

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Кравчук Олександр Миколайович

УДК 612.143+616-092.6+615.322+616.155.2

ДИСЕРТАЦІЯ

**Вплив рівнів синтезу ендogenous сiрководню на кардіодинаміку і
судинний тонус у хворих на гіпертонічну хворобу**

Спеціальність 222 – Медицина

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ О.М.Кравчук

Науковий керівник: Сагач Вадим Федорович, член-кореспондент НАН України,
доктор медичних наук, професор, завідувач відділу

Київ – 2024

АНОТАЦІЇ

Кравчук О.М. Вплив рівнів синтезу ендogenous сiрководню на кардіодинаміку і судинний тонус у хворих на гіпертонічну хворобу. — Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 – медицина. – Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ, 2024.

Дисертаційна робота присвячена вивченню впливу рівнів сiрководню у плазмі крові пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст. (ГХ) різного віку на формування та перебіг даної патології.

За даними європейських організацій, поширеність гіпертонічної хвороби (ГХ) знаходиться в діапазоні 30-45% в загальній популяції з різким зростанням по мірі старіння. За даними ВООЗ кожна третя доросла людина на планеті має підвищений артеріальний тиск. У той же час справжня поширеність ГХ дотепер достеменно невідома, оскільки незрозуміло, як виявляти початкові стадії цього захворювання, а також які чинники є обов'язковими складовими для розвитку ГХ.

У зв'язку з цим мета наукового пошуку полягала у вивченні впливу змін рівня синтезу ендogenous сiрководню на маркери окисно-нітрозативного стресу, клінічні та функціональні показники, ультраструктуру тромбоцитів та зміни мітохондріального апарату лейкоцитів у пацієнтів різних вікових груп з гіпертонічною хворобою.

Для досягнення поставленої мети нами вирішувалися наступні завдання:

1. Оцінити пул сiрководню в плазмі крові та маркерів окисно-нітрозативного стресу, функціональні та клінічні показники, котрі є предметом вивчення в роботі, ультраструктуру тромбоцитів та мітохондріального апарату лейкоцитів у осіб контрольних груп.

2. З'ясувати динаміку вмісту сірководню в плазмі крові пацієнтів різного віку з гіпертонічною хворобою II ст. при різній тривалості застосування донора сірководню - фітопрепарату Full Spectrum Garlic (FSG - часник у капсулах).

3. Встановити зміни маркерів окисно-нітрозативного стресу в плазмі крові пацієнтів різного віку після застосування донора сірководню.

4. Оцінити вплив донора сірководню на функціональні показники серцево-судинної системи у пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст. в різних вікових групах при різній тривалості його застосування.

5. З'ясувати вплив донора сірководню на клінічні показники у пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст. в різних вікових групах при різній тривалості використання фітопрепарату.

6. Ідентифікувати вплив різної тривалості застосування донора сірководню на ультраструктуру тромбоцитів та зміни ультраструктури мітохондріального апарату лейкоцитів у пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст. в залежності від віку обстежених.

7. Вивчити вплив застосування піридоксаль-5-фосфату на вміст сірководню в плазмі крові та на функціональні параметри серцево-судинної системи у пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст. старшої вікової групи.

Об'єкт дослідження - кардіодинаміка і судинний тонус у пацієнтів з гіпертонічною хворобою при різних рівнях синтезу ендogenousого сірководню.

Предмет дослідження - зміни кардіодинаміки та судинного тонусу і їх причини при різних рівнях синтезу сірководню в організмі пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст. Під час проведення досліджень застосовувалися наступні методи: загальноклінічне обстеження пацієнтів з метою визначення величин систолічного та діастолічного тиску, периферійного опору судин, хвилинного об'єму крові; лабораторні методи обстеження для визначення швидкості осідання еритроцитів, кількості еритроцитів та лейкоцитів, протромбінового індексу, рівня глюкози крові, загальної кількості холестерину

в крові, концентрації сечовини та кількості креатиніну; інструментальні методи - електрокардіографія та ехокардіографія; біохімічні методи задля визначення вмісту H_2S в плазмі крові, швидкості генерації нестабільних вільних радикалів кисню, вмісту малонового діальдегіду (МДА); спектрофотометричний метод для визначення активності кальцій залежної конститутивної NOS (сNOS) і кальцій незалежної індукбельної NOS (іNOS); електронномікроскопічний метод для вивчення ультраструктури клітин крові з подальшим застосуванням морфометричного підходу; статистична обробка результатів.

У дослідженні брали участь пацієнти (чоловіки) з вперше виявленою гіпертонічною хворобою II ст. віком 30-60 років. Вони були розподілені на 2 вікові групи: 1) 29-39 років (середній вік – $34,0 \pm 1,1$ років); 2) 40-60 років (середній вік – $50,6 \pm 1,7$ років). Контрольні групи (здорові чоловіки без ознак ГХ) були рандомізовані за віком. Кожна з обстежених груп складалася з 10 осіб.

Обстеження кожного пацієнта проводилося у 4 етапи: 1) перед початком дослідження; 2) після отримання стандартного курсу лікування основного захворювання (ГХ), яке тривало два тижні. Стандартна терапія включала інгібітори ангіотензинперетворювального ензиму (АПЕ) (еналаприл, раміприл, периндоприл) та бета-блокатори (небіволол, бісопролол); 3) після 2-тижневого курсу специфічного лікування; 4) після місячного курсу специфічного лікування. Останнє полягало у екзогенному (per os) додаванні до традиційної терапії ГХ донора сірководню у дозі 400 мг на добу, - котрий містився у фітопрепараті Full Spectrum Garlic (FSG - часник у капсулах) (Swanson Health Products, США). Курс прийому фітопрепарату становив 30 днів, під час якого пацієнти обстежувалися двічі – через 2 тижні та в кінці лікування; 5) після 2-тижневого курсу лікування, в якому до традиційної терапії додавали піридоксаль-5-фосфат (PLP, Solgar США) у дозі 100 мг/добу.

У дисертаційній роботі вперше показано, що фітопрепарат (часник у капсулах) в ролі донора сірководню здатний підвищувати концентрацію H_2S в

плазмі крові не тільки в залежності від тривалості вживання, але й від віку пацієнтів з гіпертонічною хворобою. Вперше доведена антирадикальна та антиоксиданна дія досліджуваного фітопрепарату, що реалізується у зменшенні маркерів ПОЛ, у гальмування нитрозативного стресу. Причому встановлено, що дані процеси більш виражені у старших пацієнтів з гіпертензією. Було встановлено наявність протизапального ефекту фітопрепарату незалежно від віку пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст., проте в залежності від тривалості його застосування. Охарактеризовані при гіпертонічній хворобі II ст. ультраструктурні зміни в клітинах крові – тромбоцитах та лейкоцитах. Показано, що встановлені зміни вказують на зростання ризику тромбоутворення у пацієнтів та на компенсаторну реакцією, спрямовану на зниження судинного тонуусу через зменшення резервів серотоніну в крові. Вперше продемонстровано розвиток мітохондріальної дисфункції в лейкоцитах у пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст., а також встановлений той факт, що при даній патології має місце виражена активація ультраструктурних ознак мітофагії. Отримано результати, котрі вказують на позитивний вплив донора сірководню на ультраструктуру тромбоцитів та мітохондрій в лейкоцитах, з різним ступенем вираженості процесів в залежності від тривалості терапії та віку пацієнтів. Виявлено, що клітинні реакції більш активні при меншій тривалості впливу донора сірководню у осіб молодшого віку. Підтверджено, що PLP у осіб старшого віку з гіпертонічною хворобою II ст. може справляти на досліджувані показники ефект, подібний до отриманого при застосуванні фітопрепарату донора сірководню.

Результати роботи мають як фундаментальне значення, оскільки розширюють існуючі уявлення про залучення H_2S у механізми розвитку та перебігу гіпертонічної хвороби, так і прикладне значення.

Дані, наведені у дисертаційному дослідженні, демонструють суттєву нормалізацію вмісту сірководню у плазмі крові пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст., покращення функціональних та клінічних лабораторних

показників, зменшення маркерів окисно-нітрозативного стресу, поліпшення ультраструктури тромбоцитів та значну нормалізацію стану мітохондріального апарату лейкоцитів під впливом фітопрепарату – донора сірководню. Практичне значення роботи полягає у тому, що на основі отриманих результатів показана можливість використання препарату часнику як для нормалізації зниженого при гіпертонічній хворобі II ст. вмісту сірководню, так і у якості м'якого антитромботичного і гіполіпідемічного засобу. Важливим є встановлення необхідності приймати до уваги при застосуванні препарату не тільки тривалості терапії, але й віку пацієнтів задля отримання передбачених позитивних результатів. Для практичної медицини важливим є встановлений факт подібності виявлених позитивних ефектів при використанні в комплексній терапії гіпертонічної хвороби донорів сірководню - фітопрепарату часнику і кофакторів сірководеньсинтезуючих ферментів - піридоксаль-5-фосфат (вітаміна B₆).

Ключові слова: гіпертонічна хвороба, сірководень, фітопрепарат часнику, піридоксаль-5-фосфат, нітрозативний стрес, вільнорадикальні процеси, скоротлива та насосна функція міокарда, тромбоцити, лейкоцити, мітохондріальна дисфункція.

Kravchuk O.M. Influence of levels of endogenous hydrogen sulfide synthesis on cardiodynamics and vascular tone in patients with arterial hypertension. – Manuscript. A dissertation submitted to acquire the degree of Candidate of Science in Medicine (PhD), specialty – 222 – Medicine – Bogomoletz Institute of Physiology NASU, Kyiv, 2024.

The dissertation presents a study of the influence of hydrogen sulfide levels in the blood plasma of patients with arterial hypertension (AH) of different ages on the formation and course of this pathology.

According to European organizations, the prevalence of hypertension is in the range of 30-45% in the general population with a sharp increase with age. According to the WHO, every third adult on the planet has high blood pressure. At the same time, the true prevalence of arterial hypertension is still unknown, as it is unclear how to detect the initial stages of the disease, as well as what factors are necessary components for the development of hypertension.

Therefore, the aim of the research was to study the effect of changes in the level of endogenous hydrogen sulfide synthesis on markers of nitric oxidative stress, clinical and functional parameters, platelet ultrastructure and changes in the mitochondrial apparatus of leukocytes in patients of different ages with arterial hypertension.

To achieve this aim we solved the following tasks:

1. To evaluate the pool of hydrogen sulfide in blood plasma and markers of oxidative-nitrosative stress, functional and clinical indicators that are the subject of study, the ultrastructure of platelets and mitochondrial apparatus of leukocytes in control groups.
2. To determine the dynamics of hydrogen sulfide content in the blood plasma of patients of different ages with arterial hypertension under different duration of use of a hydrogen sulfide donor - phytopreparation Full Spectrum Garlic (FSG - garlic in capsules).
3. To establish changes in markers of oxidative-nitrosative stress in the blood plasma of patients of different ages after the use of a hydrogen sulfide donor.
4. To evaluate the effect of hydrogen sulfide donor on functional parameters in patients with hypertension in different age groups with different duration of its application.
5. To find out the influence of a hydrogen sulfide donor on clinical indicators in patients with arterial hypertension in different age groups with different duration of phytopreparation use.

6. To identify the effect of different duration of hydrogen sulfide donor on platelet ultrastructure and changes in the ultrastructure of the mitochondrial apparatus of leukocytes in patients with arterial hypertension depending on the age of the subjects.

7. To study the effect of PLP on the content of hydrogen sulfide in blood plasma and on the functional parameters of the cardiovascular system in patients with hypertension of older age.

The object of the study is cardiodynamics and vascular tone in patients with hypertension at different levels of synthesis of endogenous hydrogen sulfide.

The subject of the study - changes in cardiodynamics and vascular tone and their causes at different levels of hydrogen sulfide synthesis in patients with arterial hypertension.

The following methods were used during the research: conducting a general clinical examination of patients to determine the values of systolic and diastolic pressure, peripheral vascular resistance, minute blood volume; laboratory examination methods to determine the erythrocyte sedimentation rate, erythrocyte and leukocyte count, prothrombin index, blood sugar level, total cholesterol, urea concentration and creatinine; used traditional instrumental methods of examination of patients - electrocardiography and echocardiography; biochemical methods to determine the content of H₂S in blood plasma, the rate of generation of unstable oxygen free radicals, the content of malonic dialdehyde (MDA); spectrophotometric method for determining the activity of calcium-dependent constitutive NOS (cNOS) and calcium-independent inducible NOS (iNOS); electron microscopic method for studying the ultrastructure of blood cells with the subsequent application of the morphometric approach; statistical processing of results.

The study involved patients (men) with newly diagnosed second-degree hypertension aged 30-60 years. They were divided into 2 age groups: 1) 29-39 years (mean age - 34.0 ± 1.1 years); 2) 40-60 years (average age - 50.6 ± 1.7 years).

Control groups (healthy men without signs of hypertension) were randomized by age. Each of the surveyed groups consisted of 10 people.

Examination of each patient was performed in 4 stages: 1) before the study; 2) after receiving the traditional course of treatment of the underlying disease - AH, which was detected during the examination for the first time. Traditional therapy included angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors (enalapril, ramipril, pyridopril) and beta-blockers (nebivolol, concor, bisoprolol); 3) after a 2-week course of specific treatment; 4) after a month of specific treatment.

The latter consisted of exogenous (per os) addition to the traditional therapy of hypertension of the donor hydrogen sulfide - 400 mg per day - which was contained in the phytopreparation Full Spectrum Garlic (FSG - garlic in capsules) (Swanson Health Products, USA). The course of phytopreparation was 30 days, during which patients were examined twice - after 2 weeks and at the end of treatment; 5) after a 2-week course of treatment, in which PLP was added to traditional therapy at 100 mg / day.

In the dissertation it is shown for the first time that the phytopreparation (garlic in capsules) as a hydrogen sulfide donor is able to increase the concentration of H₂S in blood plasma not only depending on the duration of use, but also on the age of patients with hypertension. For the first time, the antiradical and antioxidant effect of the studied phytopreparation, which is realized in the reduction of LPS markers, in the inhibition of nitrosative stress, was proved. Moreover, for the first time it was found that these processes are more pronounced in older patients with hypertension. For the first time, the presence of anti-inflammatory effect of the phytopreparation was established regardless of the age of patients with arterial hypertension, but depending on the duration of its use. Ultrastructural changes in blood cells - platelets and leukocytes - were characterized for the first time in hypertension. It has been shown that the identified changes indicate an increased risk of thrombosis in patients and a compensatory response aimed at reducing vascular tone due to a decrease in serotonin reserves in the blood. The development of mitochondrial dysfunction in

leukocytes under hypertension was demonstrated for the first time, and the fact was established that in this pathology there is a pronounced activation of ultrastructural signs of mitophagia. For the first time, results were obtained that indicate a positive effect of a hydrogen sulfide donor on the ultrastructure of platelets and mitochondria in leukocytes, with varying degrees of severity depending on the duration of therapy and age of patients. It was found that cellular reactions are more active and with a shorter duration of exposure to hydrogen sulfide donor are expressed in younger people. It was found that cellular reactions are more active and with a shorter duration of exposure to hydrogen sulfide donor are expressed in younger people. For the first time it was found that vitamin B₆ in the elderly people with hypertension can have an effect on the studied indicators similar to that obtained when using the phytopreparation of a hydrogen sulfide donor.

The results obtained in this work are of fundamental importance, the fragments of expansion are the discovery of the involvement of H₂S in the mechanisms of development and go through arterial drugs, and applied value. The data presented in the dissertation study show a significant normalization of the content of hydrogen sulfide in the blood plasma of patients with hypertension, improvement of functional and clinical laboratory parameters, reduction of markers of oxidative-nitrosative stress, improvement of platelet ultrastructure and significant normalization of mitochondrial apparatus of leukocytes under the influence of phytopreparation - hydrogen sulfide donor.

The practical significance of the work is that based on the obtained results the possibilities of using garlic preparation both for normalization of reduced hydrogen sulfide content in arterial hypertension and as a mild antithrombotic agent for signs of hypertension and hypercholesterolemia are shown. It is important to establish the need to take into account when using the drug not only the duration of therapy, but also the age of patients in order to obtain the expected positive results. For practical medicine the established fact of similarity of the revealed positive influences at use in

complex therapy of arterial hypertension and the donor of hydrogen sulfide and PLP is important.

Key words: arterial hypertension, hydrogen sulfide, garlic phytopreparation, PLP, nitrosative stress, free radical processes, contractile and pumping function of the myocardium, platelets, leukocytes, mitochondrial dysfunction.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

В яких опубліковані основні результати роботи:

1. Kravchuk A.N., Rozova E.V. The influence of hydrogen sulfide on the structural characteristics of leukocytes mitochondrial apparatus in patients with arterial hypertension. *Reports of Morphology*. 2019; 25 (4): 30-35. DOI: 10.31393/morphology-journal-2019-25(4)-05

2. Kravchuk A., Rozova K. Changes in the structural characteristics of platelets and leukocytes in patients with arterial hypertension under the influence of a hydrogen sulfide donor. *EUREKA: Health Sciences*. 2020; (3): 33-40. DOI: 10.21303/2504-5679.2020.001288

3. Кравчук О.М., Гошовська Ю.В., Коркач К.П., Сагач В.Ю. Фітопрепарат часнику знижує артеріальний тиск і зменшує окисний стрес, збільшуючи вміст H₂S у плазмі крові у пацієнтів з артеріальною гіпертензією. *Фізіол. журн*. 2020; 66 (4): 55-63. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz66.04.055>

4. Kravchuk O.M., Goshovska Y.V., Korkach Y.V., Sagach V.F. Garlic supplement lowers blood pressure in 40-60 years old hypertensive individuals, regulates oxidative stress, plasma cholesterol and protrombin index. *J Cardiovasc Med Cardiol*. 2021; 8 (2): 41-47. DOI. <https://dx.doi.org/10.17352/2455-2976.000168>

Які засвідчують апробацію матеріалів дисертаційного дослідження:

1. Kravchuk A. Features of changes in the mitochondrial apparatus of leukocytes in patients with arterial hypertension when applied with therapeutic purpose of hydrogen sulfur donor. London, UK; 02-06 November, 2020: 310-313.

2. Кравчук О.М. Зміни маркерів окисно-нітрозативного стресу в плазмі крові пацієнтів з артеріальною гіпертензією після застосування фітопрепарату донора сірководню. Vancouver, Canada; 23-26 November, 2020: 439-453.

3. Кравчук О.М. Вплив попередника утворення сірководню на зміни артеріального тиску та мітохондріальну дисфункцію у пацієнтів з артеріальною гіпертензією. IV International Scientific and Practical Conference “Priority directions of science and technology development”. Kyiv, Ukraine; 20-22 December, 2020: 134-140.

4. Кравчук О.М. Порівняльна характеристика впливу донора сірководню та піридоксаль-5-фосфат на функціональні параметри серцево-судинної системи при артеріальній гіпертензії. Наукові тренди постіндустріального суспільства. Суми, Україна, 31 березня, 2023: 255-258

ЗМІСТ

	Стор.
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	16
ВСТУП	18
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛТЕРАТУРИ	26
1.1. Сучасна уява про механізми розвитку гіпертонічної хвороби	26
1.2. Ендогенний сірководень – властивості та фізіологічні впливи	40
1.3. Сучасні уявлення про роль ендогенного сірководню в розвитку змін в серцево-судинній системі і в механізмах формування гіпертензивних станів	48
1.4. Вплив екзогенних донорів на утворення ендогенного сірководню	55
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ	63
2.1. Об'єкт дослідження	63
2.2. Дизайн клінічного обстеження	64
2.3. Методики загальноклінічного обстеження	65
2.4. Методики вивчення біохімічних показників	66
2.5. Підготовка препаратів для електронномікроскопічного вивчення ультраструктури клітин крові (лейкоцитів та тромбоцитів)	68
2.6. Морфометричне вивчення ультраструктури клітин крові	69
2.7. Статистична обробка результатів	69
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ	70
3.1. Зміни вмісту ендогенного сірководню в плазмі у пацієнтів різного віку з гіпертонічною хворобою II ст. при різній тривалості застосування донора сірководню	70
3.1.1. Вміст сірководню в плазмі крові пацієнтів з гіпертонічною хворобою молодшої вікової групи після застосування донора	71

сірководню	
3.1.2. Вміст сірководню в плазмі крові пацієнтів з гіпертонічною хворобою старшої вікової групи після застосування донора сірководню	72
3.2. Особливості змін маркерів окисно-нітрозативного стресу в плазмі крові пацієнтів різного віку після застосування донора сірководню	74
3.2.1. Маркери у пацієнтів з гіпертонічною хворобою молодшої вікової групи після застосування донора H ₂ S	75
3.2.2. Маркери у пацієнтів з гіпертонічною хворобою старшої вікової групи після застосування донора H ₂ S	77
3.3. Вплив різної тривалості застосування донора сірководню на ультраструктуру клітин крові у пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст. в залежності від віку обстежених	81
3.3.1. Ультраструктура тромбоцитів у пацієнтів різного віку з гіпертонічною хворобою II ст.	82
3.3.2. Зміни ультраструктури мітохондріального апарату лейкоцитів у пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст. під впливом донора сірководню	89
3.4. Зміни лабораторних і функціональних показників у пацієнтів з гіпертонічною хворобою в різних вікових групах під впливом донору сірководню	98
3.4.1. Вплив донора сірководню на лабораторні показники та функціональні параметри серцево-судинної системи у пацієнтів з ГХ молодшої вікової групи	98
3.4.1.1. Зміни лабораторних показників у пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст.	98
3.4.1.2. Зміни функціональних показників серцево-судинної	

системи у пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст.	100
3.4.2. Вплив донора сірководню на лабораторні показники та функціональні параметри серцево-судинної системи у пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст. старшої вікової групи	102
3.4.2.1. Лабораторні показники крові у пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст.	102
3.4.2.2. Зміни функціональних показників серцево-судинної системи у пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст.	105
3.4.3. Вплив застосування PLP на вміст сірководню в плазмі крові та на функціональні параметри у пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст. старшої вікової групи	107
РОЗДІЛ 4. ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	113
ВИСНОВКИ	124
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	127

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

- АГ** – артеріальна гіпертензія
- АТ** – артеріальний тиск
- ГХ** – гіпертонічна хвороба
- ДАТ** – діастолічний артеріальний тиск
- ДКЛ** - довгий курс лікування
- ЕР** – ендоплазматичний ретикулум
- ЗПОС** – загальний периферичний опір судин
- ІС** – імунна система
- ККЛ** - короткий курс лікування
- Л** – лейкоцити
- МД** – мітохондріальна дисфункція
- МДА** – малоновий діальдегід
- МХ** – мітохондрії
- МХА** – мітохондріальний апарат
- ОЦК** - об'єм циркулюючої крові
- ПО** – периферичний опір
- ПОЛ** – перекисне окислення ліпідів
- ПТ** – пульсовий тиск
- САТ** - систолічний артеріальний тиск
- СДТ** – середньодинамічний тиск
- Т** – тромбоцити
- ХОК** - хвилинний об'єм крові
- ЧСС** – частота серцевих скорочень
- ШОЕ** - швидкості осідання еритроцитів
- eNOS** - кальцій залежна конститутивна NOS
- H₂S** – сірководень
- D** - середній діаметр мітохондрій

dn - кількість структурно пошкоджених мітохондрій

iNOS - кальцій не залежна індукбельна NOS

n – загальна кількість мітохондрій

O₂·- супероксидний аніон-радикал

PLP - піридоксаль-5-фосфат

ВСТУП

Артеріальна гіпертензія (АГ) на сьогоднішній день привертає значну увагу не тільки лікарів, а й загалом практично усього населення планети, оскільки за даними ВООЗ кожна третя доросла людина на планеті має підвищений артеріальний тиск (АТ).

Є серйозні розбіжності щодо розповсюдження АГ в різних країнах і вікових групах. Так за даними того ж ВООЗ, поширеність підвищеного АТ в усьому світі становить 29,2 % у чоловіків і 24,8 % у жінок [209]. За даними ж європейських організацій, поширеність АГ знаходиться в діапазоні 30-45 % в загальній популяції з різким зростанням по мірі старіння [76]. У той же час справжня поширеність АГ дотепер достеменно невідома, оскільки незрозуміло, як виявляти початкові стадії цього захворювання.

Історично, з середини XVIII століття завдяки роботам англійського ченця Стефана Хейлса (Stephen Hales, 17) котрі доводили, що кров в артеріях знаходиться під значним тиском, і дотепер представники науки та медицини наполегливо намагалися і намагаються зрозуміти, що означає для людини підвищений АТ.

Г.Ф. Ланг в 1922 році запропонував термін «гіпертонічна хвороба» замість розповсюдженого на той час поняття «есенціальна артеріальна гіпертонія», що повинно було підкреслювати виключну роль високого АТ при захворюваннях серцево-судинної системи (на відміну від симптоматичних АГ) [24]. Отже, поняття АГ стали переважно пов'язувати з серцево-судинним ризиком без вказівки на можливі причини, що призвели до підвищення АТ.

З 2013 р. поняття АГ асоційоване з рівнем АТ таким чином: «під терміном "артеріальна гіпертонія" мають на увазі синдром підвищення систолічного артеріального тиску (САТ) вище 140 мм рт. ст. і / або діастолічного АТ (ДАТ) вище 90 мм рт. ст.» [1].

В ході численних досліджень до теперішнього часу отримано багато інформації щодо АГ. Зокрема, були відкриті не тільки молекулярні фактори, що визначають рівні АТ, але й гени, відповідальні за вироблення і регуляцію дії таких молекул. За даними всесвітньо прийнятого підручника Т. Харрісона (Т. Harrison) [95], приблизно в 6 % випадків АГ є симптомом певних захворювань, а в 94 % випадків її причину виявити досить складно.

Таким чином, АГ залишається одним з найбільш розповсюджених захворювань. Необхідні нові підходи до вивчення її патогенезу, клінічних проявів та лікування, що має дозволити знизити смертність від серцево-судинних захворювань і збільшити тривалість життя багатьох пацієнтів з АГ.

Актуальність. Незважаючи на те що ГХ є одним з найбільш досліджуваних терапевтичних захворювань, до сих пір багато проблем, пов'язаних з нею, залишаються невирішеними. Наприклад, практично не вивчено, які фізіологічні або патофізіологічні процеси є причинами нестабільності АТ або загострення ГХ. Існує кілька точок зору на механізми розвитку останньої. На нашу думку, цікавим та перспективним в плані обрання тактики лікування ГХ є розуміння того, що відправним моментом формування АГ служить патологія мембран - формування дисфункції цитоплазматичних мембран і мембран мітохондрій (МХ), що призводить до формування мітохондріальної дисфункції, котра супроводжує та є причиною розвитку гіпертензивних станів. Зміна організації мембран тягне за собою появу структурних змін органел і цілих клітин, котрі безпосередньо призводять, зокрема, до порушення функціонування серцево-судинної системи. Причиною цього може бути формування хибного кола, котре полягає в наступному. Підвищення цитоплазматичної концентрації вільного кальцію через мембранні порушення призводить до його посиленого надходження в МХ. Акумуляція надлишку Ca^{2+} в мітохондріях порушує їх основну функцію синтезу АТФ [167]. В свою чергу, дефіцит утворення АТФ в МХ у пацієнтів зі схильністю до АГ призводить до порушення функції АТФ-залежних ферментів [127]. В той же

час, мітохондріальна дисфункція серед багатьох фізіологічних та патофізіологічних характеристик, таких як зниження мембранного потенціалу мітохондрій і ступеня спряження процесів окиснення і фосфорилування, супроводжується зниженням порога відкриття мітохондріальної пори і збільшенням її чутливості до індуктора Ca^{2+} . Як результат - втрата енергії та тканинні ушкодження, котрими супроводжується АГ [10, 40].

Традиційно однією з основних проблем практичної медицини є лікування хворих з ГХ. Наявність великої кількості лікарських препаратів і методів зниження АТ вказує на той факт, що дотепер немає високоефективних ліків, які могли бвилікувати пацієнтів з ГХ, і не зважаючи на значну увагу медичної науки до винайдення нових ефективних методів лікування та профілактики, все ще залишається багато питань.

Наприклад, є підстави вважати, що у виникненні ГХ значну роль відіграє сірководень. На теперішній час ведеться вивчення ролі H_2S в патогенезі різних захворювань, таких як нейродегенеративні хвороби, цукровий діабет, серцева недостатність. Зокрема, якщо сірководень відсутній або його концентрація в організмі знижена, сповільнюється здатність судин до розширення та виникає ризик підвищення АТ [71]. В експериментах показано, що у щурів зі спонтанною гіпертензією рівень сірководню в плазмі крові є значно меншим, ніж у щурів з нормальним АТ [56]. До механізмів дії сірководню відносять пригнічення кальційіндукованого відкриття мітохондріальної пори у кардіоміоцитах [41]. Отже, вплив на його кількість може допомогти в проблемі контролю за артеріальним тиском.

У зв'язку із зазначеним перспективними є розробки по застосуванню речовин та препаратів, які можуть виступати в якості екзогенних донорів H_2S та таких, що сприяють синтезу сірководню. При цьому підкреслюється необхідність строго дозовано використовувати такі речовини для лікування ряду захворювань, в тому числі і ГХ [154], що вимагає проведення досліджень, присвячених вивченню впливів саме рівнів ендогенного синтезу сірководню на

зміни кардіодинаміки та судинного тону, їх причини в організмі пацієнтів з ГХ, а також можливості впливу на синтез H_2S за допомогою екзогенних його донорів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота виконана в рамках наукових програм відділу фізіології кровообігу Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України «Дослідження ролі сигнальних сполук сірки в реакціях серцево-судинної системи щурів при різних станах організму» (2014-2018, № держ. реєстрації 0113U007276), «Дослідження ролі систем сірководню і глутатіону в серцево-судинній реактивності в нормі і патології» (2019-2023, № держ. реєстрації 0118U007352).

Мета дослідження. Мета роботи полягала у вивченні впливу змін рівня синтезу ендogenous сірководню на маркери окисно-нітрозативного стресу, клінічні та функціональні показники, ультраструктуру тромбоцитів та зміни мітохондріального апарату лейкоцитів у пацієнтів різних вікових груп з гіпертонічною хворобою II ст.

Завдання дослідження:

1. Оцінити пул сірководню в плазмі крові та маркери окисно-нітрозативного стресу, функціональні та клінічні показники, ультраструктуру тромбоцитів та мітохондріального апарату лейкоцитів у осіб контрольних груп.

2. З'ясувати динаміку вмісту сірководню в плазмі крові пацієнтів різного віку з гіпертонічною хворобою II ст. при різній тривалості застосування донора сірководню - фітопрепарату Full Spectrum Garlic (FSG - часник у капсулах).

3. Встановити зміни маркерів окисно-нітрозативного стресу в плазмі крові пацієнтів різного віку після застосування донора сірководню.

4. Оцінити вплив донора сірководню на функціональні показники серцево-судинної системи у пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст. в різних вікових групах при різній тривалості його застосування.

5. З'ясувати вплив донора сірководню на клінічні показники у пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст. в різних вікових групах при різній тривалості використання фітопрепарату.

6. Визначити вплив різної тривалості застосування донора сірководню на ультраструктуру тромбоцитів та зміни ультраструктури мітохондріального апарату лейкоцитів у пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст. в залежності від віку обстежених.

7. Вивчити вплив застосування піридоксаль-5-фосфату на вміст сірководню в плазмі крові та на функціональні параметри серцево-судинної системи у пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст. старшої вікової групи.

Методи дослідження: загальноклінічне обстеження пацієнтів з метою визначення величин систолічного та діастолічного тиску, периферичного опору судин, хвилинного об'єму крові; лабораторні методи обстеження для визначення швидкості досідання еритроцитів, кількості еритроцитів та лейкоцитів, протромбінового індексу, рівня цукру крові, загальної кількості холестерину в крові, концентрації сечовини та кількості креатиніну; інструментальні методи обстеження пацієнтів - електрокардіографія та ехокардіографія; біохімічні методи задля визначення вмісту H_2S в плазмі крові, швидкості генерації нестабільних вільних радикалів кисню, вмісту малонового діальдегіду (МДА); спектрофотометричний метод для визначення активності кальційзалежної конститутивної NOS (cNOS) і кальційнезалежної індукційної NOS (iNOS); електронномікроскопічний метод вивчення ультраструктури клітин крові з подальшим застосуванням морфометричного підходу; статистична обробка результатів.

Об'єкт дослідження: кардіогемодинаміка і судинний тонус у пацієнтів з гіпертонічною хворобою при різних рівнях синтезу ендогенного сірководню.

Предмет дослідження: зміни кардіогемодинаміки та судинного тонусу, їх причини при різних рівнях синтезу сірководню в організмі пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст.

Наукова новизна одержаних результатів.

В роботі вперше показано, що фітопрепарат (часник у капсулах) в ролі донора сірководню здатний підвищувати концентрацію H_2S в плазмі крові не тільки в залежності від тривалості вживання, але й від віку пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст. Вперше доведена антирадикальна та антиоксидантна дія досліджуваного фітопрепарату, що проявляється у зменшенні маркерів ПОЛ, у гальмуванні нітрозативного стресу. Причому вперше встановлено, що дані процеси більш виражені у старших пацієнтів з гіпертензією. Вперше було встановлено наявність протизапального ефекту фітопрепарату незалежно від віку пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст. проте в залежності від тривалості його застосування. Охарактеризовані при гіпертензії ультраструктурні зміни в клітинах крові – тромбоцитах та лейкоцитах. Показано, що встановлені зміни вказують на зростання ризику тромбоутворення у пацієнтів та на компенсаторну реакцією, спрямовану на зниження судинного тонуусу через зменшення резервів серотоніну в крові. Продемонстровано розвиток мітохондріальної дисфункції в лейкоцитах при гіпертензії, а також встановлений той факт, що при даній патології має місце виражена активація ультраструктурних ознак мітофагії. Вперше отримано результати, котрі вказують на позитивний вплив донора сірководню на ультраструктуру тромбоцитів та мітохондрій в лейкоцитах, з різним ступенем вираженості процесів в залежності від тривалості терапії та віку пацієнтів. Виявлено, що клітинні реакції більш активні при меншій тривалості впливу донора сірководню виражені у осіб молодшого віку. Виявлено, що піродоксаль-5-фосфат (вітамін B_6), як кофактор сірководень синтезуючих ферментів, у осіб старшого віку з гіпертонічною хворобою II ст може справляти ефект, подібний до отриманого при застосуванні фітопрепарату донора сірководню.

Теоретичне та практичне значення отриманих результатів.

Результати роботи мають як фундаментальне, так і прикладне значення,

оскільки розширюють існуючі уявлення про залучення H_2S у механізми розвитку та перебігу гіпертонічної хвороби, що може бути використано і в подальшому лікуванні даної хвороби. Перспективним є розробка і дослідження препаратів, які можуть виступати в якості екзогенних донорів сірководню, чи стимуляторів синтезу ендogenous сірководню.

Дані, наведені у дисертаційному дослідженні, демонструють нормалізацію вмісту сірководню у плазмі крові пацієнтів з гіпертонічною хворобою, покращення функціональних та клінічних лабораторних показників, зменшення маркерів окисно-нітрозативного стресу, поліпшення ультраструктури тромбоцитів та значну нормалізацію мітохондріального апарату лейкоцитів під впливом фітпрепарату – донора сірководню. Практичне значення роботи полягає у тому, що на основі отриманих результатів показана можливість використання препарату часнику як для нормалізації зниженого при гіпертонічній хворобі вмісту сірководню, так і у якості м'якого антитромботичного засобу при ознаках гіпертонії і гіперхолестеринемії. Важливим є встановлення необхідності приймати до уваги при застосуванні препарату не тільки тривалості терапії, але й віку пацієнтів задля отримання передбачувальних позитивних результатів. Для практичної медицини важливим є встановлений факт подібності позитивних впливів при використанні в комплексній терапії гіпертонічної хвороби донора сірководню і кофактора стимуляції H_2S синтезуючих ферментів (вітаміна B_6).

Особистий внесок здобувача. Опрацювання літературних джерел, формулювання дизайну досліджень та інтерпретація отриманих результатів проводилась здобувачем особисто за участі керівника наукової роботи. Клінічне, лабораторне та інструментальне обстеження пацієнтів з гіпертонічною хворобою, кількісна обробка даних, підготовка наукової роботи до друку та написання всіх розділів дисертації проводились здобувачем особисто.

Апробація результатів дисертації. Результати дослідження були представлені на 4 наукових форумах.

Публікації. За результатами роботи було опубліковано 4 статті у фахових наукових журналах, затверджених ВАК України, у тому числі 2 статті у наукових виданнях країн Євросоюзу та 4 тез доповідей на конференціях.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, викладення результатів досліджень, обговорення результатів, висновків та списку використаних джерел із 226 найменувань. Робота містить 10 таблиць, 19 рисунків. Загальний обсяг дисертації становить 150 сторінок.

РОЗДІЛ 1.

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Сучасна уява про механізми розвитку гіпертонічної хвороби

Перш за все, слід визначитися з поняттям «гіпертонічна хвороба». Термін "гіпертонічна хвороба" ввів Г.Ф.Ланг у 1922р. [24]. Він відображає суть підвищення артеріального тиску (АТ) як хворобливого стану. Причому гіпертонічна хвороба (ГХ - есенціальна артеріальна гіпертензія, первинна артеріальна гіпертензія) – це одна з форм артеріальної гіпертензії, при якій підвищення артеріального тиску не є наслідком якої-небудь відомої хвороби внутрішніх органів.

У книзі Г.Ф.Лага «Гипертоническая болезнь» (1950) вперше була висловлена і обґрунтована нейрогенна теорія етіопатогенезу ГХ. При цьому основною тезою цієї теорії було положення, що в основі захворювання лежить невроз, викликаний в свою чергу сильною і тривалою психотравмуючою ситуацією. Ця теорія на багато років стала панівною в розумінні етіопатогенезу і клінічних проявів гіпертонічної хвороби (есенціальної артеріальної гіпертензії - АГ).

Однак з плином часу стали накопичуватися факти, які не вкладалися в теорію, розроблену Г.Ф. Лангом [7].

Незважаючи на ретельні пошуки, не було виявлено «специфічного неврозу», вістря свого спрямованого на регуляцію АТ [14, 144], хоча сам факт більшої частоти виявлення невротичних порушень у хворих АГ, ніж в загальній популяції населення, багаторазово був доведений і на даний час не викликає сумнівів. При цьому, наявні на тепер дані клінічних досліджень свідчать про те, що, якщо у 60-і роки минулого сторіччя при масових вимірах АТ, наприклад в Росії АГ була виявлена в 5-6% випадків, то на зараз частота АГ серед населення

становить 40%. (тобто, за 72 роки поширеність АГ збільшилася в 20 разів) [29, 94, 161]. Надалі було висунуто декілька припущень, про те що підвищене споживання хлориду натрію (кухонної солі) є одним з основних факторів ризику розвитку АГ, поряд з такими важливими факторами ризику, як ожиріння, алкоголь і гіподинамія [161, 190].

Наведені вище причини виникнення АГ носять до певної міри умозрівальні ознаки, оскільки не враховують тонкі механізми, котрі впливають на зміни АТ. До останніх років вивчення таких механізмів було неможливим через недостатність методичної бази для проведення досліджень. Натепер побудовано досить струнку теорію розвитку АГ.

Отже, слід, в першу чергу, навести класичне уявлення, про те що артеріальний тиск (АТ), відповідно до формули Франка, прямо пропорційний хвилинному об'єму крові та загальному периферичному судинному опору. Останній залежить, головним чином, від тонусу резистивних судин, а в патологічних умовах - також і від органічних та структурних змін в судинній стінці. Всі ланки нейрогуморальної системи, які впливають на ОЦК, показники серцевого викиду, тонус артеріол і стан судинної стінки є регуляторами АТ [65, 180].

У здорових людей рівень АТ відрізняється достатньою стійкістю, не дивлячись на те, що в житті кожної людини неодноразово виникають обставини або умови, що сприяють виникненню гіпертензивних реакцій (негативні емоції, нервові перенапруження, рефлекторні дії, надмірне споживання кухонної солі, вікова гормональна перебудова і т.п.). Така збалансованість одного з найважливіших показників кровообігу забезпечується багатьма факторами, розбалансування котрих і може призводити до формування ГХ.

Обговорюючи проблеми патогенезу АГ з сучасних позицій, можна сказати, що АГ - мультифакторне захворювання, що розвивається як порушення процесів адаптації людини до умов навколишнього середовища за умови генетичних зумовлених поломок механізмів регуляції АТ і на тлі

закономірно виникають патофізіологічних та інволютивних процесів в організмі, які можуть вплинути на механізми регуляції АТ. У 2003 р. Європейське товариство з вивчення АГ і Європейське кардіологічне товариство в своїх ререкомендаціях відзначили, що АГ є прогресуючим серцево-судинним синдромом, що виникає в результаті наявності комплексу взаємопов'язаних етіологічних чинників [76],

Зрозуміло, що на теперішній час вирізняють низку механізмів, які відповідають за підтримання рівня АТ та його зміни [14]. Ми наведемо стисло характеристику основних з них, з метою формування розуміння неповноти картини формування ГХ та місця молекулярних механізмів, котрі задіяні у регуляції та розвитку патологічних змін в серцево-судинній системі.

Навіть перелік причин та механізмів розвитку ГХ та підвищення АТ свідчить про складність розвитку перебігу процесів.

Концепції розвитку АГ, в котру залучені різнорівневі механізми були сформована ще у 80-90-х роках минулого сторіччя [9, 115]. Проте вивчення патогенезу гіпертонічної хвороби триває. На теперішній час прийнято розрізняти такі можливі механізми підвищення артеріального тиску, котрі однак ймовірно не охоплюють усі причини підвищення АТ. Ми намагалися проаналізувати і навести найбільш важливі з тих механізмів, котрі на теперішній час найчастіше розглядають як у суто науковій, так і у медичній літературі.

1) Переміщення рідини в капілярах. Швидке і значне збільшення ОЦК призводить до підвищення артеріального та внутрішньокапілярного тиску [32, 59].

2) Баланс електролітів: затримка натрію в організмі призводить до затримки води, збільшення ТВЖ і ОЦК. Крім того, накопичення натрію в судинній стінці веде до звуження просвіту судин і сенсibiliзує гладенькі елементи до впливу пресорних агентів. Калій в фізіологічних концентраціях має депресорні ефекти, а в високих - вазоконстрикторним. Дефіцит

двовалентних катіонів - позаклітинного кальцію і магнію - потенціює гіпертензивний ефект натрію [11, 14].

3) Реологічні властивості крові. Відповідно до формули Пуазейля, кровоток обернено пропорційний в'язкості крові. При збільшенні останнього показника зростає тиск в судинах. Гемореологічні порушення виникають на ранніх етапах становлення артеріальної гіпертензії та відіграють важливу роль в підвищенні загального периферичного опору і артеріального тиску. Гемореологічні зміни в значній мірі обумовлені підвищенням агрегації тромбоцитів і еритроцитів, зниженням здатності еритроцитів до деформування. Істотну роль в розвитку реологічних порушень відіграють підвищення концентрації фібриногену плазми, депресія фібринолізу, підвищення активності фактора Віллебранда [123, 126].

4) Ренін-ангіотензинова система приймає активну участь у змінах АТ. Під впливом ангіотензин-перетворюючого ферменту ангіотензин I переходить в біологічно активний ангіотензин II, який є одним з найбільш потужних вазопресорів. В даний час доведено існування не тільки ренін-ангіотензинової система судинного русла, а й судинної стінки і серцевого м'яза [52, 97]

5) Мінералокортикоїди. Затримують в організмі натрій і воду, збільшують втрату калію, а також здійснюють пряму пресорну дію на судини [194].

6) Глюкокортикоїди, такі як кортизол сприяють підвищенню АТ за рахунок центральної дії (активація симпатичної нервової системи), сенсibiliзації адренорецепторів судин, гальмування вироблення ендотеліального фактора релаксації і прямого ефекту на судинну стінку [187].

7) Вазопресин справляє антидиуретичну дію. Високі нефізіологічні дози вазопресину викликають спазм артеріол. Проте вважають, що *in vivo* вазопресин не підвищує кров'яний тиск, що побічно підтверджується відсутністю гіпертензії при синдромі Пархона (надлишкової продукції АДГ) [14].

8) Тромбоксан стимулює вазоконстрикцію і агрегацію формених елементів крові, регулюючи, головним чином, регіонарний кровоток [28, 61].

9) Ендотеліальні фактори. Ендотелій має власну гуморальну систему регуляції судинного тонуусу. Крім простацикліну, з ендотелію виділені фактори релаксації судин і пептид ендотелін, що є одним з найбільш сильних вазоконстрикторів [39, 208].

10) Інсулін, справляє неоднозначний вплив на гемодинаміку. Відомо, що під впливом інсуліну на нирки в організмі відбувається затримка натрію і води, крім того, інсулін активує симпатичну нервову систему. У той же час інсулін має слабку депресорну дію на судини і зменшує вазоконстрикцію, викликану норадреналіном. У частини хворих з ГХ велике значення для формування і прогресування АГ набувають ожиріння і характерні для нього порушення жирового, вуглеводного і інсулінового обмінів. Як відомо, клітини жирової тканини (адіпоцити) істотно змінюють метаболізм і втрачають чутливість до звичайних фізіологічних стимулів - дії катехоламінів, ангіотензину, інсуліну, симпатичним стимулам і т.п. В результаті резистентності тканин до дії інсуліну у хворих ожирінням, як правило, виявляють підвищений рівень інсуліну (гіперінсулінемію). Як відомо, гіперінсулінемія супроводжується:

- підвищенням активності симпато-адреналової системи;
- активацією ренін-ангіотензинової системи, затримкою Na^+ і води в організмі;
- стимуляцією розвитку гіпертрофії судинної стінки.

Всі три чинники є найважливішими механізмами формування та прогресування АГ. В останні роки багато уваги приділяється вивченню клінічної картини і патогенезу так званого «метаболічного синдрому», в основі якого лежить, як відомо, ожиріння, інсулінорезистентність, гіпертригліцеридемія і АГ.

У зв'язку з цим Н.М. Каплан запропонував називати поєднання таких факторів ризику як ожиріння, інсулінорезистентність, гіпертригліцеридемія і АГ

«смертельним квітетом» [115]. Інсулінорезистентність і гіперінсулінемія розглядаються на теперішній час як пускові фактори, котрі ініціюють цілий ряд механізмів, що призводять в остаточному рахунку до розвитку на тлі ожиріння гіперліпідемії та АГ [74, 140, 141, 150].

11) Порухення транспорту катіонів через клітинну мембрану. У минулому столітті було показано, що у хворих на есенціальну АГ спостерігається значне підвищення проникності мембран для одновалентних іонів (Na^+ , Li^+ та ін.), що призводить до збільшення внутрішньоклітинної концентрації іонів Na^+ і Ca^{2+} . Цьому сприяє також зменшення зв'язування внутрішньоклітинного Ca^{2+} і виведення його з клітки. В результаті зростає внутрішньоклітинна концентрація Ca^{2+} і Na^+ , також тонус гладкої мускулатури судинної стінки, підвищується загальний периферійний опір. Деякі дослідники вважають, що саме ці дефекти мембранного транспорту Ca^{2+} і Na^+ лежать в основі спадкової схильності до виникнення АГ [44, 183, 192].

12) Ремоделювання серця - порушення структури і функції серця у відповідь на пошкодження, перевантаження або втрату частини життєздатного міокарда. Фактори, що стимулюють ремоделювання серця при артеріальній гіпертензії: ангіотензін II, альдостерон, ендотелін, кальцій, фактор росту фібробластів, фактор росту тромбоцитів [78].

13) Ремоделювання судини є наслідком артеріальної гіпертензії і причиною її прогресування. Ендотелій судин синтезує вазоактивні речовини, в тому числі - вазоконстриктори і проагреганти (ангіотензін II, ендотелін 1, 2, 3, тромбоксан А2, простагладіна F2 α , лейкотриєн С4, лейкотриєн Д4) [47].

Отже, на сьогодні розроблено патогенетичні концепції АГ, що по суті, об'єднують всі наявні теорії і багато в чому пояснюють гетерогенність природи і різноманітність клінічних форм ГХ [162]. Існує також думка, що АГ - це результат взаємодії спадкових факторів, що сприяють розвитку захворювання, і різних зовнішніх впливів, що реалізують таку можливість [26, 67]. «ГХ

представляється одночасно «хворобою регуляції» і «хворобою (формою) компенсації (приспособлення)» [8].

Одна з можливих концепцій патогенезу АГ:

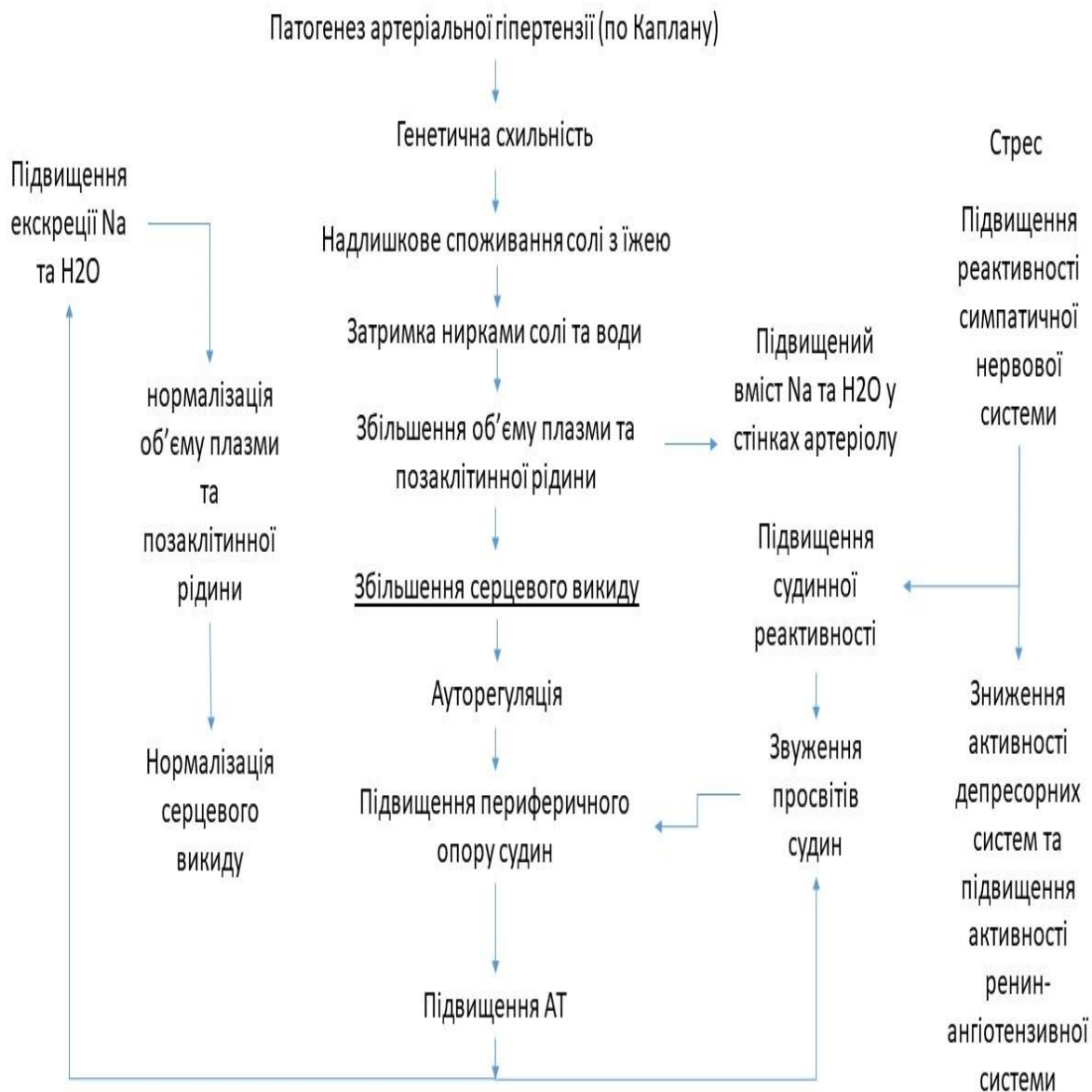


Рис. 1.1. Патогенез артеріальної гіпертензії [за 2].

Проте, як видно зі схеми, такий погляд на механізми формування ГХ та підвищення АТ міг задовольняти науковців та клініцистів до певного часу, до розробки нових методичних та теоретичних підходів до розуміння проблеми. В кінці минулого століття стало зрозуміло, що порушення нейрогуморальної регуляції роботи серця і судин призводять до ендотеліальної дисфункції, розвитку АГ з ураженням органів мішеней, що лежить в основі серцево-судинних ускладнень. Цей послідовний ланцюг подій – прогресування серцево-судинних захворювань від факторів ризику до загибелі хворого - знайшов своє відображення в теорії серцево-судинного континууму. Автори цієї теорії - V. Dzau, E. Braunwald (1991) [73], проаналізувавши і підсумувавши фундаментальні відкриття в кардіології кінця ХХ в., знайшли пояснення багатьох актуальних клінічних проблемам розвитку і прогресування ГХ [145].

В останні десятиліття показано, що перелік патогенетичних чинників, що обумовлюють підвищення АТ, не вичерпується. Стрімкий розвиток наукових технологій дозволив виявити нові клітинні та молекулярні рівні патогенеза АГ і визнати можливість розвитку самих різних його сценаріїв, ініційованих як окремими пусковими факторами, так і їх комбінаціями, які можна розглядати в контексті патогенетичного континууму (нерозривність процесів, наступність у розвитку патології). У разі АГ континуум охоплює не тільки системи, котрі безпосередньо реалізують гемодинаміку: серцево-судинну систему, кров і нирки, що регулюють циркуляцію та ОЦК. Як вважають, «перепрограмовуються» і інші системи і органи, причому на різних рівнях, участь яких раніше не припускалася. В останні роки визнана роль імунної системи, стресу ендоплазматичного ретикулуму, метаболічної дизрегуляції і епігенетичних механізмів в патогенезі АГ [107, 160, 161, 205].

Таким чином, існують і наступні чинники розвитку АГ, як от:

14) Імунна система (ІС). В експериментальних моделях тимектомія і спленектомія, трансплантації клітин тимуса і селезінки, як перенесення антитіл до тимусу, можуть змінювати розвиток АГ. Генетичний поліморфізм α -фактора

некрозу пухлини (α -ФНП), що трансформує фактора росту і інтерлейкін (ІЛ) 6 асоціюється з АГ. Здається парадоксальним, але деякі протизапальні препарати і імунодепресанти (наприклад, нестероїдні протизапальні засоби і циклоспорин) можуть викликати у пацієнтів АГ. У числі цитокінів, по-різному впливають на розвиток АГ α -ФНП, ІЛ-6 та ІЛ-17. Регуляторні Т-клітини справляють протективний ефект при АГ, мабуть через індукцію і утворення ІЛ-10 [60, 138, 160].

Стан ІС і впливу її на розвиток АГ розглядають як процес формування двоступеневої моделі АГ. Передбачається, що на першому етапі гіпертензивні фактори викликають помірне підвищення артеріального тиску до 135-140 мм рт.ст., діючи на мозок, нирки і судинну систему. Ці початкові підйоми АТ, іменовані як предгіпертонія, викликають запальну реакцію, генеруючу неоантигени, які активують Т-клітини. Запальна реакція, що виникає, веде до входу ефекторно-подібних Т-клітин в періваскулярні простори і нирки. Відбувається також мобілізація макрофагів, частково обумовлена сигналізацією від Т-клітин. Цитокіни та інші медіатори запалення, котрі вивільняються інфільтрованими макрофагами і Т-клітинами, працюють злагоджено з гіпертензивними факторами, викликаючи судинну і ренальную дисфункцію і сприяючи вазоконстрикцію і потім ремоделювання судин. Це відповідно викликає зрушення кривої тиск - натрійурез, затримку Na^+ і перехід до другої стадії - стійкої АГ. Слід підкреслити, що запальна відповідь при АГ сильно залежить і модулюється ферментами, які генерують вільні радикали, таких як НАДФ-оксидази. Отже, можна сказати, що вроджена і адаптивна ІС впливає як на системи, що реалізують безпосередньо гемодинаміку, так і на засоби їх регуляції на різних рівнях. Вплив ІС на ці системи здійснюється не тільки адресацією до них регуляторних молекул через циркуляцію, а й через безпосереднє проникнення в них різних клітин і розгортання різних реакцій [106, 138, 147, 148].

15) Стрес ендоплазматичного ретикулу (ER). Пусковим фактором порушення гомеостазу АГ часто служить стрес, який запускає в організмі каскад реакцій. Серед учасників цього каскаду ER, котрий відповідає а різні життєвоважливі функції: синтез, фолдінг, посттрансляційні модифікації і транспорт білків, синтез ліпідів і стероїдів, складання і трафік мембран, метаболізм ліків і ксенобіотиків, зберігання і вивільнення внутрішньоклітинного Ca^{2+} , регуляцію експресії генів і метаболічної енергетики, передачу сигналів в ядро, цитоплазму і мітохондрії і плазматичні мембрани. Стрес ER здатний викликати мутації білків, пошкодження ДНК, окислювальний стрес, тепловий шок, утворення активних форм кисню, вірусні інфекції, токсини навколишнього середовища, перегрівання, зрушення кислотно-лужної рівноваги, механічне перевантаження, функціонування запальних цитокінів, ліпотоксичність, виснаження вмісту Ca^{2+} тощо. При АГ в судинній системі підвищено утворення активних форм кисню та азоту, що створює окислювальний і нітрозативний стреси в самому серці і судинній системі, ремоделюючи їх за участю активованої RAC-кінази, яка запускає клітинне зростання і гіпертрофію [103, 155, 213].

16) Невизначеність з етіологією АГ, на нашу думку цілком природно, не могла не привернути увагу дослідників до епігенетики - вивчення мітотичних та / або мейотичних спадкованих змін у функціонуванні геному, які не можуть бути пояснені змінами в послідовності основ ДНК. Вони обумовлені структурними адаптаціями ділянок хромосом і стабілізують стан їх зміненої активності. Експериментальні дослідження свідчать про те, що епігенетичні зміни можуть виникати протягом усього життя - від ембріональної стадії і до старості - як результат розвитку або фізіологічних процесів, впливу оточення або випадкових подій. Відкриті спочатку в клітинах як регулятори експресії геному і трансляції білків мікроРНК циркулюють, як виявилось, в стабільній формі в різних рідинах організму, включаючи кров, і можуть слугувати в якості нового покоління діагностичних і прогностичних біомаркерів серцево-

судинних захворювань, в тому числі АГ. Експерименти на тваринах показали активну участь мікроРНК в модуляції гомеостазу АТ. Зокрема, встановлена роль мікроРНК в підтримці тону мускулатури периферичних судин і в центральній регуляції об'єму крові шляхом модулювання ренін-ангіотензін-альдостеронової системи. Слід зазначити, що в числі 27 мікроРНК, виявлених в крові хворих на ГХ, циркулює мікроРНК hemv-miR-UL112, яка кодується геномом цитомегаловірусу людини, і титри цитомегаловірусу корелюють з кількістю hemv-miR-UL112 у хворих з АГ [46, 98, 176]. Взагалі, на даний час є данні, котрі дають підстави розглядати мікроРНК як один з провідних регуляторів мережі, що забезпечує підтримання АТ.

Представлені вище відомості демонструють, складні і різноманітні механізми регуляції АТ та розвитку ГХ. Робилося і робиться чимало спроб класифікувати ці механізми. Найбільш поширеними є їх розподіл на пресорні і депресорні. Однак цілий ряд вазоактивних речовин (адреналін, інсулін, тиреоїдині гормони) мають протилежну дію на серце і судини і не можуть бути однозначно віднесені ні до тієї, ні до іншої групи. Крім того, ряд депресорних субстанцій (простациклін, брадикінін, опіюїдні пептиди) активує потужні пресорні ланки, вплив яких на системний кровоток нівелюючи гіпотензивний ефект перших.

Так ще А. Гайтон [93] розділив регуляторні механізми на пропорційну (швидкої дії) і інтегральну (тривалої дії) системи. До першої він відніс баро- і хеморецепторні рефлекси, ішемічну реакцію ЦНС і ренін-ангіотензинову систему, до другої – ренін-ангіотензін-альдостеронову систему та нирково-об'ємний механізм. Однак в даний час доведено існування ренін-ангіотензинову систему серця і судин, яка реалізує тривалу регуляцію, а щодо альдостерону твердо встановлено, що він бере участь і в швидких реакціях ендокринної системи. Ці факти, а також те, що в уявленнях про пропорційну і інтегральну системи ніяк не відображені депресорні ендокринні механізми, не дозволяють беззастережно розділяти точку зору А. Гайтона.

Одне є незаперечним. Неможливо розглядати механізми розвитку ГХ не беручи до уваги існування в організмі механізмів, спрямованих на зниження АТ. До таких на теперішній час прийнято відносити такі складові (механізми та окремі фактори):

1) Барорецепторний механізм. Аферентною ланкою рефлексу є імпульси з барорецепторів каротидного синуса і дуги аорти, які надходять в судиноруховий центр ЦНС і призводять до переважання парасимпатического тону над симпатичним. Внаслідок цього уповільнюється частота серцевих скорочень, зменшується серцевий викид, відбувається вазодилатація. Така перебудова роботи серцево-судинної системи забезпечує зниження артеріального тиску [89, 158].

2) Ацетилхолін, медіатор парасимпатичної системи, зменшує частоту серцевих скорочень і викликає вазодилатацію деяких груп судин.

3) Стрессова релаксація судин. При швидкому і вираженому підвищенні артеріального тиску відбувається повільне розтягнення кровоносних судин, яке перешкоджає подальшому наростанню гіпертензії, або призводить до зниження артеріального тиску [23].

4) Тканинні метаболіти: АТФ, АДФ, проміжні продукти циклу Кребса, ацетат, лактат, зниження рН викликають вазодилатацію. Зазвичай це більшою мірою відноситься до регіонарного кровотоку і не мало впливає на системний артеріальний тиск. Збільшення вмісту вуглекислоти в крові сприяє розширенню мозкових судин [150, 151].

5) У 2002 р. Б.І. Шулутко і співавт. [36] була відкрита ще одна альтернативна пресорна ренін-ангіотензин-альдостеронова система депресорного ангіотензину. Ця система функціонує наступним чином. Під впливом реніну з ангіотензиногену утворюються два типи А-І: АТ1-10 і АТ1-9. Далі під дією АПФ1 з АТ1-10 утворюється звичний А-ІІ (АТ1-8), а під дією АПФ2 - новий «депресорний» А-ІІ (АТ1-7).

6) Адреналін має в основному β -адренергічний ефект і неоднозначно впливає на гемодинаміку. З одного боку, цей гормон збільшує частоту серцевих скорочень і серцевий викид. Разом з тим, впливаючи на β_1 -ререцептори судин, він викликає вазодилатацію. Тому при введенні малих доз адреналіну спочатку зростає систолічний АТ, а потім може настати легка гіпотонія. Дофамін має переважно депресорні дією [14].

7) ПГЕ₂ і простациклін є депресорними простагландинами, вони викликають вазодилатацію, збільшення екскреції води і натрійуреза, гальмують проліферацію гладких м'язів судин [186, 217].

8) Калікреїн. Субстратом калікреїну є продукований печінкою кининогона, з якого шляхом обмеженого протеолізу утворюється декапептид каллидин. Останній під впливом амінопептідази перетворюється в біологічно активний брадикинин, що є потужною депресорною субстанцією. Разом з тим роль калікреїн-кінінової системи в регуляції гемодинаміки неоднозначна, поскільки її активація призводить як до збільшення продукції депресорних простагландинів, так і до підвищення функціональної активності ренін-ангіотензинової системи [42].

9) Депресорні поліпептиди. Ця група об'єднує в собі різні гормони, спільною рисою дії яких є депресорні ефект щодо серцево-судинної системи. Передсердний натрійуретичний гормон, що секретується міокардом передсердь у відповідь на їх дилатацію або підвищення внутрішньопередсердного тиску, стимулює виділення води і натрію, а також надає пряму гіпотензивну дію на судини. Вазоактивний кишковий поліпептид, що утворюється в шлунково-кишковому тракті, крім впливу на травну систему, викликає розширення кишкових судин. Депресорні ефект має і інший гастроінтестинальний гормон - секретин. Паратгормон, основний механізм дії якого пов'язаний з регулюванням фосфорно-кальцієвого обміну, є слабким вазодилататором [14, 163].

10) В кінці 70-х років ХХ століття було встановлено, що в мозковій речовині нирок утворюються депресорні ліпідні субстанції непростагландінового ряду [153]. Подальші дослідження показали, що цими сполуками є 1-0-алкілові ефіри фосфатидилхоліну і нейтральний ліпід мозкової речовини нирок. Експериментальними дослідженнями продемонстрована виражена вазодилатація і гіпотензія після однократного введення ниркових депресорних ліпідів і тривала гіпотензія (40-70 год. після останньої ін'єкції) від багаторазових інфузій препаратів даних речовин. Ниркові депресорні ліпіди мають досить потужну фізіологічну дію, оскільки вони здатні запобігати підвищенню артеріального тиску, викликаному введенням настільки сильного вазопресора, як норадреналін.

11) Як зазначалося, ендотелій має власну гуморальну систему регуляції судинного тонуусу і крім простагліну, з ендотелію виділено фактор релаксації судин [12, 62, 72].

12) Опіодні пептиди і тиреоїдині гормони. До першої групи сполук відносяться β -ендорфін, метіонін- і лейцин-енкефалінів. Впливаючи на центральні та периферичні оплатні рецептори, опіодні пептиди знижують АТ і знижують частоту серцевих скорочень. Разом з тим вони здатні активувати такі пресорні ланки, як ренін-ангіотензинову систему і мозкову речовина наднирників. Тироксин і трийодтиронін збільшують серцевий ритм і показники серцевого викиду, одночасно знижуючи периферичний судинний опір, тобто здатні справляти протилежний вплив на АТ [14, 165].

13) Мелатонін, згідно сучасних уявлень є гіпотензивним (зокрема - антигіпертензивним) агентом. Механізм гіпотензивної дії мелатоніну полягає в дилатації резистивних судин мікроциркуляторного русла, тобто зниженні периферичного опору. Здійснюється ця дилатація через: зниження симпатичного тонуусу; зниження продукції норадреналіну наднирниками; зниження продукції вазопресину гіпоталамусом; поліпшення ендотеліальної функції і «прямого» дилатаційного ефекту. Більш тонкий механізм згідно L.

Paulis і E. Simko [57] виглядає наступним чином: мелатонін активує мелатонінові рецептори в ендотеліальних клітинах. Ця активація веде до збільшення розчиненого Ca^{2+} в цих клітинах, NO- гуанілциклази в клітинах гладеньких м'язів судин мікроциркуляторного русла - звідси дилатація останніх.

Слід відзначити, що, незважаючи на роки досліджень, досить слабо розробленими є питання фізіологічної значущості різних ланок регуляції розвитку ГХ. Вважається, що пресорні системи мають більш сильний ефект і великі функціональні резерви, ніж депресорні. Є також дані про те, що регуляція при гіпер- і гіпокінетичному варіантах кровообігу здійснюється за рахунок різних механізмів.

Таким чином, сучасні уявлення про ререгуляцію підтримання АТ та розвитку ГХ мають у великій мірі якісний характер, і до теперішнього часу не призвели до формування однозначного розуміння процесу і з'ясування тонких механізмів формування ГХ, що перешкоджає розробці нових ефективних шляхів лікування даної патології, яка на даний час вважається за даними ВООЗ «мовчазними невидимим вбивцею», одним з найбільш поширених захворювань в світі – близько 40% населення в країнах Європи та $\frac{1}{4}$ - у США мають підвищений АТ [182, 209]. Отже, необхідними є нові підходи до вивчення механізмів виникнення та розвитку АГ.

1.2. Ендогенний сірководень – властивості та фізіологічні впливи.

Як зазначено вище, не зважаючи на значну увагу науковців до дослідження механізмів виникнення та розвитку ГХ, розробки нових більш ефективних методів лікування та профілактики рптології, залишається багато питань, зокрема – чому саме підвищення АТ та ГХ мають таку поширеність. На думку деяких дослідників, необхідно за допомогою новітніх методів вивчати різні ланки патогенезу хвороби, адже патогенетичне лікування дає найкращі

результати. Завдяки дослідженням останніх років було виділено новий регуляторний фактор серцево-судинної діяльності – сірководень. Причому вважають, що розуміння його ролі у виникненні патологічних станів дозволить розробити нові шляхи боротьби із ГХ [3, 214].

Сірководень (H_2S) – це газоподібна речовина, яка синтезується в організмі людини. Його відкриття як регулятора діяльності серця та судин відбулося разом із дослідженням фізіологічної ролі таких відомих молекул, як оксид азоту та монооксид вуглецю [82, 100].

Початок досліджень H_2S поклали японські дослідники К. Abe і Н. Kimura, які в 1996 р. вперше описали можливість синтезу сірководню в тканинах головного мозку і вказали на його здатність регулювати функції клітин [48].

Сірководень спочатку був описаний як фактор, який бере участь в нейрональній активності, пізніше були встановлені його вазорелаксуючі властивості [48, 102].

Як хімічна сполука H_2S – сильний відновник. Його молекула легко дифундує через цитоплазматичні мембрани. Він реагує із залізом в цитохромах *a*, *b*, *c* та з гемом цитохрої-*c*-оксидази. Фермент втрачає активність, в результаті чого пригнічується, чи призупиняється окисне фосфорилування в мітохондріях (МХ) та порушується клітинне дихання. При окисненні значних кількостей сірководню в тканинах можливе утворення та накопичення перекисів. Однак, незважаючи на токсичність високих концентрацій H_2S , його малі дозимають лікувальні властивості [5].

Серед відомих до теперішнього часу газотрансмітерів H_2S залишається найменш вивченим [45, 63, 79]. Існує ряд критеріїв, яким повинні відповідати газотрансмітери: їх молекул повинні існувати у вигляді газу і вільно проникати крізь біологічні мембрани, синтезуватися ендогенно (їх синтез повинен регулюватися ферментами), здійснювати певні функції в фізіологічних

концентраціях, мати специфічні клітинні та молекулярні мішені [200]. Таким вимогам повністю відповідає сірководень.

Припущення про фізіологічну роль H_2S вперше виникли в 1989 р. після того як з'явилися дані про високий ендogenous рівень сульфідів в зрізах мозку щурів (1.6 мкг / г) і стовбурі мозку людини (0.7 мкг / г) [90]. H_2S у високих концентраціях був виявлений у представників різних класів тварин. У плазмі крові щурів вміст H_2S складає 46 мкМ, а в тканинах мозку 50-160 мкМ, в стовбурі мозку людини 70 мкМ [48, 220].

H_2S є дуже активною молекулою, котра може вступати в реакцію з іншими сполуками, зокрема з активними формами кисню та азоту, що пояснює антиоксидантні властивості сірководню. Оскільки у зв'язаному вигляді під час реакції сірководню із іншими сполуками останні втрачають здатність ушкоджувати білки та ліпіди. Також показано, що сірководень здатен стимулювати антиоксидантну систему організму на рівні з іншими антиоксидантами, а також чинити цитопротекторну дію [17, 55, 114, 142].

Такий цитопротекторний ефект сірководень справляє у мікромольних концентраціях - H_2S , отриманий *in vitro* з Na_2S або $NaHS$ [206, 215], має цитопротекторні властивості, які можуть бути пов'язані з його здатністю нейтралізувати різні активні форми молекул (наприклад, пероксинітри, хлорноватистої кислоти і гомоцистеїну). Дія H_2S пов'язана з модуляцією функціонування внутрішньоклітинних каспаз або киназ (p-38, c-JUN N-термінальний протеїнкіназа 1/2, ERK1 / 2, PI3K), активацією ядерного фактора - κB і κB -залежних білків (індуцибельна NO-синтаза, циклооксигеназа-2, міжклітинна адгезивна молекула-1), а також зі зниженням антиапоптотичного фактора Bcl-2 [189]. В організмі H_2S стимулює антиоксидантну систему поряд з відомими антиоксидантами (в т.ч. з N-ацетилцистеїном, глутатионом і супероксиддісмутазою) і справляє захисну дію [206]. Пригнічення ендogenous синтезу H_2S збільшує цитотоксичний вплив на клітини організму екзogenous H_2S .

H_2S приймає участь в регуляції різноманітних фізіологічних процесів, пов'язаних з гомеостазом, імунітетом, передачею нервових імпульсів в клітинах центральної і периферичної нервової системи. Однак серед величезного розмаїття біологічних функцій цієї молекули особливо виділяють її роль в регуляції роботи серцево-судинної системи, зокрема - формування нормальних показників артеріального тиску. Виявлення такої властивості молекули H_2S , навіть, поклало початок новому напрямку в фармакології, пов'язаного з пошуком і створенням принципово нової групи антигіпертензивних препаратів, дія яких ґрунтувалося б на вивільненні молекул H_2S [35].

Встановлено, що ендогенний H_2S необхідний, наприклад, для захисту нирок від травм і дисфункцій при ішемії / реперфузії, а введення $NaHS$ зменшує ступінь виникнення дізрегуляції і морфологічних змін нирок [189]. У той же час високі мілімолярні концентрації H_2S цитотоксично діють на клітини, призводячи до активації вільнорадикальних процесів, мобілізацію кальцію, вичерпання глутатіону, внутриклітинному вивільненню заліза, а також індукції шляхів мітохондріальної клітинної загибелі.

Натепер відомо три ферменти, в результаті роботи яких синтезується сірководень: цистотіонін- β -синтаза (CBS), цистотіонін- γ -ЛіА3 (CSE) і 3-меркаптопіруватсульфуртрансфераза (3-MST). Фермент (3MST) функціонує в комплексі з іншим ферментом - цистеїн-амінотрансферази (CAT). Виділяють мітохондріальну і цитозольних форми CAT. Використовуючи в якості субстрату сірковмісну амінокислоту L-цистеїн і α -кетоглутарат, CAT продукує 3-меркаптопіруват (3MP), з якого за участю ферменту 3MST синтезується безпосередньо H_2S [174]. У відсутності α -кетоглутарата синтез H_2S припиняється.

При цьому CBS здійснює синтез сірководню переважно в нервових клітинах. У клітинах гладеньких м'язів кровоносних судин, скорочення-розслаблення яких забезпечує зміна тонуусу останніх, синтез сірководню

здійснює фермент CSE [136, 196], а у ендотеліальних клітинах, що вистилають зсередини просвіт судини, синтез сірководню завдячує 3-MST [112] (Рис. 1.2).

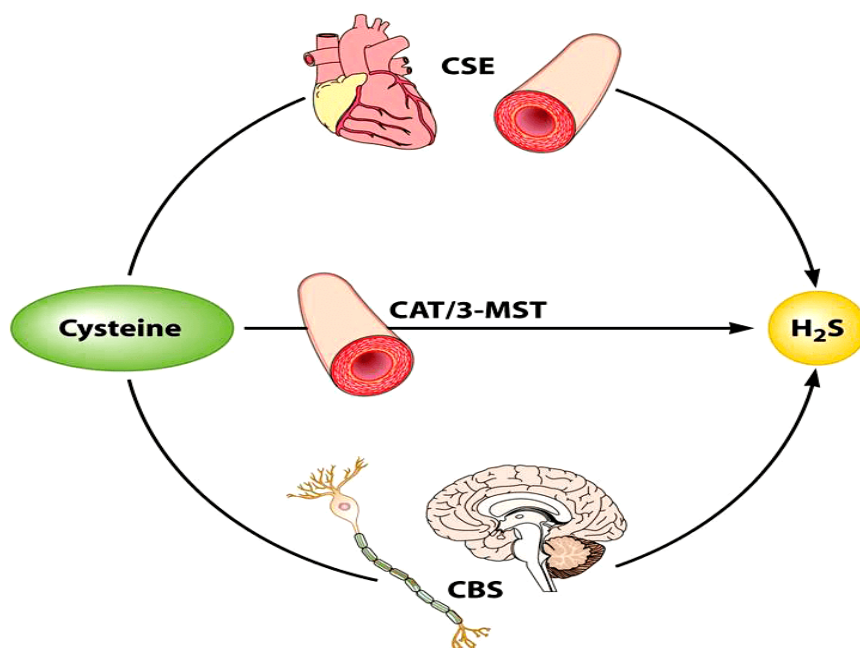


Рис. 1.2. - Синтез сірководню. У клітинах гладеньких м'язів кровоносних судин, в кардіоміоцитах синтез сірководню обумовлений активністю ферменту цистотіонін- γ -ліази (CSE), тоді як в ендотеліальних клітинах - комплекс 3-меркаптопіруватсульфуртрансферази (3-MST) і цистеїн-амінотрансферази (CAT). У клітинах органів, що не відносяться до кровоносного руслу, сірководень переважно синтезується завдяки активності цистотіонін- β -синтази (CBS). Хоча фермент CBS локалізований переважно в нейронах і клітинах нейроглії, він також був виявлений в клітинах печінки, нирок, підшлункової залози [за 136].

Експериментально у щурів було досліджено, як саме відбувається синтез сірководню в стінці судин (в клітинах ендотелію) (Рис. 1.3): під впливом модуляторів ацетилхоліну та брадикініну формується інозитол 1,4,6-трифосфату, що зумовлює збільшення внутрішньоклітинної концентрації іонів кальцію. Останні в комплексі з білком кальмодуліном активують специфічний фермент цистотіонін- γ -ліазу, в результаті чого в клітинах ендотелію зростає

концентрація H_2S . Попередник сірководню L-цистеїн потрапляє в організм з їжею, утворюється з L-метіоніну або внаслідок розпаду білків. При цьому швидкість синтезу цієї молекули різна, залежно від тканини, в якій він виробляється: найшвидше сірководень синтезується в мозку, серцево-судинній системі, нирках та печінці [3, 70, 132, 193].

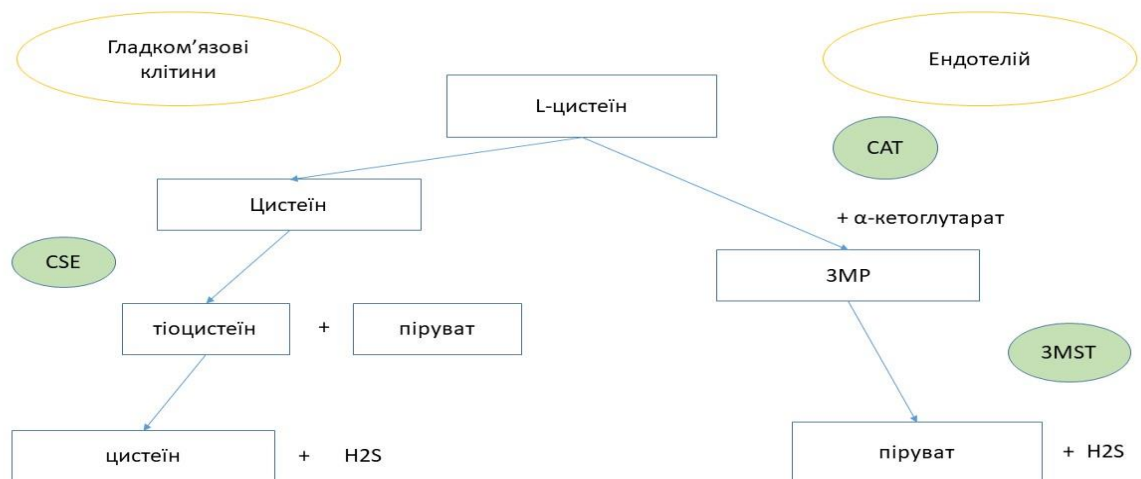


Рис. 1.3 - Схема синтезу сірководню в гладком'язових і ендотеліальних клітинах кровоносних судин. CAT - цистеїн-амінотрансфераза; CST - цистотіонін- γ -ліаза; 3MST - 3-меркаптопіруват-сульфуртрансфераза; 3MP - 3-меркаптопіруват [за 174].

Отже, сірководень синтезується з L-цистеїну за допомогою певних ферментів: цистотіонін- γ -ліази, цистотіонін- β -синтази і 3-меркаптопіруватсульфуртрансферази, які експресуються в тканинах серцево-судинної, нервової систем та в мітохондріях. Синтез сірководню може відбуватися і неферментативним шляхом.

Клітинні ефекти H_2S опосередковується через внутрішньоклітинні посередники, або безпосередньо через зміну субодиниць іонних каналів, внутрішньоклітинних ферментів, білків екзоцитозу і ендоцитозу [82, 101].

Сірководень спочатку був описаний як фактор, котрий бере участь саме у нейрональній активності, тільки пізніше були встановлені його вазорелаксуючі властивості [48, 102].

У 90-х роках минулого століття було показано, що гомогенати мозку *in vitro* здатні продуціювати сірководень [48]. У гіпокампі і мозлчку щурів було виявлено високий рівень експресії цистатионин- β -синтазой. Показано, що ендогенний сірководень підвищує чутливість N-метил-D-аспаратат-рецепторів (NMDA-рецепторів) до глутамату [117]. Така стимуляція рецепторів викликає довготривалу потенціації в гіпокампі. Механізми, за допомогою яких сірководень стимулює NMDA-рецептори, дотепер невідомі. Припускають, що він модулює редокс потенціал тіолових груп на позаклітинних доменах рецепторів і активує їх за рахунок своїх відновлюючих властивостей [83].

Крім нейромодуляторної, сірководень відіграє роль захисника нейронів від окисного стресу. Відомо, що відновлений глутатіон виконує функцію антиоксидантної протектора мозку. Він захищає мозок шляхом захоплення вільних радикалів і інших реактивних груп, видаляючи перекис водню і ліпідні пероксиди, запобігаючи тим самим окислення інших біомолекул [202]. Окрім протекторної та нейромодуляторної активності, доведена і участь сірководню також в постнатальному морфогенезі центральної нервової системи [166, 168].

При цьому сірководень може справляти на нервову систему різноспрямований вплив. З одного боку, виділення тіосульфату з сечею підвищено у пацієнтів з синдромом Дауна. Оскільки тіосульфат являється кінцевим продуктом метаболізму сірководню, вважається, що при цій хворобі продукція H_2S підвищена [113]. Імовірно, що його надлишок справляє токсичну дію на нейрони, або пригнічуючи синтез цитохромоксидази, або стимулюючи NMDA-рецептори і, таким чином, приводячи до затримки розумового розвитку у пацієнтів з трисомією по 21-й хромосомі [112]. Однак сірководень по відношенню до нейронів може проявляти і захисні властивості. Зокрема, він

захищає нервові клітини від токсичної дії глутамату. Підвищена продукція глутамату спостерігається при ішемії мозку, нападах або травмах [117].

Цистатионин- β -синтаза і цистатионин- γ -лиаза експресуються в слизовій оболонці шлунку, де ендogenous сірководень, очевидно, виконує роль протективного фактора при пошкодженнях. Показано, що H_2S знижує спонтанне або індуковане ацетилхоліном скорочення клубової кишки у різних видів тварин, а його вплив усувається глібенкламідом - блокатором K (АТФ) каналів [191]. Сірководень генерується в ентеральній нервовій системі і діє на больові рецептори, які містять сенсорні нервові закінчення, що призводить до стимуляції секреторної і моторної функції кишківника [177]. Експериментально показано, що в печінці як у здорових щурів, так і у тварин з експериментальним цирозом [80] сірководень зменшує вазоконстрикцію, індуковану норадреналином. Було виявлено, що цистатионин- γ -лиаза експресується в гепатоцитах і зірчастих клітинах печінки. Сірководень впливає на ізольовані зірчасті клітини, викликаючи релаксацію стінки мікро судин печінки.

Сірководень є прозапальним медіатором. Однак механізми, завдяки яким він викликає запалення, невідомі. В експериментах *in vitro* сірководень надає як про- так і протизапальну дію, він інгібує індукований хемотаксис і де грануляцію поліморфноядерних лейкоцитів [143]. До того ж донори сірководню інгібують індуковану аспірином адгезію лейкоцитів до ендотелію в венулах брижі у щурів, а інгібітори сірководню викликають адгезію лейкоцитів [218]. Ліпополісахариди, так само як і прозапальні цитокіни, підвищують експресію гена цистатионин- γ -лиази, що, очевидно, і є причиною збільшення рівня сірководню при різних запальних станах [157].

Наведені вище дані свідчать вказують на важливу роль H_2S в процесах внутрішньоклітинного метаболізму і забезпеченні контролю над фундаментальними клітинними процесами. Ця сигнальна молекула відіграє важливу роль в регуляції нервової (процеси нейронної передачі сигналу),

імунної (протизапальний і цитопротекторний агент), сенсорної, шлунково-кишкової системи, а також в метаболічних процесах в різних органах. На даний час ведеться вивчення ролі H_2S в патогенезі різних патологічних станів, зокрема - серцево-судинної недостатності, гіпертензивних станів. Важливість таких досліджень обумовлюється значним їх поширенням і почастищенням зустрічності ГХ.

1.3. Сучасні уявлення про роль ендogenous сірководню в розвитку змін в серцево-судинній системі і в механізмах формування гіпертензивних станів.

Ендogenous (також як і, ймовірно, екзогенний) сірководень впливає на судинну систему не тільки людини, але й чинить такий вплив у всіх хребетних тварин [207].

Як свідчать результати численних досліджень, однією з систем, де сірководень грає ключову роль як сигнальна молекула, є серцево-судинна система, зокрема - кровоносні судини. Здійснюючи свою регуляторну дію в судинах артеріального русла, він бере активну участь в регуляції артеріального тиску [200]

Вважається, що сірководень так само, як і оксид азоту, є фактором релаксації судин. У разі, якщо ці речовини відсутні, сповільнюється здатність судин до розширення та виникає ризик підвищення АТ [70]. В експериментальних умовах було виявлено, що у щурів зі спонтанною гіпертензією рівень сірководню в плазмі крові був значно меншим, ніж у щурів із групи з нормальним АТ [56]. В експериментах на гіпертензивних щурах експресія матричної РНК цистатинин- γ -лиази в аорті і концентрація сірководню в плазмі крові знижені. Дефіцит цього газотрансмітера, знижена активність цистатинин- γ -лиази і гіпотензивний ефект донорів сірководню

виявлені при експериментальній гіпертензії, викликаній інгібуванням нітроксидсинтази [49].

У щурів з гіпертензією при експериментально сформованій гіпоксії шляхом блокади NO-синтази та при індукованій легеневої гіпертензії був знижений рівень H_2S в плазмі крові. При цьому введення екзогенного донору сірководню викликало значний терапевтичний ефект [84]. Отже, можна вважати, що сірководень виконує суттєву роль у виникненні АГ, і вплив на його кількість може допомогти в проблемі контролю за АТ.

Залежність між рівнем вмісту H_2S в плазмі крові, тканинах і клітинах і розвитком різних захворювань, протекторна дія при ішемічному пошкодженні життєво важливих органів дозволяють вважати цей газ важливою ланкою патогенезу захворювань серцево-судинної систем. У дослідженнях було показано, що фізіологічні ефекти H_2S роблять його ідеально пристосованим для захисту серця та судин, також, як і інших органів - головного мозку, печінки, нирок і легень від пошкоджень при ішемії / реперфузії [128].

При проведенні досліджень на щурах було виявлено, що внутрішньовенне болюсне введення розчину сірководню викликає у них залежне від дози зниження артеріального тиску [136].

В умовах *in vitro* донор сірководню гидросульфид натрію ($NaHS$), активно використовується в експериментальній практиці, також викликав розслаблення різних відділів артеріального і венозного русла: грудної, мезентеріальної, ниркової артерій, аорти, ворітної вени і т.д. Незважаючи на істотну роль ендотелію в регуляції судинного тонуусу, його видалення не робило істотного впливу на ефекти сірководню в клітинах гладеньких м'язів [136]. Це свідчить про прямий вплив сірководню на клітини гладеньких м'язів через властиві їм регуляторні механізми. Розслаблюючу дію сірководню на клітини гладеньких м'язів пов'язане переважно з відкриванням особливих структур в їх мембрані - калієвих каналів, чутливих до концентрації внутрішньоклітинного джерела енергії - аденозинтрифосфату (АТФ) [186, 221].

При проведенні клінічних досліджень було виявлено, що у пацієнтів із гіпертонічною хворобою 2–3-го ступеня концентрація сірководню в плазмі крові виявлялася значно нижчою, ніж у пацієнтів із нормальним АТ [184]. Так само у хворих із портальною гіпертензією виявлено знижений рівень ендogenousого сірководню порівняно з пацієнтами без гіпертензії. При цьому існує пряма залежність між тяжкістю захворювання та рівнем сірководню в крові: чим більше виражена гіпертензія – тим більший дефіцит сірководню. В патогенезі артеріальної гіпертензії ключовим фактором може виступати вазоконстрикція, в свою чергу, сірководень здатен чинити вазорелаксуючу дію, попереджаючи розвиток захворювання. Механізм такої дії сірководню може бути пов'язаним з взаємодією із калієвими каналами, які знаходяться в мембранах м'язових клітин. За рахунок відкриття цих каналів і відбувається розслаблення гладеньких м'язів та розширення судин. Окрім цього, вазодилатуюча дія сірководню є також результатом активації NO-синтетази, що провокує вивільнення оксиду азоту [223]. На теперішній час – одна з основних неоднозначностей у дослідженні фізіологічних ефектів сірководню – взаємозамінний синтез H_2S та NO. Основні питання, котрі виникають: Чи проміжні молекули, що утворюються в результаті взаємодії між NO і H_2S є нітроксілом або нітростіолом або обома. Якщо утворюються обидві молекули, яка з них відповідає за вазорелаксуючий ефект? Концентрація H_2S знижується при ГХ. Це причина чи наслідок захворювання? Вазодилатуючий ефект H_2S може бути обумовленим блокадою α -рецепторів [49, 96].

В умовах ішемії міокарда спостерігаються низькі рівні рН, зменшення вмісту кисню і підвищення концентрації позаклітинного калію, що в подальшому призводить до порушення ритму, серцевої недостатності та навіть раптової серцевої смерті. H_2S в даний час розглядається як ендogenousна сигнальна молекула, яка відіграє важливу роль у серцево-судинній системі. У серці сірководень виробляється із L-цистеїну і накопичується у відносно високих локальних концентраціях та чинить протиішемічну дію за рахунок

протиапоптотичної і протизапальної його дії. Експериментально на щурах було виявлено, що стимуляція синтезу ендogenous сiрководню за допомогою введення його попередника L-цистеїну призводить до зменшення реперфузійних порушень функції мiокарда. Так, в дослідженнях L-цистеїн, що вводився на фонi блокади цистатионiн-γ-ліази – одного з ферментiв його синтезу, – за допомогою DL-пропаргiлгліцину, активiзував метаболічні шляхи та посилював здатність мiокарда справлятися з iшемiчно-реперфузійним навантаженням [34]. Під час реперфузії одним з ушкоджувальних факторiв мiокарда є підвищення кількості активних форм кисню, що провокує розвиток оксидативного стресу. Водночас порушується тканинне дихання та синтез АТФ мiтохондріями, що призводить до погіршення скоротливої функції серця. Саме тому антиоксидантні властивості сiрководню покращують стан iшемiзованого мiокарда та попереджають подальше його ушкодження. Зокрема відбувається стимуляція сiрководнем власної антиоксидантної системи кардіоміоцитiв, яка може забезпечити повноцiнне відновлення скоротливої функції серця [3].

Вазорелаксація завдяки H_2S є частково залежною від ендотелію і переважно через прямий вплив на клітини гладкої мускулатури. Виключення участі NO у цьому процесі, доведено тим, що судинозвужувальні ефекти H_2S не блокуються 1H- (1,2,4) оксадіазоло [4,3-а] хіноксалін-1-он (ODQ) (інгібітор гуанілілциклази) [222].

За винятком цитохром C-оксидази, в якості першої молекулярної мiшені H_2S запропоновані, як вказано, АТФ-залежні калієві канали (К (АТФ) - канали) [222]. Розширення кровоносних судин, iндуковане H_2S , засноване на його здатності відкривати К (АТФ) - канали гладкої мускулатури судин [80, 131], про що свiдчить їх чутливість до рiзних антагоністiв, в тому числі до глібенкламiду, пінацiділу і PNU37883A.

Точний механізм дії H_2S на К (АТФ) - канали залишається неясним, однак висуваються деякі припущення.

Наприклад, зв'язуючись з сірководністими групами білків цих каналів, сірководень змінює їх просторову конфігурацію і тим самим сприяє відкриттю каналів [31, 202]. Відкриття калієвих каналів веде до збільшення виходу іонів калію з клітки в міжклітинну середу. У той же час, активації АТФ-чутливих калієвих каналів супроводжується інактивацією потенціал-чутливих кальцієвих каналів L-типу, що забезпечують надходження іонів кальцію (Ca^{2+}) в клітку. Висока внутрішньоклітинна концентрація Ca^{2+} є необхідною умовою розвитку скорочувального відповіді з боку м'язової клітини. Закривання кальцієвих каналів сприяє зниженню концентрації вільного внутрішньоклітинного Ca^{2+} [220]. Ці процеси в сукупності запускають механізми розслаблення в клітинах гладеньких м'язів, що в кінцевому підсумку призводить до зниження тонуусу кровоносних судин і артеріального тиску в цілому (Рис. 1.4).

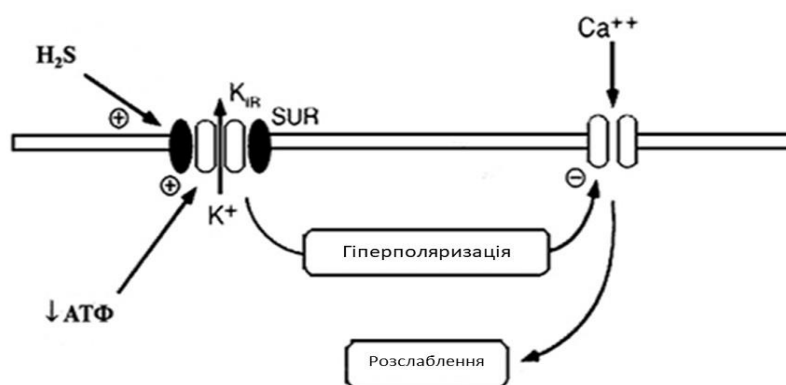


Рис. 1.4. - Вплив сірководню на мембранні процеси. Сірководень, взаємодіючи з АТФ-чутливими калієвими каналами, викликає їх активацію і збільшення виходу іонів калію з клітки. Внаслідок цього знижується мембранний потенціал на мембрані (гіперполяризація) та інактивуються кальцієві канали. В результаті припинення надходження в клітину іонів кальцію відбувається розслаблення гладком'язових клітини.

Окрім цього було показано [152, 201], що відкриття мітохондріальних K (АТР) - каналів зменшує кількість мітохондріального Ca^{2+} при ішемії. Зменшення концентрації мітохондріального Ca^{2+} може призводити до захисту ізольованих мітохондрій, і таким чином пояснювати антиапоптотичні ефекти H_2S . На додаток до K (АТР) - канали, було показано, що H_2S впливає на ряд інших іонних каналів. В кардіоміоцитах H_2S пригнічує Ca^{2+} канали L-типу [184].

Механізм впливу каналу K (АТР) також може бути обумовлений індукцією скорочення тканини аорти через обробку розчинами з низьким K^+ (20 мМ) і високим K^+ (100 мМ) його вмістом; виявляється вазорелаксація за допомогою H_2S на тканинах аорти при попередній обробці з низьким K^+ і високим K^+ . Максимальна вазорелаксація, обумовлена H_2S , становила $90 \pm 8,2\%$ та $19 \pm 3,9\%$ при попередній обробці відповідно до концентрації K^+ . Сірководень забезпечує більшу релаксацію з низьким рівнем K^+ (20 мМ) через специфіку K^+ провідності. Ефект відкритого каналу K^+ був додатково перевірений за допомогою тетраетіламонію (10 мМ) і 100 нМ харибдотоксину або 100 нМ іберіотоксину (специфічні інгібітори K (АТР)-каналу), котрі повністю інгібують H_2S -обумовлену релаксацію [49].

У регуляції релаксуючої дії сірководню беруть участь також і інші внутрішньоклітинні молекулярні механізми, проте їх роль не настільки виражена і однозначна [200].

У ряді проведених останні десятиліття досліджень була відзначена цікава особливість H_2S - його здатність в низьких концентраціях викликати скорочення гладких клітин [4, 134, 195]. Згідно з однією з гіпотез сірководень зв'язується з оксидом азоту, знижуючи тим самим свою та його концентрацію [181]. Зменшення концентрації цих двох судинорозслаблюючих молекул є причиною збільшення тонуусу судин артеріального русла. Нещодавно було показано, що скоротливий ефект сірководню пов'язаний з активацією особливого мембранного білка - Na^+ , K^+ , 2Cl^- - котранспортера (NKCC), що

забезпечує трансмембранний обмін іонів калію, натрію і хлору [37]. Перерозподіл цих іонів є причиною розвитку скорочення.

Фізіологічна роль скорочувального ефекту сірководню до кінця не з'ясована: чи є він побічним продуктом якихось внутрішньоклітинних молекулярних реакцій, або ж несе на собі функціональне навантаження? У першому випадку збільшення тону судин може бути результатом взаємодії сірководню з активними формами кисню. Це призводить як до зниження концентрації самого сірководню, так і утворення продуктів, здатних викликати скоротливу відповідь з боку гладком'язових клітин. З іншого боку можна передбачити специфічну активацію сірководнем іонних механізмів, спрямованих на розвиток короточасного локального спазму, наприклад, в разі порушення цілісності судинної стінки [128]

Наявні на теперішній час дослідження свідчать про множинність ефектів газотрансмітерів щодо серцево-судинної системи. На відміну від інших фармакологічних агентів H_2S активує багатосигнальні шляхи одночасно. Ймовірно, H_2S має всі позитивні впливи NO на клітини, без здатності утворювати токсичні метаболіти. Більш того, H_2S нейтралізує $ONOO_2$. Вперше можливу взаємодію NO і H_2S припустили, коли з'ясувалося, що H_2S в низьких концентраціях ще більше підсилює вазодилатацію, викликану предаплікацією нітропруссиду натрію – донора NO [102]. Відомо, що H_2S стимулює утворення NO в ендотелії судин [82, 198]. Нітропрусид натрію підсилює синтез H_2S з цистеїну і збільшує експресію цистатіонін- γ -ліази в гладких м'язах судин [223]. З іншого боку, H_2S призводить до пригнічення експресії ендотеліальної NO -синтази (eNOS), і це може обумовлювати посилення скорочень аорти (зокрема дослідження були проведені на щурах та мишах), викликані H_2S [124].

Участь системи NO в регуляції концентрації H_2S може здійснюватися різними способами. Наприкінці минулого століття встановлена можлива активація цистатіонін- γ -ліази через нітрозилування залишків цистеїну оксидом азоту, і можливе посилення експресії цистатіонін- γ -ліази через збільшення

надходження цистину в клітину [178]. В умовах зниження синтезу NO взаємодія газотрансмітерів стає ще більш очевидною, оскільки пригнічення NO-синтази протягом тривалого часу призводить до вазоконстрикції, що супроводжується зменшенням активності експресії мРНК цистатіонін- γ -ліази [188, 207, 225]. Введення донора H_2S , NaHS, призводить до нормалізації тиску в судинах, але при цьому збільшення синтезу NO не спостерігається. Виявлено, що H_2S пригнічує активність всіх трьох ізоформ NOS: нейрональної (nNOS), індукційної (iNOS), ендотеліальної (eNOS) [124].

Отже, наведені дані свідчать про важливу роль H_2S в процесах внутрішньоклітинного метаболізму і забезпечення контролю над фундаментальними клітинними процесами. Проте значення сірководню до теперішнього часу досліджена вкрай недостатньо. Окрім того, оскільки на даний час ведеться вивчення ролі H_2S в патогенезі різних захворювань (нейродегенеративні хвороби, цукровий діабет, серцева недостатність, АГ), перспективними є розробки по застосуванню препаратів, які виступають в якості екзогенних донорів сірководню [13]. З урахуванням того, що H_2S є представником несинаптичного способу міжклітинної комунікації, заснованого на дифузії молекул неорганічних з'єднань по міжклітинному простору в усіх напрямках та дії на віддалені від місця їх утворення несинаптичні рецептори, пропонується дозовано використовувати екзогенний H_2S для лікування ряду захворювань, в тому числі і патології серцево-судинної системи [128].

1.4. Вплив екзогенних донорів на утворення ендogenous сірководню.

Якщо в меті нашого дослідження є поняття про АГ, то зрозуміло, що ця проблема має безпосередню дотичність до питань, пов'язаних з проблемою старіння, незважаючи на те, що ГХ останнім часом значно «помолодшала». При

цьому, слід зазначити, що в одній з останніх теорій, яка набрала популярності, - причиною старіння, в тому числі й старіння клітин є втрата їх здатності включати і вимикати гени в потрібний час і в потрібному місці. Білки-регулятори і, відповідно, гени в «старих» клітинах можна змусити знову працювати. Клітка не вмирає, вона просто втрачає можливість правильно виконувати свою функцію. Виявилося, що якщо обробити старі клітини хімічною речовиною, що містить невелику кількість сірководню, число «чинників зрощування», тобто механізмів, причин нормалізації співвідношення включення і вимикнення генів зростає, гени починають включатися, і клітина знову відновлює свою нормальну роботу. Група вчених Ексетерського університету довела, що H_2S знижує пов'язані зі старінням хвороби у тварин. Але речовина дуже токсична у великих дозах, і дослідники не могли знайти спосіб його безпечної доставки в потрібну частину клітини. Були протестовані різні модулятори - хімічні сполуки, які могли б «приплисти» до клітини, ініціювати в ній хімічну реакцію, і віддати їй сірководень [43].

В дослідженнях 2013 року був показано, що донор сірководню GYY4137 може допомагати з атеросклерозом, якщо давати його мишам. Він повільно віддає H_2S , імітуючи стандартну активність здорового організму. З його допомогою вчені і змогли доставити молекулу H_2S прямо до мітохондрії - структури, яка відповідає за виробництво енергії в клітині [131].

Враховуючи роль сірководню в регуляції тонуусу кровоносних судин, вчені всього світу активно взялися за розробку лікарських засобів, дія яких ґрунтувалося б на підвищення або пониження в крові концентрації цього газотрансміттера. В даний час можливі молекули-кандидати на роль лікарських з'єднань можна розділити на дві групи: молекули, які, розчиняючись, безпосередньо вивільняють сірководень ($NaHS$, Na_2S , GYY4137) і молекули-предиктори ендогенного синтезу сірководню (N-ацетилцистеїн, L-цистеїн) [75].

Одним з напрямків в розробках «сірководневих» препаратів є вбудовування сірководень-вивільнюючих груп в уже наявні і широко вживані

лікарські молекули. Альтернативні донори сірководню можуть бути отримані шляхом додавання сульфідних груп до нестероїдних протизапальних препаратів. Наприклад, S-диклофенак містить тіонові групи, прикріплені ефірними зв'язками до молекули-носія, які в розчині грають роль джерела сірководню [130]. Вбудовування тіолових угруповань в молекулу силденафілу призводить до розвитку ефекту, пов'язаного з істотною релаксацією гладких клітин кавернозних тіл [75].

В останні роки велика увага приділяється полісульфідним з'єднанням часнику. Були виявлені їх вазоактивні властивості: одне із з'єднань - диалліл дисульфід (DADS) - викликає розслаблення кільцевих сегментів аорти щура. Полісульфідні з'єднання часнику не тільки є попередниками H_2S , а й здатні самостійно викликати зміни конформації молекул білків в клітинних мембранах.

Основний механізм дії часнику забезпечується за рахунок молекули під назвою алліїн. Алліїн вступає в реакцію з клітинним ферментом алліціназой. В результаті утворюється речовина алліцин. Алліцин перетворюється в різні жирові і водорозчинні речовини, що містять сірку. При залученні сигнальної системи сірководню, часник розслабляє кровоносні судини, справляючи позитивний ефект, окрім того алліцин є потужним антиоксидантом. Частинки алліцину вступають в реакцію з еритроцитами. В результаті реакції утворюється сірководень, який і зменшує напругу та опір стінок кровоносних судин. Дослідники виявили, що еритроцити, піддані хвилинному впливу соку часнику, негайно починають виробляти сірководень. Подальші експерименти показали, що хімічна реакція відбувається в основному на поверхні червоних кров'яних клітин [6].

Перспективною молекулою-донором сірководню є одержуваний з часнику S-аллілцістеїн, який має виражену кардіопротекторну дію (Рис. 1.5). Однак не до кінця з'ясовано, чи є він попередником сірководню або ж модулює функцію ферментів, пов'язаних з синтезом останнього.

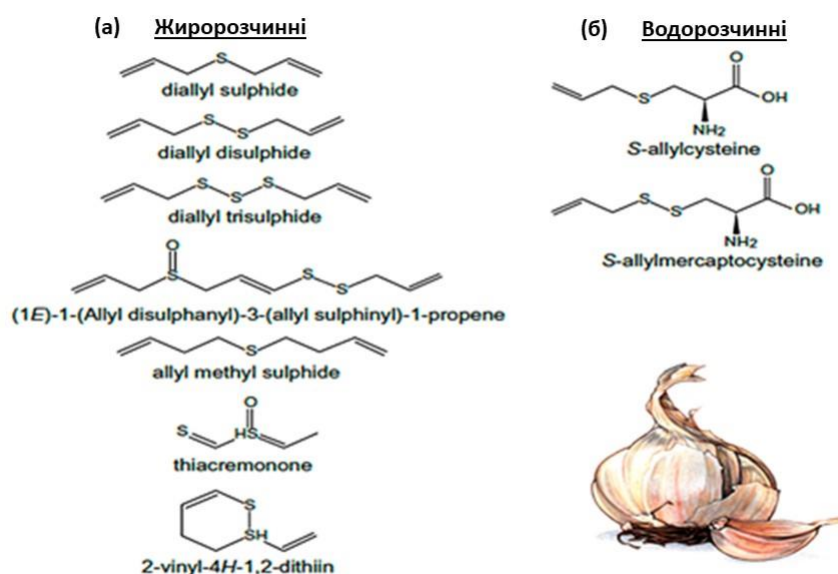


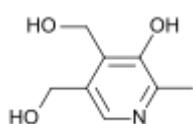
Рис. 1.5. - Сірковмістні з'єднання часнику. З часнику отримують два класи органічних сполук сірки: жиророзчинні (а) і водорозчинні (б) аллільні сполуки сірки, які утворюються з глікозиду аллііна. Жиророзчинні аллільні сполуки сірки, такі як диалліл сульфід (DAS), диалліл дисульфід (DADS) і диалліл трисульфід (DATS) вивільняються з аллііну. Ця реакція каталізується ферментом алліїназою, який вивільняється при подрібненні часнику. Водорозчинні сполуки сірки (S-аллілцістеїн (SAC) і S-аллілмеркаптоцістеїн) отримують при тривалій інкубації дробленого часнику у водних розчинах [за 92].

Причому виявляється, що ряд сульфід-містящих сполук, присутніх в часнику, розщеплюються безпосередньо в кишечнику і утворюють органічні полісульфіди, які потім виділяють H_2S в ході подальшого метаболізму [82]. Таким чином, часник сприяє та має здатність стимулювати природне вироблення сірководню в організмі. Отже, цікаве припущення про те, що кардіопротекторних роль часнику є наслідком виділення H_2S , знаходить все більше наукових підтверджень, проте вимагає подальшого вивчення в плані

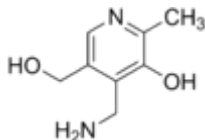
визначення кількісно-якісних взаємовідношень між надходженням екзогенного сірководню чи його попередників та ендogenous утворенням та впливом на організм, зокрема на судинне русло та мітохондріальний апарат клітин, що безпосередньо пов'язано з судинним опором, енергетичним метаболізмом і розвитком АГ.

При аналізі впливу донора сірководню, пов'язаного зі сполуками, котрі містяться в часнику, слід звернути увагу і на інші сполуки, здатні сприяти синтезу ендogenous H_2S . До таких слід віднести піридоксаль-5-фосфат (біологічно активна форма вітаміну B_6), котрий може застосуватись як в клінічній практиці, так і здоровими людьми [27].

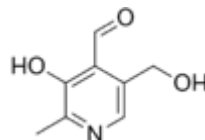
Водорозчинний вітамін включає кілька сполук, таких як піридоксин (PN), піридоксаль (PL), піридоксамін (PM) та їх фосфорильовані форми: піридоксин-5-фосфат (PNP), піридоксаль-5-фосфат (PLP), та піридоксамін-5-фосфат (PMP) (Рис. 1.6).



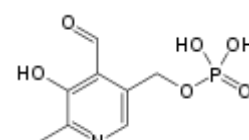
Піридоксин



Піридоксамін



піридоксаль



піридоксальфосфат

Рис. 1.6. – Складові вітаміну B_6

Дефіцит вітаміну B_6 призводить до дратівливості та судом у немовлят, розладів нервової системи, дерматитів, серцево-судинних захворювань та раку [81].

Піридоксаль-5-фосфат (PLP) є біологічно активною формою вітаміну B_6 , і складається з піридинового кільця з гідроксильною, метильною, формільною та фосфатною групами (Рис. 1.7).

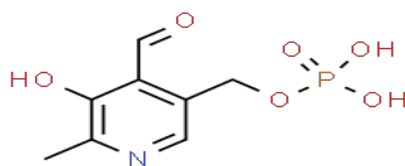


Рис.1.7. Піридоксаль-5-фосфат (PLP)

PLP - це кофермент широкого спектру біологічно важливих реакцій: метаболізму амінокислот, ліпідного обміну та глюконеогену, де він каталізує реакції трансамінування, декарбоксілювання та фосфоролізу, а також рацемізацію, елімінацію або заміщення електрофільної групи [27, 58].

Натепер відомо, що PLP має інгібуючу дію на 44 ДНК/РНК-полімерази, топоізомерази та ангиогенез; PLP має антиоксидантні властивості, оскільки основне ароматичне піридинове кільце PLP є ефективним поглиначем синглетного кисню, що є надважливим при розвитку в організмі оксидативного стресу [77, 113]. До того ж піридоксаль-5-фосфат є коферментом до приблизно 100 ферментів [141].

PLP є кофактором також і до H_2S -синтезуючих ферментів, таких як CBS, CSE та CAT, що кон'югована з 3-MST [198]. Існують експериментальні дані, які вказують на те, що нестача вітаміну B_6 зменшує вироблення сірководню за участю CBS та CSE через транссульфурацію в культивованих клітинах гепатоми людини [114]. При цьому показано, що активність CSE є на 70% нижчою у печінці щурів, які зазнавали дефіциту вітаміну B_6 порівняно з тваринами, яких годували нормальною кількістю цього вітаміну [58, 82]. Ряд досліджень свідчить про те, що застосування як вітаміну B_6 так і PLP, зменшуює ускладнення, пов'язані із старінням та з цілою низкою захворювань: ішемічною хворобою серця, діабетом, гіпертонією, нейродегенеративними розладами [58, 81]. Деякі дослідження показали, що розвиток атеросклерозу та ішемічної хвороби безпосередньо пов'язані з дефіцитом вітаміну B_6 через

підвищення рівня гомоцистеїну в плазмі крові [186]. Такі припущення доводяться дослідженнями, в яких виявляється взаємозв'язок між дефіцитом вітаміну В₆, підвищеним рівнем гомоцистеїну та ішемічною хворобою серця [81]. Слід зазначити, що низький рівень вітаміну В₆ та/або PLP та підвищений рівень гомоцистеїну також спостерігається у пацієнтів з ревматоїдним артритом та хворобою Альцгеймера [27]. Як вже зазначалося, PLP є ефективним поглиначем вільних радикалів кисню, тобто вітамін В₆ впливає на механізми антиоксидантного захисту в тканинах і, відповідно, дефіцит вітаміну В₆ може сприяти виникненню оксидативного стресу [117]. Деякі дослідження показали, що шлуночкові аритмії та смертність від оклюзії коронарної артерії зменшуються при попередньому застосуванні у тварин PLP. Більше того, індуковані ішемією-реперфузією порушення серцевої діяльності зменшувалися за допомогою PLP. Індуковане АТФ збільшення Ca^{2+} , на відміну від індукованого КСІ збільшення Ca^{2+} , пригнічується PLP; PLP також зменшує місця з високою та низькою спорідненістю до зв'язування АТФ у мембранах сарколеми; PLP може викликати кардіопротекторні ефекти, послаблюючи появу внутрішньоклітинного перевантаження Ca^{2+} через блокаду пуринергічних рецепторів [13, 27, 81].

Отже, широкий спектр можливих впливів В₆ та його активної форми PLP супроводжує позитивний ефект як кардіопротектор при ішемічній хворобі серця, механізми якого до кінця не з'ясовані. І не можна відкидати, що така дія реалізується через збільшення ендogenous синтезу сірководню, вплив на який хоча і є експериментально доведений, проте вимагає досліджень щодо процесів, котрі відбуваються при артеріальній гіпертензії.

Проведений аналіз сучасних наукових даних, отриманих як в експериментальних умовах, так і в клінічній практиці вказує на те, що незважаючи на достатньо тривалий період досліджень, присвячених вивченню механізмів виникнення та перебігу артеріальної гіпертензії виявляються нові

фактори, котрі відповідають за зростання артеріального тиску. До таких належить, зокрема, сірководень - найменш досліджений на сьогодні газотрансміттер. Щодо його ролі у виникненні гіпертонічної хвороби до тепер ще не сформовано сталої картини, що вимагає проведення додаткового вивчення.

З іншого боку, результати висвітлені в сучасній літературі, вказують на те, що попри наявність значної кількості препаратів для терапії артеріальної гіпертензії, дослідження механізмів формування останньої вимагає і пошуку нових ефективних підходів до лікування гіпертонічної хвороби. До таких відносять, зокрема, застосування препаратів, які впливають на концентрацію сірководню, що, на нашу думку, має стати окремим предметом дослідження.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1. Об'єкт дослідження.

В даній роботі для з'ясування впливу рівня синтезу ендогенного сірководню на зміни кардіодинаміки і судинний тонус та можливі причини таких змін у хворих на гіпертонічну хворобу проводили обстеження 30 пацієнтів чоловічої статі з вперше виявленою гіпертонічною хворобою (ГХ) II ст., віком 30-60 років, які лікувались в КП "Козятинська ЦРЛ" Козятинської Районної ради Вінницької області. Ці хворі були розподілені на 2 вікові групи: 1) 29-39 років (середній вік – $34,0 \pm 1,1$ років, 10 осіб) та 2) 40-60 років (середній вік – $50,6 \pm 1,7$ років, 20 осіб). Середні показники артеріального тиску у осіб молодшої вікової групи становили: систолічний $141,1 \pm 2,33$ мм рт.ст., діастолічний $90 \pm 2,10$ мм рт. ст., а у пацієнтів старшої вікової групи – $158,0 \pm 2,0$ мм рт.ст. та $98,0 \pm 2,5$ мм рт. ст., відповідно. Контрольні групи представлені здоровими чоловіками без ознак ГХ. Середній вік 10 осіб молодшої вікової групи становив 34 ± 5 років, у яких систолічний АТ був $120 \pm 2,88$ мм рт.ст., а діастолічний АТ $70 \pm 3,10$ мм рт. ст.. Середній вік 10 осіб старшої вікової групи 40-60 років, систолічний і діастолічний АТ у них $135,0 \pm 3,1$ мм рт.ст. та $85 \pm 2,6$ мм рт. ст., відповідно.

Загальноклінічні лабораторні та інструментальні методи обстеження пацієнтів проводились на базі КП «Козятинська ЦРЛ» Козятинської Районної ради Вінницької області. Спеціальні біохімічні методи дослідження проводились у відділі фізіології Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України м. Київ, у співавторстві з Сагач В.Ф, Гошовська Ю.В, Коркач К.П ; морфологічні дослідження- Розова К.В.

Дослідження із залученням здорових осіб та пацієнтів з ГХ проводили у відповідності до Конвенції Ради Європи «Про захист прав людини і людської

гідності в зв'язку з застосуванням досягнень біології та медицини: Конвенція про права людини та біомедицину (ETS № 164)» від 04.04.1997 р і Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації (2008 р.), що було підтверджено комітетом біомедичної етики Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця за наявності письмової інформованої згоди обстежуваних.

Для досягнення поставленої мети дослідження проводили наступним чином.

Визначали концентрацію сірководню у плазмі крові у хворих різного віку з ГХ II ст. та порівнювали її з показниками концентрації сірководню у здорових людей такого ж віку.

Застосовували донор сірководню фітопрепарат часнику для підвищення вмісту ендogenous сірководню в крові у хворих різного віку з ГХ II ступеня.

Застосовували кофактор H_2S синтезуючих ферментів піридоксаль-5-фосфат (PLP), що є біологічно активною формою вітаміну B6, для стимуляції утворення ендogenous сірководню.

Порівнювали між собою ефекти впливу курсового застосування донора сірководню фітопрепарату часнику та кофактора H_2S синтезуючих ферментів піридоксаль-5-фосфату на рівень сірководню в крові, показники оксидативного стресу, активність ізоформ NO-синтази, лабораторні і функціональні показники у хворих на ГХ. Також порівнювали ефекти впливу цих засобів з ефектами стандартного лікування хворих на ГХ.

2.2. Дизайн клінічного дослідження

Обстеження кожного пацієнта проводилося у 4 етапи:

- 1) перед початком дослідження;
- 2) після отримання стандартного курсу лікування основного захворювання – ГХ, котра була виявлена при обстеженні вперше. Стандартна терапія включала один з інгібіторів ангіотензинперетворювального ензиму

(АПЕ) (еналаприл, раміприл, периндоприл) та один з бета-блокаторів (небіволол, бісопролол), які пацієнти приймали протягом двох тижнів;

- 3) після 2-тижневого курсу додаткового лікування у поєднанні із стандартною терапією;
- 4) після місячного курсу додаткового лікування у поєднанні із стандартною терапією;

Додаткове лікування полягало у екзогенному (per os) додаванні до стандартної терапії донора сірководню у дозі 400 мг на добу, яка містилась у фітопрепараті Full Spectrum Garlic (FSG - часник у капсулах) (Swanson Health Products, США). Курс прийому фітопрепарату становив 30 днів, під час якого пацієнти обстежувалися через 2 тижні (короткий курс лікування – ККЛ) та через чотири тижні (довгий курс лікування – ДКЛ).

Крім того у частини хворих на ГХ II ст. старшої вікової групи (n=10) обстеження проводилось до лікування і після 2-тижневого курсу лікування, в якому до стандартної терапії додавали Pyridoxal 5-phosphate (PLP) (Solgar США) - пігулки по 100 мг/добу.

2.3. Методики клінічного обстеження

Артеріальний тиск (АТ) вимірювали усім пацієнтам двічі на добу протягом 3-х днів на початку та наприкінці обстеження. За основу брали середні показники АТ. В цей же час вимірювали частоту серцевих скорочень (ЧСС).

Величину пульсового тиску (ПТ) вираховували за різницею між систолічним та діастолічним тиском. Середньодинамічний тиск (СДТ) визначали за формулою: $СДТ = ПТ : 3 + ДТ$. Величину периферичного опору (ПО) вираховували за формулою: $ПО = (СДТ \times 60 \times 1,333) : ХОК$, де ХОК – хвилинний об'єм крові, котрий дорівнює: $ХОК = ЧСС \times (ПТ \times 100) : СДТ$.

Також усім обстежуваним проводили низку лабораторних методів.

За допомогою гематологічного аналізатора Micro-20 CC Plus мікрометодом Панченкова визначали величину швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ). Концентрацію в крові гемоглобіну визначали за допомогою тест-наборів Felesit на біохімічному аналізаторі Biochem SA. Підрахунок кількості еритроцитів (розчин - 0,9% NaCl) та лейкоцитів (розчин – оцтова кислота 3%) проводили за допомогою камери Горяєва. Вираховували величину кольорового показника (к.п.) за формулою $\text{к.п.} = (\text{кількість Hb(г/л)} \times 3) : (\text{перші 3 цифри числа еритроцитів})$. Методом Квіка визначали також протромбіновий індекс за часом зсідання капілярної крові в тесті активності протромбінового комплексу.

Проводили визначення рівня глюкози крові у фарбованих мазках глюкозооксидазним методом із застосуванням тест-наборів Felesit на обладнанні GBG Stat Fax 1904 Plus (Awareness Technology, Inc., USA). Із використанням тест-наборів цієї ж фірми та GBG Stat Fax 1904 Plus обладнання визначали: ферментативним методом концентрацію загального холестерину в крові; уреазним методом – концентрацію сечовини; методом Яффе з депротеїнізацією - концентрацію креатиніну.

В ході досліджень також застосовували інструментальні методи обстеження пацієнтів - електрокардіографію (12 каналний ЕКГ-апарат Юкард-200 фірми «Ютас», Україна) та ехокардіографію (апарат ультразвуковий скануючий ULTIMA PA, Україна).

2.4. Методики вивчення біохімічних показників у пацієнтів

Здійснювали забір крові з ліктьової вени обстежуваних, центрифугували при 3000g і відбирали плазму, у якій в подальшому і проводили відповідні вимірювання.

Для визначення вмісту H_2S до аліквот зразків додавали 0,5 мл 1%-го розчину ацетату цинку, інкубували при 37°C протягом 10 хв, потім додавали 0,5 мл 20 ммоль/л розчину N,N-диметил-p-фенілендіамін та 0,5 мл 30 ммоль/л

розчину FeCl_3 (реактиви фірми Sigma-Aldrich). Після цього залишали пробки в темноті на холоді протягом 10 хв. Для осадження білка додавали до проб 1 мл 10% трихлороцтової кислоти і центрифугували при 1,5-3 тис. обертів протягом 5 хв. Потім надосадову рідину акуратно, не збовтуючи пробірок, наливати в кювету для подальшого спектрофотометричного вимірювання її оптичної густини при довжині хвилі - 670 нм. Холоста проба замість плазми крові містила 0,1 мл H_2O [216].

Інтенсивність оксидативного метаболізму оцінювали за зміною швидкості генерації нестабільних вільних радикалів кисню – супероксидного аніон-радикалу ($\text{O}_2 \cdot^-$) і $\cdot\text{OH}$ -радикалу, пероксиду водню (H_2O_2) і кінцевих продукту перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) – малонового діальдегіду (МДА).

Швидкість генерації $\text{O}_2 \cdot^-$ визначали за окисненням цитохрому с у тріс- HCl буфері (10 мМ) при 37°C , $\text{pH}=7,4$, фіксуєчи зміни екстинції після інкубації проби при 37°C , $\text{pH}=7,4$ протягом 30 хв при $\lambda=550$ нм. Вміст $\text{O}_2 \cdot^-$, генерованого пробами підчас інкубації, визначали за коефіцієнтом молярної екстинції $\lambda=21\ 000$ моль $^{-1}$ *см $^{-1}$ [125].

Для визначення швидкості генерації $\cdot\text{OH}$ готували інкубаційну суміш у складі (у мМ): дезоксирибоза – 20; H_2O_2 – 1; натрій-фосфатний буфер – 20, $\text{pH}=7,4$. Пробу інкубували при 37°C протягом 60 хв, додавали 0,5 мл 1% розчину тіобарбітурової кислоти в розчині NaOH (50мМ) і 0,5 мл 2,8% розчину трихлороцтової кислоти. Отриману суміш витримували на водяній бані 20 хв, охолоджували та реєстрували величину екстинції при $\lambda=532$ нм. Кількість $\cdot\text{OH}$ -радикалу, що генерувалась при цьому, виражали в умовних одиницях $\Delta\text{E} \cdot 102$ за 60 хв на 1 мг білка проби [104]. Вміст H_2O_2 вимірювали при $\lambda=353$ nm [105].

Вміст МДА визначали так: до аліквот проб додавали 0,5 мл 1% розчину тіобарбітурової кислоти в 50 мМ NaOH , підчас чого формувався триметиновий комплекс як похідне червоного забарвлення, і 0,5 мл 2,8% розчину трихлороцтової кислоти. Отриману суміш витримували 20 хв на водяній бані,

охолоджували і вимірювали екстинцію при 532 нм. Вміст МДА розраховували з використанням коефіцієнту молярної екстинції $\lambda=15600 \text{ моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ [108].

Вимірювання активності кальцій залежної конститутивної NOS (cNOS) і кальцій не залежної індукбельної NOS (iNOS) здійснювали за методом [64, 175], адаптованого до спектрофотометричного вимірювання одного з продуктів реакції L-цитруліну. Сумарну cNOS активність (eNOS + nNOS) обраховували шляхом віднімання активності iNOS від загальної NOS активності, і виражали в пікомолях новоутвореного L-цитруліну за хвилину на мг білку зразка.

2.5. Підготовка препаратів для електронномікроскопічного вивчення ультраструктури клітин крові (лейкоцитів та тромбоцитів)

Збагачену тромбоцитами з вмістом лейкоцитів плазму крові отримували центрифугуванням цільної крові, отриманої з ліктьової вени обстежуваних, при кімнатній температурі протягом 15 хв. при 120 g на центрифугі лабораторній T-30 (Україна). Плазму акуратно відокремлювали від осаду і центрифугували при 2000 g протягом 20 хв. за допомогою міні-центрифуги Vortecs Combispin FVL-2400N (Латвія) [170].

Приготування зразків для електронномікроскопічного дослідження здійснювалося відповідно до загальноприйнятої методики для формених елементів крові з подвійною фіксацією глютаральдегідом та OsO₄, зневодненням в спиртах зростаючої концентрації, абсолютних спирті та ацетоні з подальшою заливкою в Epon-Araldite (реактиви фірми Fluka, Швейцарія) [15]. Ультратонкі зрізи товщиною 40-60 нм контрастували за допомогою розчинів уранілацетату і цитрату свинцю (реактиви фірми Sigma, США) і переглядали в електронному мікроскопі ПЕМ-124с (Україна).

2.6. Морфометричне вивчення ультраструктури клітин крові

Морфометричні підрахунки виконували за допомогою комп'ютерної програми для морфометричних підрахунків Image Tool (США) на 130-150 полях для кожної групи обстежуваних.

У тромбоцитах (Т) визначали кількість оптично щільних дрібних σ -гранул та оптично прозорих великих σ -гранул.

У лейкоцитах (Л) вивчали ультраструктуру мітохондрій (МХ), вимірюючи загальну кількість мітохондрій (n), кількість структурно пошкоджених мітохондрій (dn) та середній діаметр мітохондрій (D).

2.7. Статистична обробка даних

Статистичну обробку отриманих даних здійснювали за допомогою програми STATISTICA 6.0 і представляли у вигляді «середнє значення \pm стандартна похибка середнього» ($M \pm SEM$). Відповідно до критерію Шапіро-Вілка (W) отримані результати вкладалися в нормальний закон розподілу. Тому для оцінки достовірності отриманих результатів використовували однофакторний дисперсійний аналіз one-way ANOVA з подальшим застосуванням порівняльного post hoc аналізу за допомогою тесту Тьюкі. Також вірогідність відмінностей між показниками на різних етапах дослідження оцінювали за допомогою методу різниць та t критерію Стьюдента [30]. Відмінності вважали статистично значущими при $P < 0,05$.

РОЗДІЛ 3.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Зміни вмісту ендogenous сірководню в плазмі у пацієнтів різного віку з артеріальною гіпертензією при різній тривалості застосування донора сірководню

Як зазначалося вище в розділі «Огляд літератури», одним з основних факторів розвитку ГХ є окисний стрес (див. розділ 1) [56, 69, 117]. Зокрема, окисний стрес є ініціатором порушення роботи eNOS, при якому вона стає неспряженою і продукує супероксидний аніон-радикал замість NO. Генерація активних форм азоту і розвиток нітрозативного стресу, як компоненти окисного стресу, супроводжується порушенням ендотеліальної функції. Тому для зменшення рівня АТ важливим є усунення проявів окисного стресу.

Останні роки увагу дослідників привертає такий газовий трансмітер як сірководень, який в тандемі з NO відіграє важливу роль в розслабленні гладеньких м'язів периферичних судин і регуляції редокс статусу організму. В експериментах на тваринах було показано, що введення донора H_2S гідросульфиду натрію (NaHS) пригнічує розвиток окисного стресу.

За останні 5-6 років з'явилося кілька доклінічних і клінічних випробувань, які показали ефективність застосування екстракту часнику для зниження артеріального тиску і факторів ризику серцево-судинних захворювань у пацієнтів з гіпертонічною хворобою [6, 69, 92]. Незважаючи на перспективність використання препаратів часнику у терапії ГХ, механізми дії такої корекції залишаються не з'ясовані. Тому ми припустили, що препарат на основі часнику може реалізовувати свою гіпотензивну дію шляхом стимуляції ендogenous синтезу H_2S .

3.1.1. Вміст сірководню в плазмі крові пацієнтів з ГХ молодшої вікової групи після застосування донора H₂S

Було показано, що рівень H₂S значно знижується в крові не лише у спонтанно гіпертензивних щурів [216], але й у пацієнтів з ішемічною хворобою серця і/чи АГ, що дозволяє пропонувати цей показник як один з маркерів серцево-судинних захворювань [63, 77]. Наші результати показали, що два тижні стандартної медикаментозної терапії практично не впливали на вміст H₂S в плазмі крові пацієнтів, який складав 33,21 мкмоль/л (рис. 3.1).

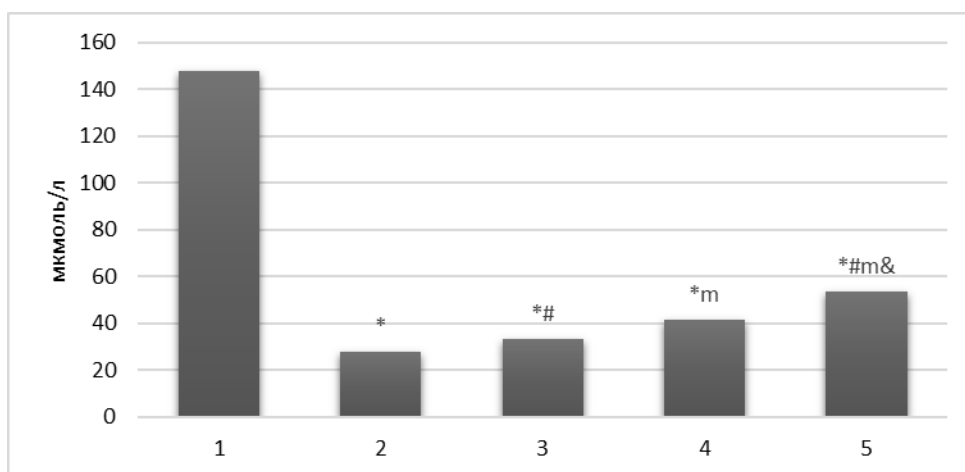


Рис. 3.1. Динаміка вмісту сірководню в плазмі крові пацієнтів віком 29-39 років з гіпертонічною хворобою: здорові люди (1), хворі на ГХ до лікування (2), хворі на ГХ після 2 тижнів стандартної терапії (3), хворі на ГХ через 14 днів (4) та через 30 днів вживання фітопрепарату у поєднанні із стандартною терапією (5). Примітка: * - різниця достовірна відносно здорових осіб ($p < 0,05$), # - різниця достовірна відносно 2, m - різниця достовірна відносно 3, & - різниця достовірна відносно 4.

Натомість вживання фітопрепарату достовірно збільшило рівень H₂S як через 14 днів - до 41,61 мкмоль/л ($P < 0,05$), так і, особливо, через 30 днів - до 53,71 мкмоль/л ($P < 0,001$). Крім того, варто відмітити, що вміст H₂S через 30 днів вживання фітопрепарату у хворих на ГХ мав виражену динаміку наближення до

значень у здорових осіб, проте не досягав їх і залишався зниженим $-53,71$ мкмоль/л ($P < 0,01$). Отже, досліджений фітопрепарат дійсно збільшує рівень H_2S в крові, а його вміст в плазмі залежить від тривалості вживання препарату часнику.

3.1.2. Вміст сірководню в плазмі крові пацієнтів з ГХ старшої вікової групи після застосування донора H_2S

Раніше також зазначалося (див. розділ «Огляд літератури»), що концентрація сірководню в плазмі крові знижується не тільки при захворюваннях серцево-судинної системи зі зростанням АТ, але й при старінні організму. Отримані нами результати дозволили встановити, що у пацієнтів старшої вікової групи з виявленою ГХ вміст H_2S мав тенденцію до зниження відносно молодих обстежуваних на $48,1\%$ ($0,1 < p < 0,2$) (рис. 3.1, 3.2). Якщо провести порівняння концентрації сірководню у здорових осіб та пацієнтів з ГХ, то видно що вміст сірководню в крові пацієнтів 40-60 річного віку з ГХ був майже вдвічі нижчий, ніж у здорових осіб того ж віку (рис. 3.2).

Було показано, що рівень H_2S значно знижується в крові не лише спонтанногіпертензивних щурів [216], але й у пацієнтів з ішемічною хворобою серця і/чи АТ, що дозволяє пропонувати цей показник як один з маркерів серцево-судинних захворювань [77, 109]. Якщо ж порівнювати концентрацію H_2S у пацієнтів з ГХ різного віку, то у 29-39 річних ця величина була нижчою, ніж у здорових, на $81,1\%$, а у 40-60 річних – на $67,7\%$. Отже, за наявності ГХ незалежно від віку відбувається зниження концентрації сірководню в плазмі крові що, ймовірно, вимагає корекції (збільшення) цього параметра.

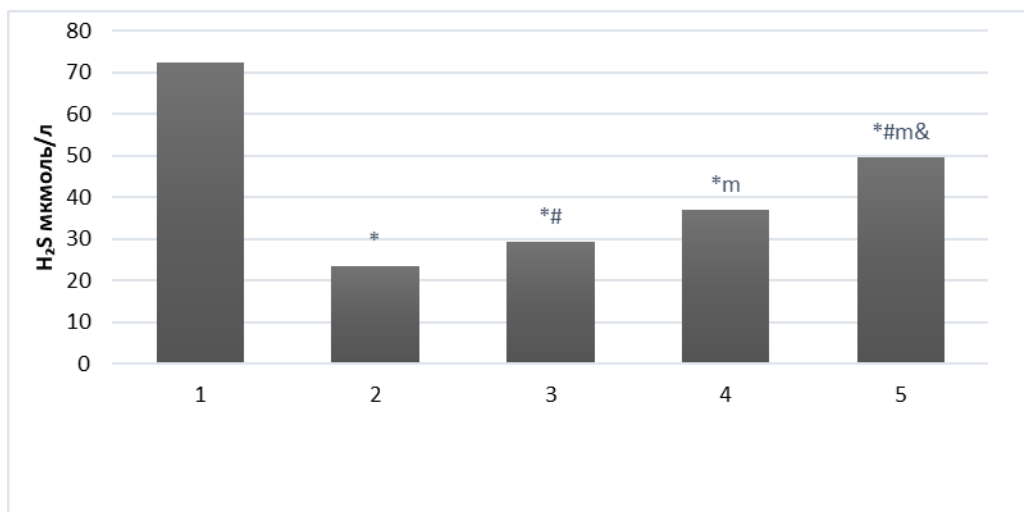


Рис. 3.2. Динаміка вмісту сірководню в плазмі крові пацієнтів віком 40-60 років з гіпертонічною хворобою (ГХ): здорові люди (1), хворі на ГХ до лікування (2), хворі на ГХ після 2 тижнів стандартної терапії (3), хворі на ГХ через 14 днів (4) та через 30 днів вживання фітопрепарату у поєднанні із стандартною терапією (5). Примітка: * - різниця достовірна відносно здорових осіб ($p < 0,05$), # - різниця достовірна відносно 2, m - різниця достовірна відносно 3, & - різниця достовірна відносно 4.

Слід відзначити, що проходження стандартної антигіпертензивної терапії знизило рівень H_2S в старшій віковій групі на 32%, що, ймовірно, обумовлюється особливостями впливу препаратів, котрі традиційно застосовуються при лікуванні ГХ. Цей факт може бути предметом окремого дослідження. Вживання препарату часнику поступово, у вигляді тенденції, підвищило рівень H_2S на 14-ту добу до 37,05 мкмоль/л. Застосування фітопрепарату упродовж місяця у молодих пацієнтів з ГХ призводило до зростання концентрації сірководню на 48,2% відносно вихідних значень до лікування, а у пацієнтів старшого віку це зростання становило 53%, тобто було дещо більш значимим. Двотижневе застосування донора сірководню теж супроводжувалося статистично значимим збільшенням вмісту H_2S у молодих пацієнтів - на 33,2%, тоді як у хворих старшої вікової групи цей показник становив 37,1%.

Таким чином досліджений фітопрепарат змінює рівень H_2S в плазмі не тільки в залежності від тривалості вживання препарату часнику, але й від віку пацієнтів.

Результати, наведені у підрозділі 3.1, знайшли відображення у наступних публікаціях:

Кравчук О.М., Гошовська Ю.В., Коркач К.П., Сагач В.Ю. Фітопрепарат часнику знижує артеріальний тиск і зменшує окисний стрес, збільшуючи вміст H_2S у плазмі крові у пацієнтів з артеріальною гіпертензією. Фізіол. журн. 2020; 66 (4): 55-63. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz66.04.055> [22].

Kravchuk O.M., Goshovska Y.V., Korkach Y.V., Sagach V.F. Garlic supplement lowers blood pressure in 40-60 years old hypertensive individuals, regulates oxidative stress, plasma cholesterol and protrombin index. J Cardiovasc Med Cardiol. 2021; 8 (2): 41-47. DOI. <https://dx.doi.org/10.17352/2455-2976.000168> [120].

3.2. Особливості змін маркерів окисно-нітрозативного стресу в плазмі крові пацієнтів різного віку після різної тривалості застосування донора сірководню

Перш, ніж проаналізувати вплив донора сірководню на маркери окисно-нітрозативного стресу в плазмі крові пацієнтів з ГХ слід нагадати, які чинники призводять до розвитку цієї патології. По-перше, це генетично детерміновані фактори, які ведуть до надмірного утворення сполук, що збільшують тонус судин. Зокрема ангіотензин утворюється за дії ангіотензинперетворювального ензиму і чинить вазоконстрикторну дію [53]. По-друге, це викид катехоламінів і тривала стимуляція β_2 -адренорецепторів, збільшення внутрішньоклітинного кальцію і сили скорочення гладеньких м'язів, що, в свою чергу, теж веде до підвищення АТ [67, 210]. По-третє, причинами підвищеного АТ може бути зменшення синтезу чи/і біодоступності ендогенних вазорелаксантів, зокрема

оксида азоту (NO) внаслідок активації ензиму аргінази, що є конкурентом NO-синтази (NOS) за спільний субстрат L-аргінін, і зниження власне NO-синтазної активності [65]. Однак одним з основних факторів розвитку ГХ є окисний стрес, який можна назвати і причиною цього захворювання, і наслідком [56, 69, 117, 160]. Окисний стрес, як вже зазначалося, є ініціатором порушення роботи конститутивної NOS, внаслідок чого вона стає неспряженою і продукує супероксидний аніон-радикал замість NO. Генерація активних форм азоту і розвиток нітрозативного стресу теж супроводжується порушенням ендотеліальної функції. Тому для зменшення симптомів ГХ, в першу чергу, необхідним є усунення саме проявів окисного стресу. Сірководень в тандемі з NO відіграє важливу роль в розслабленні гладеньких м'язів периферичних судин і регуляції редокс статусу організму, а донор сірководню може реалізувати гіпотензивну дію шляхом стимуляції ендogenous синтезу H_2S , нівелювання окисного стресу і відновлення спряження конститутивного синтезу NO.

3.2.1. Результати обстеження пацієнтів з ГХ молодшої вікової групи після застосування донора H_2S

Результати досліджень показали, що у пацієнтів з ГХ після курсу лікування відбувалось зменшення вмісту маркерів окисативного стресу в крові (табл. 3.1). Так, через 2 тижні стандартної медикаментозної терапії достовірно знизилась швидкість продукції супероксидного та гідроксильного радикалів на 45,6% і 54,8%, відповідно ($P < 0,05$ для обох), а вміст одного з кінцевих продуктів ПОЛ – МДА – знизився на 29% ($P < 0,05$). Разом з цим відбувалось гальмування нітрозативного стресу, про що свідчить зниження активності індубельної NOS на 28,3% ($P < 0,05$), яка, як відомо, активується в умовах окисного стресу і разом із збільшеними рівнями супероксидного радикалу може давати утворення токсичного пероксинітриту, який, в свою чергу, є потужним окисником і ініціатором ПОЛ. Водночас активність конститутивної NOS в

плазмі збільшилась після двох тижнів стандартної терапії на 122% ($P < 0.001$), що також є позитивною ознакою, оскільки конститутивний NO є основним регулятором тону судин, що здійснює дилатуючу дію як на периферичні так, і на коронарні судини.

Вживання препарату часнику посилило ці позитивні зміни: відбувалось подальше зниження швидкості генерації АФК, кінцевого продукту ПОЛ і активності iNOS, а активність cNOS не зменшувалась. Через 2 тижні застосування донора сірководню динаміка змін активності індукційної та конститутивної NOS вказувала на відносне наближення до показників, притаманних здоровим людям, те ж стосується швидкості генерації $O_2^{\cdot-}$ та *ОН радикалів. Вміст МАД також достовірно знижувався (на 29% відносно стану до лікування).

Таблиця 3.1.

Маркери окисно-нітрозативного стресу в плазмі крові у молодших пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст. та їх зміни при застосуванні донора сірководню
($M \pm m$)

Показники	Здорові люди (n=10)	Хворі на ГХ II ст.. (n=10)			
		До лікування	Стандартна терапія	Стандартна терапія + 14 днів прийому донора H_2S	Стандартна терапія + 30 днів прийому донора H_2S
Швидкість генерації $O_2^{\cdot-}$, нмоль*хв ⁻¹ мг ⁻¹	1,51 ±0,07	3,24 ±0,14•	1,48 ±0,10*	0,84 ±0,10• [#]	0,64 ±0,11•* ^{&}
Концентрація малонового діальдегіду, нмоль*мг ⁻¹	1,68 ±0,07	5,80 ±0,26•	4,12 ±0,23•*	4,02 ±0,13•	3,19 ±0,13•* ^{&}
Швидкість генерації *ОН, нмоль*хв ⁻¹ мг ⁻¹	2,07 ±0,02	4,14 ±0,20•	1,87 ±0,19*	1,17 ±0,04• [#]	2,23 ±0,05* ^{&}
Швидкість генерації H_2O_2 , мкмоль*хв ⁻¹ мг ⁻¹	2,02 ±0,09	3,71 ±0,15•	3,27 ±0,29•	5,13 ±0,16• [#]	1,88 ±0,18* ^{&}
Активність індукційної NOS, пмоль*хв ⁻¹ мг ⁻¹	6,79 ±0,55	16,07 ±0,27•	11,5 ±0,46•*	13,16 ±0,16• [#]	9,94 ±0,11•* ^{&}
Активність конститутивної NOS, пмоль*хв ⁻¹ мг ⁻¹	26,54 ±1,22	7,73 ±0,60•	17,16 ±0,42•*	14,77 ±0,19• [#]	17,70 ±0,21•* ^{&}

Примітка: • - різниця достовірна відносно здорових людей, * - різниця достовірна відносно даних до лікування, # - різниця достовірна відносно стандартної терапії, & - різниця достовірна відносно 14 діб вживання препарату.

Статистичний аналіз також показав достовірну зміну всіх досліджуваних показників через 30 діб порівняно із даними, отриманими через 14 діб вживання донора сірководню, та суттєве наближення переважної більшості показників до значень властивих здоровим особам (див. табл. 3.1).

3.2.2. Результати обстеження пацієнтів старшої вікової групи з гіпертонічною хворобою II ступеню після застосування донора H₂S

При аналізі отриманих результатів слід звертати увагу на той факт, що величини досліджуваних показників у здорових людей мають деякі вікові відмінності. Особливо це стосується рівнів активності NOS: в старшій віковій групі активність iNOS є вищою на 47,7%, а cNOS – нижчою на 39,2%, ніж у осіб молодшої групи.

Зростання активності iNOS і дефіцит NO відіграють важливу роль в розвитку гіпертонічної хвороби, порушенні процесів перекисного окислення ліпідів, в розвитку і підтримці інших патологічних процесів, а також старіння [188]. При цьому дія iNOS проявляється в основному при патологічних ситуаціях, тому особливості функціонування та механізми регуляції цієї ізоформи, а також виділений при цьому NO залежать від характеру процесу в організмі. Інгібування ж iNOS зменшує продукцію в тканинах супероксидного аніон-радикала мікросомальним і мітохондріальним електрон-транспортними ланцюгами, обмежує в них інтенсивність пероксидного окислення ліпідів, підвищує антиоксидантний потенціал, активність антиоксидантних ферментів - супероксиддисмутази і каталази. Це вказує на роль NO ендогенного

походження, що виробляється за участю iNOS, в активації вільнорадикальних процесів і пригніченні системи антиоксидантного захисту [157].

Активність же cNOS залежить від концентрації кальцію і кальмодуліну. Вона забезпечує виділення невеликої кількості NO на короткий період у відповідь на рецепторну стимуляцію. Фермент істотно інактивується при низьких концентраціях вільного кальцію, тому зниження cNOS у старших осіб є зрозумілим. NO, що утворюється за участі cNOS, діє як переносник в ряді фізіологічних відповідей, локалізується в великих кількостях в ендотелії і в тромбоцитах. NO, що продукується під впливом cNOS при деяких формах патології, поряд з регуляторним, має протективну (захисну) дію, може викликати розслаблення міофібрил і зниження тонуусу кровоносних судин [39, 87].

Вікова різниця показників спостерігається і відносно швидкості генерації O_2^* -радикалів (на 26,5%; табл. 3.2), однак на користь молодших осіб.

Результати досліджень показали, що порівняно із здоровими людьми, у пацієнтів з ГХ збільшувались показники, що характеризують інтенсивність окисного метаболізму (див. табл. 3.2). Зокрема швидкість генерації супероксидного та гідроксильного радикалів зростала в 3,8 і 2,6 рази, а вміст МДА та перекису водню збільшувався в 3,3 і 2 рази, відповідно. При цьому спостерігали зниження активності cNOS на 57% і збільшення активності iNOS в 1,7 рази, що вказує на пошкоджуючий вплив окисного стресу на продукцію NO і разом із збільшеним рівнем супероксидного радикалу може свідчити про утворення потужного ініціатора перекисного окислення ліпідів пероксинітриду.

Під дією стандартної антигіпертензивної терапії вміст маркерів окисативного стресу в крові суттєво зменшувався: швидкість генерації супероксидного і гідроксильного радикалів знизилась на 60 і 67%, відповідно ($P < 0,01$), вміст стабільного їх метаболіту (H_2O_2) і продукту ПОЛ (МДА) знизився на 47 і 27,5%, відповідно ($P < 0,01$ і $P < 0,05$). Важливо, що активність

iNOS знижувалась на 35,2% ($P<0,05$), а активність cNOS зростала вдвічі ($P<0,001$), що дає підстави говорити про відновлення спряження конститутивної NOS (див. табл. 3.2).

Таблиця 3.2.

Маркери окисно-нітрозативного стресу в плазмі пацієнтів старшої вікової групи з гіпертонічною хворобою II ст. та їх зміни при застосуванні донора сірководню ($M\pm m$)

Показники	Здорові люди (n=10)	Хворі на ГХ II ст.. (n=10)			
		До лікування	Стандартна терапія	Стандартна терапія +14 днів прийому донора H ₂ S	Стандартна терапія +30 діб прийому донора H ₂ S
Швидкість генерації O ₂ ^{-*} , нмоль*хв ⁻¹ мг ⁻¹	1,11 ±0,28	4,30 ±0,09•	1,74 ±0,28•*	1,23 ±0,22*#	0,89 ±0,06*#
Вміст малонового діальдегіду, нмоль*мг ⁻¹	1,74 ±0,09	5,82 ±0,22•	4,22 ±0,48•*	6,13 ±0,68•#	3,81 ±0,15•*#&
Швидкість генерації *ОН, нмоль*хв ⁻¹ мг ⁻¹	2,62 ±0,16	6,96 ±0,88•	2,28 ±0,07•*	1,91 ±0,12•*#	2,16 ±0,04•*#&
Швидкість генерації H ₂ O ₂ , мкмоль*хв ⁻¹ мг ⁻¹	2,02 ±0,09	4,21 ±0,37•	2,23 ±0,16•*	4,95 ±0,45•#	2,14 ±0,09•*#&
Активність індукцйбельної NOS, пмоль*хв ⁻¹ мг ⁻¹	10,03 ±0,64	17,62 ±1,07•	11,39 ±0,35*	12,74 ±0,29•*#	10,11 ±0,05•*#&
Активність конститутивної NOS, пмоль* в ⁻¹ мг ⁻¹	19,07 ±1,11	8,18 ±0,26•	16,90 ±0,09•*	15,20 ±0,45•*#	16,50 ±0,21•*#&

Примітка: • - різниця достовірна відносно здорових людей, * - різниця достовірна відносно даних до лікування, # - різниця достовірна відносно стандартної терапії, & - різниця достовірна відносно 14 діб вживання препарату.

Слід відзначити, що вживання фітопрепарату часнику протягом 14 днів супроводжувалось певними реверсивними змінами: вміст H_2O_2 збільшився в 2,2 рази, а МДА – на 45% ($P<0,01$) . При цьому активність iNOS збільшилась на 11,7% ($P<0,05$), а активність cNOS знизилась на 10% ($P<0,05$) порівняно з даними, отриманими після застосування стандартної терапії. Однак швидкість утворення супероксидного і гідроксильного радикалів залишалась достовірно нижчою, ніж до початку лікування. Через 30 днів вживання фітопрепарату часнику спостерігались позитивні зміни, а саме: вміст МДА, H_2O_2 і активність iNOS достовірно знижувались порівняно з 14-м днем лікування і наближались до значень у здорових людей, так як і решта досліджуваних показників.

Зменшення проявів оксидативного стресу під впливом донора сірководню має справляти позитивний вплив на морфофункціональний стан мітохондрій, пошкодження яких, а саме розвиток мітохондріальної дисфункції, є підґрунтям формування патологічних станів в організмі, зокрема й ГХ. Окрім цього зміни активності NOS (як зазначено вище) пов'язані з фізіологічними відповідями з боку тромбоцитів, які є зручною моделлю для дослідження ультраструктурних змін, що відбуваються в клітинах та клітинних органелах організму при ендо- та екзогенних впливах і формуванні патологічних станів [18, 66]. Таке твердження справедливе й відносно лейкоцитів, вивчення яких дає можливість достовірно оцінити ультраструктуру мітохондрій та її зміни при патології та корегуючих впливах.

Результати, наведені у підрозділі 3.2, знайшли відображення у наступних публікаціях:

Кравчук О.М., Гошовська Ю.В., Коркач К.П., Сагач В.Ю. Фітонпрепарат часнику знижує артеріальний тиск і зменшує окисний стрес, збільшуючи вміст H2S у плазмі крові у пацієнтів з артеріальною гіпертензією. Фізіол. журн. 2020; 66 (4): 55-63. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz66.04.055> [22].

Kravchuk O.M., Goshovska Y.V., Korkach Y.V., Sagach V.F. Garlic supplement lowers blood pressure in 40-60 years old hypertensive individuals, regulates oxidative stress, plasma cholesterol and protrombin index. J Cardiovasc Med Cardiol. 2021; 8 (2): 41-47. DOI. <https://dx.doi.org/10.17352/2455-2976.000168> [120].

Кравчук О.М. Зміни маркерів окисно-нітрозативного стресу в плазмі крові пацієнтів з артеріальною гіпертензією після застосування фітонпрепарату донора сірководню. Vancouver, Canada; 23-26 November, 2020: 439-453.[20].

3.3. Вплив різної тривалості застосування донора сірководню на ультраструктуру клітин крові у пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст. в залежності від віку обстежених

Для вивчення морфофункціонального стану клітинних органел і, опосередковано, стану судинної стінки, у здорових людей і пацієнтів з патологією практично єдиними об'єктами (при відсутності оперативного втручання) є клітини крові, зокрема, тромбоцити (Т) та лейкоцити (Л). Вони беруть участь у багатьох процесах в організмі, як пов'язаних, так і безпосередньо не пов'язаних з ГХ: в регенерації тканин, розвитку запальних та імунних реакцій, забезпеченні первинного гомеостазу. Щодо Т, то вони містять значну кількість різних гранул, котрі включають в себе глікопротеїни, білки, фактори росту, АДФ, АТФ, іони кальцію, серотонін, гістамін і т.п. [173].

3.3.1. Ультраструктура тромбоцитів у пацієнтів різного віку з гіпертонічною хворобою II ст.

Проведені дослідження дозволили виявити суттєві відмінності в структурній організації Т у осіб з ГХ у різних вікових групах, обстежених до початку стандартного лікувального процесу.

Перш ніж розглядати ультраструктуру тромбоцитів у осіб з гіпертонічною хворобою, наводимо приклад їх структури у здорових осіб контрольної групи, котра притаманна людям різного віку без особливих відмінностей (рис. 3.3).

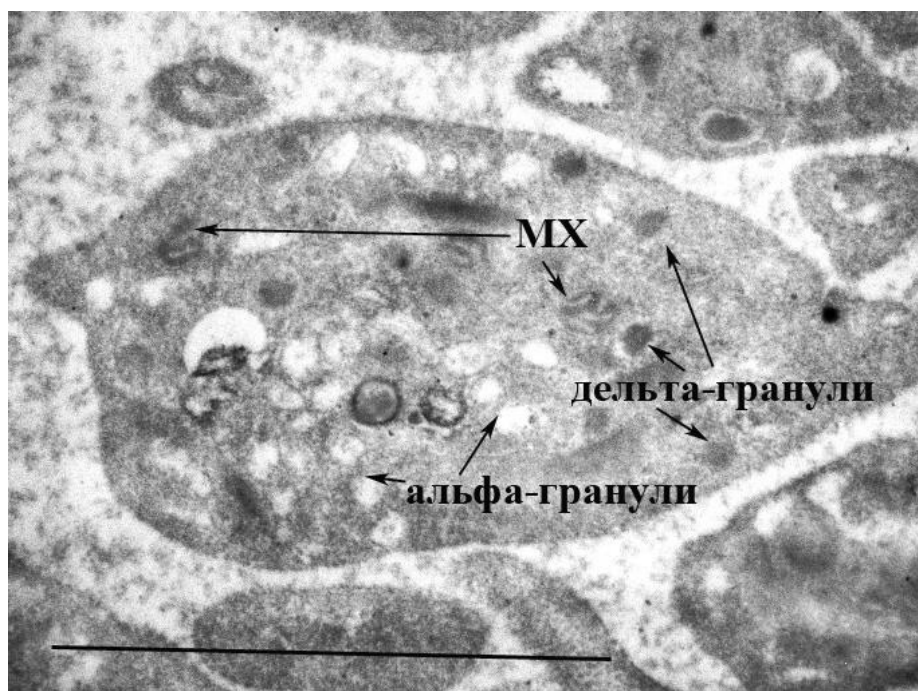


Рис. 3.3. Ультраструктура тромбоцитів у здорових осіб. Масштаб 1 мкм.

У осіб старшої вікової групи Т практично не мали щільних δ -гранул, натомість кількість прозорих α -гранул виявлялася підвищеною (табл. 3.3). До того ж останні часто мали великі розміри (>100 нм) і містили значну кількість білкового дебрису (рис. 3.4).

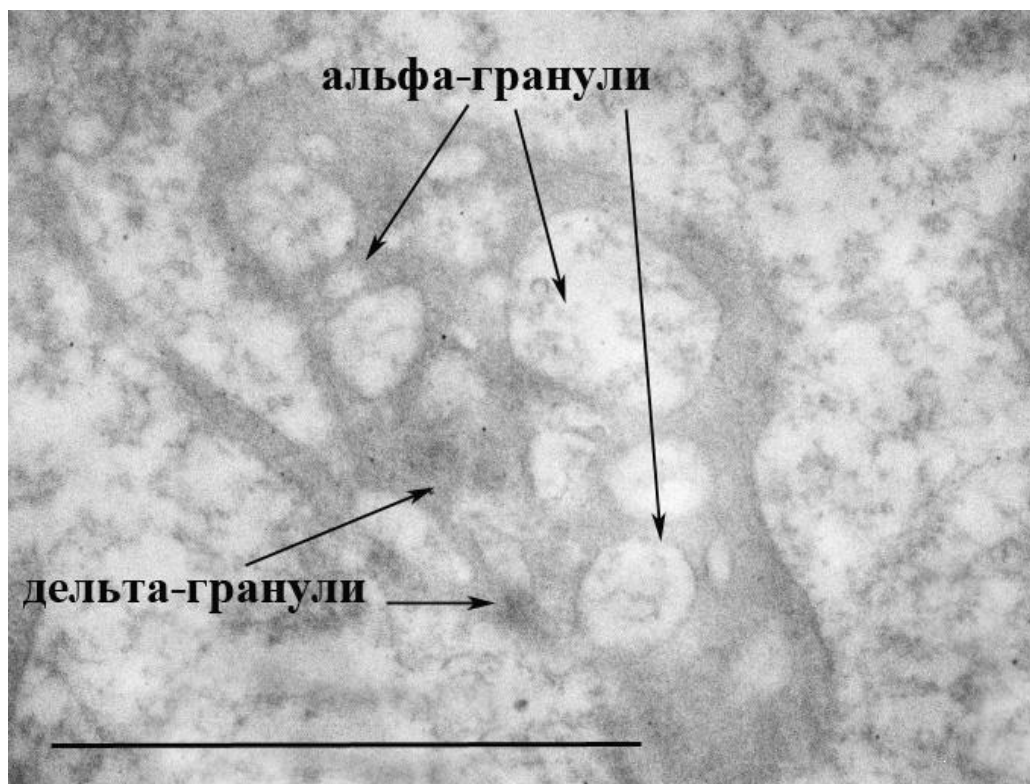


Рис. 3.4. Ультраструктура тромбоцитів у пацієнтів старшої вікової групи з гіпертонічною хворобою. Масштаб 1 мкм.

Одиничні мітохондрії (МХ) були структурно збереженими.

Однією з важливих функцій Т є їх участь в метаболізмі серотоніну (С). Встановлено, що кількість щільних δ -гранул залежить саме від його концентрації [66]. Окрім С δ -гранули містять АДФ і АТФ, а також акумулюють Ca^{2+} . Т – практично єдині клітини крові, у яких концентруються резерви С (до 95% С, що визначається у плазмі), отже його кількість, накопичена в δ -гранулах, опосередковано свідчить про обмін С, котрий у обстежуваних пацієнтів ймовірно знижений, що може вказувати на дисфункцію серотонінергічної системи, а також бути свідченням порушення регуляторних ефектів С відносно скоротливої здатності судинної стінки, оскільки С бере безпосередню участь у регуляції судинного тону, а саме сприяє його зростанню. Можливо такі зміни є компенсаторними, спрямованими на зниження судинного тону при ГХ [25, 170].

Таблиця 3.3.

Характеристики ультраструктури тромбоцитів у здорових людей
і хворих з гіпертонічною хворобою (M±m)

Групи обстежених	δ-гранули, од./клітину	α-гранули, од./клітину
Здорові люди, середній вік 30,4±2,8 років, (n=10)	6,4±0,5	9,1±0,7
Здорові люди, середній вік 54,2±1,9 років, (n=10)	8,6±0,7	5,3±0,9
Пацієнти з гіпертонічною хворобою, середній вік 34,0±1,1 років (n=10)		
До лікування	9,3±0,5*	6,2±0,6*
Після курсу стандартного лікування (СЛ)	7,5±0,6•	8,3±0,5•
Після 2-тижневого прийому фітопрепарату на фоні СЛ	6,9±0,7•	7,4±0,8•
Після місячного прийому фітопрепарату на фоні СЛ	5,9±0,4•#	9,6±0,5•#
Пацієнти з гіпертонічною хворобою, середній вік 50,6±1,7 років (n=10)		
До лікування	3,3±0,2*	9,7±0,5*
Після курсу стандартного лікування (СЛ)	4,7±0,5*•	8,8±0,6*
Після 2-тижневого прийому фітопрепарату на фоні СЛ	5,0±0,3*•	7,9±0,4*•
Після місячного прийому фітопрепарату на фоні СЛ	6,6±0,4*•#	6,9±0,6*•#

Примітки: * - $P < 0,05$ відносно здорових людей відповідного віку; • - $P < 0,05$ відносно групи до лікування; # - $P < 0,05$ відносно групи зі стандартним лікуванням

Кількість великих α-гранул, котрі містять білки та глікопротеїни, що приймають участь в процесах згортання крові, протеолітичні ферменти тощо, в Т виявлялася значно вищою, ніж у здорових людей (див. табл. 3.3). Можна

припустити, що значна кількість гранул, у яких виявляється антигепариновий фактор тромбоцитів 4, тромбоцитарний ростовий фактор, тромбоспондин, що сприяють агрегації Т, вказує на зростання ризику тромбоутворення у літніх пацієнтів з ГХ [133].

При дослідженні Т пацієнтів молодшого віку було встановлено, що ГХ супроводжувалася протилежними змінами ультраструктури Т (рис.3.5).

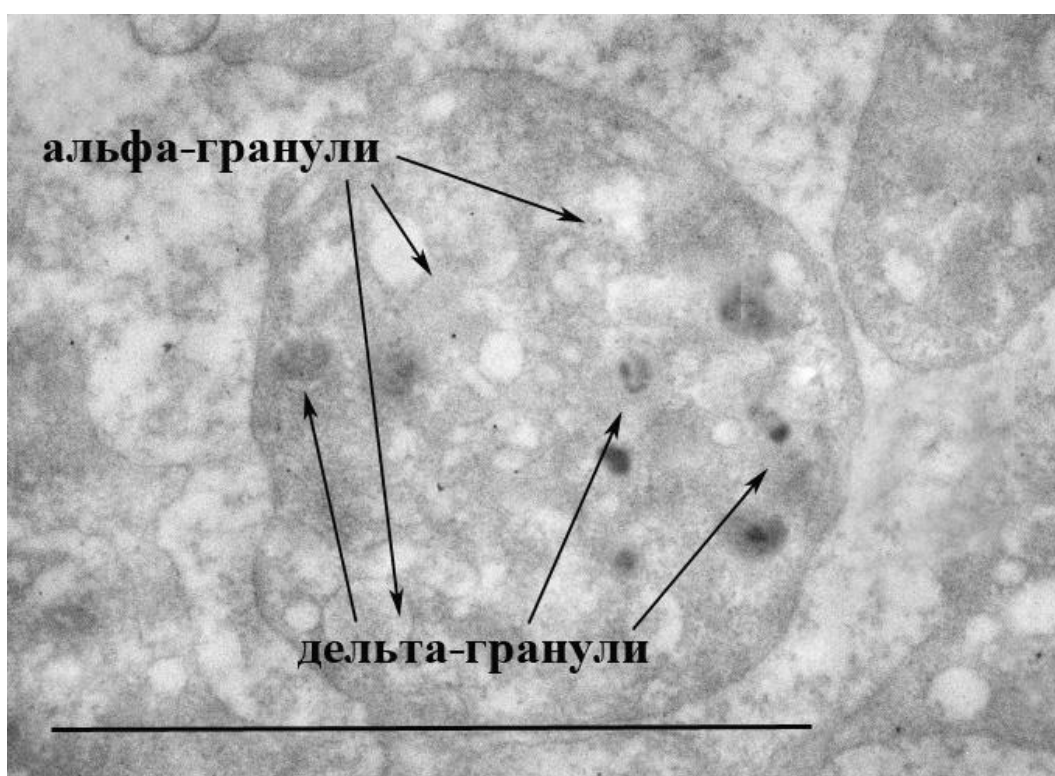


Рис. 3.5. Ультраструктура тромбоцитів у пацієнтів молодшої вікової групи з гіпертонічною хворобою. Масштаб 1 мкм.

Спостерігалось достовірне зменшення кількості α -гранул та збільшення кількості δ -гранул (див. табл. 3.3). Виявлена особливість вимагає подальших досліджень, можна лише висунути припущення, що вона пов'язана як з віковими змінами клітин крові, так і з тривалістю розвитку ГХ.

Проведення стандартної 2-тижневої терапії викликало більш значні позитивні зміни у пацієнтів молодшого віку. До найбільш важливих її результатів слід віднести щодо Т – зникнення відмінності від контрольних

величин кількості як δ -, так і α -гранул (див. табл. 3.3). У пацієнтів старшої вікової групи достовірні відмінності виявлені лише щодо зростання кількості δ -гранул (на 42,4%), що може бути важливим відносно впливу на тонус судинної стінки. Можна припустити, що відсутність вираженої реакції досліджуваних показників на традиційне лікування, пов'язано як з тривалістю перебігу захворювання, так і з малим періодом лікування (з огляду на відсутність у осіб попередньої терапії ГХ).

Щодо морфометричних параметрів Т, то додавання до стандартного лікування донора сірководню посилювало (відносно традиційної терапії у молодшій групі), або виявляло тенденцію (у хворих старшої групи) до наближення досліджуваних показників до рівнів, притаманних здоровим особам відповідного віку (див. табл. 3.3).

Щодо морфометричних параметрів Т, то додавання до стандартного лікування донора сірководню посилювало (відносно традиційної терапії у 1-й групі), або виявляло тенденцію (у 2-й групі) до наближення досліджуваних показників до рівнів, притаманних здоровим особам відповідного віку (див. табл. 3.3).

Найоптимальнішим, з огляду на отримані результати, виявилось лікування пацієнтів з ГХ з додаванням місячного курсу фітопрепарату часнику. Тривале застосування фітопрепарату Full Spectrum Garlic поліпшувало усі досліджувані показники ультраструктури Т в обох групах хворих на ГХ (див. табл. 3.3). По-перше, у молодшій віковій групі кількість δ - та α -гранул в Т достовірно не відрізнялася від контрольної. По-друге, у старшій віковій групі кількість δ -гранул зростала у 2 рази відносно визначеної до лікування і на 40,4% відносно визначеної після проведення традиційної терапії (рис. 3.6).

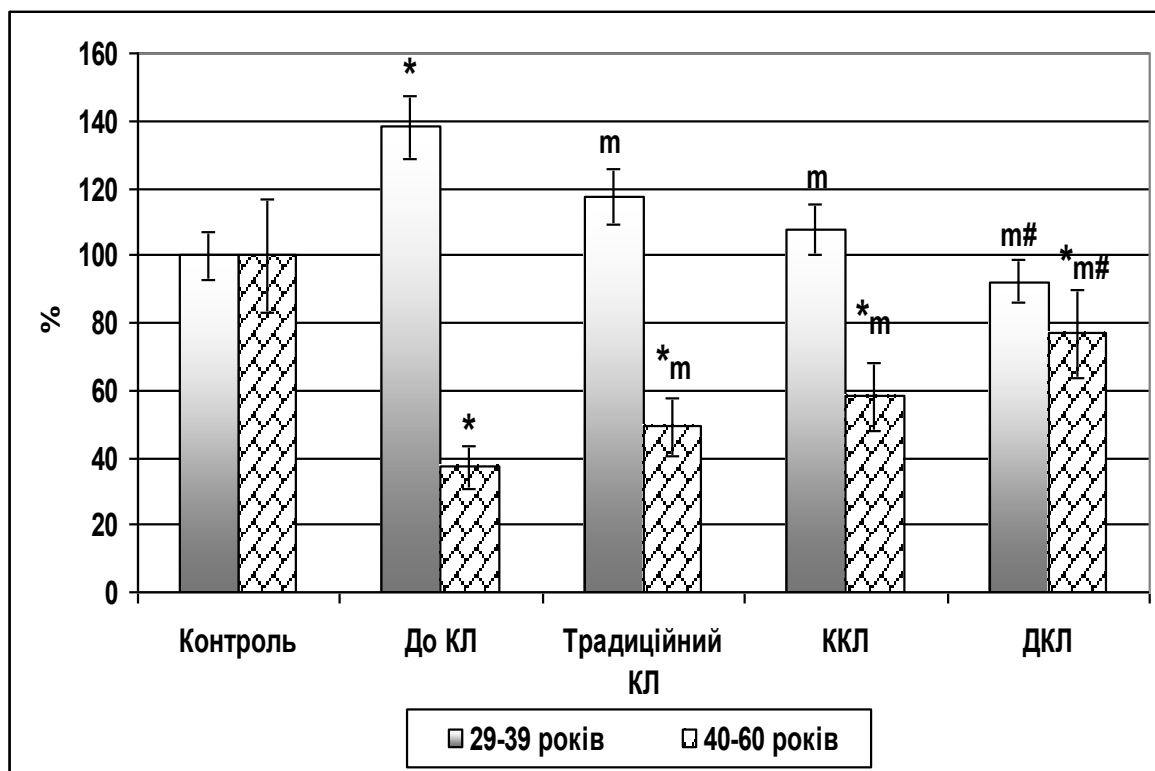


Рис. 3.6. Кількість σ -гранул у тромбоцитах обстежених з ГХ.
За 100% прийнято кількість гранул у здорових людей (контроль). КЛ –
курс стандартного лікування, ККЛ – короткий курс лікування
фітопрепаратом; ДКЛ – довгий курс лікування фітопрепаратом. * -
P<0,05 відносно здорових осіб; m - P<0,05 відносно групи до лікування; # -
P<0,05 відносно групи зі стандартним лікуванням

Тобто, якщо взяти до уваги висловлене нами припущення, яке базується на наявних наукових даних [18] про те, що кількість δ -гранул у Т корелює з кількістю серотоніну [88], а відтак і з функцією серотонінергічної системи, можна говорити про певне відновлення її збалансованості, що є важливим, оскільки саме дисбаланс вмісту серотоніну в крові викликає значні коливання судинного тону, котрі відіграють роль у формуванні АГ [118]. Окрім цього, думка про можливу позитивну роль зростання кількості серотоніну спирається на те, що він попри вплив на скорочення гладеньких м'язів судин, за сучасними даними приймає участь у підтриманні гомеостазу глюкози, і

достатня доказова база зібрана про вплив серотонінергічних рецепторів на енергетичний обмін. Пули серотоніну представлені в центральній і периферичній нервовій системі, попри те, що серотонін не проникає через гематоенцефалічний бар'єр, він відіграє роль ауто- і паракринного регулятора. Отже, зокрема й завдяки серотоніну, контроль енергетичного обміну може бути здійснений як через центральні, так і через периферичні серотонінові рецептори [51, 211]. До того ж серотонін має виражені мітогенні властивості і приймає активну участь у регенеративних процесах [164], що є важливим для збереження цілісності судинної стінки за умов АГ.

При цьому α -гранул в Т виявлялося на 40,6% менше, ніж до лікування, і на 27,5% менше, ніж після традиційної терапії (рис. 3.7).

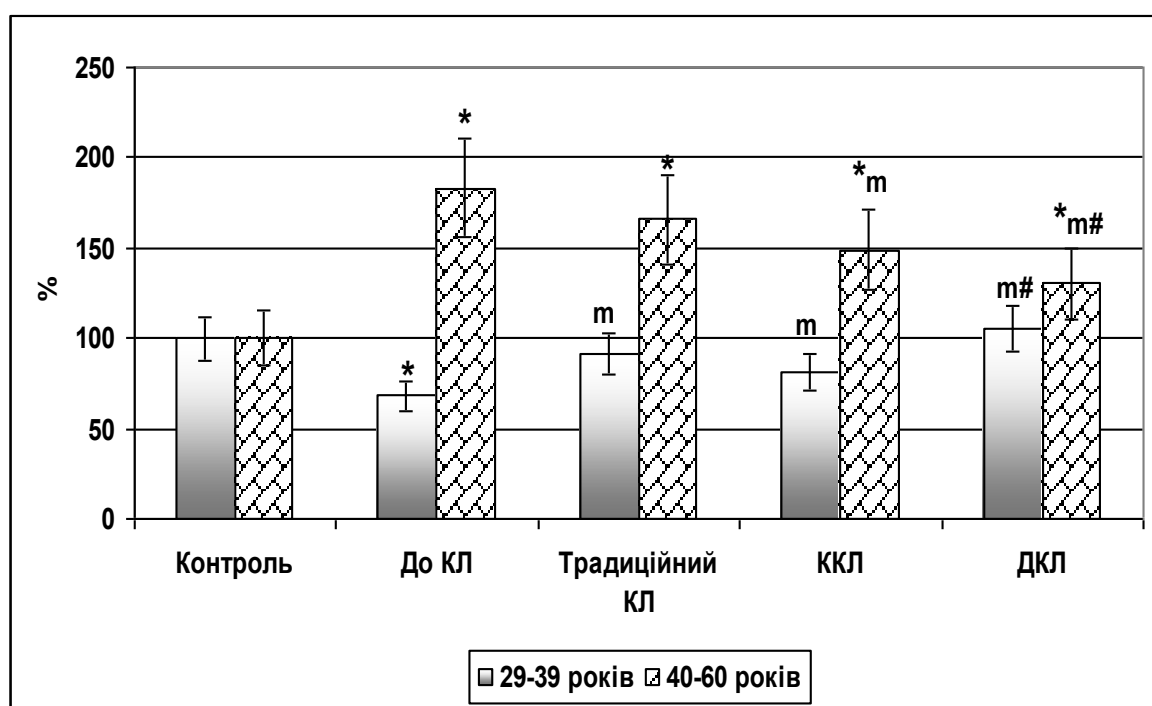


Рис. 3.7. Кількість α -гранул у тромбоцитах обстежених з ГХ.

За 100% прийнято кількість гранул у здорових людей (контроль). КЛ – курс стандартного лікування, ККЛ – короткий курс лікування фітопрепаратом; ДКЛ – довгий курс лікування фітопрепаратом. * - $P < 0,05$ відносно здорових людей; m - $P < 0,05$ відносно групи до лікування; # - $P < 0,05$ відносно групи зі стандартним лікуванням.

Такі зміни наближали їх кількість до контрольних величин, і можуть бути свідченням, в тому числі, і зниження у старших пацієнтів з ГХ схильності до тромбоутворення. Такий ефект є цілком прогнозованим, оскільки показано, що сірководень здатен інгібувати агрегацію тромбоцитів [207].

Отже, отримані результати дозволяють дійти висновку, що ультраструктура тромбоцитів у хворих на ГХ зазнає значних змін, котрі залежать від віку пацієнтів. У осіб старшої вікової групи Т містять знижену кількість щільних δ -гранул та підвищену кількість α -гранул, що може вказувати на порушення балансу серотоніну та підвищену здатність до тромбоутворення. У осіб молодшої вікової групи структурні зміни тромбоцитів мають протилежну спрямованість.

Традиційна терапія ГХ призводить до позитивних змін переважно у пацієнтів молодшого віку. Додавання до традиційної терапії ГХ донора сірководню призводить до сприятливих змін ультраструктури досліджуваних клітин, спрямованих на відновлення балансу серотоніну, зменшення схильності до тромбоутворення. Вказані ефекти також суттєво залежать від віку пацієнтів (інтенсивніше реагують молоді особи з ГХ) та тривалості застосування донатора сірководню (триваліше застосування супроводжується більш вираженими позитивними змінами).

3.3.2. Зміни ультраструктури мітохондріального апарату лейкоцитів у пацієнтів з гіпертонічною хворобою під впливом донора сірководню

Було виявлено суттєві відмінності в структурній організації Л у осіб з гіпертонічною хворобою у різних вікових групах, обстежених до початку стандартного лікувального процесу.

Як зазначалося, в останні десятиліття як основна причина первинного підвищення АТ розглядається дефіцит енергії на клітинному рівні. Джерелом порушення енергетичного обміну тканин вважають зниження

енергоутворювальної функції мітохондрій внаслідок порушення структури мітохондріального апарату (МХА) [99]. І однією з провідних причин серцево-судинної патології є мітохондріальна дисфункція (МД), - тим більше, що порушення нормальної регуляції артеріального тиску відбувається на тлі прогресування енергетичного дефіциту [16, 132].

При аналізі деяких структурних особливостей МХА Л у пацієнтів з ГХ виявлено, що у них значна кількість МХ була структурно пошкодженою (рис. 3.8), проте їх загальна кількість була достовірно не зміненою відносно контрольних величин (табл. 3.4).

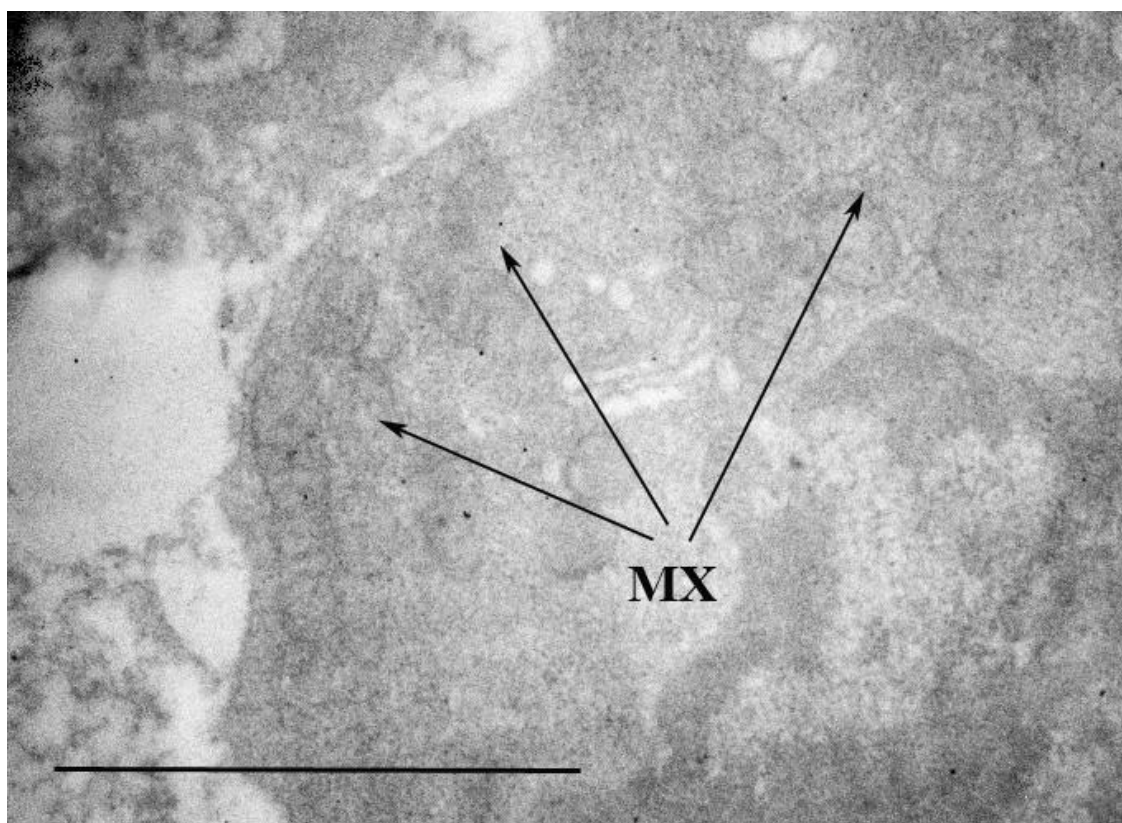


Рис. 3.8. Ультраструктура мітохондріального апарату лейкоцитів у пацієнтів з гіпертонічною хворобою. Масштаб 1 мкм.

Слід зазначити, що окрім набухання, вакуолізації органел та порушення ультраструктури крист в МХ (див. рис. 3.7), що є неспецифічною реакцією на

більшість негативних ендо- чи екзогенних впливів на клітини, спостерігалася виражена активація ультраструктурних ознак аутофагії МХ (рис. 3.9).

Таблиця 3.4.

Характеристики ультраструктури мітохондріального апарату лейкоцитів у здорових людей і хворих з гіпертонічною хворобою ($M \pm m$)

Групи обстежених	Кількість мітохондрій (n), од./10 мкм ²	Кількість структурно пошкоджених мітохондрій (nd), %	Середній діаметр мітохондрій (D), мкм
Здорові люди, n=10 (середній вік 30,4±2,8 років)	11,3±0,5	2,4±0,09	0,54±0,07
Здорові люди, n=10 (середній вік 54,2±1,9 років)	9,5±0,6	3,6±0,07	0,61±0,04
Пацієнти з гіпертонічною хворобою віком 34,0±1,1 років, n=10			
До лікування	12,2±0,8	26,2±2,4*	0,69±0,05*
Після курсу стандартного лікування (СЛ)	12,7±0,9	19,4±3,9*•	0,63±0,06*
Після 2-тижневого прийому фітопре-парату на фоні СЛ	13,1±0,6*	18,6±2,6*•#	0,58±0,03•
Після місячного прийому фітопре-парату на фоні СЛ	17,8±0,7*•#	12,8±4,2*•#	0,47±0,04•#
Пацієнти з гіпертонічною хворобою віком 50,6±1,7 років, n=10			
До лікування	10,3±0,7	32,6±4,8*	0,88±0,06*
Після курсу стандартного лікування (СЛ)	11,2±0,8	28,8±5,3*	0,79±0,05*
Після 2-тижневого прийому фітопре-парату на фоні СЛ	11,9±0,6	22,3±3,7*•	0,77±0,06*
Після місячного прийому фітопре-парату на фоні СЛ	14,6±0,5*•#	20,2±1,6*•#	0,70±0,03•#

Примітки: * - $P < 0,05$ відносно контрольної групи; • - $P < 0,05$ відносно групи до лікування; # - $P < 0,05$ відносно групи зі стандартним лікуванням.

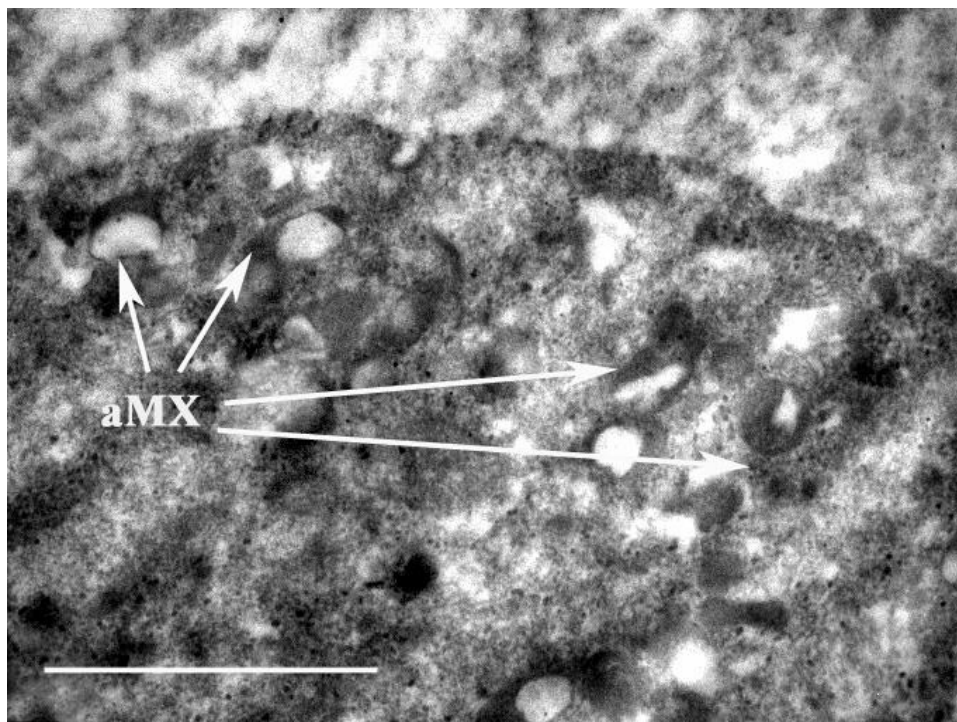


Рис. 3.9. Аутофагія мітохондрій в лейкоциті пацієнта з гіпертонічною хворобою. aMX – аутофагія. Масштаб – 1 мкм

Оскільки вважають, що аутофагія - процес, котрий сприяє не тільки загибелі пошкоджених клітин, але і їх збереженню (завдяки запобіганню апоптозу за мітохондріальним шляхом) [68], можна вважати, що при ГХ незалежно від віку пацієнтів компенсаторно активується такий механізм, принаймні в клітинах крові.

При ГХ набухання МХ призводило до збільшення їх середнього діаметру (див. табл. 3.4). Проте, якщо у пацієнтів молодшої вікової групи таке зростання становило 27,8%, то у пацієнтів старшої групи – 44,3%. Така відмінність є важливою з огляду на те, що зростання діаметра МХ в межах 25-30% вважають адаптивною реакцією, спрямованою на посилення енергетичної потужності органел, обумовленою активацією АТФ-залежного K^+ каналу. Більше зростання діаметру МХ вказує на можливість їх загибелі за некротичним шляхом і є часто незворотним [85,149].

Проведення традиційної 2-х тижневої терапії більш ефективним виявлялося для пацієнтів молодшого віку. До найбільш важливих її результатів слід віднести в Л зменшення на 35,1% кількості структурно пошкоджених МХ. Вказані зміни стосуються лише молодшій групи осіб з ГХ (рис. 3.10). Можна припустити, що відсутність вираженої реакції досліджуваних показників на традиційне лікування, пов'язано як вже вказувалося, з тривалістю перебігу захворювання і малим періодом лікування.

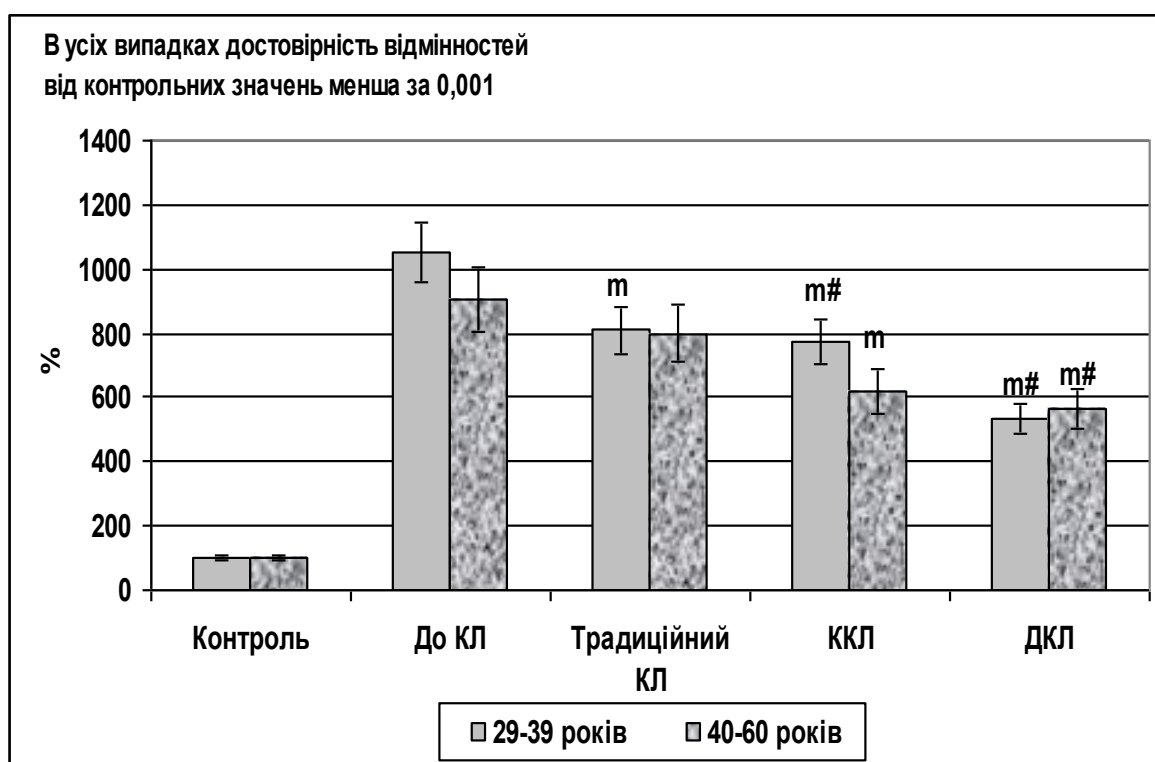


Рис. 3.10. Кількість структурно змінених мітохондрій у обстежених з ГХ. За 100% прийнято кількість структурно змінених мітохондрій у здорових людей (контроль). КЛ – курс лікування, ККЛ – короткий курс лікування; ДКЛ – довгий курс лікування. m - $P < 0,05$ відносно групи до лікування; # - $P < 0,05$ відносно групи зі стандартним лікуванням.

Вплив двотижневого специфічного лікування характеризувався тим, що відносно МХА лейкоцитів спостерігалися позитивні зміни (див. табл. 3.4). В обох групах обстежених осіб з ГХ значно зменшувалася кількість структурно змінених МХ, не тільки відносно стану до лікування, але й відносно кількості таких МХ після стандартного лікування (на 40,9% у молодшій та на 29,1% - у старшій групі; див. рис. 3.9). Такі зміни слід розглядати як можливість для зростання потужності енергетичного метаболізму. Щодо інших морфометричних параметрів Л, то додавання до стандартного лікування донатора сірководню посилювало (у молодшій групі), або виявляло тенденцію (у старшій групі) до наближення досліджуваних показників до рівнів, притаманних здоровим особам відповідного віку (див. табл. 3.4).

Найоптимальнішим, з огляду на отримані результати, виявилось додавання до традиційної терапії курсового, протягом одного місяця, прийому фітотрепарата Full Spectrum Garlic, що поліпшувало усі досліджувані показники ультраструктури МХ Л в обох групах осіб (див. табл. 3.4). Тільки при такій схемі терапії спостерігалось статистично значиме зростання загальної кількості МХ (див. табл. 3.4): у осіб молодшої вікової групи – на 57,5%, а в старшій віковій групі – на 53,7%. Натепер існує обмаль даних щодо впливу H_2S на загальну кількість МХ в клітинах. Проте вважають, що H_2S справляє різні ефекти на кількість, функцію та динаміку МХ залежно від застосованої дози [169]. Ймовірно, застосована нами доза фітопрепарату є ефективною для збільшення кількості органел.

Також під впливом лікування виявлено подальше зменшення кількості структурно пошкоджених МХ (див. табл. 3.4), і більшість МХ набували нативного вигляду (рис. 3.11).



Рис. 3.11. Ультраструктура мітохондрій лейкоцитів у пацієнтів з гіпертонічною хворобою через 30 діб специфічного лікування. Масштаб 1 мкм.

У пацієнтів молодшої групи таке зменшення становило відносно стану до лікування у 2 рази та відносно традиційного лікування – на 51,6%; у пацієнтів старшої групи - відносно стану до лікування на 61,4%, а відносно традиційного лікування – на 39,6%. У молодших пацієнтів зміни були більш вираженими, ймовірно з огляду на більші адаптивні можливості, пов'язані з віком, кількість змінених МХ (в тому числі в стані аутофагії) значно знижувалася, що в сумі зі зростанням загальної їх кількості мало суттєво оптимізувати енергетичний метаболізм.

Отримані дані дозволяють констатувати, що гіпертонічна хвороба супроводжується значними змінами ультраструктури мітохондріального апарату лейкоцитів, вираженість яких залежить від віку пацієнтів. Проведення традиційного лікувального курсу справляло певний позитивний вплив на

ультраструктуру мітохондріального апарату Л лише у молодшій групі пацієнтів з АГ.

Додавання до традиційної терапії АГ донора сірководню призводило до позитивних змін ультраструктури мітохондрій лейкоцитів, спрямованих на зростання енергетичної потужності мітохондріального апарату. Встановлений ефект подібної терапії значно залежав від віку пацієнтів (інтенсивніше реагували молоді особи), проте існувала певна позитивна динаміка й у осіб старшої вікової групи (принаймні щодо достовірного зменшення кількості структурно пошкоджених органел). Тривалість використання донора сірководню також мала значення (тривале застосування супроводжується більш вираженою позитивною динамікою змін).

Слід звернути увагу на те, що клітинні реакції і, зокрема, мітохондріальний апарат більш активно та при меншій тривалості впливу донора сірководню реагують у осіб молодшого віку, хоча динаміка змін концентрації H_2S і вираженості оксидативного стресу є більшими у пацієнтів старшої вікової групи. Для пояснення цих відмінностей, на нашу думку, підходить наступне.

На теперішній час однією з основних причин старіння і смерті дослідники називають порушення роботи мітохондрії. Це, на їх думку, хоча, не головна або єдина причина, але одна з основних [38].

Зі збільшенням віку зменшується кількість мітохондрій в клітинах і, одночасно, зменшується кількість копій мтДНК в мітохондріях. Також приблизно на 40% зменшується продуктивність транспортної системи мітохондрій [54]. Тобто, ознаки старості пов'язані як зі зменшенням кількості мітохондрій, так і зі зниженням їх продуктивності. Отже, зміни на клітинному рівні у осіб з ГХ в старшій віковій групі обумовлюються не тільки розвитком гіпертензії (причиною якої до певної міри вони й являються), але й віковими змінами.

Причому, першопричина даних порушень, пов'язаних з віковими змінами, досі невідома. Зазначені порушення (зменшення кількості мітохондрій, мтДНК і потужності) можуть бути не причиною старіння, а одним з його механізмів, який починає функціонувати, мабуть, і внаслідок розвитку оксидативного стресу.

Процес дублювання і репарації мтДНК здійснюється полімеразою (Pol γ), яка кодується "великою" ДНК з основної клітини, всередині якої знаходиться мітохондрія. Також в процесі беруть участь кілька інших протеїнів. Сучасна теорія стверджує, що помилки цього механізму викликають мутації мтДНК, які, в свою чергу, ведуть до дисфункції МХ. Є деякі підтвердження того, що саме помилки цього механізму призводять до дисфункції мітохондрій, а не ушкодження, викликані процесом старіння [38, 154].

Такі складні взаємодії із залученням МХ, мабуть, і призводять до того, що тільки зростанням продукції сірководню та зменшенням вираженості оксидативного стресу при ГХ не можна пояснити динаміку змін ультраструктури на клітинному рівні, а слід враховувати особливості процесів, котрі відбуваються при старінні організму.

Проведені морфологічні та морфометричні дослідження вказують на позитивний вплив сірководню на ультраструктуру, а відтак, і функцію тромбоцитів та мітохондрій в лейкоцитах в обох вікових групах обстежених (з різним ступенем вираженості процесів), що може вважатися підґрунтям подальшого пошуку ефективних шляхів для підвищення вмісту H_2S в організмі пацієнтів з гіпертонічною хворобою.

Результати, наведені у підрозділах 3.3 та 3.4, знайшли відображення у наступних публікаціях:

Kravchuk A.N., Rozova E.V. The influence of hydrogen sulfide on the structural characteristics of leukocytes mitochondrial apparatus in patients with arterial hypertension. Reports of Morphology. 2019; 25 (4): 30-35. DOI: 10.31393/morphology-journal-2019-25(4)-05 [121].

Kravchuk A., Rozova K. Changes in the structural characteristics of platelets and leukocytes in patients with arterial hypertension under the influence of a hydrogen sulfide donor. EUREKA: Health Sciences. 2020; (3): 33-40. DOI: 10.21303/2504-5679.2020.001288 [122].

Kravchuk A. Features of changes in the mitochondrial apparatus of leukocytes in patients with arterial hypertension when applied with therapeutic purpose of hydrogen sulfur donor. London, UK; 02-06 November, 2020: 310-313. [119].

3.4. Зміни лабораторних і функціональних показників у пацієнтів з гіпертонічною хворобою різних вікових груп під впливом донору сірководню.

3.4.1. Вплив донора сірководню на лабораторні показники та функціональні параметри серцево-судинної системи у пацієнтів з ГХ молодшої вікової групи

3.4.1.1. Зміни лабораторних показників у пацієнтів з ГХ II ст.

Проведені обстеження пацієнтів показали, що біохімічні показники крові, а також гемоглобін, еритроцити і ШОЕ знаходились в межах вікової норми протягом всього періоду дослідження з недостовірними коливаннями або тенденцією до змін у порівнянні з показниками до лікування або отриманими після 2-х тижневого лікування фітопрепаратом (табл. 3.5). Концентрація креатиніну, сечовини і глюкози в крові також не зазнавали достовірних змін під час лікування. Слід лише зазначити, що останній показник дещо зростав на перших етапах лікування (без та із застосування фітопрепарату), проте цей факт вимагає подальшого вивчення.

Незважаючи на те, що у пацієнтів не було виявлено вираженого запального процесу, цікавим є достовірне зниження кількості лейкоцитів як за

дії стандартного лікування, так і після вживання донора сірководню - терапія призводила до зниження кількості лейкоцитів в крові. Збільшення кількості лейкоцитів при ГХ досить відомий факт, оскільки атеросклеротичне ураження судин розглядається як імунозапальний процес, тобто при ГХ виникають умови для розвитку запальних змін в судинній стінці [180]. Причому, згідно з отриманими даними, формування запальних процесів передують розвитку поєднаних з підвищенням АТ основних метаболічних порушень, що отримали назву "Raeven's синдрому" - по імені автора, котрий вперше сформулював цю концепцію [156].

Таблиця 3.5

Показники лабораторних аналізів крові у пацієнтів молодшої вікової групи з гіпертонічною хворобою II ст. до і після лікування ($M \pm m$)

Показники	Здорові люди (n=10)	Хворі з гіпертонічною хворобою II ст. (n=10)			
		До лікування	Стандартна терапія	Стандартна терапія +14 днів прийому донора H ₂ S	Стандартна терапія +30 днів прийому донора H ₂ S
Гемоглобін, г/л	148,5 ±3,4	142,1 ±2,47	137,2 ±1,60	140,0 ±5,0	133,6 ±1,9*
Еритроцити, $\times 10^{12}/л$	4,80 ±0,08	4,52 ±0,09	4,42 ±0,06	4,35 ±0,15	4,50 ±0,05
Лейкоцити, $\times 10^9/л$	5,80 ±0,40	7,24 ±0,34•	5,30 ±0,47*	5,00 ±0,50*	5,88 ±0,22*
Швидкість осідання еритроцитів мм/год	4,4 ±0,33	4,6 ±0,27	4,4 ±0,22	4,5 ±0,5	4,6 ±0,26
Протромбіновий індекс %	98,5 ±3,8	93,5 ±2,97	95,0 ±1,84	82,5 ±2,5 [#]	76,2 ±1,2*
Холестерин, ммоль·л ⁻¹	4,6 ±0,27	5,8 ±0,26*	6,3 ±0,22*	5,0 ±0,5 [#]	4,3 ±0,08* ^{&}
Креатинін, мкмоль·л ⁻¹	81,5 ±2,6	81,6 ±2,18	95,7 ±1,54*	89,0 ±1,0	86,5 ±2,7
Сечовина, ммоль·л ⁻¹	4,70 ±0,11	4,13 ±0,22•	4,66 ±0,09*	4,55 ±0,05	4,05 ±0,17
Глюкоза, ммоль·л ⁻¹	4,61 ±0,22	3,68 ±0,09•	4,68 ±0,18*	4,45 ±0,05*	3,69 ±0,18• ^{#&}

Примітки: - різниця достовірна відносно здорових людей, - різниця достовірна відносно даних до лікування, # - різниця достовірна відносно 2 тижнів стандартної терапії, & - різниця достовірна відносно 14 днів прийому донора H₂S.

Однак, з досліджуваних характеристик метаболізму у пацієнтів з ГХ достовірно зміненим був лише рівень холестерину (підвищений на 26,1%), що є природним, оскільки гіперхолестеринемія належить до провідних факторів підвищення АТ та ризику розвитку АГ [226]. Застосування донора сірководню призводило до зниження вмісту холестерину в крові упродовж всього періоду лікування. Так, через 2 тижні рівень холестерину знижувалася відносно вихідного рівня до лікування на 13,8%, а через 30 днів лікування фітопрепаратом вміст холестерину в крові знижувався на 25,8% (в обох випадках $P < 0,05$), тобто до рівня, визначеного у здорових осіб, що вказує на нормалізуючий вплив фітопрепарату на обмін ліпідів.

3.4.1.2. Зміни функціональних показників серцево-судинної системи у пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст.

Всі пацієнти проходили також функціональні обстеження до лікування та протягом місячного застосування донора H₂S. Проте основний аналіз результатів, проведений нами, стосується даних, отриманих наприкінці місячного лікування. Такий аналіз, на нашу думку, є адекватним, оскільки описані вище зміни вмісту сірководню та показників оксидативного стресу відбувалися найбільш виражено при тривалому застосуванні донора H₂S у пацієнтів обох вікових груп. Тому ми ретельно досліджували зміни функціональних показників, що характеризують ГХ, саме наприкінці періоду лікування.

За результатами ехокардіографії визначено, що фракція викиду (ФВ) була незмінною як після стандартного лікування, так і після двотижневого застосування фітопрепарату, але збільшилась на 10,2 % після 30 діб його прийому порівняно з вихідними даними (табл. 3.6), і ця зміна була статистично значимою ($P < 0,05$). Це може свідчити про покращення насосної функції міокарда за рахунок збільшення в крові пацієнтів концентрації H_2S , який володіє вазодилатаційним ефектом.

Таблиця 3.6.

Функціональні показники пацієнтів молодшої вікової групи з гіпертонічною хворобою II ст. до і після лікування (M±m)

Показники	Здорові люди (n=10)	Хворі на гіпертонічну хворобу (n=10)	
		До лікування	Через 30 днів застосування донора H_2S
Систолічний, артеріальний тиск, мм рт. ст.	120±2,88	141,0±2,33	132,0±1,33*
Діастолічний артеріальний тиск, мм рт. ст.	70±3,10	90,0±2,10	82,0±1,33*
Пульсовий артеріальний тиск, мм рт. ст.	50±1,6	51,0±2,4	50,0±1,5
Середньодинамічний тиск, мм рт ст.	87,8±3,7	107,4±2,1	101,1±2,9
Хвилинний об'єм крові, л*хв ⁻¹	5,81±0,41	5,17±0,37	5,09±0,36
Частота серцевих скорочень, хв ⁻¹	70,5±2,3	75,3±2,0	73,0±1,6
Ударний об'єм, мл	76,3±2,9	68,4±3,8	69,3±3,8
Кінцево-діастолічний об'єм, мл	132,3±8,8	119±9,3	116,5±8,0
Кінцево-систолічний об'єм, мл	55,3±4,3	50,6±6,0	46,6±5,0*
Периферичний опір судин, дін*с ⁻¹ *см ⁻⁵	1387±91	1697±100	1505±97*
Фракція викиду лівого шлуночка, %	64,5±2,3	53,5±1,31	59,0±1,3*

Примітки: * - різниця достовірна відносно даних до лікування.

При аналізі даних також з'ясувалось, що як систолічний АТ, так і діастолічний АТ достовірно знизились порівняно з вихідними значеннями в середньому на 9 і 8 мм рт. ст., відповідно (див. табл. 3.6), а також достовірно знижувався КСО. Незважаючи на те, що УО і ХОК, які характеризують насосну функцію серця, достовірно не змінювались, важливо відмітити статистично значиме зниження ЗПОС на 11,3%, що, на нашу думку, також є результатом вживання препарату і вказує на його легку гіпотензивну дію.

Слід також підкреслити, що усі достовірні зміни функціональних показників, визначені після тривалого застосування фітопрепарату, наближали ці величини до притаманних здоровим особам відповідного віку (див. табл. 3.6).

3.4.2. Вплив донора сірководню на лабораторні показники та функціональні параметри серцево-судинної системи у пацієнтів старшої вікової групи з гіпертонічною хворобою II ст.

3.4.2.1. Лабораторні показники крові у пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст.

Обстеження пацієнтів з ГХ старшої вікової групи виявило наступне (табл. 3.7). У осіб цієї групи значно більше параметрів крові достовірно відрізнялися від таких, що визначалися у здорових людей відповідного віку. Була виявлена тенденція до зниження концентрації гемоглобіну, яка зберігалася і після стандартного лікування. Підвищення рівня гемоглобіну спостерігалось лише через 30 діб застосування донора сірководню. Паралельно у хворих ГХ спостерігалось зменшення (у вигляді тенденції або й достовірно, див. табл. 3.7) кількості еритроцитів в крові, яке зберігалось і наприкінці курсового прийому фітопрепарату часнику.

Таблиця 3.7.

Показники лабораторних аналізів крові у пацієнтів старшої вікової групи з гіпертонічною хворобою II ст. до і після лікування (M±m)

Показники	Здорові люди (n=10)	Хворі з гіпертонічною хворобою II ст. (n=10)			
		До лікування	Стандартна терапія	Стандартна терапія +14 днів прийому донора H ₂ S	Стандартна терапія +30 діб прийому донора H ₂ S
Гемоглобін, г/л	133,8 ±5,3	124,8 ±1,7	122,2 ±1,1*	126,8 ±2,5	130,0 ±1,4• [#]
Еритроцити, ×10 ¹² /л	4,80 ±0,11	4,48 ±0,07	4,51 ±0,06*	4,54 ±0,09	4,33 ±0,13*
Лейкоцити, ×10 ⁹ /л	5,1 ±0,6	7,3 ±0,40*	6,7 ±0,27•*	5,9 ±0,15*• [#]	7,0 ±0,15*•&
Швидкість осідання еритроцитів мм/год	5,3 ±0,26	5,6 ±0,7	5,3 ±0,6	4,7 ±0,47	5,0 ±0,57
Протромбіновий індекс %	89,2 ±4,6	96,8 ±1,16*	97,8 ±0,9*	83,8 ±2,7 [#]	83,7 ±3,4• [#]
Холестерин, ммоль·л ⁻¹	5,7 ±0,41	6,85 ±0,19*	6,9 ±0,15*	5,15 ±0,16• [#]	4,8 ±0,20•* [#]
Креатинін, мкмоль·л ⁻¹	93,0 ±1,4	86,9 ±2,17	89,8 ±1,20	85,7 ±1,55	88,6 ±1,20
Сечовина, ммоль·л ⁻¹	5,1 ±0,30	4,02 ±0,14*	4,31 ±0,11*	4,51 ±0,08*	4,16 ±0,08*•&
Глюкоза, ммоль·л ⁻¹	4,9 ±0,14	3,88 ±0,18*	4,31 ±0,19•*	4,74 ±0,17• [#]	4,26 ±0,17•*•&

Примітки: • - різниця достовірна відносно здорових людей, * - різниця достовірна відносно даних до лікування, [#] - різниця достовірна відносно 2 тижнів стандартної терапії, & - різниця достовірна відносно 14 діб прийому донора H₂S.

Кількість лейкоцитів в крові та концентрація холестерину у пацієнтів цієї групи були достовірно збільшеними і до і після стандартної терапії. І якщо вплив донора сірководню реалізувався у зниженні концентрації холестерину в плазмі крові навіть нижче рівня, властивого здоровим особам (на 15,3%), то кількість лейкоцитів значно зменшувалась після 2-х тижнів застосування фітопрепарату, що, як зазначалося у попередньому підрозділі, свідчить про позитивну динаміку змін в організмі. Проте через місяць застосування донора сірководню кількість лейкоцитів в крові зростала до рівня, визначеного при першому обстеженні пацієнтів з ГХ. Цей факт вимагає подальшого дослідження, оскільки він притаманний лише особам старшого віку.

Повертаючись до змін концентрації холестерину, рівень котрого є важливим для формування та перебігу ГХ, слід зазначити, що антигіпертензивна терапія із застосуванням фітопрепарату знижувала вміст холестерину в крові на 14-ту добу на 24,8%, а на 30-ту добу ще на 5% ($P < 0,001$ для обох порівняно з вихідними значеннями). Наявність розгорнутого аналізу ліпідного профілю у остежених дозволила б чіткіше зрозуміти вплив препарату часнику, однак зниження загального холестерину є достатнім, щоб говорити про нормалізуючий вплив фітопрепарату на обмін ліпідів у пацієнтів з ГХ старшої вікової групи.

Слід відзначити статистично значиме зниження протромбінового індексу після 30 діб застосування фітопрепарату. І хоча його величина до і після терапії знаходилась в межах референтних значень, це свідчить про можливість використання препарату часнику у якості м'якого антитромботичного засобу в старшому віці при ознаках гіпертонії і гіперхолестеринемії. Отримані дані корелюють із наведеними раніше (див. підпункт 3.5.1.1) у пацієнтів молодшої вікової групи, у яких вживання фітопрепарату так само знижувало рівень холестерину, протромбіновий індекс, а також кількість лейкоцитів в крові (див. табл. 3.5).

3.4.2.2. Зміни функціональних показників серцево-судинної системи у пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст.

Всі пацієнти проходили функціональні обстеження до та протягом місячного застосування донора H_2S , але основна увага була приділена даним, отриманим до та через чотири тижні лікування (табл. 3.8).

Встановлено, що через 4 тижні застосування фітопрепарату показники систолічного АТ, діастолічного АТ та середньодинамічного АТ статистично значимо знижувалися на 10,4%, 12,8% та 11,0%, відповідно (в усіх випадках $P < 0,05$). Величини практично досягали рівнів, визначених у здорових осіб даної вікової групи.

Проведене лікування не супроводжувалося помітним покращенням насосної функції міокарда, про що свідчить відсутність статистично значимих змін фракції викиду лівого шлуночка. Проте не можна говорити про відсутність позитивних змін діяльності серцево-судинної системи. Тенденція до зростання ХОК після лікування забезпечувалася досить ефективним шляхом – за рахунок зменшення ЧСС ($0,1 < P < 0,2$) та значного зростання УО (на 22,0%, $P < 0,05$). Останнє супроводжувалося статистично значимим зменшенням ЗПОС (на 10% відносно рівня до лікування, $P < 0,05$). Такі зміни, на нашу думку, є результатом м'якої гіпотензивної дії фітопрепарату часнику при його вживанні протягом 4 тижнів у поєднанні із засобами стандартної терапії.

Слід зазначити, що, попри наявні зміни концентрації сірководню в крові та зниження проявів оксидативного стресу, у пацієнтів з ГХ старшої вікової групи зміни функціональних показників на тлі застосування фітопрепарату були дещо менш значними, ніж у хворих молодшої вікової групи, що, ймовірно, пов'язано з віковими особливостями функції серцево-судинної системи. З огляду на це при застосуванні донора H_2S в комплексній терапії ГХ слід враховувати вік пацієнта.

Таблиця 3.8.

Функціональні показники пацієнтів старшої вікової групи з гіпертонічною хворобою II ст.. до і після лікування (M±m)

Показники	Здорові люди (n=10)	Хворі на гіпертонічну хворобу (n=10)	
		До лікування	Через 30 діб застосування донора H ₂ S у поєднанні із стандартною терапією
Систолічний артеріальний тиск, мм рт. Ст.	135±3,1	158,0±2,0•	141,5±1,7•*
Діастолічний артеріальний тиск, мм рт. ст.	85±2,6	98,0±2,5	85,5±1,6*
Середньодинамічний тиск, мм рт. ст.	114±3,4	117,0±2,25	104,1±1,4•*
Кінцево-діастолічний об'єм, мл	129,5±9,6	138,6±11,1	138,2±10,1
Кінцево-систолический об'єм, мл	56,8±5,7	65,0±8,0	61,8±7,6
Ударний об'єм, мл	62,8±2,6	73,6±3,7•	76,4±3,5•
Фракція викиду, %	59,4±2,1	54,4±2,3	56,5±2,3
Частота серцевих скорочень, хв ⁻¹	71,8±1,3	72,4±1,7	68,2±1,8
Хвилинний об'єм крові, л*хв ⁻¹	4,52±0,44	5,33±0,34	5,22±0,29
Загальний периферичний опір судин, дин*с ⁻¹ *см ⁻⁵	1712±98	1835±125	1653±117*

Примітки: - різниця достовірна відносно контрольних величин, * - різниця достовірна відносно даних до лікування.

Результати, наведені у підрозділі 3.5, знайшли відображення у наступних публікаціях:

Кравчук О.М., Гошовська Ю.В., Коркач К.П., Сагач В.Ю. Фітопрепарат часнику знижує артеріальний тиск і зменшує окисний стрес, збільшуючи

ВМІСТ H₂S у плазмі крові у пацієнтів з артеріальною гіпертензією. Фізіол. журн. 2020; 66 (4): 55-63. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz66.04.055> [22].

Kravchuk O.M., Goshovska Y.V., Korkach Y.V., Sagach V.F. Garlic supplement lowers blood pressure in 40-60 years old hypertensive individuals, regulates oxidative stress, plasma cholesterol and protrombin index. J Cardiovasc Med Cardiol. 2021; 8 (2): 41-47. DOI. <https://dx.doi.org/10.17352/2455-2976.000168> [120].

Кравчук О.М. Вплив попередника утворення сірководню на зміни артеріального тиску та мітохондріальну дисфункцію у пацієнтів з артеріальною гіпертензією. IV International Scientific and Practical Conference "Priority directions of science and technology development". Kyiv, Ukraine; 20-22 December, 2020: 134-140. [19].

3.4.3. Вплив застосування PLP на вміст сірководню в плазмі крові, показники оксидативно-нітрозативного стресу та функціональні параметри серцево-судинної системи у пацієнтів старшої вікової групи з гіпертонічною хворобою II ст.

Застосування в роботі PLP було зумовлене тим, що протягом виконання планової тематики відділу «Дослідження ролі сигнальних сполук сірки в реакціях серцево-судинної системи щурів при різних станах організму» (2014-2018, № держ. реєстрації 0113U007276), «Дослідження ролі систем сірководню і глутатіону в серцево-судинній реактивності в нормі і патології» (2019-2023, № держ. реєстрації 0118U007352) в експериментальних дослідженнях було показано позитивний вплив піридоксаль-5-фосфату на функцію серцево-судинної системи, зокрема у старих тварин.

Нами вже зазначалося, що наявні на теперішній час дослідження свідчать про те, що застосування піридоксаль-5-фосфату (PLP) зменшує ускладнення, пов'язані з ішемічною хворобою артерій, діабетом, артеріальною гіпертензією,

старінням та нейродегенеративними розладами [58, 81], проте, хоча вітаміни групи В займають важливе місце в клінічній практиці і використовуються в самих різних областях медицини у різних категорій хворих, основні механізми їх впливу до кінця ще не вивчені [27]. При цьому, прийнявши до уваги той факт, що PLP є кофактором до H_2S -синтизуючих ферментів, таких як CBS, CSE та CAT, що кон'югована з 3-MST [197], і те, що застосування вітамінів, зокрема і вітаміну B_6 , є для клінічної практики більш вживаними і звичним, ніж препаратів (або й БАДів) часнику, нами було застосовано активну форму вітаміну B_6 (PLP) фірми Solgar для з'ясування можливого впливу на ендогенний синтез сірководню у пацієнтів з ГХ. Однак слід відмітити, що на 3-4 добу у 4 пацієнтів (40%) розвилася алергічна реакція у вигляді почервоніння та свербіжечу очей, долоней, стоп. У них препарат довелося відмінити. Фітопрепарат алергічних реакцій не викликав.

У першу чергу визначали зміни вмісту сірководню під впливом PLP в плазмі крові пацієнтів 40-60 років, порівнюючи їх зі змінами концентрації H_2S при застосуванні фітопрепарату часнику. Старша вікова група була обрана для застосування PLP тому, що, по-перше, у осіб віком 40-60 років ГХ розвивається частіше і потребує різнобічного лікування [35]. По-друге, наші дослідження показали (див. підпункт 3.1.2), що пацієнти цієї вікової групи краще відповідають на місячний курс застосування донора сірководню і при цьому у них виявлено тенденцію до зростання утворення H_2S навіть при короткотривалому застосуванні фітопрепарату часнику. До обраної групи увійшли 10 хворих на ГХ, вік яких становив $53,4 \pm 2,6$ років.

В протиположному очікуваному ефекту, після 2-тижневого застосування PLP виявлено тенденцію ($0,1 < p < 0,2$) до зниження вмісту H_2S в плазмі крові порівняно з тим, що мало місце до лікування або після 2 тижнів стандартного лікування (рис. 3.12).

Це, можливо, пов'язано з коротким періодом застосування PLP у хворих старшої вікової групи, у яких для підвищення ендогенного синтезу сірководню

препарат необхідно застосовувати більш тривалий час, що потребує проведення додаткових досліджень.

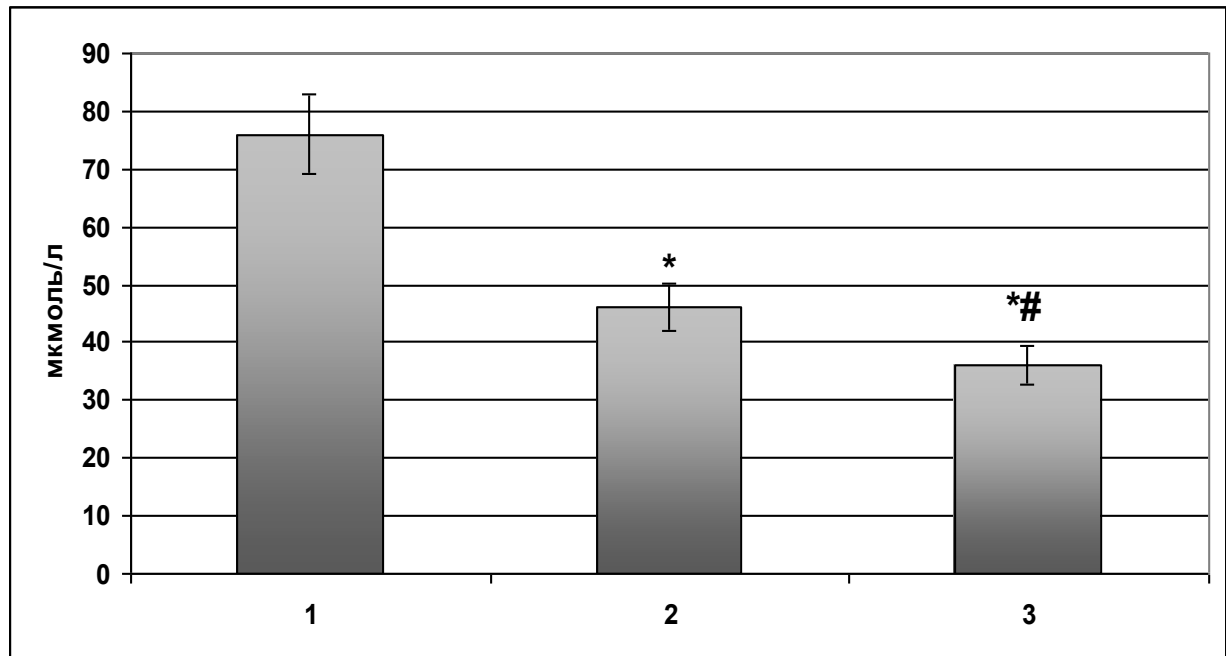


Рис. 3.12. Динаміка вмісту сірководню в плазмі крові пацієнтів віком 40-60 років з гіпертонічною хворобою при застосуванні PLP: до лікування (1), після 2 тижнів стандартної терапії (2), через 14 днів застосування PLP (3).
Примітка: * - різниця достовірна відносно показника до лікування ($p < 0,05$),
- різниця достовірна відносно 2 ($p < 0,05$).

В той же час було виявлено зміни маркерів окисно-нітрозативного стресу в плазмі крові пацієнтів старшої вікової групи з ГХ при додаванні до стандартної терапії PLP (табл. 3.9). Ці зміни були подібні до тих, які були встановлені при застосуванні донора сірководню – фітопрепарату часнику (див. табл. 3.2). Так, вміст МДА, залишаючись вищим у 2,4 рази відносно показників у здорових людей вікової групи 40-60 років, знижувався при застосуванні стандартної терапії з додаванням PLP на 28,7% порівняно з показником вмісту МДА до лікування. Величина iNOS збільшувалася на 20,5%, при цьому, однак, концентрація cNOS залишалася значно (у 1,9 рази)

підвищеною. Швидкість генерації O_2^* -, залишаючись вищою відносно значень у здорових осіб, зменшувалася під впливом лікування більш ніж у 2 рази. А концентрація $*OH$, яка достовірно не відрізнялася від рівня здорових осіб, знижувалася під впливом PLP у 2,7 рази.

Таблиця 3.9

Маркери окисно-нітрозативного стресу в плазмі пацієнтів старшої вікової групи з гіпертонічною хворобою II ст. та їх зміни при застосуванні PLP (M±m)

Показники	Здорові люди (n=10)	Хворі на гіпертонічну хворобу (n=10)	
		До лікування	Через 14 діб застосування стандартної терапії та PLP
Швидкість генерації O_2^* -, нмоль*хв ⁻¹ мг ⁻¹	1,11±0,28	4,3±0,09•	2,02±0,15•*
Вміст малонового діальдегіду, нмоль*мг ⁻¹	1,74±0,09	5,82±0,22•	4,15±0,21•*
Швидкість генерації $*OH$, нмоль*хв ⁻¹ мг ⁻¹	2,62±0,16	6,96±0,88•	2,51±0,16*
Швидкість генерації H_2O_2 , мкмоль*хв ⁻¹ мг ⁻¹	2,72±0,12	6,35±0,37•	3,61±0,12•*
Активність індукцибельної NOS, пмоль*хв ⁻¹ мг ⁻¹	10,03±0,64	17,08±0,34	12,41±0,21•*
Активність конститутивної NOS, пмоль*хв ⁻¹ мг ⁻¹	19,07±1,11	8,18±0,26•	15,6±0,28•*

Примітки: • - різниця достовірна відносно здорових людей, * - різниця достовірна відносно даних до лікування.

Паралельно із зазначеним, відбувалися й деякі позитивні зміни функціональних показників, причому не тільки у вигляді тенденції, проте й достовірні (табл. 3.10).

Таблиця 3.10

Функціональні показники пацієнтів старшої вікової групи з гіпертонічною хворобою II ст. до і після застосування PLP (M±m)

Показники	Здорові люди (n=10)	Хворі на гіпертонічну хворобу	
		До лікування	Через 14 діб застосування стандартної терапії та PLP
Систолічний артеріальний тиск, мм рт. ст.	135±3,1	158,0±2,0•	145,0±1,3•*
Діастолічний артеріальний тиск, мм рт. ст.	85±2,6	98,0±2,5•	87,2±1,6*
Середньодинамічний тиск, мм рт. ст.	114±3,4	117,0±2,25	107,6±1,5•*
Кінцево-діастолічний об'єм, мл	129,5±9,6	138,6±11,1	135,32±9,3
Кінцево-систолічний об'єм, мл	56,8±5,7	65,0±8,0	63,4±4,9
Ударний об'єм, мл	62,8±2,6	73,6±3,7•	72,0±3,4•
Фракція викиду, %	59,4±2,1	54,4±2,3	55,2±2,6
Частота серцевих скорочень, хв ⁻¹	71,8±1,3	72,4±1,7	70,2±1,6
Хвилинний об'єм крові, л хв ⁻¹	4,52±0,44	5,33±0,34	4,92±0,39
Загальний периферичний опір судин, дин*с ⁻¹ *см ⁻⁵	1712±98	1835±125	1698±97*

Примітки: • - різниця достовірна відносно здорових людей, * - різниця достовірна відносно даних до лікування.

Найважливішим, з огляду на обстежувану патологію, виявилось те, що відбувалося достовірне зниження систолічного, діастолічного та середньодинамічного тиску. Також статистично значимо ($p < 0,05$) відносно стану до лікування знижувався загальний периферичний опір судин (на 7,5%), і його величина достовірно не відрізнялася від рівня, притаманного особам без ГХ відповідного віку. Як відомо, H₂S має різноспрямований регулюючий вплив

на судинний тонус. Він може не тільки розслабляти, але і скорочувати судини [75]. У випадку застосування PLP, ймовірно, проявлявся саме розслаблюючий вплив на судини. Відомо, що вітаміни групи В, зокрема вітамін В₆, знижують негативний вплив деяких амінокислот на судини, покращують кровообіг і чинять такий же вплив на організм людини, як антиоксиданти. Тобто не можна відкидати й безпосередній дилатуючий вплив PLP на стан судинної стінки [27, 58].

Таким чином, застосування PLP в комплексній терапії ГХ у осіб старшого віку протягом 2 тижнів значною мірою справляє ефект, подібний до отриманого через 2 тижні застосування фітопрепарату донора сірководню. Для з'ясування механізмів впливу PLP (вітаміну В₆) при терапії ГХ та їх зв'язків зі змінами концентрації H₂S, необхідним є подовження курсу лікування, оскільки при використанні донора сірководню достовірний ефект було отримано саме при місячному застосуванні фітопрепарату часнику.

Результати, наведені у підрозділі 3.5, знайшли відображення у наступних публікаціях:

Кравчук О.М. Порівняльна характеристика впливу донора сірководню та піридоксаль-5-фосфат на функціональні параметри серцево-судинної системи при артеріальній гіпертензії. Наукові тренди постіндустріального суспільства. Суми, Україна, 31 березня, 2023: 255-25. [21].

РОЗДІЛ 4

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Гіпертонічна хвороба (ГХ) залишається основною причиною інвалідизації та смертності населення у всьому світі. Незважаючи на те, що ГХ є мультифакторним захворюванням і вважається асоційованою із віком, за останні роки ця хвороба зачіпає все молодші верстви населення. Причому за 70 років поширеність ГХ збільшилася в 6-8 разів. Наприклад, російські і американські дослідники, котрі проводили тривалі системні дослідження показали, що якщо на початку обстежень ГХ була виявлена в 5-6% випадків, то натеper частота ГХ серед населення становить вже 40% і більше [29, 76, 161, 172].

В попередніх дослідженнях було показано, що підвищене споживання хлориду натрію є одним з основних факторів ризику розвитку ГХ поряд з такими важливими факторами ризику як ожиріння, вживання алкоголю і гіподинамія [190]. Наведені причини виникнення ГХ не враховують тонкі механізми, котрі впливають на зміни АТ. До останніх років вивчення таких механізмів було неможливим через недостатність методичної бази для проведення досліджень.

Серед причин розвитку ГХ виділяють, в першу чергу, генетично детерміновані фактори, які ведуть до надмірного утворення сполук, що збільшують тонус судин, таких як ангіотензин, який утворюється за дії ангіотензинперетворювального ензиму (АПЕ) і чинить вазоконстрикторну дію [53]. Іншим чинником є викид катехоламінів і тривала стимуляції β_1 -адренорецепторів, збільшення внутрішньоклітинного кальцію і сили скорочення гладеньких м'язів, що, в свою чергу, теж веде до підвищення АТ. Тому інгібітори ангіотензинперетворювального ферменту і бета-блокатори є препаратами першої лінії в терапії ГХ [33, 210]. З іншого боку, причинами

підвищеного АТ може бути зменшення синтезу чи/і біодоступності ендогенних вазорелаксантів, зокрема, оксиду азоту (NO) внаслідок активації ензиму аргінази, що є конкурентом NO-синтази (NOS) за спільний субстрат L-аргінін, і зниження власне NO-синтазної активності [33].

Важливим фактором розвитку ГХ є окисний стрес, який можна назвати і першопричиною цього захворювання, і наслідком. Зокрема, окисний стрес є ініціатором порушення роботи eNOS, при якому вона стає неспряженою і продукує супероксидний аніон-радикал замість NO. Генерація активних форм азоту і розвиток нітрозативного стресу, як компоненти окисного стресу, супроводжується порушенням ендотеліальної функції. Тому для зменшення артеріального тиску і симптомів ГХ необхідною умовою є усунення проявів окисного стресу. Експериментально було показано, що деякі бета-блокатори мають здатність збільшувати продукцію NO і покращувати ендотелійзалежне розслаблення, а також зменшувати прояви окисного стресу у пацієнтів з ГХ, що може бути основою гіпотензивного ефекту цих препаратів [219].

Завдяки дослідженням останніх років було виділено новий регуляторний фактор діяльності серцево-судинної системи – сірководень. Причому вважають, що розуміння його ролі у виникненні патологічних станів дозволить розробити новий напрям у лікуванні ГХ [3, 214]. В організмі H_2S стимулює антиоксидантну систему поряд з відомими антиоксидантами (в т.ч. з N-ацетилцистеїном, глутатіоном і супероксиддисмутазою) і справляє захисну дію. Однак серед величезного розмаїття біологічних функцій цієї молекули особливо виділяють її роль в регуляції діяльності серцево-судинної системи, зокрема, формування нормальних показників артеріального тиску [34, 205].

H_2S в тандемі з NO відіграє важливу роль в розслабленні гладеньких м'язів периферичних судин і регуляції редокс статусу організму. Експериментально було показано, що введення донора H_2S гідросульфиду натрію пригнічує розвиток окисного стресу, коли спостерігається дефіцит ендогенного H_2S [156, 159]. За останні 5-6 років з'явилося кілька доклінічних і

клінічних випробувань, які показали ефективність застосування екстракту часнику для зниження артеріального тиску і факторів ризику серцево-судинних захворювань у пацієнтів з артеріальною гіпертензією [171]. Незважаючи на перспективність використання препаратів часнику у терапії ГХ, механізми його дії залишаються мало вивченими. Крім того, споживання часникового екстракту знижувало окисне пошкодження ДНК у пацієнтів з есенціальною гіпертензією [69]. Тому ми припустили, що препарат часнику, як донор сірководню, може реалізовувати свою антигіпертензивну дію шляхом стимуляції ендогенного синтезу H_2S , нівелювання окисного стресу і, можливо, відновлення спряження конститутивного синтезу NO. Також антигіпертензивна дія препарату часнику може реалізуватися при збільшенні концентрації ендогенного H_2S за рахунок покращення ендотелійзалежного розслаблення судин і зменшення проявів окисного стресу, що зробить перспективним його використання у комплексній терапії АГ.

Нами було показано, що вживання фітопрепарату пацієнтами з ГХ поступово, у вигляді тенденції, підвищувало вміст сірководню в плазмі крові на 14-ту добу. На 30-ту добу ця величина була достовірно вищою, ніж до лікування: застосування фітопрепарату протягом 1 місяця у молодих пацієнтів з ГХ призводило до зростання концентрації сірководню на 29,9% відносно вихідних значень до лікування, а у пацієнтів старшого віку зростання концентрації сірководню становило 34,7%, тобто було більш значним. Таким чином даний фітопрепарат змінює рівень H_2S в плазмі не тільки в залежності від тривалості його вживання, але й від віку пацієнтів.

В нашій роботі у пацієнтів з ГХ віком 29-39 років виявлено зниження систолічного і діастолічного тиску через 1 місяць застосування фітопрепарату часнику на 9 і 8 мм рт ст., відповідно. Також було з'ясовано, що за такий період вживання фітопрепарату на тлі стандартної антигіпертензивної терапії (β -адреноблокатор, інгібітор ангіотензинперетворювального ензиму) у осіб старшої вікової групи теж знижувались систолічний і діастолічний тиск, в

середньому на 16,5 і 12,5 мм рт. ст., відповідно. Такі результати співпадають з даними літератури. Наприклад, станом на 2020 рік за результатами оцінки наявних нечисленних клінічних досліджень, доступних в медичних базах даних, показано, що вживання препаратів часнику пацієнтами з ГХ знижує систолічний і діастолічний кров'яний тиск у середньому на 8,3 і 5,5 мм рт. ст., відповідно [171]. Важливо, що автори, які проводили обстеження, відмічають відсутність помітних побічних ефектів від вживання препаратів часнику. Також відсутність скарг у пацієнтів може вказувати на безпечність вживання досліджуваного фітопрепарату і його перспективність як доповнення до стандартного лікування хворих з ГХ.

Механізми дії екстрактів часнику до останнього часу залишаються недостатньо з'ясованими. Нами вперше показано, що зниження АТ у пацієнтів з ГХ II ст. після застосування терапії з додаванням препарату часнику відбувається H_2S -опосередкованим шляхом. На користь цього твердження свідчить той факт, що збільшення вмісту H_2S в крові пацієнтів супроводжувалось зменшенням кількості лейкоцитів в крові, а також відновленням конститутивного синтезу NO зі збільшенням індикатора цього процесу – активності cNOS.

Збільшення дилататорних агентів у крові пацієнтів, очевидно, означало покращення ендотеліязалежного розслаблення судин, про що свідчило достовірне зниження ЗПОС у пацієнтів (на 11,3% у пацієнтів молодшого віку та на 10% у хворих старшої вікової групи). На нашу думку, H_2S проявляв системний ефект, впливаючи не лише на судини, але й на міокард, оскільки спостерігалось зменшення кінцево-систолічного об'єму крові (на 8% у пацієнтів 29-39-річного віку та у вигляді тенденції у 40-60-річних осіб) і зростання фракції викиду, що вказує на покращення скоротливої та насосної функції міокарда.

На теперішній час встановлено, що хронічна стимуляція β -адренорецепторів, що вважається однією з причин ГХ, супроводжується

розвитком окисного стресу, пригніченням антиоксидантної системи, апоптотичною і некротичною загибеллю клітин міокарда [50]. Доказом того, що ці процеси H_2S -опосередковані, є ефект їх нівелювання в присутності блокаторів H_2S чи NO . Експериментально було показано, що препарат часнику попереджає гіпертрофію, окисний стрес і апоптоз кардіоміоцитів в культурі [135].

В нашій роботі антирадикальна та антиоксидантна дія досліджуваного фітопрепарату проявлялась в гальмуванні вільнорадикальних процесів і зменшенні маркерів ПОЛ в організмі пацієнтів з АГ, зокрема МДА (у молодших пацієнтів на 29%, у старших на 27,5% після місячного застосування препарату; при 14-денному застосуванні фітопрепарату цей показник мав тенденцію до зниження в обох групах пацієнтів). Така динаміка змін під впливом препарату часнику знаходить підтвердження і в дослідженнях інших авторів [69].

Паралельно відбувалось гальмування нітрозативного стресу: зниження активності $iNOS$ на 28,3% у молодших осіб з АГ та на 43,2% у осіб старшого віку. Підвищення активності $iNOS$ разом із збільшеними рівнями супероксидного радикалу може сприяти утворенню інтегрального продукту пероксинітриту, який, в свою чергу, є потужним окисником і ініціатором ПОЛ, що замикає хибне коло переокисних процесів.

Активність $sNOS$ в плазмі збільшувалася в різному ступені при усіх схемах лікування, що є позитивним фактом, оскільки конститутивний NO є важливим регулятором тону судин, що має релаксуючий вплив як на периферичні, так і коронарні судини.

Таким чином, серед механізмів позитивного впливу фітопрепарату вперше було виявлено нормалізацію рівнів H_2S в плазмі крові і відновлення конститутивного синтезу NO , а зменшення загального периферичного опору судин, ймовірно, було наслідком покращеного синтезу цих вазорелаксантів.

Наявні натепер дослідження свідчать про те, що вживання препаратів часнику пацієнтами з ГХ знижує рівень холестерину і впливає на імунну систему, збільшуючи кількість клітин кілерів, активність макрофагів та збільшуючи продукцію Т- і В- клітин [202]. Тобто, препарати часнику проявляють себе як гіпотонічні засоби з протизапальним і імуностимуляторним ефектом.

При формуванні такої патології, як ГХ, а особливо з віком збільшується ризик порушень ліпідного метаболізму і прогресії атеросклеротичних змін, що у структурі розвитку ГХ займають вагоме місце і можуть потребувати вживання додаткових фармакологічних препаратів. В нашому дослідженні фітопрепарат часнику знижував рівень холестерину і протромбінового індексу, що теж може сприяти зниженню артеріального тиску і ЗПОС. Однак, крім зазначених механізмів, препарат часнику ймовірно впливає й на інші молекулярні і клітинні мішені.

Для вивчення морфофункціонального стану клітинних органел і, опосередковано, стану судинної стінки, у пацієнтів з ГХ нами було застосовано електронномікроскопічне та морфометричне дослідження клітин крові, зокрема, тромбоцитів (Т) та лейкоцитів (Л). Вони приймають участь у багатьох процесах в організмі, як безпосередньо не пов'язаних з ГХ, так і пов'язаних з цією патологією. Нами вперше було показано, що в ультраструктурі Т пацієнтів з ГХ відбуваються суттєві зміни. З них до найважливіших для розвитку та перебігу ГХ, очевидно, слід відносити кількість щільних δ -гранул, прозорих α -гранул та МХ. Найбільш характерним та таким, що може впливати на перебіг ГХ, у осіб зрілого віку є те, що Т практично не мали щільних δ -гранул, а кількість α -гранул у них була значно підвищеною (на 83%). Оскільки доведено, що кількість щільних δ -гранул залежить від концентрації серотоніну (С) (Т – практично єдині клітини крові, у яких концентруються резерви С - до 95% С, що визначається у плазмі [170]), і приймаючи до уваги той факт, що С бере безпосередню участь у регуляції судинного тону, а саме сприяє його

зростанню, то можливо такі зміни є компенсаторними, спрямованими на зниження судинного тонузу при ГХ. З іншого боку, збільшення кількості α -гранул, котрі містять антигепариновий фактор тромбоцитів 4, тромбоцитарний ростовий фактор, тромбоспондин, що сприяють агрегації Т, вказує на зростання ризику тромбоутворення у літніх пацієнтів з АГ [83]. Зміни ультраструктури Т у осіб молодшої вікової групи носили протилежний характер. Виявлена особливість вимагає подальших досліджень, можна лише висунути припущення, що вона пов'язана як з віковими змінами клітин крові, так і з тривалістю розвитку ГХ.

Щодо морфометричних параметрів Т, то нами було виявлено, що 2-х тижневе додавання до стандартного лікування донора сірководню посилювало (відносно традиційної терапії у молодших пацієнтів) або виявляло тенденцію (у старших пацієнтів) до наближення досліджуваних показників до рівнів, притаманних здоровим особам відповідного віку. Тривале використання фітопрепарату поліпшувало досліджувані нами показники ультраструктури Т в обох групах осіб. По-перше, у молодшій віковій групі кількість δ - та α -гранул в Т достовірно не відрізнялася від контрольної. По-друге, у старшій віковій групі кількість δ -гранул зростала у 2 рази відносно визначеної до лікування і на 40,4% відносно визначеної після проведення традиційної терапії. Якщо взяти до уваги висловлене нами припущення, яке базується на наявних наукових даних про те, що кількість δ -гранул у Т корелює з кількістю серотоніну, а відтак і з функцією серотонінергічної системи, можна говорити про певне відновлення її збалансованості, що є важливим, оскільки саме дисбаланс вмісту С в крові викликає значні коливання судинного тонузу, котрі відіграють роль у формуванні ГХ [88, 91]. При цьому у даної групи пацієнтів α -гранул виявлялося на 40,6% менше, ніж до лікування, і на 27,5% менше, ніж після традиційної терапії. Такі зміни можуть бути свідченням зниження у старших пацієнтів з ГХ схильності до тромбоутворення. Такий ефект є цілком прогнозованим, оскільки показано, що сірководень здатен інгібувати агрегацію тромбоцитів [207].

Нами також було оцінено ультраструктуру мітохондріального апарату (МХА) лейкоцитів у пацієнтів з ГХ при проведенному лікуванні. В останні десятиліття як одна із основних причин первинного підвищення АТ розглядається дефіцит енергії на клітинному рівні. Джерелом порушення енергетичного обміну тканин природно вважають зниження енергоутворювальної функції мітохондрій внаслідок порушення структури МХА [98]. І, як вже зазначалося, однією з головних причин, котрі відіграють роль у формуванні серцево-судинної патології, є мітохондріальна дисфункція (МД), тим більше, що порушення регуляції артеріального тиску відбувається на тлі прогресування енергетичного дефіциту [132]. Нами було встановлено, що у пацієнтів з ГХ, значна кількість МХ у лейкоцитах була структурно пошкодженою (зростання кількості структурно порушених органел у пацієнтів з ГХ досягало 10 разів); проте їх загальна кількість була достовірно не зміненою відносно здорових людей. Нами вперше було показано, що при даній патології спостерігалися виражені ультраструктурні ознаки активації мітофагії. Оскільки вважають, що аутофагія - процес, котрий сприяє не тільки загибелі пошкоджених клітин, але і їх збереженню (завдяки запобіганню апоптозу за мітохондріальним шляхом) [68], можна вважати, що при ГХ незалежно від віку пацієнтів компенсаторно може активуватися такий механізм, принаймні в клітинах крові.

Вплив двотижневого лікування з додаванням донора сірководню проявлявся у тому, що у МХА лейкоцитів спостерігалися позитивні зміни, а саме: в обох групах обстежених осіб з ГХ значно зменшувалася кількість структурно змінених МХ, не тільки відносно стану до лікування, але й відносно визначеної кількості таких МХ після стандартного лікування (на 40,9% у молодших та на 29,1% у старших осіб). Такі зміни слід розглядати як можливість для зростання потужності енергетичного метаболізму. При більш тривалому додаванні до стандартного лікування хворих з ГХ фітопрепарату часнику спостерігалось статистично значиме зростання загальної кількості МХ:

у осіб молодшої вікової групи на 57,5%, а в старшій віковій групі на 53,7%. Натепер існує обмаль даних щодо впливу H_2S на загальну кількість МХ в клітинах. Тобто, нам вдалося отримати нові дані для з'ясування та уточнення цього питання. Також під впливом застосування фітопрепарату виявлено зменшення кількості структурно пошкоджених МХ. Так, у пацієнтів молодшої групи кількість структурно пошкоджених МХ зменшилось в 2 рази відносно стану до лікування і на 51,6% порівняно зі станом після застосування стандартної терапії; у пацієнтів старшої групи кількість структурно пошкоджених МХ зменшилось на 61,4% відносно стану до лікування та на 39,6% відносно стану після стандартного лікування.

На нашу думку, слід звернути увагу на те, що у осіб молодшого віку зміни МХА були більш значні при меншій тривалості впливу донора сірководню, тоді як динаміка змін концентрації H_2S і вираженості оксидативного стресу більш значні у пацієнтів старшої вікової групи. Пояснення цих відмінностей, на нашу думку, лежить у площині сучасних поглядів на причини старіння. На теперішній час однією з основних причин старіння і смерті дослідники називають порушення функціонування мітохондрії. Це, на їх думку, хоча, не головна або єдина причина, але одна з основних [38]. Зі збільшенням віку зменшується кількість мітохондрій і, одночасно, кількість копій мтДНК в мітохондріях, зменшується продуктивність транспортної системи мітохондрій [54]. Отже, ймовірно, що зміни на клітинному рівні у осіб з ГХ в старшій віковій групі обумовлюються не тільки розвитком гіпертензії (причиною якої до певної міри вони і є), але й віковими змінами.

Таким чином, результати наших морфологічних та морфометричних досліджень вказують на позитивний вплив сірководню на ультраструктуру і функцію тромбоцитів та мітохондрій в лейкоцитах в обох вікових групах обстежених (з різним ступенем вираженості процесів), що може вважатися

підґрунтям подальшого пошуку ефективних шляхів для підвищення вмісту H_2S в організмі пацієнтів з гіпертонічною хворобою.

Слід підкреслити, що статистичний аналіз показав достовірні позитивні зміни більшості досліджуваних показників через 30 діб порівняно із даними, отриманими через 14 діб застосування фітопрепарату часнику.

Як вже вказувалось вище, при формуванні ГХ, з огляду на її мультифакторність та доведений позитивний ефект зростання ендогенного утворення сірководню, а особливо з віком, може виникати потреба вживання додаткових фармакологічних препаратів. Враховуючи це, була зроблена спроба досягти подібного ж результату шляхом застосування PLP в комплексній терапії пацієнтів старшої вікової групи. До уваги прийняли той факт, що наявні на теперішній час дослідження свідчать про те, що застосування вітаміну B_6 , як такого, так і PLP, зменшують ускладнення, пов'язані з ішемічною хворобою артерій, гіпертонією тощо [58, 81], а PLP є кофактором до H_2S -синтизуючих ферментів CBS, CSE та CAT, що кон'югована з 3-MST [197]. Основні ж механізми їх впливу на організм в різних умовах до кінця ще не вивчені [27].

Застосування фітопрепарату часнику не супроводжувалося побічними ефектами, тоді як у 40% пацієнтів, котрі отримували PLP, активну форму вітаміну B_6 , розвилася алергічна реакція у вигляді почервоніння та свербіжечей, долоней, стоп. У них препарат довелося відмінити.

У осіб, що пройшли 2-хтижневий курс лікування PLP, визначалася тенденція до зниження концентрації сірководню в плазмі крові відносно її показника до лікування і після застосування стандартного лікування. При цьому концентрація МДА знижувалась на 28,7% ($p < 0,05$) відносно величин до лікування. Величина iNOS збільшувалася на 20,5% ($p < 0,05$), при цьому, однак, концентрація sNOS залишалася майже у 2 рази підвищеною, швидкість генерації $O_2^{\cdot-}$, залишаючись вищою відносно контрольних значень, зменшувалася більш, ніж у 2 рази відносно нелікованих пацієнтів, а концентрація

*ОН достовірно не відрізнялася від рівня здорових осіб, тобто знижувалася при проведеній терапії у 2,7 рази.

Після 2-тижневого застосування PLP у поєднанні із стандартною терапією встановлено ряд сприятливих змін функціональних показників, причому не тільки у вигляді тенденції, але й статистично значимих. Найважливішими з них є зниження систолічного, діастолічного та середньодинамічного артеріального тиску. Крім того, статистично значимо ($p < 0,05$) відносно стану до лікування знижувався загальний периферичний опір судин, і його величина практично не відрізнялася від рівня, притаманного особам без ГХ відповідного віку.

На підставі отриманих даних можна констатувати, що застосування PLP протягом 2 тижнів в комплексній терапії ГХ у осіб старшого віку справляє ефекти, подібні до отриманих через 2 тижні застосування донора сірководню – фітопрепарату часнику. Для з'ясування механізмів впливу PLP у хворих на ГХ та їх зв'язків зі змінами концентрації ендogenousого сірководню необхідно провести додаткові дослідження з більш тривалим курсовим застосуванням PLP (не менше 1 міс), оскільки при використанні донора сірководню статистично значимі сприятливі ефекти були отримані лише через 1 місяць застосування фітопрепарату часнику.

Таким чином, застосування донора сірководню фітопрепарату часнику збільшує синтез ендogenousого H_2S , інгібує оксидативно-нітрозативний стрес, сприяє поліпшенню функції серця у пацієнтів з ГХ різного віку. Результати проведених клінічних, біохімічних, функціональних та морфологічних досліджень свідчать про ефективність фітопрепарату часнику і, до певної міри, PLP як альтернативних гіпотонічних, холестеринзнижуючих та м'яких антитромботичних засобів в комплексній терапії ГХ. Вказані ефекти суттєво залежать від віку пацієнтів та тривалості застосування донора сірководню.

ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі, відповідно до поставлених мети і завдань, досліджено вплив змін рівня синтезу ендogenous сірководню, викликаного застосуванням фітопрепарату на основі часнику, на маркери окисно-нітрозативного стресу, клінічні та функціональні показники серцево-судинної системи, ультраструктуру тромбоцитів та зміни мітохондріального апарату лейкоцитів у пацієнтів різних вікових груп з гіпертонічною хворобою II ст. Також досліджено вплив піридоксаль-5-фосфату на рівень ендogenous сірководню, показники оксидативно-нітрозативного стресу та функціональні параметри серцево-судинної системи у пацієнтів з гіпертонічною хворобою II ст. старшої вікової групи.

1. Концентрація сірководню в плазмі крові зменшується з віком у здорових людей від 148,11 мкмоль\ в групі 29-39 років до 72,4 мкмоль\л в групі 40-60 років ($p < 0,05$). У хворих з гіпертонічною хворобою II ступеня рівень сірководню в плазмі нижчий, ніж у здорових людей відповідного віку. Низькі показники вмісту сірководню асоціюються з посиленням оксидативно-нітрозативного стресу у хворих з ГХ.

2. У хворих старшого віку з гіпертонічною хворобою II ст. в тромбоцитах майже відсутні щільні δ -гранули, які є резервами серотоніну, що можна розглядати як компенсаторну реакцію, спрямовану на зниження судинного тону. Кількість α -гранул в тромбоцитах хворих старшого віку, навпаки, підвищена (на 83%), що свідчить про зростання ризику тромбоутворення. Значна кількість мітохондрій у лейкоцитах хворих старшого віку структурно пошкоджена, і спостерігається виражена активація ультраструктурних ознак мітофагії.

3. У хворих з гіпертонічною хворобою II ст. через 2 тижні застосування донора H_2S (фітопрепарату часнику Full Spectrum Garlic) виявлена тенденція до зростання концентрації H_2S в плазмі крові. При збільшенні

тривалості застосування фітопрепарату часнику до 4 тижнів концентрація H_2S в плазмі хворих зростає статистично значимо в обох вікових групах. При цьому у хворих старшого віку позитивний ефект донора сірководню більш значний, ніж у хворих молодшого віку. Тобто, фітопрепарат часнику підвищує концентрацію H_2S в плазмі крові не тільки в залежності від тривалості застосування, а й від віку пацієнтів.

4. Підвищення концентрації H_2S в плазмі крові супроводжується зменшенням швидкості генерації супероксидного і гідроксильного радикалів, вмісту в крові перекису водню та малонового діальдегіду, підвищенням активності конститутивної NO-синтази та зниженням активності індукцйбельної NO-синтази, що свідчить про гальмування оксидативного і нітрозативного стресу у хворих з гіпертонічною хворобою II ступеня через 4 тижні застосування донора сірководню. Вказані ефекти спостерігались в обох вікових групах, але зниження активності iNOS переважало у хворих старшого віку.

5. Зростання вмісту сірководню в плазмі крові через 4 тижні застосування фітопрепарату часнику супроводжується статистично значимим зниженням систолічного і діастолічного артеріального тиску, загального периферичного опору судин та кінцево-систолічного об'єму крові, а також тенденцією зростання фракції викиду, що свідчить про покращення насосної функції лівого шлуночка у хворих з гіпертонічною хворобою II ст. обох вікових груп.

6. Донор сірководню фітопрепарат часнику чинить нормалізуючий вплив на ультраструктуру і функцію тромбоцитів та мітохондрій в лейкоцитах, з різним ступенем вираженості процесів в залежності від тривалості терапії та віку пацієнтів. У хворих молодшого віку клітинні реакції виникають при меншій тривалості застосування донора сірководню, але вони більш виражені, ніж у хворих старшої вікової групи, у яких динаміка змін концентрації H_2S і показників оксидативного стресу є більш значною.

7. Застосування піридоксаль-5-фосфату протягом 2 тижнів в комплексній терапії гіпертонічної хвороби II ст у осіб старшого віку справляє ефект, подібний до отриманого через 2 тижні застосування фітопрепарату часнику (донора сірководню): зменшувалася вираженість окисно-нітрозативного стресу, виявлялося статистично значиме зниження систолічного, діастолічного та середньодинамічного артеріального тиску, загального периферичного опору судин, величина якого не відрізнялася від рівня, притаманного здоровим особам відповідного віку.

8. Результати дослідження обґрунтовують перспективність нового напрямку у комплексному лікуванні хворих з гіпертонічною хворобою різного віку – застосування засобів, які підвищують рівень ендogenousого сірководню.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Артеріальна гіпертензія. Стандарти надання медичної допомоги лікарями первинної ланки (за матеріалами Настанови Європейського товариства з артеріальної гіпертензії/Європейського товариства кардіологів (ESC/ESH) 2018 р. з лікування артеріальної гіпертензії. 2018. - [Інтернет]. – Доступно на: <https://umj.com.ua/uk/publikatsia-131500-arterialna-gipertenziya-standarti-nadannya-medichnoyi-dopomogi-likaryami-pervinnoyi-lanki-za-materialami-nastanovi-yevropejskogo-tovaristva-z-arterialnoyi-gipertenziyi-yevropejskogo-tovaristva-kardio>
2. Бабак ОЯ, Біловол АН, Безугла НП. [та ін.]. Клінічна фармакологія. 2010, К.: «Медицина». 776 с.
3. Барна ОМ, Снігир НВ. Сірководень – важлива сигнальна молекула в патогенезі серцево-судинних хвороб: можливості терапевтичного впливу. Ліки України. 2017; (4): 23-5.
4. Баскаков МБ, Гусакова СВ, Жолудєва АС, Смаглій ЛВ. [та ін.]. (2010). Вплив сірководню на скорочувальну активність гладких клітин аорти щура. Бюлл. мед. 2010; 6: 12-7.
5. Березовський В.Я., Плотнікова Л.М. Сірководень та його роль в регуляції судинного тонуусу. 2012. - [Інтернет]. – Доступно на: <http://dspace.nbuv.gov.ua/bitstream/handle/123456789/41305/01-Berezovsky.pdf?sequence=1>
6. Богапов Г. Часник віділяє сірководень і цим корисний для серця. 2007. – [Інтернет]. – Дотупно на: http://expert.com.ua/12598-mess2_5109.html
7. Від "нервичної хвороби" Г.Ф. Ланга до небезпечної дози діуретиків. [Інтернет]. 2016-2024. Доступно на: <https://jak.bono.odessa.ua/articles/chastina-3-vid-nervicheskoy-hvorobi-g.php>
8. Візір ВА, Деміденко ОВ, Гончаров ОВ, Школовий ВВ. Вторинні артеріальні гіпертензії. Нейроциркуляторна дистонія. Ч. 2 . Запоріжжя : ЗДМУ, 2019. 110 с.

9. Гогин Е.Е. Гипертоническая болезнь. М.; Медицина, 1997. – 400 с.
10. Дорофеева Н.О., Гошовська Ю.В., Сагач В.Ф. Мембранный потенціал мітохондрій серця і швидкість споживання кисню у щурів із генетично детермінованою артеріальною гіпертензією. Фізіол. журн. 2011; 57 (3): 3–9. doi: <https://doi.org/10.15407/fz57.03.003>
11. Дученко КА. Вплив фуроксану на водно-сольовий обмін у щурів. Молодий вчений. 2016 ; 5 (32): 287-90.
12. Жаринова В.Ю. Эндотелиальная дисфункция как мультидисциплинарная проблема. Кровообіг та гемостаз. 2015; (1-2): 9-15.
13. Камінський ДВ, Крищишин АП, Єлісеєва ОП, Лесик РБ. Донори H₂S у створенні інноваційних лікарських засобів. Журнал органічної та фармацевтичної хімії. 2017; 15 (2): 27-46.
14. Каніщева ОВ. Сучасні аспекти короткострокової варіабельності артеріального тиску при артеріальній гіпертензії. Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія «Медицина». 2022;45:82–96. DOI: 0.26565/2313-6693-2022-45-09
15. Карупу В.Я. Электронная микроскопия.. К.: Вища школа, 1984. 208 с.
16. Колесник МЮ, Беленичев ИФ, Дзяк ГВ, Чекман ИС. Особливомті функціонування мітохондрій міокарда у щурів зі спонтанною гіпертензією (SHR) на тлі експериментального цукрового діабету та атеросклерозу. Запорожский мед. журн. 2012; (2): 26-30.
17. Колупаев ЮЕ, Фирсова ЕН, Ястреб ТО, Швиденко НВ. Індукування антиоксидантної системи та теплочутливості колеоптилей пшениці донором сірководню: зв'язок ефектів з утворенням активних форм кисню. Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія: Біологія. 2017; Вип. 1: 61-8.
18. Костюк К.С. Кількісні та якісні зміни лейкоцитів при патологічних процессах. – [Інтернет]. - 2020. – Доступно на: <https://www.ncgb.by/index.php/gazeta-ncgb-meterial/41-gazeta-statiy/1055->

kolichestvennoe-i-kachestvennoe-izmenenie-lejkotsitov-pri-patologicheskikh-protssakh

19. Кравчук О.М. Вплив попередника утворення сірководню на зміни артеріального тиску та мітохондріальну дисфункцію у пацієнтів з артеріальною гіпертензією. IV International Scientific and Practical Conference “Priority directions of science and technology development”. Kyiv, Ukraine; 20-22 December, 2020: 134-140.

20. Кравчук О.М. Зміни маркерів окисно-нітрозативного стресу в плазмі крові пацієнтів з артеріальною гіпертензією після застосування фітопрепарату донора сірководню. Vancouver, Canada; 23-26 November, 2020: 439-453.

21. Кравчук О.М. Порівняльна характеристика впливу донора сірководню та піридоксаль-5-фосфат на функціональні параметри серцево-судинної системи при артеріальній гіпертензії. Наукові тренди постіндустріального суспільства. Суми, Україна, 31 березня, 2023: 255-258

22. Кравчук О.М., Гошовська Ю.В., Коркач К.П., Сагач В.Ю. Фітопрепарат часнику знижує артеріальний тиск і зменшує окисний стрес, збільшуючи вміст H₂S у плазмі крові у пацієнтів з артеріальною гіпертензією. *Фізіол. журн.* 2020; 66 (4): 55-63. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz66.04.055>

23. Кулакевич ТВ. Основні підходи до управління стресовими станами. 2014. - file:/Pnpz_2014_5_5.pdf

24. Ланг Г.Ф. Гипертоническая болезнь. — Л.: Медгиз., 1950. — 493 с.

25. Матвієнко Ю. Нервова система та артеріальна гіпертензія – патогенетичні взаємодії. [Інтернет]. - 2017. – Доступно на: <http://msvitu.com/archive/2017/august/article-4.php?print=1>

26. Матюха ЛФ, Орловська НВ, Мацька ОВ. Артеріальна гіпертензія у дітей та підлітків: фактори ризику, аспекти діагностики та основи профілактики. *Семейная мед.* 2015; 62 (6): 131-5.

27. Морозова Т.Е., Дурнецова О.С. Вітаміни групи В в клінічній практиці. [Інтернет]. 2020. Доступно на: <https://remedium.ru/doctor/detail.php?ID=69120>
28. Нетюхайло ЛГ, Сухомлин ТА, Сухомлин АА. Ефекти метаболітів арахідонової кислоти в легенях (огляд літератури). Молодий вчений. 2016; 36 (9): 136-40.
29. Носова Г. Артеріальний тиск норма і відхилення: МОЗ назвало цифри. [Інтернет]. 2023. Доступно на: <https://tsn.ua/zdorovya/arterialniy-tisk-norma-i-ne-norma-moz-nazvalo-cifri-2426566.html>
30. Осипов ВП, Лукьянова ЕМ, Антипкин ЮГ. Методика статистической обработки медицинской информации в научных исследованиях. К.: Планета людей; 2002. 200 с.
31. Резник НЛ. Третій газ. Хімія і життя. 2009; (10): 40-6.
32. Рішко, О.О. Куцин Стан серцево-судинної системи у осіб, які проживають у гірських регіонах. Науковий вісник Ужгородського університету, серія «Медицина», випуск 3 (45), 2012: 151-63.
33. Сагач В, Базілюк О, Коцюрuba А, Буханевич О. Порушення ендотелій залежних судинних реакцій, аргіназного та NO-синтазного шляхів обміну L-аргініну при артеріальній гіпертензії. Фізіол журн. 2000; 46 (3): 3–13.
34. Сагач В.Ф., Шиманська Т.В., Гошовська Ю.В. Вплив стимуляції та блокади синтезу ендogenous сірководню на функцію серця в умовах ішемії–реперфузії. Фізіол. журн. 2013; 59 (4): 8-15. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz59.04.008>
35. Сірководень – нові ліки для судин. [Інтернет]. 2013. Доступно на: <https://biomolecula.ru/articles/serovodorod-novoe-lekarstvo-dlia-sosudov>
36. Сиволап ВД, Гура ЕЮ. Основи діагностики захворювань щитоподібної залози. Запоріжжя : ЗДМУ, 2018. 91с.
37. Смаглий ЛВ. Роль Na +, K +, 2Cl - котранспорта в механізмах вазоконстрикторної дії сірководню. Сучасні проблеми науки та освіти. 2013; 2.

38. Сучасні погляди на процес старіння – мітохондріальна теорія старіння. [Інтернет]. 2017. Доступно на: <https://habr.com/ru/company/lifext/blog/408037/#habracut>
39. Сохор НР, Шкробот СІ, Ясній ОР. Вміст стабільних метаболітів оксиду азоту та ендотеліну-1 при різних підтипах ішемічного інсульту. Вісник наукових досліджень. 2016; (1): 84-7.
40. Струтинська Н.А., Дорофеева Н.О., Вавілова Г.Л., Сагач В.Ф. Підвищена чутливість мітохондріальної пори до індуктора Ca²⁺ у серці щурів зі спонтанною гіпертензією. Фізіол. журн. 2012; 58 (6): 3-8. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz58.06.003>
41. Струтинська Н.А., Семенихіна О.М., Чорна С.В., Вавілова Г.Л., Сагач В.Ф. Сірководень пригнічує кальційіндуковане відкривання мітохондріальної пори у серці дорослих і старих щурів. Фізіол. журн. 2011. – 57, № 6. – С.3–14. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz57.06.003>
42. Третьякевич ЗН, Левчин АМ, Анцупова ВВ. [и др.] Калікреїн-кининова система як адаптаційно-захисна ланка організму. [Інтернет]. 2013. Доступно на: <https://sibac.info/conf/med/xxii/33727>
43. Вчені знайшли засіб обернути процес старіння клітин. [Інтернет]. 2018. Дотупно на: <https://habr.com/ru/company/pochtoy/blog/420397/>
44. Фесенко МЄ, Зюзіна ЛС, Козакевич ВК, Кабика ТВ, Павленко ВА. Артеріальна гіпертензія у дітей. Вісник проблем біол. і мед. 2016; Вип. 1, 2 (127): 34-7.
45. Хаертдшгов НН. Ефекти та механізми дії сірководню на скоротливу функцію міокарда жаби. [Інтернет]. 2011. – Доступно на: <http://earthpapers.net/effekty-i-mehanizmy-deystviya-serovodoroda-na-sokratitelnyu-funktsiyu-miokarda-lyagushki>
46. Цитомегаловірус, можливо, слугує причиною гіпертонії. [Інтернет]. 2011. Доступно на: <https://www.infox.ru/news/219/lifestyle/health/74708-citomegalovirus-vozmozno-sluzit-pricinoj-gipertonii>

47. Шевчук ТІ, Піскун РП, Масенко ТБ. Зміна морфометричних характеристик судин серця при експериментальній дисліпопротеїдемії. Світ медицини та біології. 2017; 61 (3): 154-7.
48. Abe K., Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. *J. Neurosci.* 1996; 16: 1066–71.
49. Ahmad A, Sattar MA, Rathore HA. [et al.]. A critical review of pharmacological signify cancel of Hydrogen Sulfide in hypertension. *Indian Journal of Pharmacology.* 2015; 476 (3): 243-8.
50. Afroz R, Tanvir EM, Karim N. [et al.]. Sundarban Honey Confers Protection against Isoproterenol-Induced Myocardial Infarction in Wistar Rats. *Biomed Res Int.* 2016; (1): 1–10. <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2016/6437641/>
51. Aleti G, Kohn JN, Troyer EA. [et al.]. Salivary bacterial signatures in depression-obesity comorbidity are associated with neurotransmitters and neuroactive dipeptides. *BMC Microbiol.* 2022; 22: 75. doi: 10.1186/s12866-022-02483-4
52. Arendse LB, Jan Danser AH, Poglitsch M. [et al.]. Novel Therapeutic Approaches Targeting the Renin-Angiotensin System and Associated Peptides in Hypertension and Heart Failure. *Pharmacol Rev.* 2019; 71(4): 539–70. doi: 10.1124/pr.118.017129
53. Atlas S.A. The Renin-Angiotensin Aldosterone System: Pathophysiological Role and Pharmacologic Inhibition. *J Manag Care Pharm.* 2007; 13 (8 Supp B): 9–20. <https://www.jmcp.org/doi/10.18553/jmcp.2007.13.s8-b.9>
54. Baris OR, Ederer S, Neuhaus JF. [et al.]. Mosaic Deficiency in Mitochondrial Oxidative Metabolism Promotes Cardiac Arrhythmia during Aging. *Cell Metab.* 2015; 21(6): 667–677. doi: 10.1016/j.cmet.2015.04.005
55. Barr LA, Shimizu Y, Lambert JP. [et al.]. Hydrogen Sulfide Attenuates High Fat Diet-Induced Cardiac Dysfunction via the Suppression of Endoplasmic Reticulum Stress. *Nitric Oxide.* 2015; 46: 145–56. doi: 10.1016/j.niox.2014.12.013

56. Beltowski J., Wojcicka G., Marciniak A., Jamroz A. Oxidative stress, nitric oxide production, and renal sodium handling in leptin-induced hypertension. *Life Sci.* 2004; 74 (24): 2987–3000. doi: 10.1016/j.lfs.2003.10.029
57. Boutin JA, Kennaway DJ, Jockers R. Melatonin: Facts, Extrapolations and Clinical Trials. *Biomolecules.* 2023; 13(6): 943. doi: 10.3390/biom13060943
58. Bryan J., Calvaresi E., Hughes D. Short-term folate, vitamin B12 or vitamin B6 supplementation slightly affects memory performance but not mood in women of various ages. *J Nutr.* 2002; 132(6): 1345-56. doi: 10.1093/jn/132.6.1345
59. Cabrera de Leon A, Rodriguez Periz MC, Almeida GD. [et al.]. Hemodynamics and metabolism at low versus moderate altitudes. *High Alt. Med. Biol.* 2011. (12): 179—86.
60. Calmasini FB, Klee NR, Webb P, Priviero F. Impact of Immune System Activation and Vascular Impairment on Male and Female Sexual Dysfunction. – [Internet]. 2019. - Available from: - <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2050052119300459?via%3Di> hub
61. Capra V, Rovati GE, P. Buccellati MC. [et al.]. Transcellular biosynthesis of eicosanoid lipid mediators. *Biochim Biophys Acta.* 2015; 1851 (4): 377-82.
62. Careri G, Nerla R, Di Monaco A. [et al.] Clinical correlates and prognostic value of flow mediated dilation in patients with nonST segment elevation acute coronary syndromes. *Am. J. Cardiol.* 2013; 111 (1): 51–7.
63. Carsten, A.W. Hydrogen sulfide: a new gaseous signal molecule and blood pressure regulator. *J. Nephrol.* 2009; 22: 173–6.
64. Chin SY, Pandey KN, Shi S-J, Kobori H, Moreno C, Navar LG. Increased activity and expression of Ca²⁺-dependent NOS in renal cortex of ANG II-infused hypertensive rats. *Am J Physiol Physiol.* 1999; 277 (5): F797–804.
65. Chirinos J., Rietzschel E.R., Shiva-Kumar P. [et al.] Effective Arterial Elastance Is Insensitive to Pulsatile Arterial Load. *Hypertension.* 2014. V.64. P. 1022–1031.

66. Clauser S, Cramer-Borde E. Role of platelet electron microscopy in the diagnosis of platelet disorders. *Semin. Thromb. Hemost.* 2009; 35 (2): 213-223. doi: 10.1055/s-0029-1220329
67. Costa JV, Silva ARV, Moura IH, Carvalho RBN, Bernardes LE, Almeida PC. An analysis of risk factors for arterial hypertension in adolescent students. *Rev. Latino-Am. Enfermagem* 2012; 20(2):289–95.
68. Denton D, Kumar S. Autophagy-dependent cell death. *Cell Death Differ.* 2019; 26(4): 605–16. doi: 10.1038/s41418-018-0252-y;
69. Dhawan V, Jain S. Garlic supplementation prevents oxidative DNA damage in essential hypertension. *Mol Cell Biochem.* 2005; 275 (1–2): 85–94. <http://link.springer.com/10.1007/s11010-005-0824-2>
70. Distrutti E, Sediari L, Mencarelli A. Evidence that hydrogen sulfide exerts antinociceptive effects in the gastrointestinal tract by activating KATP channel. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2006; 316: 325-35.
71. Du J., Yan H., Tang C. Endogenous H₂S is involved in the development of spontaneous hypertension. *Beijing Da Xue Xue Bao.* 2003; 35 (1): 102.
72. Durand MJ, Gutterman DD. Diversity in Mechanisms of Endothelium Dependent Vasodilation in Health and Disease. *Microcirculation.* 2013; 20 (3): 239–47.
73. Dzau V, Braunwald E. Resolved and unresolved issues in the prevention and treatment of coronary artery disease: a workshop consensus statement. *Amn Heart J.* 1991; 121(4) Part 1: 1244-63.
74. Eitzman DT. Leptin-induced endothelial dysfunction is mediated by sympathetic nervous system activity. *J. Am. Heart Assoc.* 2013; 2 (5): e000299.
75. Elsey DJ, Fowkes RC, Baxter GF. Regulation of cardiovascular cell function by hydrogen sulfide (H₂S). *Cell Biochem. Funct.* 2010; 28: 95-106.
76. European Society of Hypertension-European Society of Cardiology guidelines for the management of arterial hypertension. *J. Hypertens.* 2003; 21 (6): 1011—1053. doi: 10.1097/00004872-200306000-00001

77. Feng YL, Fan JH, Lin XJ. [et al]. Facilitating the measurement of circulatory hydrogen sulfide with fluorescence probe-coated microplates. *Beijing Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2017; 49(6): 1060-5.

78. Ferdinandy P, Andreadou I, Baxter GF. [et al.]. Interaction of Cardiovascular Nonmodifiable Risk Factors, Comorbidities and Comedications with Ischemia/Reperfusion Injury and Cardioprotection by Pharmacological Treatments and Ischemic Conditioning. *Pharmacol Rev*. 2023; 75(1): 159–216. doi: 10.1124/pharmrev.121.000348

79. Filipovic MR, Zivanovic J, Alvarez B, Banerjee R. Chemical Biology of H₂S Signaling through Persulfidation. *Chem Rev*. 2018 Feb 14; 118(3): 1253–337. doi: 10.1021/acs.chemrev.7b00205

80. Fiorucci S, Antonelli E, Distrutti E. [et al.]. Inhibition of hydrogen sulfide generation contributes to gastric injury caused by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Gastroenterology*. 2005; 129: 1210–24.

81. Fletcher RH, Fairfield KM. Vitamins for chronic disease prevention in adults: clinical applications. *JAMA*. 2002; 287 (23): 3127-3129. doi: 10.1001/jama.287.23.3127

82. Gadalla MM, Snyder SH. Hydrogen sulfide as a gasotransmitter. *J. Neurochem*. 2010; 113 (1): 14–26.

83. Gaddam RR, Chambers S, Fraser R. [et al.]. Cystathionine-Gamma-Lyase-Derived Hydrogen Sulfide-Regulated Substance P Modulates Liver Sieve Fenestrations in Caecal Ligation and Puncture-Induced Sepsis. - *Int. J. Mol. Sci*. 2019; 20: 3191- 200.

84. Geng B, Yan H, Zhong GZ Zhang CY. [et al.]. Hydrogen sulfide: A novel cardiovascular functional regulatory gas factor. *Beijing Da Xue Xue Bao*. 2004; 36: 106.

85. Germanova E, Khmil N, Pavlik L. [et al.]. The Role of Mitochondrial Enzymes, Succinate-Coupled Signaling Pathways and Mitochondrial Ultrastructure in the Formation of Urgent Adaptation to Acute Hypoxia in the Myocardium. *Int J Mol Sci*. 2022; 23(22): 14248. doi: 10.3390/ijms232214248

86. Gildea JJ, Wang X, Shah N. [et al.]. Dopamine and angiotensin type 2 receptors cooperatively inhibit sodium transport in human renal proximal tubule cells. *Hypertension*. 2012; 60 (2): 396–403.
87. Głowacka U, Brzozowski T, Magierowski M. Synergisms, Discrepancies and Interactions between Hydrogen Sulfide and Carbon Monoxide in the Gastrointestinal and Digestive. System Physiology, Pathophysiology and Pharmacology Biomolecules. 2020; 10(3): 445. doi: 10.3390/biom10030445
88. Goldberg E, Grau JB, Fortier JH. [et al.]. Serotonin and catecholamines in the development and progression of heart valve diseases. *Cardiovasc Res*. 2017; 113(8): 849–57. doi: 10.1093/cvr/cvx092
89. Goodwill AG, Dick GM, Kiel AM, Johnathan D. Tune JD. Regulation of Coronary Blood Flow. *Compr Physiol*. 2017; 7(2): 321–82. doi: 10.1002/cphy.c160016
90. Goodwin LR, Francom D, Dieken FP. [et al.]. Determination of sulfide in brain tissue by gas dialysis ion chromatography: post-mortem studies and two case reports *J. Anal. Toxicol*. 1989; 13 (1): 105–9.
91. Gray E A, Tsuchimochi H, Pearson JT. Assessment of the serotonin pathway as a therapeutic target for pulmonary hypertension. *J. Synchrotron Rad*. 2013; 20 (5): 756-764. doi: 10.1107/S0909049513021213
92. Guo W, Cheng Z-y, Zhu Y-z. Hydrogen sulfide and translational medicine. *Acta Pharmacol Sin*. 2013; 34: 1284-91.
93. Guyton AC, Hall HE. *Textbook of Medical Physiology*. Amsterdam: Elsevier Saunders, 2006. 1043 p.
94. Harrison DG, Coffman TM, Wilcox CS. Pathophysiology of Hypertension – the Mosaic Theory and Beyond. *Circ Res*. 2021; 128(7): 847–63. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.121.318082
95. *Harrison's Principles of Internal Medicine, 17th Edition (Harrison's Principles of Internal Medicine (Single Vol.1) 17th Edition*. London: McGraw-Hill Professional, 2008. 2958 p.

96. Hassaan AR, Din F, Mohammad HA, Ayaz AK, Munavvar AS, Norazizan A, [et al.]. Effect of exogenously administered hydrogen sulfide on cardiac and renal function in hypertensive diabetic rats. *FASEB J.* 2012; 26: 876-7.
97. He J. [et al.]. Genetic variants in the renin-angiotensin-aldosterone system and blood pressure responses to potassium intake. *J Hypertens.* 2011. 29 (9): 1719-30.
98. Heggermont WA, Heymans S. MicroRNAs are involved in endorgan damage during hypertension. *Hypertension.* 2012; 60 (5): 1088-93.
99. Hengel FE, Benitah J-P, Wenzel UO. Mosaic theory revised: inflammation and salt play central roles in arterial hypertension. *Cell Mol Immunol.* 2022; 19(5): 561–76. doi: 10.1038/s41423-022-00851-8
100. Hermann A, Sitdikova GF, Weiger T. Gasotransmitter fluchtige Überträgerstoffe. *Arzte Woche, SpringerMedizine.* 2010; (42): 10.
101. Hökfelt T, Barde S, Xu Z-OD. [et al.]. Neuropeptide and Small Transmitter Coexistence: Fundamental Studies and Relevance to Mental Illness. *Front Neural Circuits.* 2018; 12: 106. doi: 10.3389/fncir.2018.00106
102. Hosoki R, Matsuki N, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1997; 237: 527–53.
103. Hu J, Huang CX, Rao PP. [et al.]. MicroRNA-155 inhibition attenuates endoplasmic reticulum stress-induced cardiomyocyte apoptosis following myocardial infarction via reducing macrophage inflammation. *Eur J Pharmacol.* 2019; 857 (15): 172449. doi: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014299919304017?via%3Dihub>
104. Humphries KM, Yoo Y, Szweda LI. Inhibition of NADH-Linked Mitochondrial Respiration by 4-Hydroxy-2-nonenal. *Biochemistry.* 1998; 37 (2): 552–7.
105. Huwiler M, Kohler H. Pseudo-catalytic degradation of hydrogen peroxide in the lactoperoxidase/H₂O₂/iodide system. *Eur J Biochem.* 1984. - V. 141, N 1. – P. 69–74

106. Itani HA, McMaster WG Jr, Saleh MA. [et al.]. Activation of human T cells in hypertension: studies of humanized mice and hypertensive humans. *Hypertension*. 2016; 68(1):123–32
107. James PA Evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults report from the panel members appointed to the eighth Joint National Committee(JNC-8)free. *J.A.M.A.* 2014; 311(5): 507—20.
108. Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radic Biol Med*. 1990; 9 (6): 515–40.
109. Jiang HL, Wu HC, Li ZL, Geng B, Tang CS. Changes of the new gaseous transmitter H₂S in patients with coronary heart disease. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*. 2005; 25(8): 951-4.
110. Jordan J. Pathophysiologie der Hypertonie. *Der Internist*. 2015; 56 (3): 219–23.
111. Kamoun P. Mental retardation in Down syndrome: a hydrogen sulfide hypothesis. *Med. Hypotheses*. 2001; 57: 389–92.
112. Kamoun P. Endogenous production of hydrogen sulfide in mammals. *Amino Acids*. 2004; 26.
113. Kamoun P, Belardinelli MC, Chabli A. [et al.]. Endogenous hydrogen sulfide overproduction in Down syndrome. *Am. J. Med. Genet*. 2003; 116: 310–1.
114. Kang K. [et al.]. Role of hydrogen sulfide in hepatic ischemiareperfusion-induced injury in rats. *Liver Transpl*. 2009; 15, (10): 1306-14.
115. Kaplan NM, Norman E. Metabolic aspects of hypertension. Science Press. London, U.K. 1994. 202 p.
116. Kimura H. Hydrogen sulfide: its production, release and functions. *Amino Acids*. 2010; 41 (1): 113-21.
117. Kimura Y, Dargusch R, Schubert D, Kimura H. Hydrogen sulfide protects HT22 neuronal cells from oxidative stress. *Antioxid. Redox. Signal*. 2006; 8: 661–70.

118. Kinney HC, Broadbelt KG, Haynes RL, Rognum IJ, Paterson DS. The Serotonergic Anatomy of the Developing Human Medulla Oblongata: Implications for Pediatric Disorders of Homeostasis. *J Chem Neuroanat.* 2011; 41(4): 182–99. doi: 10.1016/j.jchemneu.2011.05.004
119. Kravchuk A. Features of changes in the mitochondrial apparatus of leukocytes in patients with arterial hypertension when applied with therapeutic purpose of hydrogen sulfur donor. London, UK; 02-06 November, 2020: 310-313.
120. Kravchuk O.M., Goshovska Y.V., Korkach Y.V., Sagach V.F. Garlic supplement lowers blood pressure in 40-60 years old hypertensive individuals, regulates oxidative stress, plasma cholesterol and protrombin index. *J Cardiovasc Med Cardiol.* 2021; 8 (2): 41-47. doi. <https://dx.doi.org/10.17352/2455-2976.000168>
121. Kravchuk A.N., Rozova E.V. The influence of hydrogen sulfide on the structural characteristics of leukocytes mitochondrial apparatus in patients with arterial hypertension. *Reports of Morphology.* 2019; 25 (4): 30-35. DOI: 10.31393/morphology-journal-2019-25(4)-05
122. Kravchuk A., Rozova K. Changes in the structural characteristics of platelets and leukocytes in patients with arterial hypertension under the influence of a hydrogen sulfide donor. *EUREKA: Health Sciences.* 2020; (3): 33-40. DOI: 10.21303/2504-5679.2020.001288
123. Kruchinina MV, Gromov AA, Generalov VM, Kruchinin VN. Possible Differential Diagnosis of the Degrees of Rheological Disturbances in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus by Dielectrophoresis of Erythrocytes. *J Pers Med.* 2020; 10(3): 60. doi: 10.3390/jpm10030060
124. Kubo S, Doc I, Kurokawa Y. [et al.]. Direct inhibition of endothelial nitric oxide synthase by hydrogen sulfide: contribution to dual modulation of vascular tension. *Toxicology.* 2007; (232): 132— 46.
125. Kuthan H, Ullrich V, Estabrook RW. A quantitative test for superoxide radicals produced in biological systems. *Biochem J.* 1982; 203 (3): 551–8.

126. Lane RJ, Phillips M, McMillan D. [et al.]. Hypertensive extracorporeal limb perfusion (HELP): a new technique for managing critical lower limb ischemia. *J Vasc Surg.* 2008;48(5):1156-65.
127. LaPointe M.C., Sahai A., Batlle D. Na⁺/H⁺ exchange activity and NHE-3 expression in renal tubules from the SHR. *Kidney Int.* 2002; 62 (1):157–165. doi: 10.1046/j.1523-1755.2002.00406.x
128. Lavu M, Bhushan S, Lefer DJ. Hydrogen sulfidemediated cardioprotection: mechanisms and therapeutic potential. *Clinical Science.* 2011; 120 (6): 219–29.
129. Li S. [et al.] Signature microRNA expression profile of essential hypertension and its novel link to human cytomegalovirus infection. *Circulation.* 2011; 124 (2): 175-84.
130. Li L, Rossoni G, Sparatore A. [et al.]. Anti-inflammatory and gastrointestinal effects of a novel diclofenac derivative. *Free Radical Biology and Medicine.* 2007; 42: 706-19.
131. Li L, Whiteman M, Guan YY. [et al.]. Characterization of a novel, water-soluble hydrogen sulfide–releasing molecule (GYY4137): new insights into the biology of hydrogen sulfide. *Circulation.* 2008; 117: 2351–6.
132. Lin K-L, Chen S-D, Lin K-J. [et al.]. Quality Matters? The Involvement of Mitochondrial Quality Control in Cardiovascular Disease. *Front Cell Dev Biol.* 2021; 9: 636295. doi: 10.3389/fcell.2021.636295
133. Linge CP, Jern A, Tydén H. [et al.]. Enrichment of Complement, Immunoglobulins, and Autoantibody Targets in the Proteome of Platelets from Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *Thromb Haemost.* 2022; 122(9): 1486–501. doi: 10.1055/a-1825-2915
134. Lim JJ, Liu Y-H, Sandar E, Khin W, Bian J-S. (2008). Vasoconstrictive effect of hydrogen sulfide involves downregulation of cAMP in vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol-Cell Physiol.* 2008; 295:1261-70.
135. Louis X.L., Murphy R., Thandapilly S.J., Yu L., Netticadan T. Garlic extracts prevent oxidative stress, hypertrophy and apoptosis in cardiomyocytes: a role

for nitric oxide and hydrogen sulfide. *BMC Complement Altern Med.* 2012; 12 (1): 1152. doi: 10.1186/1472-6882-12-140

136. Lowicka E, Beltowski J. Hydrogen sulfide - the third gas of interest for pharmacologists. *Pharmacol. Reports.* 2007; 59 (1): 4-24.

137. Lu Y, O'Dowd BF, Orrego H, Israel Y. Cloning and nucleotide sequence of human liver cDNA encoding for cystathionine- γ -lyase. *Bioch. Bio. Res. Com.* 1992; 189: 749-58.

138. Lu Z-M, Wang Z-E, Liu Y-Q. [et al.]. Association of Estrogen Receptor α Gene Polymorphisms with Cytokine Genes Expression in Systemic Lupus Erythematosus. *Croat Med J.* 2009; 50(2): 117–23. doi: 10.3325/cmj.2009.50.117

139. Madhur MS, Harrison DG. Senescent T cells and hypertension: new ideas about old cells. *Hypertension.* 2013;62(1):13–5.

140. Maevskaya MV, Ivashkin VT, Ivashkin KV. [et al.]. Non-alcoholic fatty liver disease as a cause and consequence of cardio-metabolic complications. Role of the ursodeoxycholic acid in the pharmacotherapy. *Ter Arkh.* 2019;91(2):109-17.

141. Mancusi C, Izzo R, di Gioia G. [et al.]. Insulin Resistance the Hinge Between Hypertension and Type 2 Diabetes. *High Blood Press Cardiovasc Prev.* 2020; 27(6): 515–26. doi: 10.1007/s40292-020-00408-8

142. Mani S. [et al.]. Hydrogen sulfide and the liver. *Nitric. Oxide.* 2014; 41: 62-71.

143. Mariggio MA, Pettini F, Fumarulo R. Sulfide influence on polymorphonuclear functions: a possible role for Ca²⁺ involvement, *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 1997; 19: 393–404.

144. Marvar P.J., Lob H., Vinh A. [et al.]. The central nervous system and inflammation in hypertension. *Current Opinion Pharmacol* 2011; 11: 156–161

145. Mesquita ET, Demarchi AV, dos S. Bitencourt D. [et al.]. Cardiovascular Continuum 25 years – The Evolution of an Etiopathophysiology Model. – 2016. [Internet]. 2016. - Available from: <https://pdfs.semanticscholar.org/4135/4fe2a508f977a420efc111dd6b2be160ac16.pdf>

146. Mijaljica D., Prescott M., Devenish R.J. Microautophagy in mammalian cells: Revisiting a 40-year-old conundrum. *Autophagy*. 2011; 7 (7): 673–682. DOI: 10.4161/auto.7.7.14733
147. Mikolajczyk TP, Guzik TJ. Adaptive Immunity in Hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2019; 21(9):68.
148. Mikolajczyk TP, Nosalski R, Szczepaniak P, et al. Role of chemokine RANTES in the regulation of perivascular inflammation, T-cell accumulation, and vascular dysfunction in hypertension. *FASEB J*. 2016;30(5):1987–99.
149. Mironova GD, Rozova EV, Belosludtseva NV, Man'kovskaya IN. Dynamic Restructuring of the Myocardial Mitochondria in Response to Uridine Modulation of the Activity of Mitochondrial ATP-Dependent Potassium Channel under Conditions of Acute Hypoxic Hypoxia. *Bull. Experim. Boil. Med.*, 2019; 166 (6): 806-10.
150. Mora I, Arola L, Caimari A. [et al.] ESC/ESH guidelines for the management of arterial hypertension. *J Hypertension* 2013; 31(7): 1281-357.
151. Mora I, Arola L, Caimari A, Escoté X, Puiggròs F. Structured Long-Chain Omega-3 Fatty Acids for Improvement of Cognitive Function during Aging. *Int J Mol Sci*. 2022; 23(7): 3472. doi: 10.3390/ijms23073472
152. Murata M, Akao M, O'Rourke B, Marban E. Mitochondrial ATP-sensitive potassium channels attenuate matrix Ca²⁺ overload during simulated ischemia and reperfusion: possible mechanism of cardioprotection. *Circ Res*. 2001; 89: 891–8.
153. Muiryead EE. Antihypertensive functions of the kidney. *Hypertension*. 1980; (2): 444-64.
154. Murphy B, Bhattacharya R, Mukherjee P. Hydrogen sulfide signaling in mitochondria and disease. *FASEB J*. 2019; 33(12): 13098–125. doi: 10.1096/fj.201901304R
155. Naiel S, Carlisle RE, Lu C, Tat V, Dickhout JG. Endoplasmic reticulum stress inhibition blunts the development of essential hypertension in the

spontaneously hypertensive rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2019; 316(5): H1214-H1223.

156. Ng H.H., Yildiz G.S., Ku J.M., Miller A.A., Woodman O.L., Hart J.L. Chronic NaHS treatment decreases oxidative stress and improves endothelial function in diabetic mice. *Diabetes Vasc Dis Res.* 2017; 14 (3): 246–253. <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1479164117692766>

157. Oh GS, Pae HO, Lee BS. [et al.]. Hydrogen sulfide inhibits nitric oxide production and nuclear factor-kappa B via heme oxygenase-1 expression in RAW264.7 macrophages stimulated with lipopolysaccharide. *Free Radic. Biol. Med.* 2006; 41 (1): 106–19.

158. Oliveira RS, Barker AR, Debras F. [et al.]. Effects of exercise intensity on vascular and autonomic components of the baroreflex following glucose ingestion in adolescents. *Eur J Appl Physiol.* 2019; 119(4): 867–78. doi: 10.1007/s00421-019-04076-y

159. Ozatik F.Y., Teksen Y., Kadioglu E., Ozatik O., Bayat Z. Effects of hydrogen sulfide on acetaminophen-induced acute renal toxicity in rats. *Int Urol Nephrol.* 2019; 51 (4): 745–754. <http://link.springer.com/10.1007/s11255-018-2053-0>

160. Padmanabhan S, Joe B. Towards Precision Medicine for Hypertension: A Review of Genomic, Epigenomic, and Microbiomic Effects on Blood Pressure in Experimental Rat Models and Humans. *Physiol Rev.* 2017; 97(4): 1469–528. doi: 10.1152/physrev.00035.2016

161. Palomo-Piñón S, Enciso-Muñoz JM, Meaney E, [et al.]. Strategies to prevent, diagnose and treat kidney disease related to systemic arterial hypertension: a narrative review from the Mexican Group of Experts on Arterial Hypertension. *BMC Nephrol.* 2024; 25: 24. doi: 10.1186/s12882-023-03450-5

162. Parsa CF. Focal Venous Hypertension as a Pathophysiologic Mechanism for Tissue Hypertrophy, Port-Wine Stains, the Sturge-Weber Syndrome, and Related Disorders: Proof of Concept with Novel Hypothesis for Underlying Etiological Cause (An American Ophthalmological Society Thesis). *Trans Am Ophthalmol Soc.* 2013; 111: 180–215. PMID: PMC3871829

163. Partridge EA, Hanna BD, Rintoul NE. [et al.]. Brain-type natriuretic peptide levels correlate with pulmonary hypertension and requirement for extracorporeal membrane oxygenation in congenital diaphragmatic hernia. *J Pediatr Surg.* 2015; 50(2): 263–6.
164. Pergolizzi S, Alesci A, Centofanti A. [et al.]. Role of Serotonin in the Maintenance of Inflammatory State in Crohn’s Disease. *Biomedicines.* 2022; 10(4): 765. doi: 10.3390/biomedicines10040765
165. Peters SA, den Ruijter HM, Bots ML, Moons KG. Improvements in risk stratification for the occurrence of cardiovascular disease by imaging subclinical atherosclerosis: a systematic review. *Heart.* 2012; 98:177– 84.
166. Platel J.C., Stamboulian S., Nguyen I., Bordey A. Neurotransmitter signaling in postnatal neurogenesis: the first leg, *Brain Res. Rev.* 2010. Vol. 63. P. 60–71.
167. Postnov Y.V., Orlov S.N., Budnikov E.Y. Mitochondrial energy conversion disturbance with decrease in ATP production as a source of systemic arterial hypertension. *Pathophysiology.* 2007; 14 (3–4):195–204. doi: 10.1016/j.pathophys.2007.09.002
168. Pushchina EV, Varaksin AA, Obukhov DK. Cystathionine β -synthase in the CNS of masu salmon *Oncorhynchus masou* (Salmonidae) and carp *Cyprinus carpio* (Cyprinidae), *Neurochem. J.* 2011; 5 (1): 24–34.
169. Qiao P, Zhao F, Liu M. [et al.]. Hydrogen sulfide inhibits mitochondrial fission in neuroblastoma N2a cells through the Drp1/ERK1/2 signaling pathway. *Mol Med Rep.* 2017; (16): 971-7. PMID: 28560384 DOI: 10.3892/mmr.2017.6627
170. Reddy EC, Wang H, Christensen H. [et al.] Analysis of procoagulant phosphatidylserine-exposing platelets by imaging flow cytometry. *Res Pract Thromb Haemost.* 2018; 2(4): 736–50. doi: 10.1002/rth2.12144
171. Ried K. Garlic lowers blood pressure in hypertensive subjects, improves arterial stiffness and gut microbiota: A review and meta-analysis. *Exp Ther Med.* 2020;19 (2): 1472-8.

172. Romero-Moreno R., Losada A., Mausbach B.T., Márquez-González M., Patterson T.L., López J. Analysis of the moderating effect of self-efficacy domains in different points of the dementia caregiving process. *Aging and Mental Health*. 2010; (13): 221-231. <https://doi.org/10.1080/13607863.2010.505231>
173. Roșca AE, Vlădăreanu A-M, Radu Mirica R. [et al.]. Taurine and Its Derivatives: Analysis of the Inhibitory Effect on Platelet Function and Their Antithrombotic Potential. *J Clin Med*. 2022; 11(3): 666. doi: 10.3390/jcm11030666
174. Shibuya N, Mikami Y, Kimura Y, Nagahara N, Kimura H. Vascular Endothelium Expresses 3-Mercaptopyruvate Sulfurtransferase and Produces Hydrogen Sulfide. *Journal of Biochemistry*. 2009; 146: 623-6.
175. Salter M, Knowles RG, Moncada S. Widespread tissue distribution, species distribution and changes in activity of Ca²⁺-dependent and Ca²⁺-independent nitric oxide synthases. *FEBS Lett*. 1991; 291 (1): 145–9.
176. Scholer N. [et al.] Serum microRNAs as a novel class of biomarkers: a comprehensive review of the literature. *Exp. Hematol*. 2010; 38 (12): 1126-30.
177. Schicho R, Krueger D, Zeller F. [et al.]. Hydrogen sulfide is a novel prosecretory neuromodulator in the Guinea-pig and human colon. *Gastroenterology*. 2006; 131: 1542–52.
178. Searcy DG, Lee SH. Sulfur reduction by human erythrocytes. *J Exp. Zool.* – 1998; 282: 310-22.
179. Shimada S. [et al.]. Hydrogen sulfide augments survival signals in warm ischemia and reperfusion of the mouse liver. *Surg. Today*. 2015; 45 (7): 892-903.
180. Skelding A, Valverde A. Non-invasive blood pressure measurement in animals: Part 1 — Techniques for measurement and validation of non-invasive devices. *Can Vet J*. 2020; 61(4): 368–74. PMID: PMC7074114
181. Skovgaard N, Gouliaev A, Aalling M, Simonsen U. (2011). The Role of Endogenous H₂S in Cardiovascular Physiology. *CPB*. 2011; (12): 1385-93.
182. Sobierajski T, Surma S, Romańczyk M. [et al.]. What Is or What Is Not a Risk Factor for Arterial Hypertension? Not Hamlet, but Medical Students Answer

That Question Int J Environ Res Public Health. 2022; 19(13): 8206. doi: 10.3390/ijerph19138206

183. Stergiou GS, Karpettas N, Kapoyiannis A. [et al.]. Home blood pressure monitoring in children and adolescents: a systematic review. *J Hypertens.* 2009; (27) 10: 1941-7.

184. Sun YG, Cao YX, Wang WW. [et al.] Hydrogen sulphide is an inhibitor of L-type calcium channels and mechanical contraction in rat cardiomyocytes. *Cardiovasc. Res.* 2008;79: 632–41.

185. Thang E.H., Jensen B.L., Skott O. et al. The role of prostaglandin E and thromboxane-prostanoid receptors in the response to prostaglandin E2 in the aorta of Wistar Kyoto rats and spontaneously hypertensive rats // *Cardiovasc. Res.* 2008;78 (1):130–8.

186. Tang G, Wu L, Liang W, Wang R. Direct Stimulation of KATP Channels by Exogenous and Endogenous Hydrogen Sulfide in Vascular Smooth Muscle Cells. *Mol Pharmacol.* 2005; 68: 1757-64.

187. Timmermans S, Souffriau J, Libert C. A General Introduction to Glucocorticoid Biology. *Front Immunol.* 2019; 10: 1545. doi: 10.3389/fimmu.2019.01545

188. Tran N, Garcia T, Aniq M. [et al.]. Endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) and the Cardiovascular System: in Physiology and in Disease States. *Am J Biomed Sci Res.* 2022; 15(2): 153–77. PMID: PMC8774925

189. Tripatara P, Patel NS, Collino M. [et al.]. Generation of endogenous hydrogen sulfide by cystathionine gammalyase limits renal ischemia/reperfusion injury and dysfunction. *Lab. Invest.* 2008; 88: 1038–48.

190. Uggeri F, Nespoli L, Sandini M. [et al.]. Analysis of risk factors for hemorrhage and related outcome after pancreatoduodenectomy in an intermediate-volume center. *Updates Surg.* 2019; 71 (4): 659-667. doi: 10.1007/s13304-019-00673-w

191. Ugrumov MV. Developing brain as an endocrine organ: a paradoxical reality. *Neurochem. Res.* 2010; 35: 837–50.

192. Upadhyay RK. Emerging Risk Biomarkers in Cardiovascular Diseases and Disorders. *J Lipids*. 2015; 2015: 971453. doi: 10.1155/2015/971453
193. Van der Molen EF, Hiipakka MJ, van Lith-Zanders. Homocysteine metabolism in endothelial cells of a patient homozygous for cystathionine beta-synthase (CS) deficiency. *Thromb. Haemost.* 1997; 78: 827-33.
194. Vargas RAV, Millán JMV, Bonilla EF. Renin–angiotensin system: Basic and clinical aspects—A general perspective. *Endocrinol Diabetes Nutr (Engl Ed)* 2022; 69(1): 52–62. doi: 10.1016/j.endien.2022.01.005
195. Villa Bianca RE, Sorrentino R, Coletta C, Mitidieri E, Rossi A. [et al.]. Hydrogen Sulfide-Induced Dual Vascular Effect Involves Arachidonic Acid Cascade in Rat Mesenteric Arterial Bed. *J Pharmacol Exp Ther*. 2011; 337: 59-64.
196. Wagner CA. Hydrogen sulfide: a new gaseous signal molecule and blood pressure regulator. *J. Nephrol*. 2009; 22: 173-6.
197. Wang R. Physiological implication of hydrogen sulfide: a whiff exploration that blossomed. *Physiol Rev*. 2012; 92(2): 791-896. DOI: 10.1152/physrev.00017.2011
198. Wang R. Signal transduction and the gasotransmitters: NO, CO and H₂S in biology and medicine. Totowa: Humana Press. 2004. 392 p.
199. Wang W-X, Springer JE, Hatton KW. MicroRNAs as Biomarkers for Predicting Complications following Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(17): 9492. doi: 10.3390/ijms22179492
200. Wang R. Two's company, three's a crowd: can H₂S be the third endogenous gaseous transmitter? *FASEB J*. 2002; 16: 1792–8.
201. Wang L, Cherednichenko G, Hernandez L. [et al.]. Preconditioning limits mitochondrial Ca²⁺ during ischemia in rat hearts: role of K_{ATP} channels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2001; 280: H2321–H2328.
202. Warenycia MW, Steele JA, Karpinski E, Reiffenstein RJ. Hydrogen sulfide in combination with taurine or cysteic acid reversibly abolishes sodium currents in neuroblastoma cells. *Neurotoxicology*. 1989; (10): 191-9.

203. Webb GD, Lim LH, Oh VMS. [et. Al.]. Contractile and Vasorelaxant Effects of Hydrogen Sulfide and Its Biosynthesis in the Human Internal Mammary Artery. *J Pharmacol Exp Ther.* 2008; 324: 876-82.
204. Wei G., Ze-yu C., Yi-zhun Z. Hydrogen sulfide and translational medicine. *Acta Pharmacol. Sinica.* 2013; 34: 1284–91.
205. Wermelt JA, Schunkert H. Management der arteriellen Hypertonie. *Herz.* 2017; 42 (5): 515–26.
206. Whiteman M., Armstrong J.S., Chu S.H., Jia-Ling S., Wong B.S., Cheung N.S., Halliwell B. The novel neuromodulator hydrogen sulfide: an endogenous peroxynitrite «scavenger»? *J. Neurochem.* 2004; 90 (3): 765–768. doi: 10.1111/j.1471-4159.2004.02617.x
207. Wilkie SE, Borland G, Carter RN. [et al.]. Hydrogen sulfide in ageing, longevity and disease. *Biochem J.* 2021; 478(19): 3485–504. doi: 10.1042/BCJ20210517
208. Wiseman SJ, Doubal FN, Chappell FM. [et al.]. Plasma Biomarkers of Inflammation, Endothelial Function and Hemostasis in Cerebral Small Vessel Disease. *Cerebrovasc Dis.* 2015; 40(3–4): 157–64.
209. World Health Organization. 2014. [Internet]. 2014. Available on: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/112738>
210. Wright J.M., Musini V.M., Gill R. First-line drugs for hypertension. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2018. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD001841.pub3>
211. Wu CH, Chang CS, Yang YK, et al. Comparison of brain serotonin transporter using [I-123]-ADAM between obese and nonobese young adults without an eating disorder. *Plos One.* 2017; 12(2): E0170886.
212. Wu G, Fang YZ, Yang S. [et al.]. Glutathione metabolism and its implications for health, *J. Nutr.* 2004; 134: 489–92.
213. Xiao L, Tong X. Advances in molecular mechanism of vascular remodeling in pulmonary arterial hypertension // *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2019; 48(1):102-10.

214. Yang G, Wu L, Jiang B, Yang W. [et al.]. H₂S as a physiologic vasorelaxant: hypertension in mice with deletion of cystathionine gamma-lyase. *Science*. 2008; 322 (5901): 587–90.
215. Yan SK, Chang T, Wang H. [et al.]. Effects of hydrogen sulfide on homocysteine-induced oxidative stress in vascular smooth muscle cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006; 361: 485–91.
216. Yan H, Du J, Tang C. The possible role of hydrogen sulfide on the pathogenesis of spontaneous hypertension in rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004; 13 (1): 22–7.
217. Yang T, Du Y. Distinct Roles of Central and Peripheral Prostaglandin E₂ and EP Subtypes in Blood Pressure Regulation. *Am J Hypertens.* 2012; 25(10): 1042–9. doi: 10.1038/ajh.2012.67
218. Zanardo RC, Brancaleone V, Distrutti E. [et al.]. Hydrogen sulfide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation *FASEB J.* 2006; 20: 2118–20.
219. Zepeda R.J., Castillo R., Rodrigo R. [et al.]. Effect of Carvedilol and Nebivolol on Oxidative Stress-related Parameters and Endothelial Function in Patients with Essential Hypertension. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2012; 111 (5): 309–316. doi: 10.1111/j.1742-7843.2012.00911.x
220. Zhao W. The vasorelaxant effect of H₂S as a novel endogenous gaseous KATP channel opener. *The EMBO Journal.* 2001; 20: 6008-16.
221. Zhao W, Wang R. H₂S-induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms. *Am J Physiol-Heart and Circ Physiol.* 2002; 283: H474-H480.
222. Zhao W, Zhang J, Lu Y, Wang R. The vasorelaxant effect of H₂S as a novel endogenous gaseous KATP channel opener. *EMBO J.* 2001; 20: 6008–16.
223. Zhou X, Zhao L, Mao J, Huang J, Chen J. Antioxidant Effects of Hydrogen Sulfide on Left Ventricular Remodeling in Smoking Rats Are Mediated via PI3K/Akt-Dependent Activation of Nrf2. *Toxicol. Sci.* 2015; 144 (1): 197–203.

224. Zhao X., Zhang LK, Zhang CY. [et al.]. Regulatory effect of hydrogen sulfide on vascular collagen content in spontaneously hypertensive rats. *Hypertens. Res.* 2008; 31: 1619–30.

225. Zhong G, Chen F, Cheng Y. [et al.]. The role of hydrogen sulfide generation in the pathogenesis of hypertension in rats induced by inhibition of nitric oxide synthase. *J. Hypertens.* 2003; 21: 1879–85.

226. Zeron R.M.C., de Albuquerque V.C. Hypertension and cholesterol. *Rev. Assoc. Med. Bras.* 2019; 65 (12): 1421-1422. doi: 10.1590/1806-9282.65.12.1421