

NO-ЗАВИСИМЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ АДРЕНОРЕАКТИВНОСТИ АРТЕРИАЛЬНЫХ СОСУДОВ ПОСЛЕ ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА

С.С. Лазуко

Учреждение образования «Витебский государственный ордена
Дружбы народов медицинский университет»

При физиологических и патологических состояниях в клетках сосудистой стенки наблюдается экспрессия генов различных изоформ NO-синтаз. Активация NO-синтаз приводит к синтезу монооксида азота и, как следствие, к изменению вазоконстрикции и вазорелаксации. Однако мало изучен вопрос о вкладе различных изоформ NO-синтаз в постстрессорное изменение тонуса артериальных сосудов.

Цель исследования – определить вклад эндотелиальной и индуцибельной NO-синтаз в механизмы нарушения адренореактивности при иммобилизационном стрессе.

Материал и методы. Адренореактивность артериальных сосудов изучали на изолированных кольцах аорты крыс путем введения в перфузионный раствор возрастающих концентраций $\alpha 1$ -адреностимулятора фенилэфрина (от 10^{-15} до 10^{-6} М). Вклад эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) определяли, используя конкурентный ингибитор синтеза монооксида азота – метиловый эфир N- ω -нитро-L-аргинина (L-NAME) (100 мкМ, Sigma USA). Для выяснения роли индуцибельной NO-синтазы (iNOS) применяли ее высокоселективный блокатор S-метилизотиомочевину (S-MT) (10 мкМ, Sigma, США). Иммуногистохимическое исследование проводили с использованием поликлональных антител (Abcam, UK) к iNOS (1:75) и eNOS (1:150) в срезах аорты. Интерпретацию результатов проводили полуколичественным методом оценки интенсивности окрашивания препарата.

Результаты и их обсуждение. Блокада eNOS L-NAME частично ограничила, но полностью не предупредила постстрессорное снижение адренореактивности колец аорты крыс, однако полностью восстановила адреночувствительность гладких миоцитов к фенилэфрину. Напротив добавление в раствор для перфузии блокатора iNOS S-MT полностью предупредило характерное для стресса снижение адренореактивности, но не адреночувствительности. Данные процессы наблюдались на фоне сниженной активности фермента eNOS и гиперэкспрессии iNOS в эндотелии артериальных сосудов после иммобилизационного стресса.

Заключение. Таким образом, увеличение адреночувствительности при иммобилизационном стрессе во многом обусловлено стимуляцией эндотелиальной NO-синтазы, которая в этих условиях может продуцировать не только оксид азота, но и активные формы кислорода. Монооксид азота, продуцируемый iNOS, играет ключевую роль в снижении адренореактивности артериальных сосудов при тяжелом стрессе.

Ключевые слова: адренореактивность, артериальные сосуды, иммобилизационный стресс.

NO-DEPENDENT MECHANISMS OF ARTERIAL BLOOD VESSELS ADRENOREACTIVITY REGULATION FOLLOWING IMMOBILIZATION STRESS

S.S. Lazuko

Educational Establishment «Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University»

The expression of different isoforms of NO-synthases is seen in vascular cells at physiological and pathological conditions. Activation of NO-synthases promotes NO synthesis with corresponding disbalance between vasoconstrictors and vasodilators. However, the exact role of different isoforms of NO-synthases in the post stressor arterial tone dysregulation is still being elucidated.

The aim of the investigation was to determine the contribution of the endothelial and inducible NO-synthases to mechanisms of vascular adrenoactivity disorders following immobilization stress.

Material and methods. Arterial blood vessels adrenoactivity was studied at isolated aortic rings by the infusion of α_1 -adrenomimetic phenylephrine at increasing concentrations (10^{-15} – 10^{-6} M) in the perfusion solution. The contribution of the endothelial NO-synthase (eNOS) was evaluated after supplementation of the perfusion solution with the competitive inhibitor of NO-synthase N- ω -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) (100 μ M, Sigma USA). To determine the role of inducible NO-synthase (iNOS) in the adrenoactivity disorders its high-selective inhibitor S-methylisothiourea (S-MT) was added in the perfusion solution (10 μ M, Sigma, USA). The immunohistochemical investigation was carried out in the aortic slices with polyclonal antibodies (Abcam, UK) to the iNOS (1:75) and eNOS (1:150). Obtained results were interpreted with semiquantitative methods by the assessment of the staining intensity.

Findings and their discussion. The eNOS blockage with L-NAME partially, but not entirely prevented post stressor decrease in adrenoactivity of aortic rings with complete restoration of vascular smooth muscle cells sensitivity to the phenylephrine. In contrast, supplementation of the perfusion solution with iNOS inhibitor S-MT was able to completely prevent stress-induced decrease in adrenoactivity, but not adrenosensitivity. Such alterations were seen at decreased level of the eNOS expression and iNOS hyperexpression in endothelial cells of arterial blood vessels after immobilization stress.

Conclusion. Hence, increase of adrenosensitivity following immobilization stress is largely due to stimulation of the eNOS, which in such conditions can produce not only nitric oxide but also reactive oxygen species. Nitric oxide, which is produced by iNOS, plays an important role in the decreasing of the arterial blood vessels adrenoactivity after severe stress.

Key words: adrenoactivity, arterial blood vessels, immobilization stress.

Оксид азота (NO) – газообразный свободный радикал, синтез которого происходит из L-аргинина при участии NO-синтаз. Нейрональная (nNOS) и эндотелиальная (eNOS) изоформы NO-синтаз считаются конститутивными. Монооксид азота, синтезируемый эндотелиальной NO-синтазой, играет главную роль в регуляции функции эндотелия и α_1 -адренорецепторов, расположенных в гладких миоцитах сосудистой стенки. NO, синтезируемый eNOS, увеличивает ц-ГМФ, что сопровождается снижением внутриклеточной концентрации ионов кальция гладкомышечных клеток сосудистой стенки, тем самым оказывается влияние на α_1 -адренорецепторы. Монооксид азота обеспечивает быстрое ингибирование эффекта стимуляции α_1 -адренорецепторов. Вследствие этого снижаются α_1 -адренореактивность и сократительная функция гладких миоцитов. Третья изоформа – индуцибельная NO-синтаза (iNOS). Считается, что iNOS образуется при патологических состояниях. В таком случае NO синтезируется в количествах, тысячекратно превышающих его продукцию в норме [1].

Дисфункцию эндотелиоцитов при стрессе, характеризующуюся образованием реактивных форм кислорода и гиперэкспрессией NO, рассматривают как один из механизмов нарушения тонуса артериальных сосудов. Известно, что избыточная продукция NO может приводить к угнетению сердечной деятельности, вазоконстрикторных реакций на адренореактивные стимулы и глубокому, нередко необратимому падению артериального давления не только при септическом, анафилактическом, кардиогенном, геморрагическом, тепловом и других видах шока, но и при хроническом стрессе [2]. Ряд ученых выдвинули гипотезу, в которой установили, что снижение сократительной активности гладкомышечных клеток сосудов может быть причиной развития гипертонии. Предполагают, что механизм, лежащий в ее основе, связан с задержкой крови в кровеносном русле из-за уменьшения вазоконстрикции и нарушения вазодилатации [3].

При физиологических и патологических состояниях в клетках сосудистой стенки наблюдается экспрессия генов различных изоформ NO-синтаз [1]. Активация NO-синтаз приводит к синтезу монооксида азота и, как следствие, к изменению вазоконстрикции и вазорелаксации. Однако мало изучен вопрос о вкладе различных изоформ NO-синтаз в постстрессорное изменение тонуса артериальных сосудов.

Следовательно, оценка сосудистой реактивности и знание механизмов нарушения регуляции тонуса артериальных сосудов могут быть одним из клинических инструментов для оценки вредного воздействия тяжелого стресса.

Цель исследования – определить вклад эндотелиальной и индуцибельной NO-синтаз в механизмы нарушения адренореактивности при иммобилизационном стрессе.

Материал и методы. Опыты на животных проводили в соответствии с протоколом по биоэтике и гуманному обращению с лабораторными животными, утвержденным комиссией УО «ВГМУ».

Животные были подразделены на группы: 1-я – контрольная «Контроль» (n=8); 2-я – группа животных, перенесших иммобилизационный стресс, «Стресс» (n=8).

Кольца аорты шириной по 3 мм выделяли из средней части грудной аорты. Приготовленный препарат погружали в органные ванночки объемом 12 мл. В качестве раствора для перфузии использовали раствор Кребса–Хензелята pH 7,4, t=37°C и аэрированный карбогеном (95% O₂ и 5% CO₂). В те-

чение 2-часового периода стабилизации каждые 15 минут меняли раствор, который омывал препарат аорты. Эксперимент проводили на приборе Schuler Organ bath Type 809 (Hugo Sachs Elektronik, ФРГ). Аортальные кольца сокращались в изометрическом режиме (датчик силы F30 Type372 (Hugo Sachs Elektronik, ФРГ). Вазоконстрикцию изучали путем кумулятивного введения в перфузионный раствор α_1 -адреностимулятора фенилэфрина (от 10^{-15} до 10^{-6} М). Вклад eNOS определяли, используя конкурентный ингибитор синтеза монооксида азота – метиловый эфир N-нитро-L-аргинина (L-NAME) (100 мкМ, Sigma USA). Роль iNOS изучали при помощи добавления в раствор для перфузии S-метилизотиомочевины (S-MT) (10 мкМ, Sigma, США). Чувствительность артериальных сосудов рассчитывали по величине EC₅₀, которая представляет собой концентрацию исследуемого вещества, вызывающую 50% ответную констрикторную реакцию препарата аорты.

Стресс моделировали следующим образом: животное фиксировали на предметном столике в положении на спине в течение шести часов. После этого их выпускали в клетку на 90 минут и только затем брали в эксперимент.

Концентрацию стабильных продуктов деградации NO (NO^2/NO^3) определяли в сыворотке крови. Метод основан на восстановлении нитратов до нитритов. В качестве восстановителя использовали цинковую пыль, помещенную в щелочную среду при наличии аммиачного комплекса сульфата меди. Далее нитрит-ионы выявляли фотометрическим методом (длина волны 520 нм) с помощью реакции Грисса.

Об активации перекисного окисления липидов в плазме крови судили по накоплению в ней диеновых конъюгатов и малонового диальдегида спектрофотометрическим методом. Содержание диеновых конъюгатов в пробе рассчитывали как величину молярного коэффициента экстинкции при 233 нм для сопряженных кислот [4]. Количество малонового диальдегида рассчитывали как молярный коэффициент экстинкции триметинового комплекса [5; 6].

Для выявления концентрации супероксиддисмутазы использовали набор реактивов для спектрофотометрического определения фермента. Непрямой спектрофотометрический анализ основан на применении супероксид-зависимой оксидации кверцетина (растительного флавоноида). Реакция сопровождается обесцвечиванием рабочего раствора в области пропускания с максимумом при длине волны 406 нм. Содержание фермента в сыворотке крови рассчитывается с помощью уравнения, полученного на основании калибровочного графика, приведенного в инструкции к набору.

Метод определения активности каталазы в сыворотке крови основан на способности пероксида водорода образовывать с молибдатом аммония стойкий окрашенный комплекс с максимум поглощения при 410 нм. Расчет проводили по убыли перекиси водорода. Результат выражали в мкат/л. Измерение всех показателей осуществляли на приборе спектрофлуориметра Солар «СМ2203» отечественного производителя (ЗАО «Оптика, авангардные технологии», г. Минск).

Иммуногистохимия. После фиксации грудной аорты в 10% растворе нейтрального забуференного формалина и стандартной гистологической проводки готовили серийные срезы толщиной 4–6 мкм. Для гистологического исследования использовали следующие методы окраски: гематоксилином и эозином (для обзорной микроскопии), иммуногистохимическую с применением поликлональных антител к iNOS (1:75) и eNOS (1:150) (Abcam, UK).

В качестве визуализирующей системы использовали Bond Polymer Refine Detection (Leica, UK), включающую комплекс вторичных антител и диаминобензин (ДАБ) в качестве хромогена и гематоксилин для докрасивания препаратов.

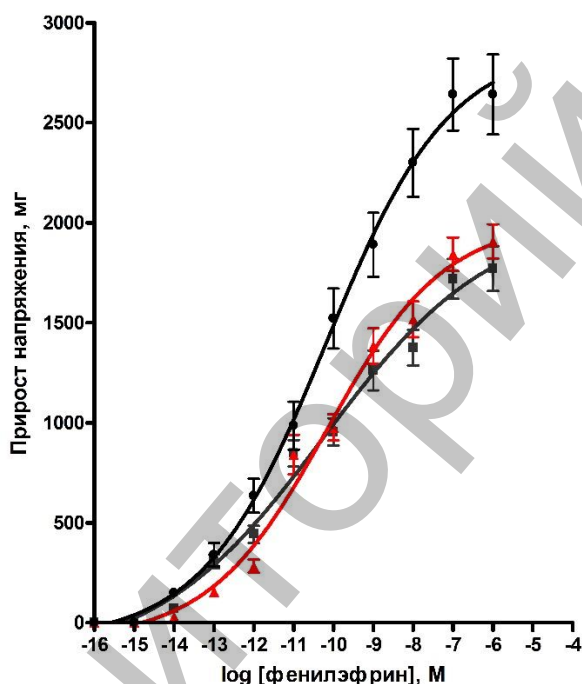
Иммуногистохимическое окрашивание исследуемого препарата осуществляли при помощи роботизированной станции – MAX Processing Module (производства Biosystems Melbourne Pty Ltd, Австралия) в соответствии с протоколами и рекомендациями Leica. После автоматизированного окрашивания препараты промывали под проточной водой, обезживали в спирте и просветляли в карбол-ксилоле и ксилоле. Затем срезы помещали в среду «Bio Mount» («Bio Optica» Milano) и накрывали покровным стеклом. Интерпретацию полученных данных проводили полуколичественным методом оценки интенсивности окрашивания препарата.

Статистический анализ данных тестировали с применением программ Microsoft Excel 2000 и STATISTICA 10.0, а также программного обеспечения GraphPad Prism (San Diego, California, USA). Величины количественных показателей в экспериментальных группах представляли как медиану (Me) и интерквартильный интервал [25%; 75%]. U-критерий Манна–Уитни использовался для определения

значимости различий между независимыми образцами. Статистические гипотезы были проверены на уровне критической значимости 5% ($p < 0,05$).

Результаты и их обсуждение. Адренергическая констрикция кольца аорты. В группе «Контроль» первичное напряжение аортального кольца составляло 1918 ± 37 мг. Дозозависимое (от 10^{-15} до 10^{-6} М) добавление фенилэфрина в раствор Кребса сопровождалось увеличением сократительного ответа гладких миоцитов аортальных сегментов крысы. В группе «Контроль» прирост напряжения изолированного сегмента определялся при концентрации адреностимулятора 10^{-13} М и составлял 15% от начального напряжения. Максимальный констрикторный эффект (94%) отмечался при концентрации фенилэфрина в ванночке 10^{-6} М.

Добавление в органную ванночку блокатора eNOS L-NAME сопровождалось выраженной констрикцией аортального сегмента при концентрации $\alpha 1$ -адреностимулятора 10^{-6} М, что составляло 142%. Этот показатель превышал контрольные значения с интактной эндотелиальной NO-синтазой на 49% (рис. 1).



Примечание: по оси абсцисс – log концентрации фенилэфрина (М); по оси ординат – сокращение в мг, в ответ на введение в перфузионный раствор фенилэфрина. * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем. ■ – группа «Контроль»; ● – «Контроль+L-NAME»; ▲ – «Контроль+S-метилизотиомочевина».

Рис. 1. Влияние возрастающих концентраций фенилэфрина на величину сократительного ответа изолированного кольца аорты контрольных животных на фоне введения L-NAME и S-метилизотиомочевины

Добавление высокоселективного ингибитора iNOS S-MT в группе животных «Контроль» не оказало воздействия на адренергическую вазоконстрикцию сегмента аорты. Подобный факт указывает на то, что в контроле основная роль в регуляции тонуса артериальных сосудов принадлежит эндотелиальной NO-синтазе. Вероятнее всего, индуцибельная NO-синтаза в контроле либо выражена слабо, либо вовсе не синтезируется.

В группе животных «Стресс» начальное сокращение аортального сегмента фиксировалось при концентрации $\alpha 1$ -адреностимулятора 10^{-13} М. Максимальный прирост напряжения наблюдался при его концентрации в органной ванночке 10^{-6} М и составлял 79% от исходного напряжения. Следовательно, в группе «Стресс» реакция на фенилэфрин была менее выражена по сравнению с контролем.

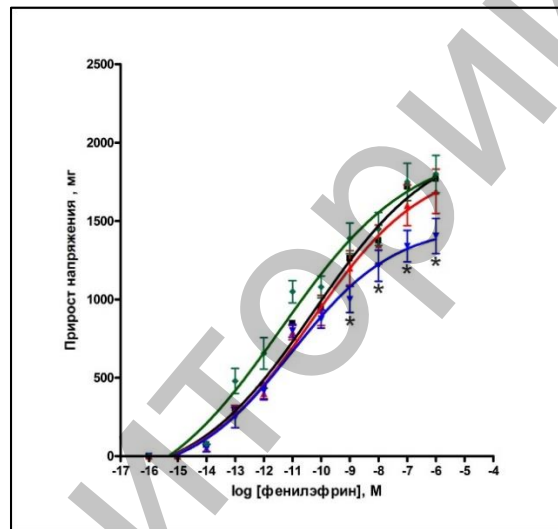
После тяжелого стресса адреночувствительность изолированного сегмента аорты увеличивалась по сравнению со значениями группы «Контроль» (табл. 1).

Влияние иммобилизационного стресса на изменение чувствительности аортальных сосудов к фенилэфрину

| Группа животных | EC ₅₀ , М | CI 95% EC ₅₀ , М |
|---------------------|-------------------------|---|
| «Контроль» (n=8) | 3,66×10 ⁻¹¹ | 2,34 – 5,70×10 ⁻¹¹ |
| «Стресс» (n=9) | 8,16×10 ^{-12*} | 5,14×10 ⁻¹² – 1,29×10 ⁻¹¹ |

Примечание: * – p=0,003 по сравнению с контролем, n – количество животных в группе.

При добавлении в раствор для перфузии изолированного сегмента аорты крыс, подвергнутых тяжелому стрессу L-NAME, прирост составил 93%, что было выражено в меньшей степени, чем в контроле с заблокированной системой эндотелиальной NO-синтазы (рис. 2). Следовательно, использование ингибитора эндотелиальной NO-синтазы ограничило вызванное стрессом нарушение адренореактивности изолированного сегмента аорты экспериментальных животных. Вероятно, индуцируемое стрессом снижение тонуса изолированного сегмента аорты отчасти зависит от увеличенной продукции NO, продуцируемого eNOS.



Примечание: по оси абсцисс – log концентрации фенилэфрина (М); по оси ординат – сокращение в мг, в ответ на введение в перфузионный раствор фенилэфрина. * – p<0,05 по сравнению с контролем. ■ – группа «Контроль»; ▼ – «Стресс»; ▲ – «Стресс+L-NAME»; ◆ – «Стресс+S-метилизотиомочевина»

Рис. 2. Влияние возрастающих концентраций фенилэфрина на величину сократительного ответа изолированного кольца аорты крыс, перенесших стресс на фоне введения в перфузионный раствор L-NAME или S-метилизотиомочевины

На следующем этапе в перфузионный раствор добавляли ингибитор iNOS S-MT. В группе животных, перенесших стресс, сокращение кольца аорты начиналось при концентрации фенилэфрина 10⁻¹³ М (прирост составил 27% от исходного напряжения, рис. 2). При концентрации α₁-адреностимулятора 10⁻⁶ М наблюдался максимальный прирост напряжения, который составлял 98% от исходного напряжения (рис. 2). Таким образом, инкубация сегмента аорты с S-MT полностью устраняла влияние стресса на сократительную реакцию, вызываемую фенилэфрином. Следовательно, снижение адренореактивности артериальных сосудов после тяжелого стресса в большей степени обусловлено увеличенной продукцией NO, продуцируемого iNOS.

Применение блокаторов как eNOS, так и iNOS не оказывало влияния на чувствительность аортальных колец к фенилэфрину в контрольной группе животных. Интересным является тот факт, что использование блокатора эндотелиальной NO-синтазы L-NAME, но не индуцибельной предупредило снижение чувствительности гладких миоцитов артериальных сосудов крыс, перенесших стресс, к α₁-адреностимулятору (табл. 2).

Можно предположить, что наряду с монооксидом азота эндотелиальной NO-синтазы на адрено-чувствительность оказывает влияние и супероксидный анион.

Таблица 2

Влияние метилового эфира N-ω-нитро-L-аргинина (L-NAME) и S-метилизотиомочевины (S-MT) на изменение чувствительности аортальных сосудов к фенилэфрину в группе животных, перенесших иммобилизационный стресс

| Группа животных | EC ₅₀ , М | CI 95% EC ₅₀ , М |
|----------------------------|-------------------------|---|
| «Контроль+S-MT» (n=8) | 5,75×10 ⁻¹¹ | 4,46×10 ⁻¹¹ – 1,02×10 ⁻¹⁰ |
| «Контроль+L-NAME» (n=8) | 6,6×10 ⁻¹¹ | 5,64 – 7,73×10 ⁻¹¹ |
| «Стресс+L-NAME» (n=8) | 6,06×10 ⁻¹¹ | 3,58×10 ⁻¹¹ – 1,02×10 ⁻¹⁰ |
| «Стресс+S-MT» (n=9) | 3,29×10 ^{-12*} | 1,89 – 5,72×10 ⁻¹² |

Примечание: * – p=0,001 по сравнению с контролем, n – количество животных в группе.

Тяжелый стресс приводил к увеличению продуктов деградации монооксида азота, сопровождался активацией свободнорадикального окисления на фоне снижения антиоксидантной активности (табл. 3).

Таблица 3

Влияние стресса на изменение концентрации продуктов деградации оксида азота (NO²/NO³), продуктов перекисного окисления липидов (ДК – диеновых конъюгатов, МДА – малонового диальдегида) и антиоксидантной активности (СОД – супероксиддисмутаза, КАТ – каталазы) в сыворотке крови животных

| Группы | Концентрация NO ² /NO ³ -мкМ в плазме крови | Концентрация ДК, нМ/г липидов в сыворотке крови | Концентрация МДА, нМ/г белка в сыворотке крови | Концентрация СОД в сыворотке крови, в У/л (ед. активности фермента) | Концентрация КАТ в сыворотке крови, в мкат/л |
|---------------------|---|---|--|---|--|
| «Контроль» (n=9) | 24,20 (21,6; 26,7) | 89,9 (87,8; 99,3) | 44,73 (39,6; 46,0) | 182,27 (169,2; 198,0) | 2,53 (2,06; 3,00) |
| «Стресс» (n=10) | 33,10 (29,9; 43,1) p=0,0007 | 140,9 (124,3; 155,5) p=0,0007 | 60,98 (53,9; 65,6) p=0,0001 | 39,0 (31,2; 46,0) p=0,0007 | 0,66 (0,66; 0,78) p=0,034 |

Примечание: p<0,05 по сравнению с группой «Контроль»; n – количество животных в группе.

При иммуногистохимическом исследовании препаратов кольца аорты контрольной группы животных изоформа eNOS была выраженной (+++) в эндотелии аорты. В средней и наружной оболочках сосуда экспрессия eNOS определялась от слабой (+) до умеренной (++). Экспрессия iNOS в сегменте аорты не устанавливалась (-).

В группе животных «Стресс» eNOS локализовалась в эндотелии аорты, ее реакция была умеренно выражена (++), в средней и наружной оболочках – слабая (+). В группе животных, перенесших стресс, iNOS локализовалась в гладкомышечных клетках аорты и в отдельных ядрах миоцитов, ее реакция была выражена слабо (+). Напротив, в эндотелии и наружной оболочке аорты наблюдалась выраженная экспрессия iNOS (+++).

Образующаяся при стрессе гиперпродукция оксида азота обусловлена синтезом iNOS. Это подтверждается гиперэкспрессией фермента iNOS в эндотелии артериальных сосудов. Следовательно, NO, продуцируемый iNOS, является основным фактором снижения адренореактивности изолированного кольца аорты крыс, перенесших тяжелый стресс. В наших исследованиях использование блокатора эндотели-

альной NO-синтазы L-NAME частично предупредило постстрессорное снижение адренореактивности изолированного кольца аорты крыс, однако полностью восстановило чувствительность к адренистимулятору. Вследствие этого мы предположили, что причина снижения адреночувствительности гладкомышечных клеток артериальных сосудов к фенилэфрину может быть связана с разобщением eNOS.

Ранее нами было показано, что длительный иммобилизационный стресс сопровождается увеличением содержания С-реактивного белка и интерлейкина 1 β . Выявленное системное воспаление низкой интенсивности может способствовать снижению экспрессии eNOS в наших исследованиях, что согласуется с результатами Schwartz et al. [7]. Снижение содержания eNOS может свидетельствовать о разобщении данного фермента [8], в результате чего eNOS, помимо NO, может производить супероксидный радикал или другие активные формы кислорода с последующим уменьшением биодоступности NO [9]. Снижение антиоксидантной активности и активация свободнорадикального окисления (увеличение концентрации ДК и МДА) косвенно подтверждают этот факт. Кроме того, наши данные можно соотнести с экспериментами, выполненными Murata и соавт. на мезентериальных сосудах кролика. Авторами было продемонстрировано, что при хроническом токсическом воздействии на мезентериальные сосуды образуемый супероксидный радикал играет важную роль в уменьшении количества $\alpha_{1(A)}$ -адренорецепторов [10].

Заключение. Полученные экспериментальные данные позволяют констатировать, что тяжелый стресс сопровождается гиперэкспрессией индуцибельной NO-синтазы при сниженной экспрессии eNOS в эндотелии артериальных сосудов. Увеличение адреночувствительности при иммобилизационном стрессе во многом обусловлено стимуляцией эндотелиальной NO-синтазы, которая в этих условиях может продуцировать не только оксид азота, но и активные формы кислорода. Монооксид азота, продуцируемый iNOS, играет ключевую роль в снижении адренореактивности артериальных сосудов при тяжелом стрессе.

Дальнейшее изучение механизмов регуляции тонуса артериальных сосудов в этих условиях будет полезным для разработки новых методов профилактики и лечения сосудистых «катастроф», вызванные окислительным и нитрозилирующим стрессом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Nitric oxide in the stress axis / M.O. López-Figueroa [et al.] // *Histol Histopathol.* – 1998. – Vol. 13. – 1243–1252.
2. Coupling of Lipoperoxidation Reactions with Changes in Arterial Blood Pressure in Hypertensive ISIAH Rats under Conditions of Chronic Stress / L.I. Kolesnikova [et al.] // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2018. – Vol. 164, № 6. – P. 712–715.
3. Li, S.H. Reduced contractile capacity of vascular smooth muscle: Another mechanism of hypertension? / S.H. Li, R.T. Hui // *Medical Hypotheses.* – 2009. – Vol. 73, № 1. – P. 62–64.
4. Recknagel, R.O. Spectrophotometric detection of lipid conjugated dienes / R.O. Recknagel, E.A. Glende // *Methods Enzymol.* – 1984. – Vol. 105. – P. 331–337.
5. Андреева, Л.И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л.И. Андреева, В.А. Кожемякин // *Лабораторное дело.* – 1988. – Т. 11. – С. 41–43.
6. Стальной, М.Д. Метод определения малонового альдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / М.Д. Стальной, Т.Г. Гаришвили // *Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Ореховича.* – М.: Медицина, 1977. – С. 66–68.
7. C-reactive protein downregulates endothelial NO synthase and attenuates reendothelialization in vivo in mice / R. Schwartz [et al.] // *Circ. Res.* – 2007. – Vol. 100, № 10. – P. 1452–1459.
8. C-reactive protein inhibits endothelium-dependent nitric oxide-mediated dilation of retinal arterioles via enhanced superoxide production / T. Nagaoka [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2008. – Vol. 49, № 5. – P. 2053–2060.
9. The role of nitric oxide on endothelial function / D. Tousoulis [et al.] // *Curr Vasc Pharmacol.* – 2012. – Vol. 10, № 1. – P. 4–18.
10. Chronic vascular toxicity of doxorubicin in an organ-cultured artery / T. Murata [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* – 2001. – Vol. 132, № 7. – P. 1365–1373.

REFERENCES

1. Nitric oxide in the stress axis / M.O. López-Figueroa [et al.] // *Histol Histopathol.* – 1998. – Vol. 13. – 1243–1252.
2. Coupling of Lipoperoxidation Reactions with Changes in Arterial Blood Pressure in Hypertensive ISIAH Rats under Conditions of Chronic Stress / L.I. Kolesnikova [et al.] // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2018. – Vol. 164, № 6. – P. 712–715.
3. Li, S.H. Reduced contractile capacity of vascular smooth muscle: Another mechanism of hypertension? / S.H. Li, R.T. Hui // *Medical Hypotheses.* – 2009. – Vol. 73, № 1. – P. 62–64.
4. Recknagel R.O., Glende E.A. Jr. Spectrophotometric detection of lipid conjugated dienes // *Methods Enzymol.* – 1984. – Vol. 105. – P. 331–337.
5. Andreyeva L.I., Kozhemyakin V.A. *Laboratornoye delo* [Laboratory Business], 1988, 11, pp. 41–43.
6. Stalnoy M.D., Garishvili T.G. *Sovremenniy metody v biokhimi* [Contemporary Methods in Biochemistry], M., Meditsina, 1977, pp. 66–68.
7. C-reactive protein downregulates endothelial NO synthase and attenuates reendothelialization in vivo in mice / R. Schwartz [et al.] // *Circ. Res.* – 2007. – Vol. 100, № 10. – P. 1452–1459.
8. C-reactive protein inhibits endothelium-dependent nitric oxide-mediated dilation of retinal arterioles via enhanced superoxide production / T. Nagaoka [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2008. – Vol. 49, № 5. – P. 2053–2060.
9. The role of nitric oxide on endothelial function / D. Tousoulis [et al.] // *Curr Vasc Pharmacol.* – 2012. – Vol. 10, № 1. – P. 4–18.
10. Chronic vascular toxicity of doxorubicin in an organ-cultured artery / T. Murata [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* – 2001. – Vol. 132, № 7. – P. 1365–1373.

Поступила в редакцию 19.02.2019

Адрес для корреспонденции: e-mail: lazuko71@mail.ru – Лазуко С.С.