

Оксид азота, эндотелин-1, агрегация тромбоцитов как маркеры эндотелиальной дисфункции у больных хроническим алкоголизмом II стадии

КОРЯКИН А.М.

к.м.н., доцент кафедры терапии

ЕПИФАНЦЕВА Н.Н.

к.м.н., доцент кафедры клинической лабораторной диагностики

ДАДЫКА И.В.

к.м.н., ассистент кафедры терапии

ФИЛИМОНОВ С.Н.

д.м.н., профессор кафедры терапии

СКОБ Н.В.

к.м.н., доцент кафедры скорой медицинской помощи

ГОРБАТОВСКИЙ Я.А.

д.м.н., профессор, зав. кафедрой терапии

Министерство здравоохранения и социального развития РФ,

Государственное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования

«Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей»,

654005 Новокузнецк, ул. Строителей, 5, тел. (факс) 8-(3843)-45-42-19, e-mail: Postmastergiduv@rambler.ru

Исследовали эндотелиальную дисфункцию по содержанию в крови вазоактивных веществ: оксида азота (NO), эндотелина-1 (ЭТ-1) и агрегации тромбоцитов. Обследовано 32 больных хроническим алкоголизмом II стадии. Средний возраст 36,0 лет (29,5—39,5 года), продолжительность злоупотребления алкоголем 12,0 лет (10,0—15,0 лет). Контрольную группу составили 11 здоровых мужчин, не злоупотребляющих алкоголем. Концентрацию NO в плазме определяли по суммарному количеству его стабильных метаболитов — нитратов и нитритов в депротеинизированной плазме крови ферментативным фотометрическим методом с использованием набора фирмы BCM Diagnostics, США. Уровень ЭТ-1 исследовали твердофазным иммуноферментным методом с набором реагентов фирмы Biomedica, Австрия. Агрегацию тромбоцитов регистрировали на агрегометре Chronolog, США, по методу Born G.V. Концентрация агрегантов составила для АДФ 1,25 мг/мл, адреналина — 1,0 мкг/мл, ристомидина — 1,2 мг/мл. Выявили повышение уровня NO — 26,30 (21,30—34,43) мкмоль/л, $p = 0,003$, ЭТ-1 — 0,68 (0,51—0,98) фмоль/мл, $p < 0,001$. Спонтанная агрегация тромбоцитов (САТ) зарегистрирована у 64,3% больных. Укорочено время начала агрегации с АДФ ($p < 0,001$), ристомидином ($p < 0,001$) и снижена максимальная амплитуда агрегации с этими агрегантами и адреналином ($p < 0,001$). В агрегации с адреналином у 50% больных отсутствует вторая волна агрегации. В результате исследования выявлено, что у больных хроническим алкоголизмом II стадии: 1) повышен уровень NO и ЭТ-1 в крови, что свидетельствует об эндотелиальной дисфункции; 2) определяется повреждение сосудистого эндотелия по данным ристомидиновой агрегации тромбоцитов; 3) имеет место дисфункция тромбоцитов с исследуемыми индукторами: АДФ, адреналин, ристомидин. Ключевые слова: оксид азота, эндотелин, агрегация тромбоцитов, эндотелиальная дисфункция, алкоголизм

Введение

В настоящее время установлено, что дисфункция сосудистого эндотелия является обязательным компонентом практически всех сердечно-сосудистых заболеваний [4]. В физиологическом состоянии эндотелий поддерживает сосудистый тонус и структуру сосуда синтезом и выделением противоположных факторов, расширяющих и суживающих сосуды. NO является основным эндогенным вазодилататором [11, 12], синтезируется из L-аргинина с участием трех изоформ NO-синтазы (NOS): нейтральной p-NOS, эндотелиальной e-NOS и индуцибельной i-NOS. Главным источником e-NOS является сосудистый эндотелий. Активация e-NOS в клетках эндотелия увеличивает количество NO [6]. Тонус сосудов обусловлен характерным движением крови

по сосудам, и в этой корреляции NO играет главную роль. Турбулентное движение крови вызывает активацию NO-синтазы (NOS), увеличивает продукцию NO и расслабление мышечного слоя сосудов [10]. Оксид азота не только является мощным вазодилататором, но и тормозит процессы ремоделирования сосудистой стенки, предотвращая адгезию и агрегацию тромбоцитов, адгезию моноцитов, защищая таким образом сосудистую стенку от патологической перестройки с последующим развитием атеросклероза и атеротромбоза [13]. При активации эндотелия под действием различных внутренних и внешних факторов происходит увеличение образования и высвобождения NO. Повреждение эндотелия сопровождается нарушением синтеза NO и его биодоступности.

Известно, что этанол и его метаболиты оказывают токсическое влияние на клетки многих органов и систем. Сосудистый эндотелий не является исключением. В эксперименте на здоровых людях острое умеренное употребление спирта приводит к расширению крупных сосудов как в покое, так и в пробе с реактивной гиперемией [29]. У сильно пьющих алкоголиков через 2 недели после воздержания от приема алкоголя в крови и клетках эндотелия оставались повышенными уровень NO и ЭТ-1 [23].

По обобщенным результатам экспериментальных исследований, острое или хроническое употребление этанола увеличивает в крови уровень NO у животных и человека [8, 16, 20, 22]. Низкие дозы алкоголя оказывают благоприятный эффект на эндотелиальную функцию, высокие дозы индуцируют эндотелиальную дисфункцию [21, 24]. В узком представлении эндотелиальная дисфункция (ЭД) — это состояние эндотелия, при котором имеется недостаточная продукция NO и гиперпродукция ЭТ-1 и других вазоактивных веществ. ЭТ-1 является главным вазоконстрикторным пептидом [5]. Он продуцируется преимущественно эндотелиальными клетками под воздействием многих факторов: адреналина, ангиотензина II, вазопрессина, тромбина, цитокинов и механического воздействия. В физиологических концентрациях ЭТ-1 действует на эндотелиальные рецепторы, вызывая высвобождение факторов релаксации, а в высоких — активирует рецепторы гладкомышечных клеток, стимулируя вазоконстрикцию и пролиферацию меди [5, 27]. Высокий уровень ЭТ-1 в плазме наблюдается при различных состояниях: артериальной гипертензии, ишемии, после трансплантации органов. В эксперименте на крысах хроническое потребление спирта приводило к повышению уровня ЭТ-1 и протеина его рецепторов, что способствовало сокращению изолированных артерий [25, 26]. У больных хроническим алкоголизмом регистрировалось также повышение уровня ЭТ-1 [7].

Целью исследования было изучение эндотелиальной дисфункции путем оценки содержания в крови NO, ЭТ-1 и агрегации тромбоцитов у больных хроническим алкоголизмом II стадии.

Объект и методы исследования

Обследовано 32 больных хроническим алкоголизмом II стадии (по классификации А.А. Портнова и И.Н. Пятницкой) в возрасте от 28 до 42 лет, медиана 38,0 (34,0—40,0) лет со «стажем» алкоголизации от 5 до 20 лет, медиана 12,0 (10,0—15,0) лет. Все больные курящие. Критериями исключения из исследования были наличие острых инфекционных и хронических соматических заболеваний, артериальной гипертензии. Кровь для исследования забиралась не

ранее, чем через 24 ч после употребления алкоголя, с исключением из рациона экзогенных нитратов.

Контрольную группу составили 11 здоровых мужчин, сопоставимых по возрасту, — медиана 36,0 (29,5—39,5) лет, $p = 0,47$, не злоупотребляющих алкоголем, курящих.

NO определяли по суммарному количеству его стабильных метаболитов — нитратам и нитритам в депротеинизированной плазме крови ферментативным фотометрическим методом с использованием наборов фирмы BCM Diagnostics, США. Депротеинизацию плазмы осуществляли с помощью систем фирмы RALL, США. Результаты выражали в мкмоль/л.

Эндотелин-1 в плазме исследовали твердофазным иммуоферментным методом с использованием набора реагентов фирмы Biomedica, Австрия.

Агрегацию тромбоцитов исследовали на агрегометре Chronolog-440 (США) по методу G.V. Born. Конечная концентрация агрегантов была для АДФ 1,25 мг/мл, адреналина — 1 мкг/мл, ристомидина — 1,2 мг/мл. На агрегатограмме оценивали время начала агрегации от момента внесения ристомидина, АДФ (t, с), максимальную амплитуду агрегации (МА%) и наличие или отсутствие 2-й волны агрегации при индукции ее адреналином. САТ регистрировали как амплитуду агрегации в процентах за 2 мин (без индуктора) с момента начала перемешивания богатой тромбоцитами плазмы в стандартных условиях: $t = 37^{\circ}\text{C}$, постоянная скорость вращения стержня магнитной мешалки.

Полученные данные обработаны с помощью пакета программ Statistica 6,0. Проверка нормальности распределения проводилась методом Колмогорова—Смирнова и Шапиро—Уилки. Вследствие ненормальности распределения средних групповых количественных признаков применялся непараметрический метод Манна—Уитни. Сила корреляционной связи оценивалась с помощью рангового коэффициента корреляции Спирмена. Во всех процедурах статистического анализа различия значений и корреляция считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Исследование выполнено с информационного согласия пациентов в соответствии с нормами Хельсинской декларации (2000 г.).

Результаты и обсуждение

У 26 больных хроническим алкоголизмом (83,9%) повышен уровень NO в крови по сравнению со здоровыми ($p = 0,003$). Известно, что низкие концентрации NO обеспечивают защиту эндотелиальных клеток от повреждения, в то время как высокие концентрации, возможно, в комбинации с реактивными метаболитами кислорода образуют токсиче-

ский пероксинитрат, способный вызвать повреждение эндотелия и участвовать в реализации окислительного стресса [17, 18]. Одним из механизмов увеличения уровня NO является повышение активности NOS. В эксперименте при обработке спиртом клеток эндотелия человека выявляли дозозависимое увеличение активности e-NOS и уровня NO, причем высокие дозы этанола значительно уменьшали синтез NO [7, 14, 28].

Длительное воздействие различных повреждающих факторов (гипоксия, воспаление, гемодинамические перегрузки и, возможно, хроническая алкогольная интоксикация) может приводить к истощению компенсаторной «дилятирующей» способности эндотелия, и преимущественным «ответом» эндотелиальных клеток на обычные же стимулы становятся вазоконстрикция и пролиферация [1]. Вследствие этого, по-видимому, несмотря на повышение уровня NO в крови у больных хроническим алкоголизмом, отсутствует гипотония.

Агрегация тромбоцитов. В нормальных условиях сосудистый эндотелий обладает высокой тромборезистентностью, обусловленной синтезом и секрецией эндотелием антикоагулянтов и вазодилаторов. Один из вазодилаторов — NO является мощным ингибитором агрегации тромбоцитов. У исследуемых больных хроническим алкоголизмом повышен уровень NO. Как в этих условиях изменилась агрегация тромбоцитов?

В присутствии агреганта АДФ ускорено начало агрегации, что свидетельствует о повышенной готовности тромбоцитов к агрегации с АДФ ($p < 0,001$).

В ристомидиновой агрегации у 17 больных (81%) зарегистрировано укорочение времени начала агрегации ($p < 0,001$). Ристомидиновая агрегация тромбоцитов зависит от концентрации фактора Виллебранда

(фВ), синтезируемого и секретируемого преимущественно сосудистым эндотелием. Повышение уровня фВ в крови служит маркером повреждения сосудистого эндотелия [19, 15].

В агрегации с адреналином у 50% больных выявлена одноволновая агрегация, в отличие от здоровых лиц, имеющих двухволновый тип агрегатограммы. Вторая волна обусловлена высвобождением АДФ, АТФ, ионов Ca, адреналина и прочих биологически активных веществ из плотных гранул тромбоцитов в процессе их агрегации. Несмотря на активацию начальных этапов агрегации, максимальная амплитуда агрегации с АДФ, ристомидином, адреналином снижена по сравнению со здоровыми.

У 18 больных (64,3%) выявляется САТ ($p < 0,001$). Известно, что САТ отражает функциональное состояние тромбоцитов под действием естественных индукторов и ингибиторов агрегации. Прямая корреляция САТ с максимальной амплитудой агрегации с АДФ и адреналином ($R = 0,43$; $R = 0,56$ соответственно) позволяет рассматривать ее в качестве результирующей величины агрегационной способности в агрегации тромбоцитов у больных хроническим алкоголизмом. Увеличение САТ указывает на повышенную готовность к тромбообразованию у этих больных. Одним из факторов повышения САТ у исследуемых больных является снижение тромборезистентности сосудистой стенки вследствие повреждения эндотелия, определяемого ристомидиновой агрегацией. Возможно, имеет место нарушение накопления биологически активных веществ в гранулах тромбоцитов либо преждевременная дегрануляция тромбоцитов с высвобождением в кровь АДФ и адреналина. Косвенным подтверждением этого являются снижение максимальной амплитуды агрегации с АДФ, адреналином, ристомидином и отсутствие у

Таблица

Показатели оксида азота, эндотелина-1, спонтанной и индуцированной АДФ, адреналином, ристомидином агрегации тромбоцитов у больных хроническим алкоголизмом и здоровых

Показатель	Основная группа		Контрольная группа		p***
	(n)*	Me(LQ-UQ)**	(n)*	Me(LQ-UQ)**	
САТ, %	28	1,25 (0—1,88)	20	0 (0—0,1)	<0,001
АДФ, t, с	32	7,2 (4,8—7,2)	16	9,6 (8,4—9,8)	<0,001
АДФ, МА, %	31	49 (31—63)	18	66 (61—76)	<0,001
Адреналин, МА, %	32	39,5 (17—60)	20	56 (52,5—59,5)	0,030
Адреналин, ВВА	32	0,5 (0—1)	20	1 (1—1)	0,006
Рист., t, с	21	6,2 (4,8—7,2)	13	9,6 (7,2—15,6)	<0,001
Рист., МА, %	21	68 (61—73)	17	78,7 (70—87)	<0,001
Оксид азота, мкмоль/л	31	26,3 (21,3—34,3)	11	20,4 (15,5—22,6)	0,003
Эндотелин-1, фмоль/мл	31	0,68 (0,51—0,98)	11	0,35 (0,20—0,38)	<0,001
Примечание. * n — количество обследованных; ** Me(LQ-UQ) — медиана (нижний квартиль — верхний квартиль); *** p — (Mann—Whitney U Test) достигнутый уровень статистической значимости различий между группами					

половины больных второй волны в агрегации с адреналином. В связи с этим, фактором, определяющим агрегационную способность тромбоцитов у больных хроническим алкоголизмом, следует признать не повышенный уровень NO, а снижение тромборезистентности сосудистой стенки.

У 26 больных (83,9%) хроническим алкоголизмом, по сравнению со здоровыми, повышен уровень ЭТ-1 в крови ($p > 0,001$). Выявлена положительная корреляция NO и ЭТ-1 ($R = 0,48$; $p = 0,006$), что свидетельствует о взаимосвязи этих вазоактивных факторов. У пяти больных (16,1%) имеется снижение NO или ЭТ-1, причем у троих одновременно снижен уровень NO и ЭТ-1.

Заключение

Таким образом, у больных хроническим алкоголизмом имеется дисфункция сосудистого эндотелия, проявляющаяся повышением уровня NO и ЭТ-1 в крови. Вероятно, этанол и продукты его метаболизма стимулируют синтез вазоактивных веществ эндотелиальными клетками. Однако, несмотря на увеличение уровня мощного вазодилатора NO и мощного вазоконстриктора ЭТ-1, у больных хроническим алкоголизмом не наблюдается ни системного, ни локального действия этих веществ: артериальное давление остается в пределах нормы, отсутствует симптоматика сердечно-сосудистых заболеваний. По-видимому, NO и ЭТ-1 находятся в таких концентрациях, когда результирующий их эффект (сосудосуживающий или сосудорасширяющий) взаимно нейтрализуется, вследствие чего исключаются системные и локальные проявления вазомоторной дисфункции. Однако NO в повышенной концентрации может выполнять роль одного из многочисленных факторов повреждения сосудистого эндотелия. У больных хроническим алкоголизмом это регистрируется по данным ристомидиновой агрегации тромбоцитов. Одним из вазопротективных эффектов NO является ингибция адгезии и агрегации тромбоцитов [3, 19]. Однако у исследуемых больных повышенная концентрация NO в крови не ингибирует агрегацию тромбоцитов, а, напротив, ускорена агрегация тромбоцитов с индукторами АДФ, адреналином, ристомидином, что становится возможным в условиях повреждения эндотелия и снижения тромборезистентности сосудистой стенки.

Имеющееся повреждение сосудистого эндотелия, дисфункция его и тромбоцитов создают риск развития сердечно-сосудистых заболеваний у больных хроническим алкоголизмом II стадии. Предполагается, что «системная» дисфункция эндотелия — это начальная стадия атеросклероза или, по крайней мере, маркер его наличия в каком-либо из сосудистых регионов [2].

Выводы

- У больных хроническим алкоголизмом II стадии:
- 1) повышение уровня NO и ЭТ-1 в крови служит одним из маркеров эндотелиальной дисфункции;
 - 2) ристомидиновая агрегация тромбоцитов свидетельствует о повреждении сосудистого эндотелия;
 - 3) дисфункция тромбоцитов может быть дополнительным фактором повреждения сосудистого эндотелия.

Список литературы

1. Беленков Ю.Н., Мареев В.Ю., Агеев Ф.Т. Эндотелиальная дисфункция при сердечной недостаточности: возможности терапии ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента // Кардиология. — 2001. — №5. — С. 100—104.
2. Затеищикова А.А., Затеищиков Д.А. Эндотелиальная регуляция сосудистого тонуса — методы исследования и клиническое значение // Кардиология — 1998. — №9. — С. 68—73.
3. Иванова О.В., Соболева Г.Н., Карпов Ю.А. Эндотелиальная дисфункция — важнейший этап развития атеросклеротического поражения сосудов // Тер. арх. — 1997. — №6. — С. 75—78.
4. Остроумова О.Д., Дубинская Р.Э. Дисфункция эндотелия при сердечно-сосудистых заболеваниях (по материалам XIII Европейской конференции по артериальной гипертензии) // Кардиология. — 2005. — №2. — С. 59—62.
5. Палеев Н.Р., Одиноква В.А., Мравян С.Р. Эндотелин: механизмы действия и перспективы изучения: Обзор // Кардиология. — 1993. — №1. — С. 65—68.
6. Покровский В.И., Виноградов Н.А. Оксид азота, его физиологические и патофизиологические свойства // Тер. арх. — 2005. — №1. — С. 82—87.
7. Acevedo C.G., Carrasco G., Burotto M. et al. Ethanol inhibits L-arginine uptake and enhances NO formation in human placenta // Life Sci. — 2001. — №6. — P. 2893—2903.
8. Baraona E., Zeballos G., Sachet L. et al. Ethanol consumption increases nitric oxide production in rats, and its peroxynitrite-mediated toxicity is attenuated by polyenylphosphatidylcholine // Alcohol Clin. Exp. Res. — 2002. — №26. — P. 883—889.
9. Blann A.D., Farrell A., Picton A. et al. Relationship between endothelial cell markers and arterial stenosis in peripheral and carotid artery disease // Thromb. Res. — 2000. — Vol. 97, №4. — P. 209—216.
10. Cooke J.P., Rossitch E., Andon N. et al. Flow activates endothelial potassium channel to release endogenous nitrovasodilator // Clin. Invest. — 1991. — №88. — P. 1663—1671.
11. Dyke C.K., Proctor D.N., Dietz N.M., Joyner M.J. Role of nitric oxide in exercise hyperaemia during prolonged rhythmic handgripping in human // J. Physiol. Lond. — 1995. — №488 (Pt 1). — P. 259—265.
12. Gilligan D.M., Panza J.A., Kilcoyne C.M. et al. Contribution of endothelium — derived nitric oxide to exercise-induced vasodilation // Circulation. — 1994. — №90. — P. 2853—2858.
13. Ignarro L.J. Wei Lun Visiting Professorial Lecture: Nitric oxide in the regulation of vascular function: an historical overview // J. Card. Surg. — 2002. — Jul—Aug. — Vol. 17, №4. — P. 301—306.
14. Kuhlmann C.R., Li F., Ludders D.W. et al. Dose-dependent activation of Ca^{2+} -activated K^{+} channels by ethanol contributes to improved endothelial cell functions // Alcohol Clin. Exp. Res. — 2004. — №28. — P. 1005—1011.
15. Lopes A.A., Maeda N.Y., Goncalves A.C., Bydlowski S.P. Endothelial cell dysfunction correlates differentially with survival in primary and secondary pulmonary hypertension // Am. Heart J. — 2000. — Vol. 139, №4. — P. 618—623.

16. Matsuo S., Nakamura Y., Takahashi M. et al. Effect of red wine and ethanol on production of nitric oxide in healthy subject // *Am. J. Cardiol.* — 2001. — №87. — P. 1029—1031.
17. McQuaid K.E., Keenan A.K. Endothelial barrier dysfunction and oxidative stress: roles for nitric oxide? // *Exp. Physiol.* — 1997. — Vol. 82, №2. — P. 369—376.
18. Moncada S., Palmer R.M., Higgs E.A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology // *Pharmacol. Rev.* — 1991. — №43. — P. 109—142.
19. Moncada S., Higgs E. A. Nitric oxide and the vascular endothelium // *Handb. Exp. Pharmacol.* — 2006. — №176 (Pt 1). — P. 213—254.
20. Oekonomaki E., Notas G., Mouzas I.A. et al. Binge drinking and nitric oxide metabolites in chronic liver disease. // *Alcohol.* — 2004. — №39. — P. 106—109.
21. Puddey I.B., Zilkens R.R., Croft K.D., Beilin L.J. Alcohol and endothelial function: a brief review // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* — 2001. — №28. — P. 1020—1024.
22. Seo D.O., Rivier C. Interaction between alcohol and nitric oxide on ACTH release in the rat // *Alcohol Clin. Exp. Res.* — 2003. — №27. — P. 989—996.
23. Soardo G., Donnini D., Varutti R et al. Alcohol — induced endothelial changes are associated with oxidative stress and are rapidly reversed after withdrawal // *Alcohol Clin. Exp. Res.* — 2005. — Vol. 29, №10. — P. 1889—1898.
24. Stampfer M., Rimm E. Why heart disease mortality is low in France. Commentary: alcohol and dietary factor may be important // *BMJ.* — 1999. — №318. — P. 1476—1477.
25. Tirapelli C.R., Casolari D.A., Montezano A.C. et al. Ethanol consumption enhances endothelin-1-induced contraction in the isolated rat carotid // *J.P.E.T.* — 2006. — №31. — P. 819—827.
26. Tirapelli C. R., Legos E., Brochu I., Honore J.C. et al. Chronic ethanol intake modulates vascular levels of endothelin-1 receptor and enhances the pressor response to endothelin-1 in anaesthetized rats // *Br. J. Pharmacol.* — 2008. — Vol. 154, №5. — P. 971—981.
27. Vanhoutte P.M. Other endothelium-derived vasoactive factors // *Circulation.* — 1993. — Vol. 87, №5. — P. 9—17.
28. Vencov C.D., Myers P.R., Tanner M.A. et al. Ethanol increases endothelial nitric oxide production through modulation of nitric oxide synthase expression // *Thromb. Haemost.* — 1999. — №81. — P. 638—642.
29. Viachopoulos C., Tsekoura D., Tsiamis E. et al. Effect of alcohol on endothelial function in healthy subjects // *Vascular Medicine.* — 2003. — Vol. 8, №4. — P. 263—265.

NITRIC OXIDE, ENDOTHELIN-1, AND PLATELET AGGREGATION AS THE MARKERS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN PATIENTS WITH STAGE-II CHRONIC ALCOHOLISM

KORYAKIN A.M.

Cand. Med. Sci., Docent of the Chair of Therapy of Institute of Continuing Medical Education, 5 Stroitelej Av., Novokuznetsk, 654005, Russia, Fax: 8 (3843) 45 42 19; E-mail: postmastergiduv@rambler.ru

EPIFANTSEVA N.N.

Cand. Med. Sci., Docent of the Chair of Clinical Laboratory Diagnostics of Institute of Continuing Medical Education

DADYKA I.V.

Cand. Med. Sci., assistant of the Chair of Therapy of Institute of Continuing Medical Education

FILIMONOV S.N.

Dr. Med. Sci., Professor of the Chair of Therapy of Institute of Continuing Medical Education

SKOB N.V.

Cand. Med. Sci., Docent of the Chair of Emergency Medical Service of Institute of Continuing Medical Education

GORBATOVSKY I.A.

Dr. Med. Sci., Professor, Head of the Chair of Therapy of Institute of Continuing Medical Education

AIM: To investigate endothelial function concerning vasoactive substances content in blood serum, i.e. nitric oxide (NO), endothelin-1 (ET-1) and platelet aggregation. **MATERIALS AND METHODS:** The study group included 32 patients with stage-II chronic alcoholism, with a mean age of 36 (29.5—39.5) years. The length of alcohol consumption was 12 (10—15) years. Control group consisted of 11 healthy men with no alcohol abuse. Nitric oxide concentration in blood serum was identified by spectrophotometric method using «BCM Diagnostics» (USA) reagents. Endothelin-1 levels were examined by immuno-fermental method using «Biomedica» set (Austria). Platelet aggregation was registered using aggregometer «Chronolog», USA, according to G.V. Born. Aggregation substance concentrations of adenosine diphosphate, epinephrine and ristomycin were of 1.25 mg/ml, 1.0 µg/ml and 1.2 mg/ml, respectively. **RESULTS:** We identified elevated levels of NO — 26.30 (21.30—34.43) µM/l; and of ET-1 — 0.68 (0.51—0.98) fM/ml ($P<0.001$). Spontaneous platelet aggregation was detected in 64.3% of studied patients. The onset of aggregation period was less with adenosine diphosphate ($P<0.001$), with ristomycin ($P<0.001$), and maximal aggregation amplitude was reduced ($P<0.001$). Epinephrine showed the absence of the second aggregation wave in 50% of patients. **CONCLUSION:** Patients with stage-II chronic alcoholism demonstrated: (1) Elevated levels of NO and ET-1 in blood serum, illustrating endothelial dysfunction; (2) Vascular endothelium damage, concerning findings of ristomycin platelet aggregation; (3) Platelet dysfunction caused by studied inducers, i.e. adenosine diphosphate, epinephrine and ristomycin.

Key words: nitric oxide, endothelin, platelet aggregation, endothelium damage, chronic alcoholism