

ВЛИЯНИЕ БЛОКАТОРА ОКСИДА АЗОТА L-NAME НА ИЗОЛИРОВАННОЕ СЕРДЦЕ КРЫС ПОСЛЕ ГИПОКИНЕЗИИ

© 2023 г. М.И. Сунгатуллина*, Р.И. Зарипова*., Н.И. Зиятдинова*, Г.Г. Яфарова*, **, В.В. Андрианов*, **, Х.Л. Гайнутдинов*, **, Т.Л. Зефирова*

*Казанский федеральный университет, 420008 Казань, ул. Кремлевская, д. 18; Россия

**Казанский физико-технический институт им. Е.К. Завойского — обособленное структурное подразделение ФИЦ «Казанский научный центр РАН», ул. Сибирский тракт, 10/7, Казань, 420034, Россия

#E-mail: ratno1992@mail.ru

Поступила в редакцию 15.02.2023 г.

После доработки 15.02.2023 г.

Принята к публикации 18.06.2023 г.

Проведено исследование влияния неселективного блокатора NO-синтазы L-NAME на функциональные показатели деятельности изолированного сердца крыс после 30-суточной гипокинезии. Методом электронного парамагнитного резонанса анализировалось влияние L-NAME на интенсивность продукции оксида азота в тканях сердца крыс. Продукцию оксида азота оценивали по интенсивности сигнала, принадлежащего комплексу $(\text{DЭТК})_2\text{—Fe}^{2+}\text{—NO}$. Обнаружено, что применение L-NAME приводило к снижению продукции оксида азота в среднем на 69%. Для анализа деятельности изолированного сердца по Лангендорфу измерялись следующие показатели: давление, развиваемое левым желудочком, частота сердечных сокращений и коронарный поток. Добавление блокатора оксида азота L-NAME приводило к увеличению инотропной функции и нормализации частоты сердечных сокращений.

Ключевые слова: изолированное сердце; гипокинезия; оксид азота; электронный парамагнитный резонанс; давление, развиваемое левым желудочком; частота сердечных сокращений; коронарный поток.

DOI: 10.31857/S0006302923040166, EDN: KMXWGG

В связи с урбанизацией, автоматизацией и механизацией труда, являющимися неотъемлемой частью прогресса, тяжелой эпидемиологической обстановкой и самоизоляция у современного человека снижается уровень ежедневной физической активности. Гипокинезия (ограничение подвижности) приводит к морфофункциональным сдвигам в основных физиологических системах до патологических состояний, выраженность которых зависит от продолжительности и степени ограничения подвижности [1–6]. Уменьшение центростремительной импульсации вызывает снижение тонуса центральной нервной системы, изменение структуры и функции синапсов, трофики мышц [6]. Ограничение подвижности оказывает свое влияние практически на все системы

организма. В состоянии сердечно-сосудистой системы выявлены следующие перемены: изменение сократительной функции сердечной мышцы, ослабление миокарда, коронарных сосудов, снижение энергетического потенциала сердца, сокращение минутного объема [2, 7]. Также гипокинезия подавляет защитные системы организма, снижает устойчивость кровеносной системы к повреждающим факторам, что может привести к заболеваниям сердечно-сосудистой системы [8]. Нарастающее ограничение подвижности, увеличивая риск сердечно-сосудистых заболеваний, становится серьезной угрозой для здоровья.

Многими исследователями показано влияние гипокинезии на активацию свободных радикалов в организме и свободнорадикальное повреждение сердца, индуцируемое стрессовыми факторами. При длительном ограничении подвижности активация системы оксида азота (NO) может рассматриваться как компонент стресс-реакции [9, 10]. Накоплен огромный экспериментальный и клинический материал о физиологическом и патофизиологическом эффектах оксида азота, а

Сокращения: NO — оксид азота, NOS — NO-синтаза, цГМФ — циклический гуанозинмонофосфат, AP — адренергический рецептор, XP — холинергический рецептор, L-NAME — NG-нитро-L-аргинин метиловый эфир, ЭПР — электронный парамагнитный резонанс, ДЭТК — диэтилдитиокарбамат, ДРЛЖ — давление, развиваемое левым желудочком, ЧСС — частота сердечных сокращений.

также о сопряженности его эффектов с супероксидным радикалом в реализации окислительного стресса [11, 12].

NO был впервые обнаружен как маркер воспаления и регулятор сосудистого тонуса. Однако следующие исследования показали, что спектр регуляторных влияний этой молекулы значительно шире. С начала 80-х годов прошлого века NO считается важной молекулой, полученной из эндотелия, имеющей решающее значение для поддержания сердечно-сосудистого гомеостаза. NO известен как один из важнейших биологических медиаторов, который вовлечен в различные физиологические и патофизиологические процессы [13–20]. NO биологически генерируется в результате окисления L-аргинина под влиянием фермента NO-синтазы (NOS). Все изоформы NO-синтазы было принято подразделять на конститутивную (cNOS) и индуцибельную (iNOS). В 1990 г. из мозга крысы выделили нейрональную форму фермента (nNOS), позже в клетках иммунной системы (макрофагах) обнаружили индуцибельную NOS (iNOS), а в эндотелии – эндотелиальную NOS (eNOS). Еще одна изоформа NOS локализуется в митохондриях – митохондриальная (mt-NOS), она регулирует процессы клеточного дыхания. Вопрос о том, что представляет собой mt-NOS – отдельную изоформу фермента или же модифицированную во время трансляции или после нее индуцибельную NOS, остается открытым [21, 22].

NO легко диффундирует (не нуждаясь в рецепторах) через клеточные мембраны и проникает в соседние клетки. Важнейшая клеточная мишень NO – это внутриклеточная растворимая гуанилатциклаза: активация гуанилатциклазы приводит к образованию циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ) который и опосредует все эффекты NO. Образующийся цГМФ снижает уровень свободного Ca^{2+} и активирует киназу легкой цепи миозина, вызывая расслабление гладких мышц сосудов. Ослабление действия этого механизма приводит к развитию гипертонии.

Роль NO в сердечно-сосудистой системе хорошо известна и заключается в регуляции множества клеточных процессов. Сердечно-сосудистые расстройства связаны с усилением или снижением синтеза NO. Дисбаланс в биодоступности NO вовлечен в патологию нескольких сердечных заболеваний, и понимание процессов, лежащих в основе этих процессов является предметом интенсивных исследований. Накапливающиеся данные свидетельствуют о том, что ишемическая болезнь сердца и сердечная недостаточность связаны с нарушениями в обмене NO или в его действии на организм [23]. В патологических условиях NO-синтаза может разъединяться, что приводит к увеличению производства активных форм

кислорода, а не к физиологической продукции NO [24]. NO синтезируется всеми типами клеток, составляющими миокард, и регулирует функции сердца через сосудисто-зависимые и сосудисто-независимые эффекты. Первые включают регуляцию тонуса коронарных сосудов, тромбообразование, пролиферативные и воспалительные свойства, поддержание регенерации тканей. Вторые объясняют прямые эффекты NO на некоторые аспекты сократимости кардиомиоцитов, от тонкой регуляции процесса сопряжения возбуждения и сокращения до модуляции (пресинаптической и постсинаптической) симпатических и парасимпатических влияний. Оксид азота обладает выраженным влиянием на сердце, вызывая уменьшение частоты сердечных сокращений, ударного объема крови, увеличение длительности интервала PQ и периода изгнания крови. Его действие реализуется через различные подтипы адренергических (AP) и холинергических (XP) рецепторов. Отрицательное инотропное и хронотропное действие оксида азота на сердце осуществляется через модуляцию адренергических и холинергических влияний, реализуемых β_1 -AP, β_2 -AP, α_1 -AP и м-XP [25]. Известно, что при активации α_2 -AP происходит существенная стимуляция эндотелиальной NOS, и как следствие – увеличение уровня NO [26]. α_2 -AP (A, B и C) ответственны за синтез NO и снижение уровня ионов внутриклеточного кальция из цитозоля с помощью Ca^{2+} -АТФазы саркоплазматической сети [27]. NO и цГМФ являются центральными внутриклеточными мессенджерами α_2 -AP-сигнализации в вентрикулярных миоцитах [28].

NO является ключевым модулятором различных механических сил в кардиомиоцитах. Эндотелиальные клетки синтезируют и высвобождают NO, который опосредует различные эффекты, включая тонус сосудов, гемостаз, кровяное давление и ремоделирование сосудов. NO может также активировать натрий-калиевый насос наружной клеточной мембраны, что приводит к ее гиперполяризации. Именно этот механизм приводит к дилатации сосуда при увеличении тока крови и напряжения (например, пульсового) сосудистой стенки. NO поддерживает активную вазодилатацию, регулирует кровоток, контролирует базальное артериальное давление.

Различные аналоги L-аргинина, являющиеся конкурентными ингибиторами NOS, могут тормозить синтез NO. NG-нитро-L-аргинин метиловый эфир (L-NAME) конкурирует с L-аргинином за места связывания с ферментом, блокируя его активность. Блокада NO-синтазы хроническим введением L-NAME вызывает уменьшение частоты сердечных сокращений, ударного объема крови, минутного объема кровообращения, объемной скорости изгнания крови, увеличение пе-

риода изгнания крови, повышение артериального давления, общего периферического сопротивления сосудов, мощности сердечных сокращений, расхода энергии на перемещение 1 литра крови. Установлено, что под влиянием L-NAME происходит увеличение холинергических влияний на частоту сердечных сокращений (ЧСС). Снижение ударного объема крови у крыс обусловлено уменьшением регуляторных влияний, реализуемых α_1 -АР и повышением роли m_2 -ХР. Эти эффекты при блокаде синтеза NO могут быть связаны с ингибированием предполагаемой способности NO уменьшать чувствительность миофиламентов к Ca^{2+} . Снижение инотропной функции сердца может быть также связано с устранением ингибиторного влияния NO на тонус сосудистой мускулатуры и соответственно увеличением ее тонического напряжения и резким уменьшением коронарного потока [25].

Исследователи указывают на связь гипокинезии со значительным повышением уровня NO в сердце. NO участвует при адаптации в стрессовых условиях. Было установлено, что при 30-суточном ограничении двигательной активности происходит увеличение продукции NO в тканях сердца в полтора раза по сравнению с животными, находящимися в обычных условиях вивария (три-четыре крысы в клетке) [29]. Повышение интенсивности образования NO при гипокинезии позволяет сделать вывод о наличии тесных связей продукции NO в организме с режимом двигательной активности. NO — активный участник процессов метаболизма и резкое изменение его генерации может привести к нарушению функциональной активности многих биосистем. Поскольку рассмотрение литературных данных показывает, что ограничение подвижности приводит к значительным изменениям в сердечно-сосудистой системе, в системе кровотока и снабжения организма кислородом, можно предположить, что часть этих изменений вызвана увеличением продукции NO в данных структурах. Исходя из этого, одной из перспективных мишеней терапевтических вмешательств при гипокинезии является система NO. С учетом повышения продукции NO при ограничении подвижности актуальным вопросом является определение количественного содержания NO в сердце в условиях блокады NO-синтаз, также важны исследования, связанные с изучением влияния L-NAME на функциональные показатели деятельности изолированного сердца при гипокинезии.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводили на белых беспородных взрослых лабораторных крысах, находящихся в условиях ограничения двигательной актив-

ности в течение 30 суток (гипокинезия). Экспериментальные животные были разделены на две группы: первая группа — животные после 30-суточной гипокинезии; вторая группа — животные после 30 суточной гипокинезии на фоне введения неселективного блокатора NO-синтаз (L-NAME). В каждой группе было по 15 животных. Для симуляции гипокинетического эффекта крыс содержали в индивидуальных клетках-пеналах, изготовленных из органического стекла, в течение 30 суток. В первые сутки животных подвергали гипокинезии 1 ч, на вторые и третьи сутки — 2 ч, далее также через каждые двое суток время ограничения двигательной активности увеличивалось на 2 ч. Подробности данного метода были описаны нами ранее [30]. Особенности данной модели гипокинезии (в горизонтальном положении) является уменьшение влияния иммобилизационного стресса, что достигается постепенным увеличением времени нахождения животных в условиях ограничения двигательной активности. Данная модель также позволяет исключить влияние дополнительного изменения гидростатического давления крови животных, по сравнению с антиортостатической моделью (когда крысы подвешиваются за хвост).

Неселективный блокатор NO-синтаз L-NAME вводили внутрибрюшинно в дозе 10 мг/кг предварительно, за 60 мин до декапитирования. В качестве наркоза использовали уретан из расчета 1200 мг/кг массы животного, его вводили внутрибрюшинно.

Для обнаружения и количественного определения NO в образцах сердца был применен метод спектроскопии электронного парамагнитного резонанса (ЭПР-спектроскопии) с использованием спиновой ловушки. Метод спинового захвата основан на реакции радикала NO со спиновой ловушкой. Был применен комплекс Fe^{2+} с диэтилдитиокарбаматом (ДЭТК) для захвата NO и формирования устойчивого тройного комплекса $(ДЭТК)_2-Fe^{2+}-NO$. Для образования в организме данного комплекса животным вводили водный раствор ДЭТК-Na в дозе 500 мг/кг в 2.5 мл воды внутрибрюшинно и раствор цитрата железа (сульфат железа (II) $(FeSO_4 \cdot 7H_2O)$, Sigma, США) в дозе 37.5 мг/кг + цитрат натрия, 187.5 мг/кг) внутримышечно. Подробности метода описаны нами ранее [31, 32]. Ловушку оксида азота вводили за 30 мин до вскрытия. Комплекс ДЭТК- $Fe(II)$ взаимодействует с NO, в результате чего образуется стабильный радикал $(ДЭТК)_2-Fe^{2+}-NO$. Данный комплекс является парамагнитным

($S_{Fe} = 1/2$, и $I_N = 3/2$) и может быть зарегистрирован методом ЭПР [32]. Комплексы характеризуются легко распознаваемым спектром ЭПР со значением g -фактора 2.035 и триплетной сверхтонкой структурой. Количество NO оценивали по интенсивности характерного сигнала ЭПР, принадлежащего комплексу $(ДЭТК)_2-Fe^{2+}-NO$. Сигналы сравнивали по величине интегральной интенсивности, так как интегральная интенсивность сигнала ЭПР прямо пропорциональна концентрации парамагнитных комплексов [32]. Через 30 мин после введения препаратов наркотизированную уретаном крысу фиксировали на операционном столе, вскрывали, извлеченные органы быстро просушивали и замораживали в жидком азоте в капиллярах для измерений. Регистрацию спектров ЭПР приготовленных образцов проводили на ЭПР-спектрометре X-диапазона ER-200E-SRC (Bruker, США) с температурной приставкой ER 4112HV при 77 К. Во всех экспериментах сохраняли постоянными следующие параметры: СВЧ мощность — 30 мВт, модуляция — 5 Гс, усиление — $4 \cdot 10^4$, постоянная времени — 100 мс, время записи спектра — 50 с, число накоплений — 8. При накоплениях и регистрации спектров использовали компьютер спектрометра Asprest 3000 (Bruker, США). Непосредственно перед измерением готовый образец, усеченный по форме кюветы для измерений, взвешивали; масса образцов составляла около 100 мг. Амплитуду спектров ЭПР нормировали на массу образца и на амплитуду сигнала ЭПР эталонного образца (подробности методики измерений сигналов ЭПР детально изложены ранее [33, 34]).

Для анализа деятельности изолированного сердца был использован метод изолированного сердца по Лангендорфу (подробности метода описаны нами ранее [35]). У наркотизированных крыс вскрывали грудную клетку, извлекали сердце и помещали в холодный рабочий раствор Кребса—Хензеляйта (рН 7.4). Сердце фиксировали на канюлю установки Лангендорфа и перфузировали рабочим раствором. Раствор насыщали кислородом и поддерживали температуру 37°C. Внутрижелудочковое давление определяли при помощи латексного баллончика, который был введен в полость левого желудочка.

В течение 15 мин после начала перфузии происходила адаптация работы сердца, далее 20 мин записывали параметры его деятельности. Измеряли следующие показатели: давление, развиваемое левым желудочком (ДРЛЖ), ЧСС и коронарный поток. Оценивали долю изменений функциональных показателей деятельности изо-

лированного сердца крыс от показателей первой группы на фоне действия L-NAME. Значения показателей деятельности изолированного сердца крыс контрольной группы принимали за 100%. Изменение силы сокращения сердца оценивалось по показателю давления, развиваемого левым желудочком, а коронарный поток — по количеству (объему) раствора, протекающего через сосуды сердца. ДРЛЖ выражается в мм рт. ст., ЧСС — в уд/мин, коронарный поток — в мл/мин. Эксперименты *ex vivo* были проведены на изолированном сердце на установке Power Lab 8/35 (AD instruments, Новая Зеландия), запись данных осуществляли в программе LabChart Pro. Статистическую обработку осуществляли в программе MS Excel, достоверность была определена с помощью t -критерия Стьюдента и U -критерия Манна—Уитни. При статистической обработке получали среднее значение измеряемой величины и стандартную ошибку среднего ($M \pm SEM$). Статистически значимыми считались данные при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Активация NO-системы — один из тех механизмов, за счет которого организм предупреждает стрессорные повреждения. В организме на протяжении 30 суток действия гипокинезии активируются локальные стресс-лимитирующие системы, и система генерации оксида азота — одна из них. Ранее нами было показано, что длительная гипокинезия вызывает значительное увеличение содержания NO в органах крыс [36, 37]. Учитывая повышение продукции NO в этих условиях, является актуальным применение блокатора NO для предотвращения возможных патологических изменений при гипокинезии связанных с метаболизмом системы NO. С другой стороны, применение в клинике и экспериментальных исследованиях доноров NO и блокаторов NOS не сопровождается измерением истинного содержания оксида азота в тканях сердца, хотя оно имеет чрезвычайно важное значение, поскольку эти вещества могут обладать собственным эффектом, не связанным с оксидом азота. Метод ЭПР позволил определить изменение количественного содержания NO в сердце в условиях блокады NOS. Наш коллектив методом ЭПР-спектроскопии изучал количественное изменение продукции NO в тканях сердца крыс, подверженных ограничению подвижности, при предварительном введении неспецифического блокатора NO-синтазы L-NAME. Продукцию NO оценивали по интенсивности сигнала ЭПР, принадлежащего комплексу $(ДЭТК)_2-Fe^{2+}-NO$. Обнаружено, что содержание комплекса $(ДЭТК)_2-Fe^{2+}-NO$ у крыс, находящихся в условиях 30-суточной гипокинезии

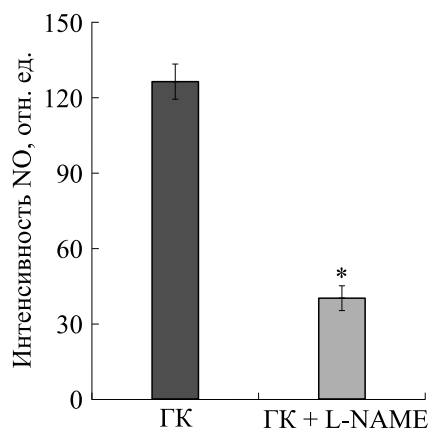


Рис. 1. Изменение количества NO-содержащего парамагнитного комплекса $(\text{DЭТК})_2\text{-Fe}^{2+}\text{-NO}$ в тканях сердца у гипокинезированных крыс (ГК) и на фоне неселективного блокатора NO-синтаз L-NAME. По оси ординат — интегральная интенсивность спектра ЭПР, отн. ед.; * — достоверность по сравнению с контрольной группой, $p < 0.05$.

зии, которым предварительно был введен блокатор NO-синтаз L-NAME (крыс второй группы,) было ниже в среднем на 69% по сравнению с показателями у животных в первой группе ($p < 0.05$) (рис. 1). Полученные методом ЭПР данные подтверждают, что блокатор L-NAME действительно снижал продукцию NO в тканях сердца у животных второй группы.

В следующей серии экспериментов на установке Лангендорфа были изучены показатели деятельности сердца взрослых крыс после 30-суточной гипокинезии (рис. 2). Коронарный поток у крыс первой группы составлял 10.33 ± 0.51 мл/мин, во второй же группе он был равен 6.84 ± 1.16 мл/мин ($p < 0.05$). У крыс после 30-суточной гипокинезии ДРЛЖ достоверно было ниже нормы и составляло в среднем 43.77 ± 3.16 мм рт.ст. ($p < 0.05$); у группы животных которым после гипокинезии вводили блокатор NO-синтаз L-NAME, наблюдалась нормализация ДРЛЖ (в среднем — 67.76 ± 11.18 мм рт.ст., что достоверно отличается от показателя первой группы, $p < 0.05$). Ранее было показано, что L-NAME влияет на артериальное давление: он вызывал увеличение среднего артериального давления у самок на 25% и уменьшение ЧСС на 18% в условиях неограниченной подвижности [38]. В наших экспериментах у гипокинезированных крыс в условиях блокады NO-синтаз показатели ДРЛЖ восстанавливались, это свидетельствует о том, что ингибирование NOS при гипокинезии оказывает положительный инотропный эффект. ЧСС у крыс первой группы повышалась и в среднем составила 188.42 ± 5.33 уд/мин, что согласуется с классическими представлениями о развитии тахикардии при длительном ограничении двигательной

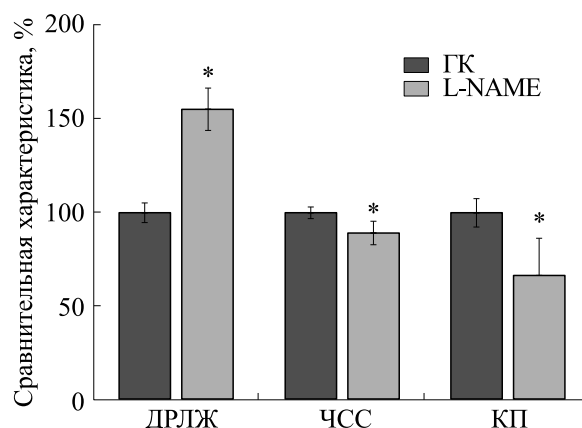


Рис. 2. Сравнительная характеристика показателей изолированного сердца крыс после гипокинезии и после гипокинезии с предварительным введением неселективного блокатора NO-синтаз L-NAME. ГК — гипокинезированные крысы, ДРЛЖ — давление, развиваемое левым желудочком, ЧСС — частота сердечных сокращений, КП — коронарный поток. Достоверность указана по сравнению с исходными значениями: * — $p < 0.05$.

активности. Данный показатель у второй группы был достоверно ниже и составил 168.05 ± 11.55 уд/мин ($p < 0.05$). Следовательно, у крыс с блокадой NO-синтаз при гипокинезии происходит нормализация ЧСС.

Анализ литературных данных показывает, что в течение гипокинетического периода наблюдается негативное влияние на сократимость миокарда, и поэтому происходят изменения в систолу сердечного цикла (период напряжения увеличивается, период изгнания уменьшается). Это было подтверждено нашими проведенными ранее исследованиями, в которых после ограничения двигательной активности наблюдалось увеличение ЧСС, снижение силы сокращения и коронарного кровообращения [39]. Данные, представленные в настоящей работе, показывают, что после введения неселективного блокатора NO-синтаз L-NAME показатели меняются совершенно в другую сторону, то есть наблюдаются увеличение инотропной функции и нормализация ЧСС. Таким образом, за счет блокады системы NOS L-NAME показатели деятельности изолированного сердца после гипокинезии нормализуются. Полученные данные расширяют представления о роли оксида азота и NO-синтаз в деятельности сердечно-сосудистой системы крыс, находящихся в стрессовых условиях.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 21-15-00121, <https://rscf.ru/project/21-15-00121>).

Измерения спектров ЭПР образцов проводились в КФТИ ФИЦ КазНЦ РАН в рамках выполнения государственного задания.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят В.С. Июдина за измерение спектров ЭПР.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Исследование проводили в соответствии с принципами Базельской декларации и рекомендациями локального биоэтического комитета Казанского федерального университета.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. А. Г. Кочетков и Т. И. Васягина, Морфология, **119** (3), 62 (2001).
2. Н. Г. Мальцева и Т. Г. Кузнецова, Проблемы здоровья и экологии, **2** (16), 113 (2008).
3. Т. Н. Руденко: Дис. ... канд. биол. наук (Санкт-Петербург, 2004).
4. А. Я. Тизул, *Болезни человека, обусловленные дефицитом двигательной активности, и здоровье* (Сов. спорт, М., 2001).
5. А. И. Усов, Т. И. Васягина и И. Г. Стельникова, Морфология, **127** (2), 47 (2005).
6. О. А. Хлущевская и Г. З. Химич, Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук, **6**, 110 (2014).
7. М. Е. Евсеева, Бюл. эксперим. биол. медицины, **130** (10), 378 (2000).
8. N. T. L. Duijnhoven, M. W. P. Bleeker, P. C. E. Groot, et al., Eur. J. Appl. Physiol., **104** (6), 991 (2008).
9. А. Ф. Ванин, О. И. Писаренко, И. М. Студнева и др., Кардиология, **12**, 43 (2009).
10. A. F. Vanin, Nitric Oxide, **54**, 15 (2016).
11. Е. В. Пожилова и В. Е. Новиков, Вестн. Смоленской гос. мед. академии, **14** (4), 29 (2015).
12. Е. В. Пожилова, В. Е. Новиков и О. С. Левченкова, Вестн. Смоленской гос. мед. академии **14** (4), 13 (2015).
13. В. В. Андрианов, Ф. Г. Ситдинов, Х. Л. Гайнутдинов и др., Онтогенез, **39** (6), 437 (2008).
14. Л. Л. Гудков, К. Б. Шумаев, Е. И. Каленикова и др., Биофизика, **52** (3), 503 (2007).
15. Г. Ф. Ситдикова и А. Л. Зефилов, Рос. физиол. журн., **92**, 872 (2006).
16. B. Casadei and C. E. Sears, Progr. Biophys. Mol. Biol., **82** (1–3), 67 (2003).
17. T. A. Heinrich, R. S. da Silva, K. M. Miranda, et al., Br. J. Pharmacol., **169**, 1417 (2013).
18. V. L. Lakomkin, A. F. Vanin, A. A. Timoshin, et al., Nitric Oxide: Biology and Chemistry, **16** (4), 413 (2007).
19. J. R. Steinert, T. Chernova, and I. D. Forsythe, Neuroscientist, **16** (4), 435 (2010).
20. R. I. Zaripova, N. I. Ziyatdinova, and T. L. Zefirov, Bull. Exp. Biol. Med., **161** (2), 215 (2016).
21. В. Т. Ивашкин и О. М. Драпкина, *Клиническое значение оксида азота и белков теплового шока* (ГЭОТАРМедиа, М., 2011).
22. K. Qingdong and M. Costa, Mol. Pharmacol., **70** (5), 1469 (2006).
23. K. T. Navin, et al., J. Cardiovasc. Pharmacol., **39** (2), 298 (2002).
24. N. D. Roe and J. Ren, Vasc. Pharmacol., **57**, 168 (2012).
25. Р. Р. Нигматуллина, А. Г. Насырова и Ф. Ф. Рахматуллина, Бюл. экспер. биол. и мед., **134** (7), 40 (2002).
26. А. В. Мальцев и Ю. М. Кокоз, Кардиология, **59** (4), 52 (2019).
27. A. V. Maltsev, M. N. Nenov, O. Yu. Pimenov, et al., Biol. Membranes: Journal of Membrane and Cell Biology, **30** (2), 92 (2013).
28. О. Ю. Пименов, М. Х. Галимова, Э. В. Евдокимовский и др., Биофизика, **64** (5), 917 (2019).
29. Р. И. Зарипова, Х. Л. Гайнутдинов и Т. Л. Зефилов, Бюл. эксперим. биол. мед., **157** (5), 554 (2014).
30. Р. И. Зарипова, Г. Г. Яфарова, В. В. Андрианов и др., Журн. техн. физики, **92** (7), 999 (2022).
31. V. V. Khramtsov and L. B. Volodarsky. Biol. Magn. Resonance, **14**, 109 (1998).
32. В. Д. Микоян, Л. Н. Кубрина и А. Ф. Ванин, Биофизика, **39**, 915 (1994).
33. Kh. L. Gainutdinov, S. A. Gavrilova, V. S. Iyudin, et al, Appl. Magn. Resonance, **40** (3), 267 (2011).
34. Х. Л. Гайнутдинов, В. В. Андрианов, В. С. Июдин и др., Биофизика, **58** (2), 276 (2013).
35. M. I. Sungatullina, R. I. Zaripova, and Kh. L. Gainutdinov, Archivos Venezolanos de Farmacologia y Terapeutica, **39** (7), 808 (2020).
36. Р. И. Зарипова, В. В. Андрианов, Г. Г. Яфарова и др., Рос. физиол. журн., **100** (8), 926 (2014).
37. Р. И. Зарипова, Г. Г. Яфарова, В. В. Андрианов и др., Биофизика, **66** (3), 572 (2021).
38. А. Н. Павлов, О. В. Семячкина-Глушковская и С. В. Капралов, Фундаментальные исследования, **2**, 112 (2010).
39. M. I. Sungatullina, R. I. Zaripova, Kh. L. Gainutdinov, et al, J. Exp. Biol. Agric. Sci., **8** (2), S303 (2020).

Effect of the Nitric Oxide Synthesis Inhibitor L-NAME on the Isolated Rat Heart after Hypokinesia

M.I. Sungatullina*, R.I. Zaripova*, N.I. Ziyatdinova*, G.G. Yafarova*, **, V.V. Andrianov*, **,
Kh.L. Gainutdinov*, **, and T.L. Zefirov*

**Kazan Federal University, Kremlevskaya ul. 18, Kazan, 420008 Russia*

*Zavoisky Physical-Technical Institute — Subdivision of Kazan Scientific Center, Russian Academy of Sciences,
ul. Sibirskii Tract 10/7, Kazan, 420034 Russia*

The effects of a non-selective nitric oxide synthase inhibitor L-NAME on the functional parameters of the isolated rat heart after a 30-day period of hypokinesia were studied. Electron paramagnetic resonance spectroscopy was employed in the analysis of a role for L-NAME in the intensity of nitric oxide production in rat heart tissues. The intensity of nitric oxide synthesis was assessed by the intensity of the signal belonging to the (DETC) $_2$ -Fe $^{2+}$ -NO complex. It was found that L-NAME decreased nitric oxide production on average by 69%. The Langendorff isolated perfused heart was used to evaluate cardiac activity, and the following parameters were measured: pressure generated by the left ventricle, heart rate, and coronary flow. Addition of the nitric oxide synthesis inhibitor L-NAME induced an increase in inotropic function and normalization of heart rate.

Keywords: isolated heart; hypokinesia, nitric oxide; electron paramagnetic resonance; pressure generated by the left ventricle; frequency of heart rate; coronary flow