №10, p.1085-1092.
 141. *Heger J., Godecke A., Flogel U. et. al.* Cardiac-specific overexpression of inducible nitric oxide synthase does not result in severe cardiac dysfunction // *Circ. Res.* 2002. P.90. P. 93-99.
 142. *Herring N., Danson E.J., Paterson D.J.* Cholinergic control of heart rate by nitric oxide is site specific // *News Physiol. Sci.* 2002. V. 17. P.202-206.
 143. *Herring N., Rigg L., Terrar D.A., Paterson D.J.* NO-cGMP pathway increases the hyperpolarisation-activated current, $I_{(H)}$, and heart rate during adrenergic stimulation // *Cardiovasc. Res.* 2001. V. 52. P. 446-453.
 144. *Ignarro L.J., Byrns R.E., Buga G.M., Wood K.S.* Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein posses pharmacological and chemical properties identical to those of nitric oxide radical // *Circ. Res.* 1987. V.61. P. 866-879.
 145. *Kanai A., Epperly M., Pearce L. et. al.* Differing roles of mitochondrial nitric oxide synthase in cardiomyocytes and urothelial cells // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2004. V. 286. №1. P. H13-H21.
 146. *Kanai A.J., Pearce L.L., Clemens P.R. et. al.* Identification of a neuronal nitric oxide synthase in isolated cardiac mitochondria using electrochemical detection // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2001. V. 98. №24. P.14126-14131.
 147. *Kanai A., Peterson J.* Function and regulation of mitochondrially produced nitric oxide in cardiomyocytes // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2004. V. 286. №1. P. H11-H12.
 148. *Kaye D.M., Wiviott S.D., Balligand J.L. et. al.* Frequency-dependent activation of a constitutive nitric oxide synthase and regulation of contractile function in adult rat ventricular myocytes // *Circ. Res.* 1996. V. 78. №2. P. 217-224.
 149. *Kelly R.A., Smith T.W.* Cytokines and cardiac contractile function // *Circulation.* 1997. V.95. №4. P. 778-781.
 150. *Levin K.R., Page E.* Quantitative studies on plasmalemmal folds and caveolae of

- rabbit ventricular myocardial cells // *Circ. Res.* 1980. V. 46. P. 244-255
151. *Lopez B.L., Liu G.L., Christopher T.A., Ma X.* Peroxynitrite, the product of nitric oxide and superoxide, causes myocardial injury in the isolated perfused rat heart // *Coronary Artery Disease.* 1997. V. 8. P.149-153.
152. *Mahler R.* The two faces of Janus // *J. R. Coll. Physicians Lond.* 1993. V. 27. №4. P. 353-356.
153. *Marletta M.A.* Nitric oxide: biosynthesis and biological significance // *Trends Biochem. Sci.,* 1989. V.12. P. 488-492.
154. *Marletta M.A.* Nitric oxide synthase structure and mechanism // *J. Biol. Chem.* 1993. V. 268. P. 12231-12234
155. *Massion P.B., Balligand J.L.* Modulation of cardiac contraction, relaxation and rate by the endothelial nitric oxide synthase (eNOS): lessons from genetically modified mice // *J. Physiol.* 2003. V. 546. Pt. 1. P. 63-75.
156. *Massion P.B., Feron O., Dessy C. and Balligand J.L.* Nitric oxide and cardiac function: ten years after, and continuing // *Circ. Res.* 2003. V. 93. P. 388-398.
157. *Mery P.F., Hove-Madsen L., Chesnais J.M. et. al.* Nitric oxide synthase does not participate in negative inotropic effect of acetylcholine in frog heart // *Am. J. Physiol.* 1996. V. 270. №4. Pt. 2. P.H1178-H1188.
158. *Michel J.B., Feron O., Sase K. et. al.* Caveolin versus calmodulin. Counterbalancing allosteric modulators of endothelial nitric oxide synthase // *J. Biol. Chem.* 1997. V. 272. P. 25907-25912.
159. *Millar J.* The nitric oxide/ascorbate cycle: how neurons may control their own oxygen supply // *Medical Hypotheses.* 1995. V.45. P.21-26.
160. *Moncada S., Erusalimsky J.D.* Does nitric oxide modulate mitochondrial energy generation and apoptosis? // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2002. V.3. P.214-220.
161. *Mungrue I.N., Stewart D.J., Husain M.* The Janus faces of iNOS // *Circ. Res.* 2003. V.93. №7. P.74-76.
162. *Musialek P., Lei M., Brown H.F. et. al.* Nitric oxide can increase heart rate by stimulating the hyperpolarization-activated inward current, I(f). // *Circ. Res.* 1997. V.81. P. 60-68.
163. *Palmer R.M., Ferrige A.G., Moncada S.* Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor // *Nature.* 1987. V.327. P.524-526.
164. *Paton J.F., Kasparov S., Paterson D.J.* Nitric oxide and autonomic control of heart rate: a question of specificity // *Trends Neurosci.* 2002. V.25. №12. P. 626-631.
165. *Petroff M.G., Kim S.H., Pepe S. et. al.* Endogenous nitric oxide mechanisms mediate the stretch dependence of Ca²⁺ release in cardiomyocytes // *Nat. Cell Biol.* 2001. V. 3. P. 867-873.
166. *Piech A., Massart P.E., Dessy C. et. al.* Decreased expression of myocardial eNOS and caveolin in dogs with hypertrophic cardiomyopathy // *Am. J. Physiol.* 2002. V. 282. P.219-231.
167. *Pou S., Pou W.S., Bredt D.S. et. al.* Generation of superoxide by purified brain nitric oxide synthase // *J. Biol. Chem.* 1992. V. 267. P. 24173-24176.
168. *Razani B., Engelman J.A., Wang X.B. et. al.* Caveolin-1 null mice are viable but show evidence of hyperproliferative and vascular abnormalities // *J. Biol. Chem.* 2001. V.276. P. 38121-38138
169. *Saito T., Hu F., Tayara L., Fahas L. et. al.* Inhibition of NOS II prevents cardiac dysfunction in myocardial infarction and congestive heart failure // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2002. V.283. №1. P.H339-H345.
170. *Sears C.E., Bryant S.M., Ashley E.A. et al.* Cardiac neuronal nitric oxide synthase isoform regulates myocardial contraction and calcium handling // *Circ. Res.* 2003. V. 92. № 5. P. 52-59.
171. *Schulz R., Nava E., Moncada S.*

- Induction and potential biological relevance of a Ca²⁺-independent nitric oxide synthase in the myocardium // *Br. J. Pharmacol.* 1992. V.105. P. 575-580.
172. *Sears C.E., Bryant S.M., Ashley E.A. et al.* Cardiac neuronal nitric oxide synthase isoform regulates myocardial contraction and calcium handling // *Circ. Res.* 2003. V. 92. №5. P. e52-e59.
173. *Sears C.E., Choate J.K., Paterson D.J.* Inhibition of nitric oxide synthase slows heart rate recovery from cholinergic activation // *J. Appl. Physiol.* 1998. V. 84. P. 1596-1603.
174. *Sitsapesan R., Williams A.J.* Do inactivation mechanisms rather than adaptation hold the key to understanding ryanodine receptor channel gating? // *J. Gen. Physiol.* 2000. V.116. P. 867-872.
175. *Snyder S.H.* Janus faces of nitric oxide // *Nature.* 1993. V.364. №6438. P. 577-580.
176. *Snyder S.H., Bredt D.S.* Nitric oxide as a neuronal messenger // *Trends Pharmacol. Sci.* 1991. V. 12. №4. P.125-128.
177. *Szabo C., Ferrer-Sueta G., Zingarelli B. et al.* Mercaptoethylguanidine and guanidine inhibitors of nitric-oxide synthase react with peroxynitrite and protect against peroxynitrite-induced oxidative damage // *J. Biol. Chem.* 1997. V.272. P.9030-9036.
178. *Szasz T., Thakali K., Fink G. D., Watts S.W.* A comparison of arteries and veins in oxidative stress: producer, destroyers, function, and disease // *Experimental Biology and Medicine.* 2007. V. 232. P.27-37.
179. *Tomoda A., Murakami E., Shibuya T.* Changes in nitric oxide generated by the oxidation of oxymyoglobin by nitrite // *Tohoku J. Exp. Med.* 1997. V.182. №1. P.61-67.
180. *Torre-Amione G., Kapadia S., Benedict C. et al.* Proinflammatory cytokine levels in patients with depressed left ventricular ejection fraction: A report from the studies of left ventricular dysfunction (SOLVD) // *J. Am. Coll. Cardiol.* 1996. V.27. P.1201- 1206.
181. *Ungureanu-Longrois D., Balligand J.L., Kelly R.A., Smith T.W.* Myocardial contractile dysfunction in the systemic inflammatory response syndrome: role of a cytokine-inducible nitric oxide synthase in cardiac myocytes // *J. Mol. Cell Cardiol.* 1995. V. 27. № 1. P. 155-167.
182. *Ungureanu-Longrois D., Balligand J.L., Okada I. et al.* Contractile responsiveness of ventricular myocytes to isoproterenol is regulated by induction of nitric oxide synthase activity in cardiac microvascular endothelial cells in heterotypic primary culture // *Circ. Res.* 1995. V.77. №3. P. 486-493.
183. *Ungureanu-Longrois D., Balligand J.L., Simmons W.W. et al.* Induction of nitric oxide synthase activity by cytokines in ventricular myocytes is necessary but not sufficient to decrease contractile responsiveness to beta-adrenergic agonists // *Circ. Res.* 1995. V. 77. № 3. P. 494-502.
184. *Vandecasteele G., Eschenhagen T., Fischmeister R.* Role of the NO-cGMP pathway in the muscarinic regulation of the L-type Ca²⁺ current in human atrial myocytes // *J. Physiol.* 1998. V. 506. Pt 3. P. 653-663.
185. *Vandecasteele G., Eschenhagen T., Scholz H. et al.* Muscarinic and beta-adrenergic regulation of heart rate, force of contraction and calcium current is preserved in mice lacking endothelial nitric oxide synthase // *Nat. Med.* 1999. V. 5. №3. P. 331-334.
186. *Vandecasteele G., Verde I., Rucker-Martin C. et al.* Cyclic GMP regulation of the L-type Ca²⁺ channel current in human atrial myocytes // *J. Physiol.* 2001. V. 533. Pt. 2. P. 329-340.
187. *Wingrow J.A., O'Farrell P.H.* Nitric oxide contributes to behavioral, cellular, and developmental responses to low oxygen in drosophila // *Cell.* 1999. V.98. P.105-114.

188. Xie Y-W, Kaminski P.M., Wolin M.S. Inhibition of rat cardiac muscle contraction and mitochondrial respiration by endogenous peroxynitrite formation during posthypoxic reoxygenation // *Circ. Res.* 1998. V.82. P.891-897.
189. Xu L., Eu J.P., Meissner G., Stamler J.S. Activation of the Cardiac Calcium Release Channel (Ryanodine Receptor) by Poly-S-Nitrosylation // *Science.* 1998. V. 279. № 5348. P. 234-237.
190. Xu K.Y., Huso D.L., Dawson T.M. et al. Nitric oxide synthase in cardiac sarcoplasmic reticulum // *Proc. Natl. Acad. Sci.U.S.A.* 1999. V. 96. № 2. P. 657-662.
191. Yano M., Ikeda Y., Matsuzaki M. Altered intracellular Ca²⁺ handling in heart failure // *J. Clin. Invest.* 2005. V.115. P.556-564.
192. Zakharov S.I., Pierinici S., Kumar G.K. et al. Nitric oxide synthase activity in guinea pig ventricular myocytes is not involved in muscarinic inhibition of cAMP-regulated ion channels // *Circ. Res.* 1996. V.78. P. 925-935.
193. Zou M.H., Shi C., Cohen R.A. Oxidation of the zinc-thiolate complex and uncoupling of endothelial nitric oxide synthase by peroxynitrite // *J. Clin. Investig.* 2002. V. 109. P. 817-826.
194. Zweier J.L., Samouilov A, and Kupposamy P. Non-enzymatic nitric oxide synthesis in biological systems. *Biochem. Biophys. Acta.* 1999. V.1411. P.250-262.

Резюме

РОЛЬ ОКСИДУ АЗОТУ В РЕГУЛЯЦІЇ РОБОТИ МІОКАРДУ ЦИКЛУ ОКСИДУ АЗОТУ І NO-СИНТАЗНІ СИСТЕМИ В МІОКАРДІ

Реутов В.П., Гоженко Е.А., Охотин В.Е., Котюжинская С.Г., Шуклин А.В., Сорокина Е.Г.

У роботі аналізуються дані літератури про цикл оксиду азоту (NO). Розглянуті молекулярні, біохімічні і фізіологічні

аспекти, пов'язані з внутріклітинною локалізацією NO-синтазних і нітритредуктазних систем, які беруть участь в механізмах регуляції вмісту NO в міокарді. Проаналізовані дані літератури про регуляцію NO-синтаз на рівні транскрипції і модуляції активності конститутивних і індукцибельних форм цього ферменту на рівні посттрансляції. Робота також включає основні дані літератури, що характеризують регуляторну роль NO в забезпеченні діяльності серцевого м'яза в нормі і при патології.

Summary

ROLE OF NITROGEN OXIDE IN MYOCARDIUM WORK ADJUSTING - CYCLE OF NITROGEN OXIDE AND NO-SYNTHETASE SYSTEMS IN MYOCARDIUM
Reutov V. P., Gozhenko A.I., Okhotin V.E., Kotuzhinskaya S.G., Shuklin A.V., Sorokina E.G.

In the work presented they have analyzed the literature data about nitrogen oxide (NO) cycle. Molecular, biochemical and physiological aspects related to intracellular localization of NO-synthetase and nitritreductase systems, participating in the mechanisms of NO content regulation in myocardium are considered. Literature data about NO-synthetase adjusting at the level of transcription and modulation of activity of constitutive and induced forms of this enzyme at post-transmission level are analyzed. Basic literature data characterizing NO regulator role in providing activity of cardiac muscle in a norm and at pathology are included in the present work as well.

Впервые поступила в редакцию 17.09.2007 г. Рекомендована к печати на заседании ученого совета НИИ медицины транспорта (протокол № 6 от 19.11.2007 г.).