

**О. О. Мойбенко, М. Я. Юзьків, А. В. Коцюруба,
О. М. Буханевич, Л. В. Тумановська**

Зміни системи оксиду азоту при гострій ішемії та реперфузії міокарда

В експериментах на наркотизированных собаках в условиях, максимально приближенных к физиологическим (сохранение целостности грудной полости, естественного дыхания) показано, что моделирование острой ишемии (1,5 ч) и реперфузии (3 ч) миокарда сопровождается реципрокными изменениями активности оксидазотсинтазы и аргиназы в ишемизированном миокарде. Активность NOS уменьшалась на 60 %, а активность аргиназы повышалась на 487 %. Содержание продуктов обеих альтернативных путей метаболизма L-аргинина также изменялись реципрокно (содержание NO_2^- понижился на 57 %, а мочевины, наоборот повышалось на 665 %). Аналогичные по направленности изменения пулов NO_2^- и мочевины имели место и в артериальной крови, начиная с 10-минутной ишемии миокарда. Обсуждаются важные механизмы направленности и последствия этих изменений.

Вступ

Незважаючи на численні дослідження, присвячені ролі оксиду азоту в патогенезі гострого інфаркту міокарда, досі не існує єдиної думки з цього приводу, більше того дані різних авторів надзвичайно суперечливі. З одного боку, деякі дослідники вважають, що оксид азоту відіграє кардіопротекторну роль [11, 24, 31] і гальмування його синтезу погіршує, а активація біосинтезу NO за допомогою надлишкового введення субстрату L-аргініну досить ефективно зменшує ішемічні та реперфузійні пошкодження міокарда [25] і зменшує кількість фібриляцій серця [24]. З іншого боку є дані, на користь уявлення про те, що інгібування утворення NO зменшує пошкодження серця при гострому інфаркті міокарда [21, 23]. Однією з причин існування цих протиріч є відсутність дотепер достовірних даних стосовно змін вмісту оксиду азоту в динаміці розвитку ішемії та реперфузії серця. Engelman [11] і Huk із співавт. [17] спостерігали суттєве зниження концентрації NO в ішемізованих тканинах, тоді як інші автори — значне збільшення його вмісту в зоні ішемії міокарда. Існують дані про фазні зміни вмісту NO [8] в міокарді під час ішемії — реперфузії серця. Слід також зауважити, що практично повністю відсутні комплексні дані про зміни активності ферментів, що входять до системи обміну L-аргініну. L-аргінін може метаболізуватися двома основними шляхами: при активації NO-синтаз (eNOS, nNOS, iNOS) з утворенням оксиду азоту і цитруліну та при активації аргінази з утворенням сечовини та орнітину. Важливо підкреслити, що за даними деяких авторів [9, 10, 12, 15] NOS та аргіназа можуть конкурувати за субстрат L-аргінін. Звідси з очевидністю виходить, що уявлення про характер

змін системи оксиду азоту можна отримати при комплексному вивченні активності двох ферментів.

Метою нашої роботи було дослідження змін активності ферментів, які беруть участь у метаболізмі L-аргініну — нітрооксидсинтази та аргінази, а також їх кінцевих продуктів NO і сечовини з одночасним вивченням вільнорадикальних процесів, активація котрих відбувається в тканинах серця за умов гострої ішемії-реперфузії.

Методика

У роботі використовували новий метод відтворення гострої ішемії та реперфузії міокарда за умов, максимально наближених до фізіологічних — на тваринах без розкриття грудної порожнини при спонтанному диханні. Досліди проведено на собаках масою від 15 до 24 кг, під хлоралозо-уретановим наркозом (0,07 і 0,7 г/кг, внутрішньовенно). Препарували стегнові артерії та вени, сонні артерії та яремні вени. Після введення гепарину (500 од/кг) катетеризували крізь стегову та сонну артерії аорту та лівий шлуночок серця, де реєстрували тиск крові. Хвилиний об'єм крові визначали методом термодилуції. Скоротливу функцію лівого шлуночка оцінювали за змінами першої похідної внутрішньошлуночкового тиску та індексу скоротливості міокарда — $(dp/dt_{\max})/p$, який реєстрували за допомогою розробленого нами спеціалізованого обчислювального приладу «Індекс» — поударно, «on line»; електрокардіограму реєстрували в I та III стандартних відведеннях.

Використовували також метод ретроградної катетеризації однієї з головних гілок лівої коронарної артерії (обгинаючої або низхідної), який дозволяє за допомогою керованого ембола оклюзувати одну з гілок коронарної артерії другого порядку і викликати локальну ішемію міокарда. Реперфузію досягали витягуванням ембола із оклюзованої гілки. Метод детально описаний раніше [1].

Протягом експерименту провадили забір артеріальної та венозної крові для визначення сумарної активності NOS, аргінази, мілопероксидази, вмісту сечовини, NO_2^- , дієнових конюгатів. Ці ж показники визначали також у гомогенатах серця ішемізованої (інфарктної), пограничної та інтактної (контрольної) зони. Активність NO-синтаз вивчали в гомогенатах серця колориметричним методом [7]. Інкубаційна суміш (1 мл) складалася (в ммоль/л) з HEPES — 50 (рН 7,4), NADPH — 1, EDTA — 1, CaCl_2 — 1,26, L-аргініну — 1. Реакцію запускали, додаючи 0,1 мл гомогенату, що містив 500 мкг загального білка, який попередньо визначали за Бредфордом у кольоровій реакції з барвником кумасі G-250. Інкубацію проводили при 37 °C протягом 30 хв. Реакцію зупиняли добавляючи 0,2 мл 2 моль/л HClO_4 . Суміш центрифугували при 10000 g впродовж 10 хв і в надосадковій рідині визначали вміст цитруліну, що утворився в процесі реакції L-аргінін \rightarrow NO + цитрулін.

Цитрулін визначали колориметричним методом [27]. Аліквоту (400 мкл) надосадкової інкубаційної суміші (в якій визначали активність NO-синтази) змішували з 2 мл реагенту (1 мл 59 ммоль/л диацетилмоноксим, 1 мл 32 ммоль/л антипірін і 55 мкмоль/л сульфат заліза в 6 моль/л $\text{N H}_2\text{SO}_4$),

кип'ятили протягом 15 хв на водяній бані і після охолодження визначали значення екстинції при 465 нм. Вміст цитруліну визначали за калібровочною кривою. Активність NO-синтази представляли в наномолях NO (еквімолярна кількість з цитруліном), що утворювався за 1 хв на 1 мг загального білка гомогенату серця. Вміст NO, що утворювався в різних зонах серця (ушкоджена, погранична та контрольна інтактна), і в суцільній крові собак у динаміці визначали за вмістом стабільного метаболіту нітрит аніону (NO_2^-) за допомогою реактиву Гріса в колориметричній реакції [14]. Активність аргінази визначали за кількістю сечовини — одного з продуктів реакції L-аргінін \rightarrow сечовина+орнітин, яку визначали колориметричним методом [3] за кольоровою реакцією з діацетилмонооксимом. Вміст дієнових кон'югатів (ДК) визначали спектрофотометрично за поглинанням світла при 232 нм гептановими екстрактами проб [2]. Площу інфаркту міокарда та площу «ризик» визначали планіметрично. Зону «ризик» виявляли забарвленням інтактних ділянок міокарда за допомогою введення 80–100 мл 1%-го розчину метиленового синього в аорту безпосередньо після вилучення серця із грудної порожнини при затягнутому турнікеті в місці оклюзії коронарної артерії. Виділяли лівий шлуночок і розрізали перпендикулярно його осі на блоки товщиною 0,5 см. Непошкоджений міокард забарвлювався у темносиній колір, а зона «ризик» залишалася незабарвленою. Після вимірювання площі зони «ризик» зразки фарбували нітросинім тетразолієм, який виявляє сумарну активність дегідрогеназ; некротичні ділянки залишались незабарвленими [4].

Результати та їх обговорення

У табл. 1 і 2 наведено зміни гемодинаміки та розміри уражень серця при гострій ішемії (1,5 год) та реперфузії (3 год). Слід зазначити, що ішемія міокарда призводить до істотного зниження хвилинного об'єму крові, реперфузія ще більш підкреслює цю зміну ($-48,2$; $P < 0,01$). Значно підвищується загальний периферичний опір ($+89,29$; $P < 0,01$) і збільшується частота серцевих скорочень. У той самий час істотних змін системного артеріального тиску та тиску в лівому шлуночку не відбувається (див. табл. 1). Таким чином, слід вважати, що перфузійний тиск у коронарних судинах і кровопостачання міокарда як в зоні ризику (внаслідок роботи перфузійного насоса з постійним об'ємом викиду), так і в інтактних ділянках серця підтримувалися на досить високому рівні, що вірогідно виключало можливість появи циркуляторної гіпоксії в цих зонах. Це тим більше вірогідно, якщо врахувати, що в інтактних зонах міокарда за умов наших дослідів знижувався опір коронарних судин [22]. Останнє повинно було призводити до підвищення коронарного кровотоку при вихідному рівні артеріального тиску. Розмір некротичної зони в наших дослідях становив $11,1\% \pm 1,5\%$ (у середньому з 14 дослідів) від об'єму лівого шлуночка.

У табл. 2 наведено зміни активності NOS та аргінази, а також вмісту NO_2^- і сечовини в інтактній, прилеглий та некротичній зонах. У зоні ішемії порівняно з інтактною зоною активність NOS була зменшена на 60% ($P < 0,05$), а вміст стабільного метаболіту NO — NO_2^- на 57% ($P < 0,05$), тобто більше як удвічі. Суттєве зменшення вмісту NO_2^- на 31% ($P < 0,05$)

Таблиця 1. Показники гемо- та кардіодинаміки при 90-й хвилині ішемії та наступній 180 хвилинній реперфузії (M ± m, n = 8)

Показник	Час від початку ішемії, хв			Час від початку реперфузії, хв			
	0	10	90	30	60	120	180
Середній артеріальний тиск (мм рт. ст.)	117,3±6,5	110,2±5,8	117,4±6,7	131,2±7,5	118,4±12,6	113,2±7,5	115,6±8,8
Тиск у лівому шлуночку (мм рт. ст.)	143,7±9,2	128,4±7,9	138,8±10,4	159,2±15,0	142,0±6,0	133,6±5,2	130,3±4,1
Частота серцевих скорочень (хв ⁻¹)	154,0±8,5	155,0±8,2	149,0±7,4	161±5,1	163±11,3	179,0±15,6	200,0±15,9
Хвилинний об'єм крові (мл/хв)	1,61±0,13	1,47±0,15	1,3±0,17	0,96±0,08*	1,07±0,08	1,31±0,14	1,07±0,14*
Загальний периферичний опір (Н · с · см ⁻²)	6261±519	6676±526	8077±899	10763±1191*	8927±588	8010,0±1402	8858,0±1473

* – P<0,05 відносно вихідних значень.

Таблиця 2. Зміни активності (нмоль/хв · мл) нітрооксидсинтази (NOS) та аргінази (Arg), співвідношення між ними (ум. од.) та рівнів продуктів їх діяльності (нмоль/мг білка) NO₂⁻, сечовини та їх співвідношення (ум. од.) у різних ділянках ішемізованого серця (M ± m, n = 10)

Показник	Зона		
	інфарктна	прилегла	інтактна
Активність NOS	0,297±0,034* (40)	0,508±0,042* (68)	0,744±0,061 (100)
Активність аргінази	23,93±2,25 (588)	10,52±1,13 (258)	4,07±0,34 (100)
Відношення Arg/NOS	80,6±7,5 (1465)	20,7±1,4 (376)	5,5±0,4 (100)
Вміст NO ₂ ⁻	0,108±0,01* (43)	0,175±0,02* (69)	0,255±0,02 (100)
Вміст сечовини	730,0±85,1* (765)	167,2±15,4* (175)	95,4±6,1 (100)
Відношення сечовина/NO ₂ ⁻	6759,2±343*(7759)	955,4±61,2* (255)	374,1±22,7 (100)

Примітка. Тут і в табл. 2,3,4 у дужках значення у відсотках *P<0,05 відносно інтактної зони.

Таблиця 3. Активація вільнорадикальних процесів в тканинах серця при ішемії-реперфузії міокарда (M ± m, n = 10)

Показник	Зона		
	інфарктна	прилегла	інтактна
Вміст ДК, нмоль/мг білка	0,239±0,013* (314,47)	0,150±0,019* (197,37)	0,076±0,009 (100)
Активність мієлопероксидази нмоль/мг білка	0,645±0,082* (308,61)	0,520±0,08* (248,8)	0,209±0,016 (100)

від вихідного рівня відзначалось і в прилеглий до інфарктної ділянки — зоні ризику. Зниження активності NOS у цій зоні становить 32 % ($P < 0,05$). Отже, слід вважати, що ішемія та реперфузія міокарда призводить до гальмування активності NOS і різкого зменшення вмісту NO в ураженому міокарді.

Одночасно активність аргінази та вміст сечовини в інфарктній ділянці серця різко підвищувалися на 488 та 665 % відповідно, порівняно з інтактною зоною міокарда (див. табл. 2). Співвідношення вмісту NO_2^- і сечовини становило в інтактній зоні 374 ум. од \pm 23 ум. од., а в інфарктній — 6759 ум. од. \pm 343 ум. од., тобто у 18 разів більше, а співвідношення активність аргінази/активність NOS в інтактній ділянці було $5,5 \pm 0,4$ та $80,6$ ум. од \pm $7,5$ ум. од в інфарктній зоні, тобто в 15 разів більше, що свідчить про зміщення системи аргіназа \leftarrow L-аргінін \rightarrow NOS у бік утворення сечовини та орнітину.

Дослідження активності системи L-аргінін \rightarrow NOS \rightarrow NO та L-аргінін \rightarrow аргіназа \rightarrow сечовина в крові, було проведено за експериментальних умов у динаміці розвитку інфаркту міокарда. Проби крові в дослідгах на тваринах забиралися в контролі (до ішемії) через 10 та 90 хв ішемії та в процесі реперфузії через 15 і 180 хв.

Як видно з табл. 3 активність NOS у крові в динаміці розвитку ішемії та реперфузії міокарда досить швидко знижувалась і вже на 10-й хвилині ішемії була всього 58 % від вихідної, а на 90-й хвилині ішемії зменшувалась у 5 разів. При подальшій реперфузії активність NOS дещо збільшувалась, але лишалась значно нижчою від вихідного рівня. Водночас аргіназа вельми інтенсивно активувалась (збільшення активності в 6,5 раза), а співвідношення активності аргінази та NOS збільшувалося в 27 разів.

Концентрація сечовини в крові збільшилася, але лише на 46 % (див. табл. 3) у кінці реперфузії, а вміст NO_2^- після різкого зниження на 10-й хвилині ішемії (на 43 %) підвищувався в динаміці ішемії-реперфузії і тільки на 3-тю годину реперфузії знову зменшився на 47 % ($P < 0,05$).

Співвідношення вмісту сечовина/ NO_2^- у крові досить інтенсивно підвищувалося, становлячи в кінці реперфузії 276 % від вихідного. Таким чином зміщення системи в бік активації аргінази й інгібування NOS, а також накопичення сечовини та зниження вмісту NO (NO_2^-) спостерігалось і в крові. Щодо вмісту NO_2^- та сечовини, то зміни їх у крові були значно меншими ніж у серці.

Таким чином, наведені результати свідчать, що ішемія викликає зміщення системи метаболізму L-аргінину в бік неокисного (аргіназного) шляху.

При цьому слід зауважити, що кількість субстрату L-аргінину, вірогідно могла бути достатньою, якщо врахувати, що вміст кінцевого продукту аргіназної реакції — сечовини досить сильно збільшується. Причин такої спрямованості змін активності ферментів системи оксиду азоту може бути декілька. По-перше, ішемія гальмує активність NOS та утворення NO в зв'язку з нестачею кисню, необхідного для реалізації окисного NO-синтазного шляху утворення NO, що повинно мати найбільше значення в період ішемії міокарда. При подальшій реперфузії дуже важливим для продукції NO був розвиток окисного стресу та продукування, зокрема, супероксидного

Таблиця 4. Зміни активності (нмоль/хв-мл) нітрооксидсингази (NOS) та аргінази (Arg), співвідношення між ними Arg/NOS (ум. од.), а також продуктів їх діяльності: NO₂⁻ (нмоль/мл), сечовини (мкмоль/мл) та їх співвідношення (ум. од.) у крові тварин у динаміці гострої ішемії-реперфузії міокарда (M ± m, n = 10)

Показник	До ішемії (контроль)	Час від початку ішемії, хв			Час від початку реперфузії, хв		
		10	90	15	90	180	
		NOS	0,302±0,024 (100)	0,174±0,018* (58)	0,057±0,009* (19)	0,060±0,011 (20)	0,068±0,010* (22)
Arg	50,1±6,2 (100)	52,7±9,7* (105)	60,3±10,1* (120)	130,0±20,4* (259)	179,4±26,5* (357)	324,9±18,9* (648)	
Arg/NOS	169,9±11,7 (100)	302,9±20,4* (178)	1057,9±134,7* (623)	2166,7±161,4* (1275)	2638,2±306,4* (1553)	4641,4±269,4* (2732)	
NO ₂ ⁻	8,39±0,90 (100)	4,79±0,86* (57)	7,0±1,26* (83)	6,69±1,16* (80)	4,42±0,92* (53)	—	
Сечовина	0,68±0,15 (100)	0,75±0,18* (110)	0,87±0,15* (128)	0,82±0,12* (120)	0,99±0,22* (146)	—	
NO ₂ ⁻ /сечовина	81,0±9,3 (100)	156,0±14,7* (193)	124,3±13,4* (153)	122,6±10,6* (151)	224,0±21,6* (276)	—	

радикала, який, як відомо, зв'язує NO з утворенням токсичної речовини – пероксинітриту (ONOO⁻), що призводить у кінцевому результаті до зменшення вмісту NO в тканинах серця [8]. Крім того відомо, що продукт аргіназної реакції – сечовина може пригнічувати активність iNOS і, таким чином, також спричиняти зменшення продукції оксиду азоту [27].

Аналіз біохімічних змін у міокарді при ішемії-реперфузії серця дозволив вважати, що процеси утворення вільних радикалів кисню є активованими: спостерігалась активація мієлопероксидази та збільшення кінцевих продуктів окисного стресу – ДК (табл. 4).

Таким чином, при гострій ішемії та реперфузії міокарда досить чітко простежена закономірність: зниження активності ферментів, відповідальних за синтез оксиду азоту, та навпаки активація ферментів, які продукують сечовину (в т.ч. аргінази). Це призводить до різкого зменшення вмісту оксиду азоту в ішемізованих ділянках серця та, відповідно, до збільшення концентрації сечовини в зоні ураження. Такі ж, але менш виражені зміни спостерігалися в крові протягом ішемії-реперфузії міокарда.

Слід зазначити, що протилежні зміни активності аргінази та NO-синтази можуть бути при деяких інших патологічних процесах. Дуже інтенсивне підвищення (в 54 рази) активності аргінази відмічено при трансплатаційній реперфузії печінки у свиней, тоді як вміст NO₂ зменшувався на 82 % [19].

Відомо, що розвиток артеріальної гіпертензії у людей і тварин супроводжується гальмуванням активності ендотеліальної ізоформи конститутивної оксидазосинтази та зменшенням вмісту оксиду азоту [18].

Водночас за даними різних авторів активність аргінази підвищується при ДОКА-солевій гіпертензії у щурів [28]. При цьому відмічено позитивну кореляцію між рівнем артеріального тиску та активністю аргінази. Аналогічні дані отримані Сагачем і співавт. [5] на щурах зі спонтанною

гіпертензією. Виходячи з цих даних, а також з наших результатів можна висунути гіпотезу про конкурентні відношення між ферментами, що продукують оксид азоту та сечовину — оксидазотсинтазами та аргіназами (яких теж існує декілька ізоформ) за один і той же субстрат — L-аргінін. У такому разі за допомогою модуляції активності аргінази можна було б змінювати продукцію оксиду азоту та використовувати цей підхід при лікуванні захворювань серцево-судинної системи. Давно відомо [26], що активність аргінази в сироватці крові хворих інтенсивно підвищується при гострому інфаркті міокарда.

Перевірка такої гіпотези проводилася переважно в останні роки в дослідках на макрофагах мишей. Більшість авторів [6, 15, 16, 30], використовуючи специфічне інгібування активності аргіназ або інтенсифікацію їх активності вважають за можливе відповідно підвищувати [6, 16, 30] або знижувати продукцію NO в макрофагах. Одночасно в той же час існують і протилежні дані Frigger і співавт. [12] в експериментах на тих самих макрофагах мишей прийшли до висновку, що активність аргінази та iNOS регулюється диференціально, тобто високий вміст аргінази в клітині не обмежує здатність макрофагів синтезувати оксид азоту. В інших дослідженнях [16] хоч і спостерігали можливість зміщення метаболізму L-аргінину на NO-синтазний шлях при гальмуванні активності аргінази, але підкреслюють, що це зміщення істотно залежало від рівня активності iNOS. Більше того, існують дані про односпрямовані зміни активності аргінази та NOS при деяких патологічних процесах. Все це спонукає до подальших досліджень взаємозв'язку активності ферментів метаболізму азоту, механізмів їх змін і можливості використання цих даних для корекції патологічних процесів у серцево-судинній системі.

**A.A. Moibenko, M.Ya. Yuzkiv, A.V. Kotsuruba, A.N. Bukhanevich,
L.V. Tumanovska**

CHANGES OF NITRIC OXIDE SYSTEM DURING ACUTE MYOCARDIAL ISCHAEMIA/REPERFUSION

The reciprocal changes of NOS and arginase activity during acute myocardial ischaemia (90 min) and reperfusion (180 min) was shown in experiments on chest-closed dogs with spontaneous breathing. NOS activity in the ischemical injured myocardium decreased on 60 % while arginase activity increased on 487 %. Levels of both alternative pathways of L-arginine metabolism altered reciprocally too. NO₂⁻-level was reduced on 57 %, and urea level increased on 665 %. The same changes were in arterial blood, started from 10 min of ischaemia. These changes can play an important role for development of acute ischaemia treatment.

*A.A. Bogomoletz Institute of Physiology
National Academy of Science of Ukraine, Kiev;*

Institute of biochemistry National Academy of Science of Ukraine, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Азаров В.І., Грабовський Л.О.* Нова модель ішемії-реперфузії міокарда у тварин зі збереженням природного дихання та кровообігу у грудній порожнині // *Фізіол. журн.* — 1996. — **42**, №3-4. — С. 78.
2. *Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Хмара Н.Ф.* Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по поглощению гептановых и изопропанольных экстрактов // *Лаб. дело.* — 1988. — №2. — С.60-64.
3. *Колб В.Г., Камышиникова В.С.* Определение мочевины в сыворотке крови и в моче по цветной реакции с диацетилмоноксидом. — В кн. *Клиническая биохимия.* — Минск, 1976. — С. 311.
4. *Колчин Ю.Н., Попович Л.Ф., Грабовский Л.А. и др.* Влияние блокатора 5-липоксигеназы кверцетина на функциональные и морфологические повреждения миокарда при ишемии и реперфузии сердца // *Кардиология.* — 1990. — №3. — с.72-75.
5. *Сагац В.Ф., Базилук О.В., Коцюруба А.В., Буханевич О.М.* Порушення ендотелій-залежних судинних реакцій, аргіназного та NO-синтазного шляхів обміну L-аргініну при артеріальній гіпертензії // *Фізіол. журн.* — 2000. — **46**, №3. — С. 3-13.
6. *Baggio R., Emig F.A., Christianson D.W. et al.* Biochemical and functional profile of a newly developed potent and isozyme-selective arginase inhibitor // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 1999. — **290**, №3. — P.1409-1416.
7. *Bredt D.S., Snyder S.H.* Isolation of nitric oxide synthase, a calmodulin-requiring enzyme // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* — 1990. — **87**, №2. — P.682-685.
8. *Brovkovych V., Stolarczyk E., Oman J. et al.* Direct electrochemical measurement of nitric oxide in vascular endothelium // *Pharm Biomed Anal.* — 1999. — **19**, №1-2. — P.135-143.
9. *Boucher J.L., Moali C., Tenu J.P.* Nitric oxide biosynthesis, nitric oxide synthase inhibitors and arginase competition for L-arginine utilization // *Cell Mol. Life Sci.* — 1999. — **55**, №8-9. — P.1015-1028.
10. *Chang C., Liao J., Kuo L.* Arginase modulates nitric oxide production in activated macrophages // *Amer. J. Physiol.* — 1998. — **274**, №1 Pt2. — P. H342-348.
11. *Engelman D., Watanabe M., Maulik N. et al.* L-arginine reduces endothelial inflammation and myocardial stunning during ischemia/reperfusion // *Ann. Thorac. Surg.* — 1995. — **60**, №5. — P.1275-1281.
12. *Fligger J., Blum J., Jungi T.W.* Induction of intracellular arginase activity does not diminish the capacity of macrophages to produce nitric oxide in vitro // *Immunobiology.* — 1999. — **200**, №2. — P.169-186.
13. *Garganta C.J., Bond I.S.* Assay and kinetics of arginase // *Anal. Biochem.* — 1986. — **154**, №2. — P.388-394.
14. *Green L.C., Davic A.W., Golawski J. et al.* Analysis of nitrate, nitrite and [¹⁵N] nitrate in biological fluids // *Anal. biochem.* — 1982. — **126**, №1. — P.131-138.
15. *Gotoh T., Mori M.* Arginase II downregulates nitric oxide (NO) production and prevents NO-mediated apoptosis in murine macrophage-derived RAW 264.7 cells // *J. Cell Biol.* — 1999. — **144**, №3. — P.427-434.
16. *Hey C., Boucher J.L., Vadon-Le Goff S. et al.* Inhibition of arginase in rat and rabbit alveolar macrophages by N omega-hydroxy-D, L-tyrosine, effects on L-arginine utilization by nitric oxide synthase // *Br. J. Pharmacol.* — 1997. — **121**, №3. — P.395-400.
17. *Huk I., Nanobashvili J., Orłjanski W. et al.* L-arginine treatment in ischemia/reperfusion injury // *Cas.Lek.Cesk.* — 1998. — **137**, №16. — P.496-499.
18. *Kalliovalkama J., Jolma P., Tolvanen J.P. et al.* Arterial function in nitric oxide-deficient hypertension: influence of long-term angiotensin ICRF-187 receptor antagonism // *J. Hypertension.* — 1999. — **34**, №4, Pt.1. — P.522-557.
19. *Langer F., Roth E., Steininger R. et al.* Arginase release following liver reperfusion. Evidence of hemodynamic action of arginase infusion // *Transplantation.* — 1995. — **59**, №11. — P.1542-1549.

20. *Langle F., Steininger R., Waldmann E. et al.* Improvement of cardiac output and liver blood flow and reduction of pulmonary vascular resistance by intravenous infusion of L-arginine during the early reperfusion period in pig liver transplantation//Ibid. — 1997. — **63**, №9. — p.1225-1233.
21. *Matsuoka H., Shimada K., Hasegawa H. et al.* Effect of nitric oxide synthase inhibition of different time course on infarct size in rat heart//J. Mol. Cell Cardiol. — **30**. — Abs.XVI World Congress of the Int. Society for Heart Research, Cardiovascular Biology and Medicine. — Ixia, Rhodes. — 1998.
22. *Moibenko A.A., Grabovskii L.A., Pavluchenko V.B. et al.* Role of NO in coronary and systemic vasodilatation following cardiogenic reflexes//Neurophysiology. — 1999. — **31**, №1. — P.8-13.
23. *Naseem S.A., Kontos M.C., Rao P.S. et al.* Sustained inhibition of nitric oxide by NG-nitro-L-arginine improves myocardial function following ischemia/reperfusion in isolated perfused rat heart// J. Mol. Cell Cardiol. — 1995. — **27**, №1. — P.419-426.
24. *Pabla R., Curtis M.J.* Effect of endogenous nitric oxide on cardiac systolic and diastolic function during ischemia and reperfusion in the rat isolated perfused heart//Ibid. — 1996. — **28**, №10. — P.2111-2121.
25. *Pernov J., Li X.-S., Wang Q.-D., Wiklund P.* NO and cardioprotection //Acta physiol. scand. — 1996. — **157**, №4. — P.5.
26. *Porembska Z., Kedra M.,* Early diagnosis of myocardial infarction by arginase activity determination//Clin. Chim. Acta. — 1975. — **60**, №3. — P. 355-361.
27. *Prabhakar S. S., Zeballos G.A., Montoya-Zavala M., Leonard C.* Urea inhibits inducible nitric oxide synthase in macrophage cell line// Amer.J.Physiol. — 1997. — **273**, №6. — P. 1882-1888.
28. *Rodrigues S., Richert L., Berthelot A.* Increased arginase activity in aorta of mineralocorticoid-salt rats//Clin. Exp. Hypertens. — 2000. — **22**, №1. — P.75-85.
29. *Snell F.D., Snell C.T.* Colorimetric methods of analysis. — New York,: Van Nostard, 1984. — P.560.
30. *Tenu J.P., Lepoivre M., Moali C. et al.* Effects of the new arginase inhibitor N(omega)-hydroxy-nor-L-arginine on NO synthase activity in murine macrofages// Nitric oxide. — 1999. — **3**, №6. — P.427-438.
31. *Toit E., Meiring J., McCarthy J., Opie L.H.* Relation of tissue nucleotide ratios to ischaemic/reperfusion injury in the nitric oxide donor treated rat heart// J. Mol. Cell Cardiol. — **30**. — Abs.XVI World Congress of the Int. Society for Heart Research, Cardiovascular Biology and Medicine. — Ixia, Rhodes. — 1998.
32. *Wildhirt S.M., Suzuki H., Wolf W.P. et al.* Selective modulation of inducible nitric oxide synthase isozyme in miocardial infarction// Circulation. — 1997. — **96**. — P. 1616-1623.

*Ин-т фізіології ім. О.О. Богомольця
НАН України, Київ;*

*Ин-т біохімії ім. О.В. Палладіна
НАН України, Київ*

*Матеріал надійшов
до редакції 17.08.2000*