

В. Ф. Сагач, А. В. Коцюруба, О. В. Базілюк, О. Ф. Мегедь,
О. М. Буханевич, Н. М. Гула, Л. Г. Степаненко

Інгібітори аргіназного шляху метаболізму L-аргініну як новий клас антигіпертензивних сполук: дія карбаміду на окисний метаболізм ліпідів і судинний тонус при артеріальній гіпертензії

Изучали действие хронического введения ингибитора аргиназного пути метаболизма L-аргинаина — карбамида (40мг/кг в течение 28 сут) на артериальное давление и эндотелийзависимые реакции гладких мышц (ГМ) грудной аорты на ацетилхолин одновременно с его действием на ферментативный (содержание диеновых конъюгатов и H_2O_2) и ферментативный (содержание свободной арахидоновой кислоты и вазоконстрикторных эйкозаноидов $LTС_4$ и TxB_2) окислительный метаболизм липидов в сердечно-сосудистой системе (сердце, аорта, плазма и эритроциты крови) спонтанно гипертензивных крыс (СГК). Длительное введение карбамида СГК нормализует ферментативный и неферментативный окислительный метаболизм липидов и уровни системного артериального давления, но не восстанавливает нарушенные эндотелийзависимые реакции ГМ грудной аорты на ацетилхолин. Ингибирование двух альтернативных ферментативных путей образования вазоконстрикторных эйкозаноидов (циклооксигеназный путь — TxB_2 и липоксигеназный путь — $LTС_4$) при окислении свободной арахидоновой кислоты может быть одним из механизмов антигипертензивного действия карбамида. Обсуждается возможность использования карбамида для ингибирования окислительного метаболизма липидов при гипертензии и различных патофизиологических состояниях.

ВСТУП

Зараз уже добре відомо, що в ендотелії судин синтезуються та виділяються біологічно активні речовини різного спектра дії: вазоконстрикторні — ейкозаноїди, тромбоксан A_2 , простагландин E_2 , лейкотриєн C_4 , вазодилататори — простагландин (PGI_2), оксид азоту (NO) тощо. NO синтезується з L-аргініну ендотеліальним ізоферментом NO-синтази (eNOS, окисний метаболізм). Ця амінокислота є також субстратом аргінази для синтезу орнітину та карбаміду (неокисний метаболізм). Як і NO, карбамід, досить активна сполука з різноманітними регуляторними функціями [15-18, 22, 24-26, 30]. Серед них треба відзначити здатність карбаміду, за ме-

ханізмом негативного зворотного зв'язку, впливати на активність аргінази та досить потужні його антиоксидантні властивості [3-5]. Однак у фундаментальних дослідженнях і в клінічній практиці не використовується карбамід, в тому числі як можливий чинник, що впливає на судинний тонус.

Нами вперше було встановлено, що при артеріальній гіпертензії суттєво міняється метаболізм L-аргініну, а саме, інтенсифікується неокисний, аргіназний шлях і синтез карбаміду і, відповідно, пригнічується окисний, NO-синтазний шлях і синтез NO. Внаслідок цього, ушкоджуються NO- і ендотеліязалежний компонент регуляції тонусу судин, що призводить до підвищення артеріального

© В. Ф. Сагач, А. В. Коцюруба, О. В. Базілюк, О. Ф. Мегедь,
О. М. Буханевич, Н. М. Гула, Л. Г. Степаненко

тиску [8, 9]. Отже, пошуки різних засобів корекції цих ушкоджень, безперечно, актуальні.

Метою нашої роботи було дослідити вплив карбаміду на окисний метаболізм ліпідів, системний артеріальний тиск та ендотелійзалежні судинні реакції при артеріальній гіпертензії.

МЕТОДИКА

Досліди проводили на щурах лінії Вістар з нормальним рівнем системного артеріального тиску (САТ) - нормотензивні щури (НТЩ) та щурах лінії Кіото з генетично детермінованою артеріальною гіпертензією - спонтанно гіпертензивні щури (СГЩ). Карбамід, розведений фізіологічним розчином вводили внутрішньоочеревинно в дозі 40 мг/кг щодобово протягом 28 діб.

САТ вимірювали неінвазійним фотоплетизмографічним методом. На хвіст наркотизованих (нембутал, 40 мг/кг внутрішньоочеревинно) щурів одягали компресійну манжету, з'єднану з пристроєм для створення зовнішнього протитиску і тонометром. Дистально від манжети хвіст фіксували в спеціальній камері з фотодіодом ФД-6Г і освітлювальним елементом на 1,5 В, орієнтованими контралатерально. За реєстратор правив осцилограф С1-93. Створення в манжеті зовнішнього тиску (вище за артеріальній) призводило до повної оклюзії хвостової артерії. Перші пульсові коливання, що виникали за декомпресії манжети, свідчили про рівень САТ. Вимірювання останнього здійснювали до (контроль) та після введення тваринам карбаміду. Всі подальші дослідження проводили на ненаркотизованих тваринах.

На ізольованих препаратах грудної аорти щурів, у режимі, що наближався до ізометричного, реєстрували скорочувальну активність гладеньких м'язів (ГМ) за допомогою механоелектричного перетворювача БМХ 1С [11]. Вимірювали амплітуду змін тонічного напруження преактивованих ГМ на ендотелійзалежний (ацетилхолін, 10^{-6} моль/л) і ендотелійнезалежний (нітропрурид натрію,

10^{-4} моль/л) вазодилататори. Рівень активації ГМ (норадреналін, 10^{-6} моль/л) у всіх дослідах приймався за 100%. Латентний період розвитку реакції реєстрували в секундах.

В аорті, серці, плазмі та еритроцитах крові тварин визначали біохімічні показники, що характеризують інтенсивність ферментативного перекисного окиснення ліпідів – вміст вільної арахідонової кислоти в плазмі крові та еритроцитах та вміст продукту циклооксигеназного шляху окиснення арахідонової кислоти - тромбоксану B_2 (TxB_2) і вміст продукту ліпоксигеназного шляху окиснення арахідонової кислоти - лейкотриєну C_4 (LTC_4).

Вміст вільної арахідонової кислоти визначали в ліпідному екстракті проб. Ліпідний екстракт отримували за методом Фолча [20], розділяли на колонці з оксидом алюмінію (нейтральний, 100-200 mesh), відбираючи фракцію нейтральних ліпідів за допомогою елюції сумішшю хлороформ - метанол (9:1) [19], яку розділяли методом тонкошарової хроматографії на силікагелевих пластинках Silufol в системі диетиловий ефір - петролейний ефір - оцтова кислота (85:15:0,1) [28]. Зони арахідонової кислоти на платівках елювали етанолом і кількісно визначали спектрофотометричним методом за величиною екстинції при 210 нм. Вміст арахідонової кислоти визначали в наномолях на 1 мг білка, використовуючи відомий коефіцієнт молярної екстинції.

Вміст TxB_2 і LTC_4 визначали в пробах за допомогою РІА-методу з застосуванням добірки реактивів фірми «Amersham» і фірми «Du Pont» відповідно.

Оцінювали також зміни показників, що характеризують інтенсивність генерації вільних радикалів: вміст стабільного метаболіту активного кисню - пероксиду водню (H_2O_2) та інтенсивність неферментативного перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) вільними радикалами кисню за допомогою визначення вмісту дієнових кон'югатів (ДК).

Вміст H_2O_2 визначали за методикою Cochen і співавт. [14], використовуючи каталазу фірми «Sigma» (США).

При визначенні вмісту дієнових кон'югатів [2] до 0,2 мл плазми крові, або суспензії еритроцитів додавали 6 мл гептан-ізопропанольної суміші (2:1), яку готували перед дослідом. Пробу перемішували протягом 15 хв і додавали 1 мл розчину HCl з рН 2,0, швидко перемішували і після розшарування відбирали верхню гептанову фазу і визначали в ній E_{232} нм.

Вміст загального білка в пробах визначали загальнозживаним методом Бредфорда.

Результати обробляли статистично з використанням критерію t Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На рис. 1 наведено показники, що характеризують інтенсивність неферментативного (вміст H_2O_2 і ДК), та ферментативного (вміст вільної арахідонової кислоти та її окиснених метаболітів LTC_4 і TxB_2) метаболізму в аорті, серці, плазмі та еритроцитах крові НТЦ. Вміст вільної арахідонової кислоти відображає співвідношення інтенсивностей її генерації, в тому числі у разі дії фосфоліпази A_2 на фосфоліпіди мембран, та інтенсивність її ферментативного окисного обміну речовин по двох альтернативних метаболічних шляхах — ліпоксигеназному та циклооксигеназному. Вміст H_2O_2 , що є стабільним метаболітом супероксидрадикала і утворюється при дисмутації останнього при дії супероксиддисмутази, відображає інтенсивність генерації вільних радикалів кисню за різних фізіологічних станів, в тому числі в процесі ферментативного окиснення арахідонової кислоти. Вміст ДК, що є одним із продуктів неферментативного ПОЛ вільними радикалами кисню та азоту, відображає інтенсивність неферментативного окиснення ліпідів за різних умов експерименту. Значення вищевказаних показників при гіпертензії до і після введення карбаміду виражено у відсотках до

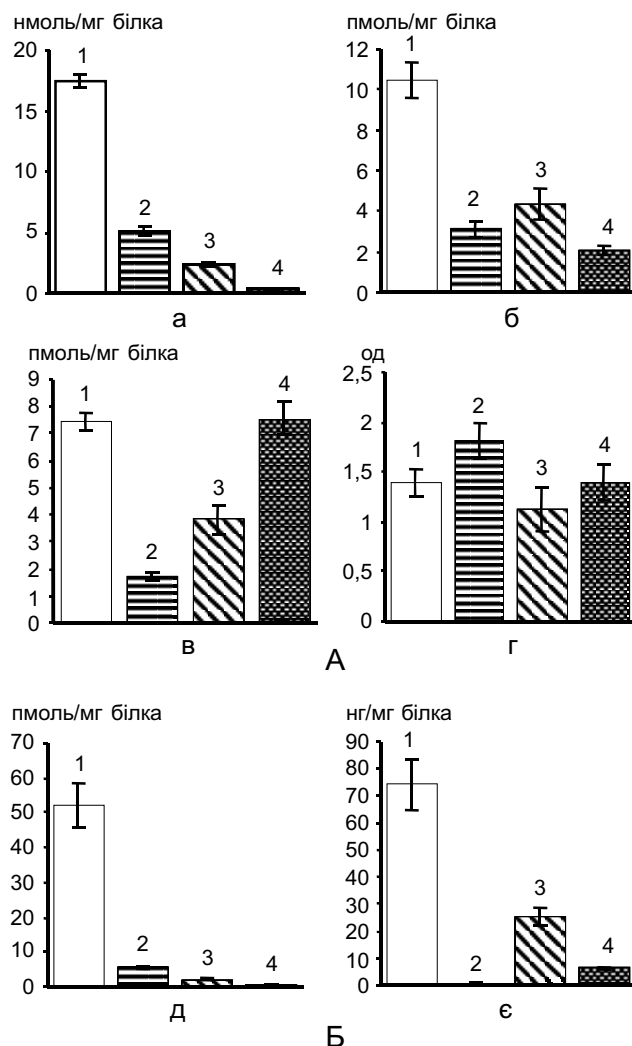


Рис. 1. Значення показників окисного метаболізму ліпідів у нормотензивних щурів при умовах ферментативного – А та неферментативного метаболізму – Б: а - вміст вільної арахідонової кислоти, б - вміст TxB_2 , в - вміст LTC_4 , г - TxB_2/LTC_4 , д - вміст H_2O_2 , е - вміст дієнових кон'югатів у аорті (1), серці (2), плазмі крові (3), еритроцитах (4).

значення даного показника у НТЦ, яке прийнято за 100% (рис. 2).

Виявилося, що у СГЦ спостерігається достовірне збільшення пулів вільної арахідонової кислоти в серці (+400%, див. рис. 2,б), плазмі крові (+560%, рис. 2,в) та еритроцитах (+470%, рис. 2,г). Зміни вмісту вільної арахідонової кислоти в аорті були незначні

(+25%, рис. 2,а). При введенні карбаміду відбувалося достовірне зменшення пулів вільної арахідонової кислоти у всіх досліджених тканинах (рис.2). Максимальне зниження пулів до їх рівня за нормотензії спостерігали в плазмі крові СГЩ за умов дії карбаміду (-500%, рис. 2,в).

Зміни вмісту ТхВ₂ у СГЩ у всіх досліджених об'єктах, за винятком аорти, були схожі. В серці і плазмі крові вміст ТхВ₂ збільшувався на 280% (рис. 2,б,в), в еритроцитах - на 375% (рис. 2,г). За умов дії карбаміду, відбувалося значне зниження пулів ТхВ₂: в аорті — на 60% (рис. 2,а), в серці — на 100% (рис. 2,б), в плазмі крові — на 190% (рис. 2,в) і в еритроцитах — на 375% (рис. 2,г). Внаслідок такої дії карбаміду пули ТхВ₂ стали більш ніж удвічі нижчими від нормально-

го рівня в аорті, майже повністю нормалізувалися в серці і повністю нормалізувалися в плазмі та в еритроцитах крові.

Зміни вмісту LTC₄ у СГЩ дещо відрізнялися. На відміну від ТхВ₂, спостерігали незначне підвищення вмісту LTC₄ в аорті СГЩ і відсутність змін в їх еритроцитах. Водночас карбамід істотно знижував вміст LTC₄ в аорті (-100%, рис. 2,а) та в плазмі крові (-200%, рис. 2,в), тоді як зміни в серці та еритроцитах були незначними (рис. 2,б,г).

Внаслідок таких змін продуктів двох альтернативних шляхів ферментативного окисного метаболізму вільної арахідонової кислоти спостерігали достовірне збільшення величини співвідношення ТхВ₂/LTC₄ в еритроцитах СГЩ (+360%, рис. 2,г). Значення цього співвідношення в еритроцитах достовірно

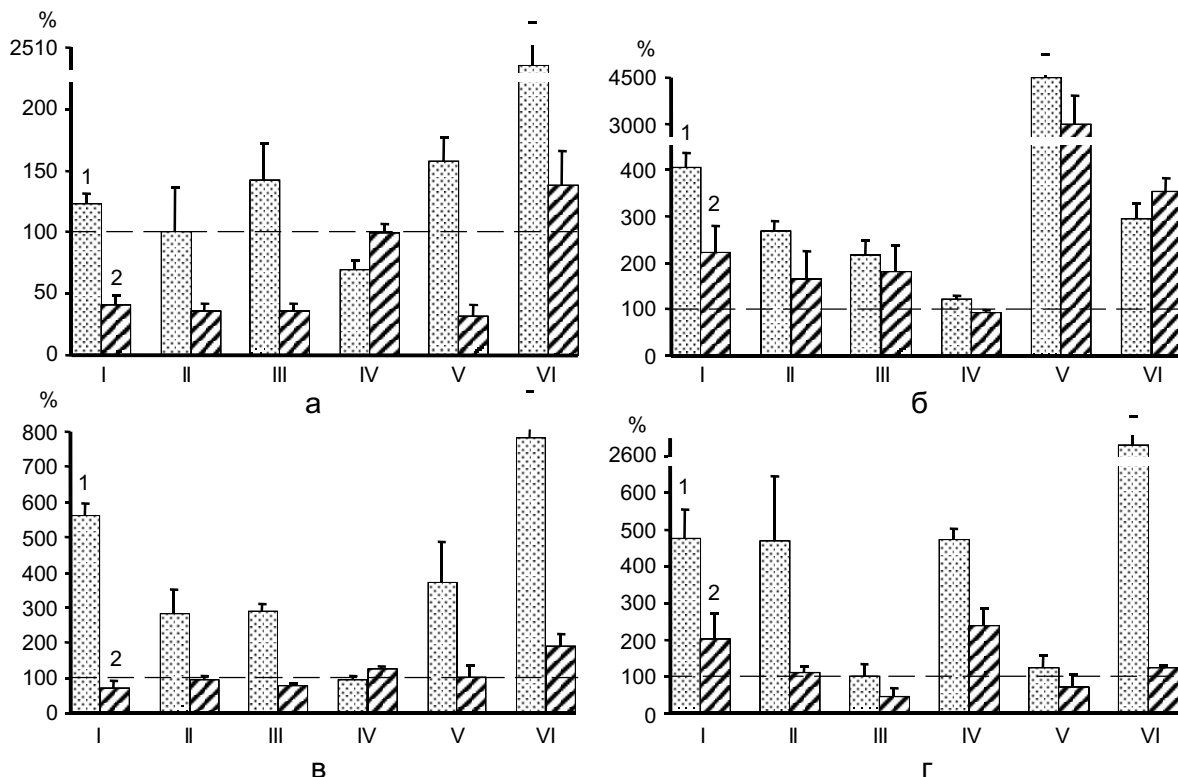


Рис. 2. Дія карбаміду на окисний метаболізм ліпідів в аорті (а), серці (б), плазмі крові (в) та еритроцитах (г) у щурів за умов хронічної артеріальної гіпертензії (ХГ): I – вміст вільної арахідонової кислоти; II – вміст ТхВ₂; III – вміст LTC₄; IV – величина співвідношення ТхВ₂/LTC₄; V – вміст дієнових кон'югатів; VI – вміст Н₂О₂; 1 – ХГ, 2 – ХГ і введення карбаміду.

*різниця достовірна (P<0,05) відносно значення за умов нормотензії; ** різниця достовірна (P<0,05) відносно контролю (за хронічної гіпертензії).

знижувалося у разі дії карбаміду (-200%, рис. 2,г). Проте в аорті та інших тканинах ці зміни були недостовірні.

Вміст ДК, як продуктів неферментативного перекисного окиснення ненасичених жирних кислот, у СГЩ практично не змінювався в еритроцитах, незначно збільшувався в аорті (+50%, рис. 2,а) і суттєво збільшувався в плазмі крові (+250%, рис. 2,в) та, особливо, в серці (+4400%, рис. 2,б). Після введення карбаміду вміст ДК достовірно зменшувався в аорті (-125%, рис. 2,а) та плазмі крові (-250%, рис. 2,в), практично не змінювався в серці та еритроцитах. Відсутність неферментативного ПОЛ в еритроцитах СГЩ очевидно зумовлено наявністю в цих клітинах потужної антиоксидантної системи.

У разі гіпертензії вміст H_2O_2 більше, ніж у 20 разів підвищувався в аорті (+2400%, рис. 2,а) та еритроцитах (+2500%, рис. 2,г) і меншою мірою в серці (+200%, рис. 2,б) та в плазмі крові (+660%, рис. 2,в). Введення карбаміду практично нормалізувало вміст H_2O_2 у всіх досліджених тканинах за винятком серця, де він залишався незмінним.

Як встановлено нами раніше, в судинах щурів з високим САТ зменшується активність NO-синтази, а відтак і продукція NO. Одночасно з цим, підвищується активність аргінази і вміст карбаміду, тобто змінюється баланс між окисним і неокисним шляхами метаболізму L-аргініну. Внаслідок цього порушується залежність від ендотелію дилататорної реакції, підвищується судинний тонус. Прямі вазодилататорні реакції ГМ на нітросполуки залишаються майже незмінними [13]. За нашими результатами в аорті СГЩ виявився значно більший, ніж НТЩ, вміст H_2O_2 . Як свідчать інші дослідження, H_2O_2 в великих концентраціях викликає кальційзалежне скорочення ГМ аорти і легеневої артерії. За амплітудою у СГЩ воно значно більше ніж у НТЩ, хоча у всіх тварин - ендотелійнезалежне. Після блокади eNOS амплітуда цього скорочення підвищується [9, 10, 12]. Цілком імовірно, ендотеліальний NO відіграє певну протекторну роль щодо констрикторного

ефекту H_2O_2 . При гіпертензії в зв'язку з дефіцитом NO цей захисний механізм послаблюється.

Ми встановили, що введення карбаміду СГЩ протягом 28 діб (n=5) призводить до зниження САТ на 20 - 25 мм рт.ст. Так, якщо в контролі у цих тварин САТ в середньому був 141,0 мм рт.ст.±2,5 мм рт.ст., то після впливу карбаміду він уже становив 113,3 мм рт.ст.±4,4 мм рт.ст., тобто сягнув того рівня, який мають НТЩ. Отже, в цих дослідах нами виявлено несподівану і дуже цінну гіпотензивну властивість карбаміду.

Таким чином, результати наших досліджень вказують на значну активацію при артеріальній гіпертензії в серцево-судинній системі як ферментативного, так і, особливо, неферментативного окисного метаболізму ліпідів, що нині розглядається як один із основних пускових механізмів розвитку артеріальної гіпертензії. З літератури відомо, що продукти ферментативного окисного метаболізму вільної арахідонової кислоти чинять вазоконстрикторний вплив за різними механізмами: TxB_2 — внаслідок активації аденілатциклази та внутрішньоклітинних пулів cAMP, тоді як LTC_4 — в основному внаслідок інгібування мембраннозв'язаної гуанілатциклази та зниження внутрішньоклітинних пулів cGMP [6].

Отже, отримані нами достовірні ефекти карбаміду з нормалізації вмісту як самої вільної арахідонової кислоти, так і обох її окислених метаболітів — TxB_2 і LTC_4 свідчать про неспецифічну його дію. Це забезпечується перш за все не прямою дією карбаміду на ферменти арахідонового каскаду, а опосередковано через інгібування сигнальних шляхів утворення вторинних месенджерів.

Дійсно, в етіології та патогенезі основних захворювань серця і судин головну роль відіграють стрес і ішемія [6, 7], що завжди супроводжуються значною активацією неферментативного та ферментативного ПОЛ. Ці події, як відомо, розвиваються в мембранах кардіо- та ендотеліоцитів і зумовлюють структурно-функціональні ушкодження серця і

судин. Головну роль у механізмах стресорного і ішемічного пошкодження біомембран цих мішеней, поряд з власне активацією ПОЛ, відіграють також процеси активації фосфоліпаз і ліпаз, що гідролізують фосфоліпіди та нейтральні ліпіди біомембран. Наслідком цих двох процесів стає дезорганізація ліпідного бішару мембран надлишком вільних жирних кислот і продуктів їх пероксидації, а також лізофосфоліпідів, що чинять детергентну дію і викликають аритмію. Ця “ліпідна тріада” [1] пошкодження біомембран (активація ПОЛ, активація фосфоліпаз і ліпаз, детергентний ефект лізофосфоліпідів і надлишку нормальних і окиснених вільних жирних кислот) істотно змінює, дезорганізує ліпідне мікроточення молекул мембранозв’язаних білків-ферментів, рецепторів, каналотворювачів і безпосередньо впливає на реактивність судин до констрикторних впливів, що має в результаті стійке підвищення тону судин і призводить до гіпертензії.

Оскільки в наших дослідах карбамід спричинював суттєве зниження вмісту вазоконстрикторів TXB_2 , LTC , H_2O_2 , і нормалізацію САТ у СГЩ, логічно було б передбачити його позитивний вплив і на NO-залежні судинні реакції, що реалізуються через ендотелій. Проте в жодному з експериментів ($n=13$)

цього не відбувалося. Як і до впливу карбаміду у цих тварин на АХ (10^{-6} моль/л) реєструвалися виключно ушкоджені реакції попередньо активованих норадреналіном (10^{-6} моль/л) ГМ грудної аорти. Кількість типових реакцій розслаблення ГМ на цей холіноміметик не збільшувалася, як можна було б очікувати, ($n=3$), і становила 23% (проти 53% у СГЩ). Їх амплітуда не перевищувала 20-25% (у середньому $21,3\% \pm 2,4\%$), тоді як до впливу карбаміду вона становила $36,4\% \pm 7,4\%$. (рис. 3). Латентний період розвитку цієї реакції майже не зазнавав змін. Разом з тим у всіх без винятку експериментах ($n=11$) ендотелійнезалежні дилаторні реакції преактивованих ГМ грудної аорти на нітропрусид натрію (10^{-4} моль/л) після введення карбаміду відтворювалися в повному об’ємі. Амплітуда розслаблення практично не змінювалася і в середньому становила $70,8\% \pm 11,6\%$.

Таким чином, отримані результати свідчать про те, що за умов тривалого введення карбаміду ГМ аорти СГЩ не втрачають здатності до розслаблення. Відсутність поліпшення ендотелійзалежних вазодилаторних реакцій ГМ грудної аорти вказує на збереження ушкоджень синтетичної, чи секреторної функції ендотелію. Для з’ясування цього потрібні подальші дослідження.

Відомо [23, 29], що продукти циклооксигеназного шляху окиснення арахідонової кислоти є переважно активаторами аденілатциклази, тобто індукують підвищення внутрішньоклітинної концентрації сАМР, тоді як продукти ліпоксигеназного шляху - є, як правило, активаторами гуанілатциклази і, таким чином, сприяють підвищенню внутрішньоклітинної концентрації сGMP, тобто деякою мірою імітують дію оксиду азоту.

Нами встановлено, що карбамід є ефективним інгібітором ферментативних шляхів окис-

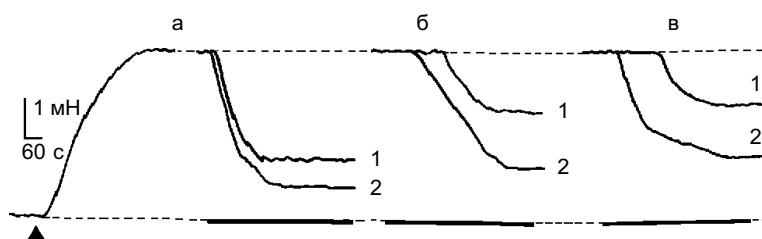


Рис.3. Вплив ацетилхоліну (1, 10^{-6} моль/л) та нітропрусиду натрію (2, 10^{-4} моль/л) на преактивовані норадреналіном (НА, 10^{-6} моль/л) гладенькі м'язи (ГМ) грудної аорти щурів з нормальним рівнем системного артеріального тиску (а), спонтанно гіпертензивних щурів до (б) та після (в) тривалого введення карбаміду. Темна лінія під кривими відповідає тривалості дії агоніста. Пунктирна лінія знизу відповідає вихідному рівню тонічного напруження ГМ, зверху - заданому рівню їх активації, що приймається за 100% після додавання в буферний розчин НА. Стрілкою позначено момент введення НА.

нення вільної арахідонової кислоти, причому його дія на перший шлях була набагато ефективнішою.

Можливим механізмом інгібуючої дії карбаміду на синтез ейкозаноїдів може бути його зв'язування з іонами Fe^{2+} -активних центрів циклооксигенази та ліпоксигенази. Раніше ми згадували, що карбамід може бути ефективним скавенджером Fe^{2+} , і саме це зумовлює його високу антиоксидантну активність [3].

Відомо, що синтез TxB_2 здійснюється по циклооксигеназному шляху окиснення вільної арахідонової кислоти за допомогою різних ферментів, ключовим з яких є циклооксигеназа, яка здійснює перекисне окиснення вільної арахідонової кислоти з утворенням простагландину H_2 і наступним його відновленням до простагландину D_2 . Він, у свою чергу, перетворюється тромбоксансинтетазою на TxB_2 . Біохімічні механізми першого етапу циклооксигеназного шляху окиснення вільної арахідонової кислоти до кінця ще не з'ясовано, але вже тепер відомо, що є дві ізоформи циклооксигеназ - конститутивна та індукцибельна і що індукцибельна ізоформа має за потенційного інгібітора аспірин. Інгібує цей фермент також ціла низка інших нестероїдних протизапальних препаратів а, як свідчать наші результати, ще й карбамід, що є одночасно продуктом аргіназного шляху метаболізму L-аргініну і його інгібітором. Відомо [21, 27], що індукцибельна ізоформа циклооксигенази (COX-2) індукується різними цитокінами (наприклад, IL-1, TNF-1 α , IFN- γ) та деякими факторами росту (наприклад, TGF-1 β) одночасно з індукцибельною ізоформою NO-синтази (iNOS) і, таким чином, синтез вазоконстриктора TxA_2 та вазоконстрикторних ейкозаноїдів $PG E_2$ та TxA_2 тісно супряжене із синтезом надзвичайно активного вазодилатора, яким є оксид азоту. Ще одним потужним вазодилатором, що синтезується по циклооксигеназному шляху, є простагландин (PGI-2). Цілком можливо, що розвиток артеріальної гіпертензії зумовлений, порушенням балансу між кількістю синтезо-

ваних в клітинах серцево-судинної системи вазоконстрикторів та вазодилаторів на користь переважного синтезу вазоконстрикторів або за інгібуванням синтезу вазодилаторів. Так відомо, наприклад, що такий промотор артеріальної гіпертензії, яким є вазоконстрикторний пептид ангіотензин II (ANG II) свою вазоконстрикторну дію чинить також і за допомогою стимуляції синтезу вазоконстрикторних ейкозаноїдів.

Як не дивно, додаткове тривале введення СГЩ екзогенного карбаміду в наших дослідах нормалізувало як ферментативний окисний метаболізм вільної арахідонової кислоти (з переважним інгібуванням циклооксигеназного шляху), так і неферментативний окисний метаболізм ліпідів. Знижувався також САТ, проте ендотеліязалежний компонент регуляції судинного тонуусу не зазнавав позитивних змін. Отже, карбамід проявив себе як потенційний низькомолекулярний водорозчинний антиоксидант. Враховуючи ці антиоксидантні та антигіпертензивні властивості карбаміду, можна висловити припущення про можливість його практичного застосування для корекції порушень серцево-судинної системи, що супроводжуються інтенсифікацією окисного метаболізму ліпідів: гіпертонія, ішемічна хвороба серця, атеросклероз тощо. Безперечно, це потребує подальших досліджень.

ВИСНОВКИ

1. У щурів з генетично детермінованою артеріальною гіпертензією виявлено значну активацію окисного метаболізму (як ферментативного, так і неферментативного) ліпідів у аорті, серці, плазмі та еритроцитах крові.

2. Встановлено деяке превалювання синтезу ейкозаноїду TxB_2 по циклооксигеназному шляху ферментативного окиснення вільної арахідонової кислоти над синтезом пептиду лейкотриєну LTC_4 ліпоксигеназним шляхом.

3. Продукт і інгібітор аргіназного шляху метаболізму L-аргініну - карбамід виявився потенційним інгібітором окисного (ферментативного та неферментативного) метаболі-

му ліпідів, проявляючи більшу специфічність щодо інгібування циклооксигеназного ферментативного шляху окиснення вільної арахідонової кислоти.

4. Тривале введення спонтанно гіпертензивним щурам карбаміду призводить до нормалізації рівня системного артеріального тиску, але не відновлює ушкоджені ендотелійзалежні реакції гладеньких м'язів грудної аорти на ацетилхолін, що свідчить про збереження деякої дисфункції ендотелію.

5. Отримані результати передбачають можливість практичного використання карбаміду для нормалізації патофізіологічних процесів, що супроводжуються інтенсифікацією окисного метаболізму ліпідів: гіпертонії, ішемічної хвороби серця, атеросклерозу та інших патологічних станів, таких як: нейродегенеративні захворювання (хвороби Паркінсона, Альцгеймера, розсіяний склероз), канцерогенез, алкоголізм, дія радіації, тощо.

**V.F.Sagach, A.V.Kotsuruba, O.V.Bazilyuk,
E.F.Meged, O.M.Buchanevich, N.M.Gulaya,
L.G.Stepanenko**

ARGINASE INHIBITORS AS A NEW CLASS OF ANTIHYPERTENSION DRUGS: ACTION OF UREA ON OXIDATIVE METABOLISM OF LIPIDS AT CHRONIC HYPERTENSION

Have studied action of chronic urea — an arginase inhibitor — introduction (40 mg/kg, 28 days) on blood pressure, endothelium-dependent reactions of aorta smooth muscle cells (SMC) and nonenzymatic (contents of diene conjugates and H₂O₂) and enzymatic (contents of free arachidonic acid and vasoconstrictic eicosanoids LTC₄ and TXA₂) oxidizing lipid metabolism of heart, aorta, plasma and erythrocytes of spontaneously hypertensive rats. Have shown, that urea down regulate blood pressure without any normalization of endothelium-dependent reactions of SMC of aorta and down regulate both enzymatic and nonenzymatic oxidizing lipid metabolism. Down regulation of two alternative (by cyclooxygenase and by lipoxygenase) enzymatic pathways of free arachidonic acid oxidizing metabolism by urea can be one of mechanisms of its antihypertensiv action. The possibility of urea use at hypertension and various pathophysiological conditions are discussed.

A.A.Bogomolets Institute of physiology National Academy of Science of Ukraine, Kiev

A.V.Palladin Institute of biochemistry National Academy of Science of Ukraine, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Барабой В.А., Судковой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии // Киев:Чернобыльинтеринформ, 1997. - 2. - 220.с.
2. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Хмара Н.Ф. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гептановых и изопропановых экстрактов // Лаб. дело. - 1988, № 2. - С.60-64.
3. Кения М.В., Лукаш А.И., Гуськов Е.П. Роль низкомолекулярных антиоксидантов при окислительном стрессе // Усп. совр. биол. - 1993. - 113, № 4. - С.456-470.
4. Кричевская А.А., Лукаш А.И., Шугалей В.С., Бондаренко Т.И. Аминокислоты, их производные и регуляция метаболизма // Изд. Ростов. ун - та, - 1983. - 111 с.
5. Лукаш А.И., Карташев И.Н., Антипина Т.В. Участие ионов железа в антиоксидантном действии мочевины // Укр.биохим. журн. - 1980. - 52, № 4. - С.462-465.
6. Меерсон Ф.З. Адаптация, стресс и профилактика.- М.:Наука, 1981. - 278 с.
7. Меерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца.- М.:Медицина, 1984. - 269 с.
8. Сагач В.Ф., Базилюк О.В., Коцюруба А.В. Дисфункция эндотелия как следствие изменения его ферментативной активности. - В кн.: Роль монооксида азота в процессе жизнедеятельности. - Минск, Полибиг. - 1998. - С.141-146.
9. Сагач В.Ф., Базилюк О.В., Коцюруба А.В., Буханевич А.М. Порухення ендотелійзалежних судинних реакцій, аргіназного та NO-синтазного шляхів обміну L-аргініну при артеріальній гіпертензії // Фізіол.журн. - 2000. - 46, № 3. - С.3-13.
10. Cochen G., Dembile D., Markus J. Measurement of catalase activity in tissue extracts // Annal. Biochem. - 1970. - № 34. - P.30-38.
11. Cohen D.M. Urea - inducible Erg - 1 transcription in renal inner modullary collecting duct (m1MCD3) cells is mediated by extracellular signal regulated kinase activation // Proc. Natl. Acad.Sci. USA. - 1996. - 93, № 20. - P.11242-11247.
12. Cohen D.M., Gullans S.R. Urea induces Egr - 1 and c - fos expression in renal epithelial cells // Amer.J.Physiol. - 1993. - 264, № 4. - F593-F600.

13. Cohen D.M., Gullans S.R. Urea selectively induces DNA synthesis in renal epithelial cells // *Ibid.* - 1993. - 264, № 4. - F601-F607.
14. Cohen D.M., Gullans S.R., Chin W.W. Urea inducibility of erg-1 in murine inner medullary collecting duct cells is mediated by the serum response element and adjacent Ets motifs // *J.Biol.Chem.* - 1996. - 271, № 22. - P.12903-12908.
15. Durochez J.G., Leboeuf B. Rapid quantitative separation of long-chain fatty acids from neutral lipids // *Canad. J.Biochem.* - 1969. - 47, № 7. - P.746-750.
16. Folch J., Lees M., Sleane S.G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues // *J.Biol.Chem.* - 1957. - 226, № 2. - P.497-509.
17. Griscavage J.M., Kern R.M., Arabolos N.S. et al. Co - induction of arginase and NOS in murine macrophages activated by LPS // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* - 1995. - 210, № 3. - P.1009-1016.
18. Jin N., Rhoades R.A. Activation of tyrosine kinases in H₂O₂ - induced contraction in pulmonary artery // *Am. J. Physiol.* - 1997. - 272 (6 Pt2). - H2686-2692.
19. Kaji D.M., Gasson C. Urea activation of K - Cl transport in human erythrocytes // *Am.J. Physiol.* - 1995. - 268, № 4. - C1018-C1025.
20. Lee L., Bruner C.A., Webb R.C. Prostanoids contribute to endothelium - dependent coronary vasodilation in Guinea pigs // *Blood Vessels.* - 1990. - 27, № 6. - P.341-351.
21. Lim J., Gasson C., Kaji D.M. Urea inhibits NaK₂Cl cotransport in human erythrocytes // *J. Clin. Invest.* - 1995. - 96. - P.2126-2132.
22. Prabhakar S.S., Zeballos G.A., Montoya - Zavala M., Leonard C. Urea inhibits inducible nitric oxide synthase in macrophage cell line // *Am.J.Physiol.* - 1997. - 273, № 6. - C.1882-1888.
23. Rajagopalan K.V., Fridovich I., Handler P. Competitive inhibition of enzymic activity by urea // *J. Biol. Chem.* - 1963. - 236. - P.1059-1065.
24. Rodrigues - Martines M.A., Garcia - Cohen E.C., Baena A.B., Gonzales R., Salaice S.M. Contractile responses elicited by hydrogen peroxide in aorta from normotensive and hypertensive rats. Endothelial modulation and mechanism involved // *Br. J. Rharmakol.* - 1998. - 125, № 6. - P.1329-1335.
25. Soloviev A.I., Stefanov A.V., Bazilyuk O.V., Sagach V.F. Phospholipid vesicles (liposomes) restore endothelium-dependent cholinergic relaxation in thoracic aorta from spontaneously hypertensive rats // *J. Hypertension.* - 1993. - 11. - P.623-627.
26. Sonoki T., Nagasaki A., Gotoh T. et al. Coinduction of nitric-oxide synthase and arginase I in cultured rat peritoneal macrophages and rat tissues in vivo by lipopolysaccharide // *J.Biol.Chem.* - 1997. - 272, № 6. - P.3689-3693.
27. Takahashi Y., Reddy G.R., Veda N. Et al. Arachidonate 12 - lipoxygenase of platelet-type in human epidermal cells // *J.Biochem.* - 1993, 268. - № 22. - P.16443-16448.
28. Tracey W.R., Bend J.R., Hamilton J.T., Paterson N.A.M. Role of lipoxygenase, cyclooxygenase and cytochrome P-450 metabolites in contractions of isolated Guinea pig pulmonary venules induced by hypoxia and anoxia // *J.Pharmacol. and Exp. Therap.* - 1989. - 250, № 3. - P.1097-1104.
29. Yang Z.W., Zheng T., Altura B.T., Altura B.M. Mechanisms of hydrogen peroxide-induced contraction of rat aorta // *Eur. J. Pharmacol.* - 1998. - 344, № 2-3. - P.169-181.
30. Zhang Z., Cohen D.M. Urea activates ribosomal S6 kinase (RSK) in a MEK - dependent fashion in renal m1MCD3 cells // *Amer.J.Physiol.* - 1998. - 274, № 1. - F73-F78.

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

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

*Матеріал надійшов до
редакції 1.08.2001*