

Зміни морфофункціонального стану правого шлуночка, систолічного тиску в легеневій артерії та стану NO-системи в еритроцитах у хворих з ідіопатичною легеневою артеріальною гіпертензією на тлі тривалого ліку- вання силденафілом

К.М. Амосова, Л.Ф. Конопльова, О.В. Задоріна, Є.М. Задорін, Ю.В. Руденко,
І.В. Кричинська, Л.В. Кушнір

*Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, Київ
Науково-експертний центр лікарських засобів, створених на основі нанотехнологій, НАН України, Київ*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: легенева артеріальна гіпертензія, силденафіл, NO-система

Легенева артеріальна гіпертензія (ЛАГ) – це підвищення середнього тиску в легеневій артерії понад 25 мм рт. ст. у спокої або понад 30 мм рт. ст. при фізичному навантаженні, спричинене судинною проліферацією та ремоделюванням дрібних легневих судин [41, 42]. Описано понад 100 захворювань, що супроводжуються підвищенням тиску в легеневій артерії, особливе місце серед яких посідає ідіопатична легенева артеріальна гіпертензія (ІЛАГ) [2]. ІЛАГ – маловивчене захворювання, яке спостерігають переважно у підлітковому та молодому віці, воно швидко прогресує та призводить до смерті пацієнта через кілька років після проявів перших симптомів [38].

При ІЛАГ патологічні зміни розвиваються у дистальних легневих артеріях діаметром менше 500 мкм. Ці зміни добре вивчені та характеризуються гіпертрофією середньої оболонки артерій, проліферацією інтими й фібротичними змінами, потовщенням адвентиції і помірно вираженою периваскулярною інфільтрацією [24]. Слід відзначити, що на сьогодні деталі процесів, які призводять до розвитку описаних змін у судинах легень, вивчено недостатньо. Проте доведеною та загально визнаною ланкою в патогенезі є вазоконстрикція дистальних легневих артерій, яку пов'язують з ендотеліальною дисфункцією та порушенням функціонування калієвих каналів гладеньком'язових клітин [26].

При цьому ендотелій судин знижує продукцію вазодилаторів та сполук, які мають антипроліферативну дію (оксид азоту (NO) і простагліцилін), та підвищує синтез вазоконстрикторів і сполук, що сприяють проліферативним процесам (тромбоксан A₂, ендотелін-1) [45].

NO є одним з найпотужніших вазодилаторів. Утворюючись з амінокислоти L-аргініну за допомогою NO-синтетази (NOS), NO активує гуанілатциклазу, що призводить до підвищення концентрації циклічного гуанозинмонофосфату (цГМФ) у гладеньком'язових клітинах, спричиняючи їх релаксацію, яка досягається зниженням концентрації іонів кальцію в цитоплазмі [12]. Також NO зменшує агрегацію тромбоцитів і експресію молекул адгезії на моноцитах і нейтрофілах [16]. Інгібуючи ріст і міграцію гладеньком'язових клітин, NO запобігає розвитку структурних змін ендотелію [35].

NO є хімічно нестабільною сполукою та існує в крові короткий період – від 2 до 30 с. У просвіті судини NO швидко інактивується розчинним киснем, супероксидними аніонами й оксигемоглобіном. Ця інактивація запобігає дії NO на відстані, більшій за 100 мкм від місця його секреції [6]. Тому NO діє як локальний регулятор судинного тону та функції тромбоцитів, порушення його продукції при ендотеліальній дисфункції не компенсується вивільненням із здорових клітин [3, 34].

На сьогодні ідентифіковано три ізоформи NOS, названі відповідно до типу клітин, у яких вони вперше були виявлені: нейрональна (NOS-1, nNOS), макрофагальна (NOS-2, mNOS), ендотеліальна (NOS-3, eNOS) [20]. Ці ізоформи прийнято розділяти на конститутивну (cNOS) та індукцибельну (iNOS). cNOS постійно міститься у цитоплазмі ендотеліоцитів, активність її залежить від концентрації іонів кальцію і кальмодуліну. Цей фермент сприяє виділенню невеликої кількості NO впродовж короткого часу у відповідь на рецепторну та фізичну стимуляцію. iNOS з'являється у клітинах тільки після індукції бактеріальними токсинами та медіаторами запалення (інтерлейкін-1, інтерлейкін-2, фактор некрозу пухлин тощо). Активність iNOS не залежить від концентрації іонів кальцію, тому її називають кальцій-незалежною [20, 34].

Згідно з рекомендаціями Європейського товариства кардіологів (2009) [45], для патогенетичного лікування ЛАГ у наш час широко застосовують вазодилататори, зокрема інгібітори фосфодіестерази-5 (ФДЕ-5). ФДЕ-5 у пацієнтів з ЛАГ у значній кількості експресує в легеневій тканині порівняно з іншими тканинами [10]. Інгібітор ФДЕ-5 силденафіл, пригнічуючи гідроліз цГМФ, підвищує його рівень у крові, таким чином потенціює дію ендогенного NO, а вазодилатація, зменшуючи напруження зсуву артеріальної стінки (*shear stress*), сприяє зменшенню ендотеліальної дисфункції.

Мета роботи – визначити вплив тривалої терапії силденафілом на морфофункціональний стан правого шлуночка, систолічний тиск у легеневій артерії та стан NO-системи еритроцитів у хворих з ідіопатичною легеневою артеріальною гіпертензією.

Матеріал і методи

Робота базується на проспективному обстеженні 31 пацієнта з ІЛАГ (основна група) та 10 здорових добровольців (контрольна група). Спостереження проводили амбулаторно та в умовах кардіологічного стаціонару Олександрівської клінічної лікарні м. Києва у 2007–2008 рр.

Діагноз ІЛАГ встановлювали згідно з рекомендаціями Європейського товариства кардіологів (2009) [45] на підставі клінічних даних (скарги на задишку при фізичному навантаженні, загальну слабкість, синкопальні стани, наявність

акценту 2-го тону над легеневою артерією, систолічного шуму трикуспідальної регургіації), ЕКГ, результатів доплерехокардіографії. Діагноз підтверджено результатами катетеризації правих відділів серця, виконаної всім хворим у Національному інституті серцево-судинної хірургії ім. М.М. Амосова НАМН України.

Критеріями вилучення із дослідження були хронічна серцева недостатність (ХСН) I та IV функціональних класів (ФК) за NYHA, супутня патологія (захворювання органів дихання, печінки, нирок, щитоподібної залози).

В основній групі було 24 (77,4 %) жінки та 7 (22,6 %) чоловіків віком 19–39 років (у середньому $(28,0 \pm 2,2)$ року). На момент залучення в дослідження у 26 (83,9 %) хворих реєстрували ХСН III ФК за критеріями NYHA, у 5 (16,1 %) – II ФК. Пацієнтів обстежували двічі: до призначення силденафілу та через 24 тиж лікування. У 12 хворих, окрім проведення ехокардіографії, визначали показники NO-системи еритроцитів.

Всі пацієнти отримували лікування непрямим антикоагулянтом (варфарин) з підтриманням міжнародного нормалізованого відношення у межах 2,5–3,5, дигоксином у дозі 0,25 мг/добу, а також силденафілом (векта, «Нортон», Канада) у дозі 25 мг 2 рази на добу. Дозу силденафілу не титрували, і вона була нижчою за рекомендовану Європейським товариством кардіологів [45, 46].

Контрольна група була порівнянною з основною за віком пацієнтів та співвідношенням статей.

Допплерехокардіографію проводили на апараті Aloka Pro Sound/SSD 5000 (Японія) за загальноприйнятими критеріями [11]. Оцінювали такі показники морфофункціонального стану правого шлуночка (ПШ): передньозадній розмір у парастернальному доступі, поперечний розмір у апікальному доступі, фракцію укорочення (ФУ) ПШ за його розмірами у парастернальному доступі, товщину вільної стінки ПШ. Систолічний тиск у легеневій артерії (СТЛА) визначали за величиною транстрикуспідального градієнта у разі трикуспідальної регургіації за загальноприйнятою методикою [15].

У 12 обстежених з метою оцінки стану NO-системи еритроцитів визначали такі показники артеріальної крові: вміст нітрит-аніона (NO_2^-), нітрат-аніона (NO_3^-), активність NO-синтез (кальційзалежної – cNOS та кальцій-незалежної – iNOS). Дослідження NO-системи проводили в лабораторії кафедри біологічної,

біоорганічної та фармацевтичної хімії НМУ ім. О.О. Богомольця. Зразки артеріальної крові, отримані шляхом пункції стегнової артерії на рівні пахвинної зв'язки, брали у пробірки з цитратом натрію у період між 8:00 та 9:00, не раніше ніж через 12 год після останнього прийому їжі та до прийому медикаментозних препаратів, кров центрифугували. Отриману еритроцитарну масу відмивали двічі рівним об'ємом охолодженого ізотонічного розчину та центрифугували при 1500 об за 1 хв. Після відмивання еритроцити осаджували центрифугуванням упродовж 10 хв при 3000 об/хв. Відмиті та ущільнені еритроцити гемолізували дистильованою водою.

Активність cNOS та iNOS в еритроцитах визначали спектрофотометричним методом. Вміст нітрит-аніона в еритроцитах визначали шляхом колориметричної реакції з використанням реактиву Griess (1 % сульфаніламід, 0,1 % нафтилендіаміну, 2,5 % фосфорної кислоти) за методом Гріна [25]. Вміст нітрат-аніона оцінювали спектрофотометричним методом у модифікації, в якій замість стрихніну використовували бруцин, при цьому чутливість методу зростала у 100 разів [29].

Обстеження хворих проводили двічі – на час залучення в дослідження та через 24 тиж лікування силденафілом.

Статистичну обробку результатів здійснювали з використанням критеріїв Манна – Уїтні (для непов'язаних сукупностей) та Вілкоксона (для пов'язаних).

Результати та їх обговорення

Лікування силденафілом у дозі 50 мг на добу хворі в цілому переносили добре. Потреби у відміні преапарату не виникало. Через 24 тиж у 22 (70,1 %) пацієнтів спостерігали зменшення ФК за NYHA на один клас.

У хворих основної групи до початку лікування виявлено істотне розширення порожнини ПШ порівняно з контрольною групою (табл. 1). Так, поперечний розмір ПШ в апікальному доступі був збільшений на 67 % ($P < 0,05$), передньозадній розмір у парастернальному доступі – на 89 % ($P < 0,05$) порівняно зі здоровими. Потовщення вільної стінки ПШ у пацієнтів з ІЛАГ до початку лікування удвічі ($P < 0,05$) порівняно з контрольною групою свідчить про виражену гіпертрофію міокарда ПШ. Спос-

Таблиця 1

Морфофункціональний стан правого шлуночка та систолічний тиск у легеневій артерії у хворих з ІЛАГ до лікування силденафілом та через 24 тиж

Показник	Величина показника ($M \pm m$) у групах		
	контроль-ний (n=10)	основній (n=31)	
		до лікування	через 24 тиж
СТЛА, мм рт. ст.	19,5±0,5	99,7±5,5**	81,1±3,4**°°
Передньозадній розмір ПШ (парастернальний доступ), мм	19,3±0,5	36,50±0,16*	32,40±0,08*°
Поперечний розмір ПШ (апикальний доступ), мм	24,60±0,07	41,1±0,1*	36,10±0,09*°
ФУ, %	23,5±1,3	9,10±0,05**	14,20±0,08*°
Товщина вільної стінки ПШ, мм	4,00±0,03	8,80±0,01*	7,90±0,02*

Примітка. Різниця показників достовірна порівняно з такими у контрольній групі: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; до лікування: ° – $P < 0,05$; °° – $P < 0,01$. Те саме в табл. 2.

терігали значне зменшення ФУ порівняно зі здоровими – на 62 % ($P < 0,05$).

Через 24 тиж прийому силденафілу у хворих зафіксовано достовірне поліпшення систолічної функції ПШ – ФУ збільшилася на 56 % ($P < 0,05$). Також відзначено достовірне зменшення поперечного розміру ПШ в апікальному доступі на 12 % ($P < 0,05$), та передньозаднього розміру в парастернальному доступі – на 11 % ($P < 0,05$).

СТЛА у пацієнтів основної групи через 24 тиж лікування достовірно знизився на 19 % ($P < 0,01$), при цьому в жодного хворого не спостерігали підвищення СТЛА, а у 3 (25 %) осіб СТЛА знизився на 25 мм рт. ст. і більше.

Під час аналізу активності cNOS в еритроцитах крові виявлено значне (на 67 % порівняно з контрольною групою) його зниження у пацієнтів з ІЛАГ на початку дослідження ($P < 0,05$). На тлі лікування силденафілом активність cNOS підвищилася у 3,4 разу ($P < 0,05$; табл. 2).

У результаті аналізу встановлено зниження пулу нітрит-аніона в еритроцитах крові хворих з ІЛАГ порівняно зі здоровими на 42 % ($P < 0,05$; див. табл. 2). Через 24 тиж прийому силденафілу рівень NO_2^- підвищився у 3,9 разу ($P < 0,05$).

Активність iNOS у пацієнтів з ІЛАГ до початку лікування була у 6 разів вищою, ніж у здорових ($P < 0,05$). На тлі лікування силденафілом вона суттєво не знизилася – лише на 10 % ($P > 0,05$). Співвідношення iNOS/cNOS, яке було значно

Таблиця 2

Показники NO-системи еритроцитів у хворих з ІЛАГ до лікування силденафілом та через 24 тиж

Показник	Величина показника (M±m) у групах		
	контроль-ний (n=10)	основній (n=12)	
		до лікування	через 24 тиж
cNOS, пмоль/мг білка·хв	2,16±0,19	0,72±0,20*	2,42±0,08°
iNOS, пмоль/мг білка·хв	0,61±0,07	3,64±0,41*	3,29±1,35*
NO ₂ ⁻ , пмоль/мг білка	26,14±2,29	15,24±1,89*	60,23±3,23*°
NO ₃ ⁻ , пмоль/мг білка	1,82±0,13	15,29±1,54*	13,32±2,02*
iNOS/cNOS	0,28±0,02	5,06±0,55**	1,35±0,95*°

(у 18 разів) підвищеним у хворих з ІЛАГ до початку лікування (P<0,01), достовірно зменшилося через 24 тиж прийому силденафілу (в 3,7 разу, P<0,05) за рахунок нормалізації активності cNOS. При аналізі пулу нітрат-аніона в пацієнтів з ІЛАГ виявлено значне (у 8,4 разу порівняно з контрольною групою) його початкове підвищення (P<0,05). На тлі лікування силденафілом його рівень суттєво не змінився.

Отримані нами дані щодо зниження СТЛА на 19 % під впливом лікування силденафілом у хворих з ІЛАГ загалом відповідають результатам інших дослідників. Позитивні результати експериментальних досліджень на тваринах [28, 32, 48] поклали початок вивченню ефективності силденафілу в пацієнтів з ІЛАГ. Так, у першому сліпому плацебо-контрольованому дослідженні ефективності силденафілу, яке включало 22 осіб з ІЛАГ, реєстрували зниження СТЛА з (105,23±17,82) до (98,50±24,38) мм рт. ст. на тлі 6-тижневого прийому силденафілу в дозі 25–100 мг тричі на добу, при цьому дозозалежного ефекту препарату не виявили [39].

У дослідженні SUPER-2 (n=275) прийом силденафілу в дозі 60–240 мг на добу приводив до зниження СТЛА на 14 %, при цьому дозозалежного ефекту препарату також не відзначено [23]. У невеликому дослідженні за участю 20 пацієнтів з ІЛАГ через 12 тиж лікування силденафілом реєстрували достовірне зниження СТЛА з (98,8±20,5) до (78,3±15,3) мм рт. ст. (P<0,01) [40]. У дослідженні PACES, яке охопило 267 хворих з ІЛАГ, що отримували епопростенол упродовж 1 року, додавали силденафіл у дозі 40–80 мг тричі на добу, при цьому через 6 тиж

терапії СТЛА знизився у середньому на 3,8 мм рт. ст. [43]. Більш виражене зниження СТЛА в обстежених у нашому дослідженні можна пояснити значно більшою тривалістю терапії силденафілом (24 тиж).

Достовірне зменшення розмірів ПШ (поперечного в апікальному доступі на 12 % і передньозаднього в парастернальному доступі – на 11 %) та поліпшення систолічної функції ПШ (збільшення ФУ на 56 %) у хворих з ІЛАГ під впливом силденафілу встановлено нами вперше. Відомо, що експресія ФДЕ-5 у ПШ дорослих низька. Проте у пацієнтів з ІЛАГ відбувається індукція ФДЕ-5 у міоцитах ПШ, що, ймовірно, є наслідком реактивації фетального набору генів [36].

У невеликому експериментальному дослідженні на щурах [9] виявили, що пероральний прийом силденафілу приводив до зниження середнього тиску в легеневій артерії, підвищення систолічної функції ПШ, зменшення гіпертрофії ПШ та зменшення маси міокарда ПШ через 3 тиж терапії. Подібні результати отримано при дослідженні на мишах [44]. Інші експериментальні дослідження показали, що силденафіл запускає каскад, який активує протеїнкіназу С, генерує NO та акумулює цГМФ у кардіоміоцитах ПШ через активацію cNOS, зумовлюючи кардіопротекцію внаслідок відкриття мітохондріальних АТФ-чутливих калієвих каналів [18, 33]. У невеликому дослідженні за участю 15 пацієнтів з ІЛАГ показано зменшення маси міокарда ПШ через 12 тиж прийому силденафілу в дозі 50 мг тричі на добу [47].

Достовірне зниження активності cNOS в еритроцитах крові хворих з ІЛАГ, зниження пулу нітрит-аніона, значно підвищений вміст нітрат-аніона та підвищення активності iNOS, встановлені у пацієнтів з ІЛАГ у нашому дослідженні, свідчать про дисфункцію еритроцитів у хворих з ІЛАГ та відповідають результатам нашого попереднього дослідження [1]. Доведено, що еритроцити є донорами NO для ендотеліоцитів і можуть виконувати важливу роль у забезпеченні вазодилатації в малому колі кровообігу [21, 30]. Зниження активності cNOS, імовірно, свідчить про зниження синтезу NO, який має виражені вазодилатаційні властивості, в еритроцитах крові осіб з ІЛАГ.

Відомо, що від активності cNOS в еритроцитах залежить рівень нітрит-аніона [4, 19, 37]. На думку деяких дослідників, NO₂⁻ є внутрішньосудинним депо оксиду азоту, а гемоглобін

еритроцитів діє, як нітрит-редуктаза, здійснюючи внесок в еритроцит-залежну гіпоксичну вазодилатацію [17, 27]. Цей фермент продукує велику кількість NO, що переважно бере участь у вільнорадикальних процесах, які призводять до окиснювального ураження оточуючих тканин [22]. Одним із показників оксидантного стресу вважають нітрат-аніон [5, 13, 14].

Збільшення активності cNOS у біоптатах легень тварин з ЛАГ та його достовірне зниження через 3 тиж прийому силденафілу вперше довели M. Kirch та співавтори [31]. Нещодавно проведені дослідження [7, 8] показали, що ФДЕ-5 виявляють не тільки у кавернозних тілах, ГМЦ судин та тромбоцитах, як вважалося раніше, а й в еритроцитах. Ми вперше виявили збільшення початково пригніченої активності cNOS та підвищення рівня нітрит-аніона в еритроцитах крові хворих з ІЛАГ через 24 тиж лікування силденафілом. Такі зміни можуть свідчити про поліпшення функції ендотелію за рахунок зменшення напруження зсуву стінок легневих артерій при зниженні тиску в них під дією силденафілу. Водночас, результати нашого дослідження показали, що 24-тижнева терапія силденафілом у пацієнтів з ІЛАГ не впливає на активність iNOS та рівень нітрат-аніону (NO_3^-) в еритроцитах крові.

Висновки

1. У хворих з ідіопатичною легеневою гіпертензією та хронічною серцевою недостатністю II–III функціонального класу за NYHA лікування силденафілом у дозі 50 мг/добу впродовж 24 тиж сприяє поліпшенню систолічної функції правого шлуночка (підвищення фракції укорочення на 56 %), зменшенню поперечного розміру правого шлуночка в апікальному (на 12 %) та передньозаднього розміру в парастернальному (11 %) доступах, зниженню систолічного тиску в легеневій артерії (на 19 %).

2. У хворих з ідіопатичною легеневою гіпертензією та хронічною серцевою недостатністю II–III функціонального класу за NYHA виявлено достовірне зниження в еритроцитах крові активності конститутивної NO-синтетази (на 67 %) та пулу нітрит-аніона (на 42 %) порівняно зі здоровими та підвищення активності індукційної NO-синтетази (у 6 разів) та пулу нітрат-аніона (у 8,4 разу), що підтверджує їх роль у патогенезі захворювання. В умовах лікування силденафілом

підвищуються активність конститутивної NO-синтетази та рівень нітрит-аніона в еритроцитах.

Література

1. Амосова К.М., Гула Н.М., Губський Ю.І. та ін. Стан NO-системи в еритроцитах крові хворих з первинною легеневою гіпертензією та його зміни під впливом лікування дилтаземом // *Серце і судини*. – 2004. – № 2. – С. 76–83.
2. Коноплева Л.Ф. Дифференційоване лікування легочної гіпертензії та її ускладнень // *Здоров'я України*. – 2011. – № 6. – С. 45–47.
3. Малая Л.Т., Корж А.Н., Балковая Л.Б. Эндотелиальная дисфункция при патологии сердечно-сосудистой системы. – Харьков, 2000. – 426 с.
4. Митченко Е.И., Гулая Н.М., Викторов А.П. и др. Применение антагонистов кальция и изменение NO-системы эритроцитов у больных с артериальной гипертензией // *Укр. кардіол. журн.* – 2000. – № 1–2. – С. 49–55.
5. Небылицин Ю.С. Дисфункция эндотелия при острой и хронической венозной недостаточности // *Новости хирургии*. – 2008. – № 4. – С. 141–153.
6. Осипов А.Н., Борисенко Г.Г., Владимиров Ю.А. Биологическая роль нитрозильных комплексов гемопротеинов // *Успехи биол. химии*. – 2007. – № 47. – С. 259–292.
7. Adderley S.P., Sprague R.S., Stephenson A.H. et al. Regulation of cAMP by phosphodiesterases in erythrocytes // *Pharmacol. Rep.* – Vol. 62 (3). – P. 475–482.
8. Adderley S.P., Thuet K.M., Sridharan M. et al. Identification of cytosolic phosphodiesterases in the erythrocyte: a possible role for PDE5 // *Med. Sci. Monit.* – 2011. – Vol. 17 (5). – P. 241–247.
9. Andersen A., Nielsen J.M., Peters C.D. et al. Effects of phosphodiesterase-5 inhibition by sildenafil in the pressure overloaded right heart // *Eur. J. Heart Failure*. – 2007. – Vol. 10. – P. 1158–1165.
10. Archer S.L., Michelakis E.D. Phosphodiesterase Type 5 Inhibitors for Pulmonary Arterial Hypertension // *New Engl. J. Med.* – 2009. – Vol. 361 (19). – P. 1864–1871.
11. Armstrong W.F., Ryan T. Feigenbaum's Echocardiography // *Heart Disease*. – 7th ed. – Philadelphia, 2010. – P. 54–223.
12. Boger R.H. The plasmocodynamics of L-arginine // *J. Nutr.* – 2007. – Vol. 137. – P. 1650–1655.
13. Brown G.C. Nitric oxide and mitochondrial respiration // *Biochim. Biophys. Acta*. – 1999. – Vol. 1411. – P. 351–369.
14. Cassina A. Differential inhibitory action of nitric oxide and peroxynitrite on mitochondrial electron transport // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1996. – Vol. 328. – P. 309–316.
15. Chan K., Currie P.J., Seward J.B. et al. Comparison of three Doppler ultrasound method in the prediction of pulmonary artery disease // *J. Amer. Coll. Cardiol.* – 1987. – Vol. 9. – P. 549.
16. Chatterjee A., Catravas J.D. Endothelial nitric oxide (NO) and its pathophysiologic regulation // *Vascul. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 49 (4–6). – P. 134–140.
17. Cosby K., Partovi K.S., Grawford J.H. et al. Nitrite reduction to nitric oxide by deoxyhemoglobin vasodilates the human circulation // *Nature Medicine*. – 2003. – Vol. 9. – P. 1498–1505.
18. Das S., Maulic N., Das D.K. et al. Cardioprotection with sildenafil, a selective inhibitor of cyclic 3, 5-monophosphate-specific phosphodiesterase 5 // *Drugs Exp. Clin. Res.* – 2002. – Vol. 28. – P. 213–219.
19. Dejam A., Hunter C.J., Pelletier M.M. Erythrocytes are the major intravascular storage sites of nitrite in human blood // *Blood*. – 2005. – Vol. 106 (2). – P. 734–739.
20. Dudzinski D.M., Igarashi J., Greif D. et al. The regulation and pharmacology of endothelial nitric oxide synthase // *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 2006. – Vol. 46. – P. 232–276.
21. Ellsworth M.L., Forrester T., Ellis C.G., Dietrich H.H. The erythrocyte as a regulator of vascular tone // *Amer. J. Physiology*. – 1995. – Vol. 269. – P. 2155–2161.

22. Filippov G., Bloch D.B., Bloch K.D. Nitric oxide decreases stability of mRNAs encoding soluble guanylate cyclase subunits in rat pulmonary artery smooth muscle cells // *J. Clin. Invest.* – 1997. – Vol. 100. – P. 942–948.
23. Galie N., Burgess G., Parpia T. et al. Effects of sildenafil on 1-year survival of patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension // *Proc. Amer. Thorac. Soc.* – 2005. – Vol. 2. – P. 802.
24. Galie N., Hoeper M., Humbert M. Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension // *Eur. Respir. J.* – 2009. – Vol. 34. – P. 1219–1263.
25. Green L.L., Wagner D.A., Glogowski J. et al. Analysis of nitrate, nitrite and [15N] nitrate in biological fluids // *Ann. Biochem.* – 1982. – Vol. 126 (1). – P. 131–138.
26. Humbert M., Sitbon O., Simonneau G. Treatment of pulmonary arterial hypertension // *New Engl. J. Med.* – 2004. – Vol. 351. – P. 1425–1436.
27. Hunter C.J., Dejam A., Blood A.B. et al. Inhaled nebulized nitrite is a hypoxia-sensitive NO-dependent selective pulmonary vasodilator // *Nature Medicine.* – 2004. – Vol. 10. – P. 1122–1127.
28. Ichinose F., Erana-Garcia J., Hromi J. et al. Nebulized sildenafil is a selective pulmonary vasodilator in lambs with acute pulmonary hypertension // *Crit. Care Med.* – 2001. – Vol. 29. – P. 1000–1005.
29. Isukahara H., Miura M., Isushida S. et al. Effects of inhibitors on bone metabolism in growing rats // *Amer. J. Physiology.* – 1996. – Vol. 271 (1). – P. 840–845.
30. Jubelin B.C., Gierman J.L. Erythrocytes may synthesize their own nitric oxide // *Amer. J. Hypertension.* – 1996. – Vol. 9. – P. 1214–1219.
31. Kirch M., Kemp-Harper B., Weissman N. et al. Sildenafil in hypoxic pulmonary hypertension potentiates a compensatory up-regulation of NO-cGMP signaling // *FASEB J.* – 2008. – Vol. 22. – P. 30–40.
32. Kleinsasser A., Loeckinger A., Hoermann C. et al. Sildenafil modulates hemodynamics and pulmonary gas exchange // *Amer. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2001. – Vol. 163. – P. 339–443.
33. Kukreja R.C., Ockaili R., Salloum F. et al. Cardioprotection with phosphodiesterase-5 inhibition – a novel precondition strategy // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2004. – Vol. 36 (2). – P. 165–173.
34. Li H., Forstermann U. Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease // *J. Pathol.* – 2000. – Vol. 190 (3). – P. 244–254.
35. Lubos E., Handy D.E., Loscalzo J. Role of oxidative stress and nitric oxide in atherothrombosis // *Front. Biosci.* – 2009. – Vol. 13. – P. 5323–5344.
36. Nagendran J., Archer S.L., Soliman D. et al. Phosphodiesterase type 5 is highly expressed in the hypertrophied human right ventricle, and acute inhibition of phosphodiesterase type 5 improves contractility // *Circulation.* – 2007. – Vol. 116 (3). – P. 238–248.
37. Rhodes P.M., Leone A.M., Francis P.L. et al. The L-arginine: nitric oxide pathway is the major source of plasma nitrite in fasted humans // *Biochem. Biophys. Res. Comm.* – 1995. – Vol. 209. – P. 590–596.
38. Rich S. Primary pulmonary hypertension. A national perspective study // *Ann. Intern. Med.* – 1987. – Vol. 107. – P. 216–223.
39. Sastry B.K., Narasimhan C., Krishna Reddy N. et al. Clinical efficacy of sildenafil in primary pulmonary hypertension // *J. Amer. Coll. Cardiology.* – 2004. – Vol. 43. – P. 1149–1153.
40. Singh T.P., Rohit M., Grover A. et al. A randomized, placebo-controlled, double-blind, crossover study to evaluate the efficacy of oral sildenafil therapy in severe pulmonary artery hypertension // *Amer. Heart J.* – 2006. – Vol. 151 (4). – P. 851–855.
41. Simonneau G., Galie N., Rubin L. J. et al. Clinical classification of pulmonary hypertension // *J. Amer. Coll. Cardiology.* – 2004. – Vol. 43. – P. 5–12.
42. Simonneau G., Robbins I., Beghetti M. et al. Updated clinical classification of pulmonary hypertension // *Eur. Amer. Coll. Cardiol.* – 2009. – Vol. 54. – P. 43–54.
43. Simonneau G., Rubin L., Galie N. et al. For the Pulmonary Arterial Hypertension combination Study of Epoprostenol and Sildenafil (PACES) Study Group. Addition of sildenafil to long-term intravenous epoprostenol therapy in patients with pulmonary arterial hypertension // *Ann. Intern. Med.* – 2008. – Vol. 149. – P. 521–530.
44. Takimoto E., Champion H.C., Li M. et al. Chronic inhibition of cyclic GMP phosphodiesterase 5A prevents and reverses cardiac hypertrophy // *Nat. Med.* – 2005. – Vol. 11. – P. 214–222.
45. The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS) // *Eur. Heart J.* – 2009. – Vol. 30. – P. 2493–2537.
46. Vida V.L., Gaitan G., Quezada E. et al. Low-dose oral sildenafil for patients with pulmonary hypertension: a cost-effective solution in countries with limited resources // *Cardiology in the Young.* – 2007. – Vol. 17. – P. 72–77.
47. Wolferen S.A., Boonstra A., Marcus J.T. et al. Right ventricular reverse remodelling after sildenafil in pulmonary arterial hypertension // *Heart.* – 2006. – Vol. 92. – P. 1860–1861.
48. Zhao L., Mason N.A., Morrell N.W. et al. Sildenafil inhibits hypoxia-induced pulmonary hypertension // *Circulation.* – 2001. – Vol. 104. – P. 424–428.

Надійшла 08.12.2011 р.

Changes of morphofunctional state of right ventricle, pulmonary artery systolic pressure and erythrocyte NO-system in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension under long-term treatment with sildenafil

K.M. Amosova, L.F. Konopliova, O.V. Zadorina, Ye.M. Zadorin, Yu.V. Rudenko, I.V. Krychynska, L.V. Kushnir

The aim was to evaluate the efficiency of therapy with sildenafil on morphological and functional state of right ventricle (RV), pulmonary artery systolic pressure (PASP) and status of red blood cells NO-system in patients with idiopathic pulmonary hypertension (IPAH). The study included 31 patients with IPAH and 10 healthy persons. We evaluated PASP, RV anteroposterior and transversal sizes, RV shortening fraction, RV free wall thickness according to the echo- and Doppler echocardiography, measured the activity of constitutive and inducible NO-synthase, contents of nitrite anion and nitrate anion in blood erythrocytes by spectrophotometric method before and after 24 weeks of treatment sildenafil 50 mg daily. Long-term treatment of IPAH including sildenafil decreased PASP by 19 %, RV diameter by 12 % and RV shortening fraction by 56 %.