

А.В. Коцюруба¹, Б.С. Коп'як¹, В.Ф. Сагач¹, М.Я.Співак²

Вільнорадикальні процеси зумовлюють зниження стійкості до кислотного гемолізу еритроцитів старих щурів, яке запобігається нанодисперсним діоксидом церію

¹Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, Київ;

²Інститут мікробіології і вірусології ім Д.К. Заболотного, НАН України, Київ;

E-mail: toliko49@ukr.net

Встановлено, що у старих щурів в плазмі, і в еритроцитах збільшується інтенсивність оксидативного і нітрозативного стресу. Внаслідок цього зростає частка нестабільних до кислотного гемолізу еритроцитів. У старих тварин вона становить 63,3 %, що у 5 разів більше порівняно з дорослими (12,6 %). Введення старим щурам per os протягом 14 діб 0,1мг/кг нанодисперсного діоксиду церію (НДЦ) інгібувало інтенсивність і оксидативного, і, особливо, нітрозативного стресу, що відновлювало стійкість еритроцитів до кислотного гемолізу. При цьому повністю нормалізувалася частка нестабільних еритроцитів, а також підвищувався (від 190,1±23,4 до 693,8±74,7 ум.од.) інтегральний індекс стійкості сумарної популяції еритроцитів до кислотного гемолізу. НДЦ у старих щурів нормалізує циркулюючі пули сірководню – підвищує знижені плазмові і, навпаки, знижує підвищені еритроцитарні.

Ключові слова: еритроцити, нанодисперсний діоксид церію, оксидативний і нітрозативний стрес, сірководень, старі щури

ВСТУП

Раніше [1] ми показали, що в плазмі та еритроцитах крові старих щурів підвищується генерація не тільки активних форм кисню (АФК), але і синтез активних форм азоту (АФА). Саме еритроцити є основними продуцентами оксиду азоту (NO) в організмі, причому в цих клітинах наявний як de novo синтез NO із L-аргініну [2], так і реутилізаційний [3,4]. Саме надмірний синтез NO вважається основною причиною передчасного старіння [5]. Ще не зовсім зрозуміла в цьому процесі роль нещодавно відкритого газового трансмітера – сірководню (H₂S). У старих щурів спостерігається «закиснення» крові і посилення в ній вільнорадикальних процесів. При цьому еритроцити піддають-

© А.В. Коцюруба, Б.С. Коп'як, В.Ф. Сагач, М.Я.Співак

ся атаці АФК і АФА, що супроводжується окисненням білків плазматичної мембрани, внаслідок чого, як було показано раніше [6], значно підвищується їх проникність для іонів Н⁺, що може мати наслідком передчасну некротичну загибель клітин через кислотний гемоліз. Ці передумови актуалізують пошук ефективних нетоксичних антиоксидантів, які для запобігання кислотного гемолізу здатні пригнічувати не лише надмірну генерацію АФК, але також і АФА в плазмі та еритроцитах. Останнім часом як антиоксидант, у т.ч. для інгібування АФК-залежного апоптозу, широко використовують нанодисперсний діоксид церію (НДЦ) [7-10]. Доведено кардіо- і нейропротекторну його дію завдяки здатності інгібувати генерацію АФК і їх токсичний вплив [11-14]. Даних про вплив НДЦ на син-

тез АФА і H_2S нема. Слід зауважити, що саме еритроцити часто використовують для оцінки антиоксидантної дії різних речовин [15,16]. Мета роботи – дослідити дію НДЦ на генерацію АФК і АФА та синтез H_2S в крові старих тварин як можливих регуляторів кислотного гемолізу еритроцитів.

МЕТОДИКА

Досліди проводили на 10 дорослих безпородних щурах віком 6 міс і 10 старих особинах віком 24 міс. Старих щурів розділяли на дві групи по 5 тварин у кожній. Контрольній групі згодовували протягом 14 днів стандартний раціон віварію, а в питну воду добавляли буфер, тоді як тваринам дослідної групи у питну воду добавляли суспензію НДЦ в буфері, приготовлену в Інституті мікробіології і вірусології НАН України з розрахунку по 0,1 мг/кг на добу. Через 14 днів тварин декапітували, відбирали кров, яку розділяли на плазму й еритроцити. Для оцінки мембраностабілізуючої дії НДЦ використовували кінетичний метод кислотного гемолізу [17] суспензії еритроцитів в ізотонічному середовищі 0,14 М NaCl. У плазмі крові і в водному лізаті еритроцитів визначали стаціонарні пули H_2S і показники, які характеризують ступінь окисативного та нітрозативного стресу. Вміст H_2S визначали за описаним методом [18], використовуючи дипіридилдисульфат (N,N-DPD, „Sigma”, США), вміст нітрат-аніона за методом Jsukahara [19], використовуючи бруцин („Sigma”, США), вміст H_2O_2 визначали за Kuthan та співавт. [20], швидкість генерації супероксидного радикала (O_2^-) за окисненням цитохрому с („Sigma”, США) методом Nuwiler та Kohler [21], швидкість генерації гідроксильного радикала (OH) з використанням 2-дезоксид-рибози („Sigma”, США) за методом Conte та співавт. [22], вміст дієнових кон’югатів (ДК) за Gavrilov та співавт. [23], малонового діальдегіду (МДА) за Uchiyama та Mihara [24]. вміст вільного заліза і сечової кислоти фотометричними методами

з використанням добірок реактивів фірми “Філісит діагностика” (Україна, Дніпропетровськ), вміст білка в плазмі крові та лізаті еритроцитів методом Лоурі [25]. Всі роботи з тваринами проводили відповідно до Закону України від 21.02.2006 №3447-IV „Про захист від жорстокого поводження” та у відповідності з етичними нормами і правилами роботи з лабораторними тваринами. Отримані результати оброблені методами варіаційної статистики з використанням програм Excell (MS Office XP), SDUDENT (MS Excell) та Origin 6.0 («Microcall Inc.», США).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Мембранопротекторна дія НДЦ. Кислотна резистентність характеризує цілісність мембрани еритроцитів і ступінь її пошкодження за дії різних факторів (в т.ч. АФК і АФА) в процесі старіння. Її оцінювали за кінетичними показниками кислотного гемолізу, що індукували 0,004N HCl [17]. З рис. 1 видно, що у старих щурів частка лабільних („старих”) еритроцитів, що гемолізуються менше ніж за 2,5 хв, становить 63,3 %, що у 5 разів більше порівняно з дорослими щурами (12,6 %). Це зумовлюється легкою проникністю протонів у значній кількості червоних клітин крові контрольних старих тварин. У тварин яким вводили НДЦ повністю нормалізувалася частка лабільних еритроцитів, а також значно (від $190,1 \pm 23,4$ до $693,8 \pm 74,7$ ум.од.) підвищувався інтегральний індекс стійкості еритроцитів до кислотного гемолізу.

Вплив НДЦ на вміст H_2S і рівні оксидативного та нітрозативного стресу в еритроцитах і в плазмі крові старих щурів. У табл. 1-4 показано результати потужної антиоксидантної дії НДЦ як у плазмі, так і в еритроцитах, що може бути однією з причин відновлення ним стійкості мембран еритроцитів старих щурів до проникнення протонів і, як наслідок, до кислотного гемолізу, на що вказувалося вище.

Таблиця 1. Дія нанодисперсного діоксиду церію (НДЦ) на перекисне окиснення ліпідів у плазмі крові старих щурів (M ± m, n=5)

| Показник | Дорослі | Старі | Старі та НДЦ |
|--------------------------------------|--------------|---------------|-----------------|
| Дієнові кон'югати, нг/мг білка | 3,44 ± 0,76 | 11,73 ± 1,76* | 5,32 ± 1,09** |
| Негемове залізо, нмоль/мг білка | 1,05 ± 0,12 | 16,81 ± 4,33* | 2,86 ± 0,92*/** |
| Малоновий діальдегід, нмоль/мг білка | 15,95 ± 2,65 | 35,02 ± 5,79* | 19,85 ± 3,07** |

*P<0,05 відносно значення у дорослих щурів; **- P<0,05 відносно значення у контрольних старих щурів, які не отримували НДЦ

З табл. 1 видно, що в плазмі крові старих щурів значно посилюється інтенсивність вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Більш ніж у 3 рази підвищується вміст раних продуктів ПОЛ - дієнових кон'югатів. Вміст пізнього продукту ПОЛ малонового діальдегіду зростає більш ніж удвічі. Така інтенсифікація процесу ПОЛ відбувається внаслідок зростання у 16 разів пулів вільного негемового заліза, що передбачає можливу надпродукцію $\cdot\text{OH}$ -радикала „класичним” шляхом із H_2O_2 у реакції Фентона. Введення НДЦ зменшувало пули вільного заліза і, як наслідок, інтенсивність ПОЛ.

З табл.2 видно, що в плазмі крові старих щурів збільшується швидкість генерації $\cdot\text{OH}$ -радикала та $\cdot\text{O}_2^-$ (відповідно, у 5 та 3,6 рази), утричі зростає вміст стабільного H_2O_2 . НДЦ властива активність і супероксиддисмутази (СОД) [26], і каталази [27], він не лише інгібує генерацію $\cdot\text{O}_2^-$ і його дисмутацію в H_2O_2 , але і сприяє „деактивації” H_2O_2 , перетворюючи його на кисень. Тим самим інгібується утворення токсичного $\cdot\text{OH}$ -радикала – ініціатора ланцюгової реакції ПОЛ.

Якщо швидкість генерації $\cdot\text{OH}$ -радикала і вміст H_2O_2 в плазмі за дії НДЦ лише повністю нормалізувалися, то швидкість утворення $\cdot\text{O}_2^-$ навіть достовірно знизилася відносно такого у дорослих тварин (див. табл.2). На відміну від неферментативного вільнорадикального утворення $\cdot\text{OH}$ -радикала в реакції Фентона, $\cdot\text{O}_2^-$, в основному, утворюється ферментативно при роботі різних оксидаз. Одна з найбільш активних з них, ксантиноксидаза активується за гіпоксичних умов і є ключовим ферментом глибокої деградації пуринових нуклеотидів. Окиснюючи гіпоксантин до ксантину, а останній до сечової кислоти, ксантиноксидаза одночасно генерує два радикали $\cdot\text{O}_2^-$ [28]. Отже, пули сечової кислоти є одночасно маркерами генерації $\cdot\text{O}_2^-$ ксантиноксидазою, гіпоксичного стану і ступеня деградації пуринових нуклеотидів.

З табл.3 видно як у старих тварин змінюються і як впливає НДЦ на вміст у плазмі крові сечової кислоти, H_2S та нітрат-аніона. Майже вдвічі знижуються циркулюючі пули H_2S і, навпаки, зростають пули сечової кислоти. Водночас циркулюючі пули нітрат-аніона

Таблиця 2. Дія нанодисперсного діоксиду церію (НДЦ) на швидкість генерації активних форм кисню і пули стабільного H_2O_2 в плазмі крові старих щурів (M ± m, n=5)

| Показник | Дорослі | Старі | Старі та НДЦ |
|--|-------------|--------------|----------------|
| H_2O_2 , пмоль/мг білка | 2,11 ± 0,17 | 7,71 ± 0,49* | 1,17 ± 0,1*/** |
| Швидкість генерації $\cdot\text{O}_2^-$, ум.од. | 1,46 ± 0,22 | 4,34 ± 0,78* | 1,22 ± 0,28** |
| Швидкість генерації $\cdot\text{OH}$, ум.од. | 1,32 ± 0,17 | 6,11 ± 1,13* | 1,81 ± 0,16** |

*P<0,05 відносно значення у дорослих щурів; P<0,05 відносно значення у контрольних старих щурів, які не отримували НДЦ

Таблиця 3. Дія нанодисперсного діоксиду церію (НДЦ) на пули сечової кислоти, сірководню та нітрат-аніона в плазмі крові старих щурів (M ± m, n=5)

| Показник | Дорослі | Старі | Старі та НДЦ |
|---|--------------|---------------|------------------|
| Сечова кислота, нмоль/мг білка | 2,86 ± 0,22 | 4,16 ± 0,43* | 2,34 ± 0,21** |
| H ₂ S, пмоль/ мг білка | 27,1 ± 1,8 | 16,2 ± 3,1* | 28,7 ± 2,4** |
| NO ₃ ⁻ , нмоль/мг білка | 12,03 ± 1,18 | 54,80 ± 7,02* | 37,22 ± 3,30*/** |

*P<0,05 відносно значення у дорослих щурів; **- P<0,05 відносно значення у контрольних старих щурів, які не отримували НДЦ

зростають більше ніж у 4 рази, що свідчить про значне утворення пероксинітриту (рис.2) при взаємодії оксиду азоту і супероксиду, а, отже, і про наявність ознак як оксидативного, так і нітрозативного стресу. Введення НДЦ нормалізувало вміст сечової кислоти і H₂S, але не нітрату, вміст якого знижувався до рівня втричі вищого від такого у дорослих тварин. Таким чином, у старих щурів НДЦ інгібує не лише утворення [•]O₂⁻ за оксидативного і NO за нітрозативного стресів, але саме завдяки цьому також і спонтанне утворення при їх взаємодії пероксинітриту та його вільнорадикальний (на радикали [•]NO₂ і [•]ОН) розпад, або нерадикальне утворення аніонів NO₃⁻ при дисоціації (рис.2). Нетоксичний нітрат-аніон є основним циркулюючим метаболітом оксиду азоту, він містить атоми кисню, що походять із обох (нітрозативного та оксидативного) шляхів метаболізму кисню (рис.2). Таким чином, підвищений вміст NO₃⁻ є достатнім маркером для встановлення наявності і оксидативного, і нітрозативного стресу в плазмі і еритроцитах (табл.4) крові старих щурів, а також їх інгібування за дії НДЦ.

З табл.4 видно, що в еритроцитах старих щурів проявляються як оксидативний, так і нітрозативний стрес, про що свідчать підвищений у 2,5 рази вміст нітрат-аніона. Як наслідок октивації ПОЛ радикалами [•]NO₂ і [•]ОН в еритроцитах старих щурів у 3,5 рази збільшується вміст МДА. Еритроцитарний пул сірководню у старих щурів підвищується у 1,5 рази, на відміну від плазми крові, де він знижувався (див. табл.3). В еритроцитах, як і в мітохондріях, наявний потужний фермент 3-меркаптопіруватсульфотрансфераза, який може утворювати H₂S не лише за допомогою синтезу de novo, але і внаслідок реутилізації сульфід-аніонів. За дії НДЦ в еритроцитах старих щурів не лише відсутні прояви оксидативного і нітрозативного стресу, про що свідчить повна нормалізація еритроцитарних пулів NO₃⁻ і МДА, але і знижуються, навіть нижче рівня у дорослих тварин, еритроцитарні пули H₂S.

На гігантського розміру активній поверхні НДЦ атоми кисню можуть відновлювати іони Ce⁴⁺ до Ce³⁺ [9]. Це зумовлює описані його надзвичайні антиоксидантні властивості за дії токсикантів, радіації, чи в пато-

Таблиця 4 Дія нанодисперсного діоксиду церію (НДЦ) на пули сірководню, нітрат-аніона та малонового діальдегіду в еритроцитах крові старих щурів (M ± m, n=5)

| Показник | Дорослі | Старі | Старі та НДЦ |
|---|-------------|---------------|----------------|
| H ₂ S, пмоль мг/ білка | 76,1 ± 8,2 | 115,3 ± 10,7* | 54,2 ± 4,1*/** |
| NO ₃ ⁻ , нмоль/мг білка | 2,46 ± 0,36 | 6,1 ± 1,3* | 1,69 ± 0,32** |
| Малоновий діальдегід, нмоль/мг білка | 0,86 ± 0,11 | 3,04 ± 0,34* | 1,23 ± 0,26** |

*P<0,05 відносно значення у дорослих щурів; **- P<0,05 відносно значення у контрольних старих щурів, які не отримували НДЦ

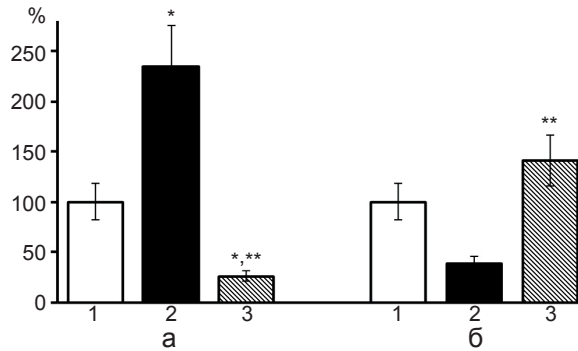


Рис.1. Зміни відсотка лабільних “старих” клітин (а) і індексу стійкості (б) в еритроцитах дорослих (1), старих (2) та старих щурів, які отримували нанодисперсний діоксид церію (3).

*P<0,05 відносно значення у дорослих щурів; ***P<0,05 відносно значення у контрольних старих щурів, які не отримували нанодисперсний діоксид церію

фізіологічних ситуаціях, як то за умов ішемії/реперфузії серця чи головного мозку [7-14].

Надлишковий синтез NO не лише спричинює розвиток багатьох судинних патологій [29], але і порушує еритропоез [30], що шкідливо для поповнення популяції еритроцитів у крові старих тварин молодими, стійкими до кислотного гемолізу еритроцитами. Тим більше, що значна частина еритроцитів в крові старих тварин може легко гемолізуватися протонами (див.рис.1). Той факт, що

НДЦ одночасно знижує кількість нестійких до кислотного гемолізу еритроцитів (див. рис.1) і проявляє потужні антиоксидантні властивості (див. табл.1-4) показує, що ці процеси взаємопов'язані. При цьому нами вперше показано значне пригнічення за дії НДЦ не лише оксидативного, але і нітрозативного стресу. Вперше показано також регуляцію циркуляторних як плазмових, так і еритроцитарних пулів H₂S, що також може забезпечувати антигемолітичну дію НДЦ.

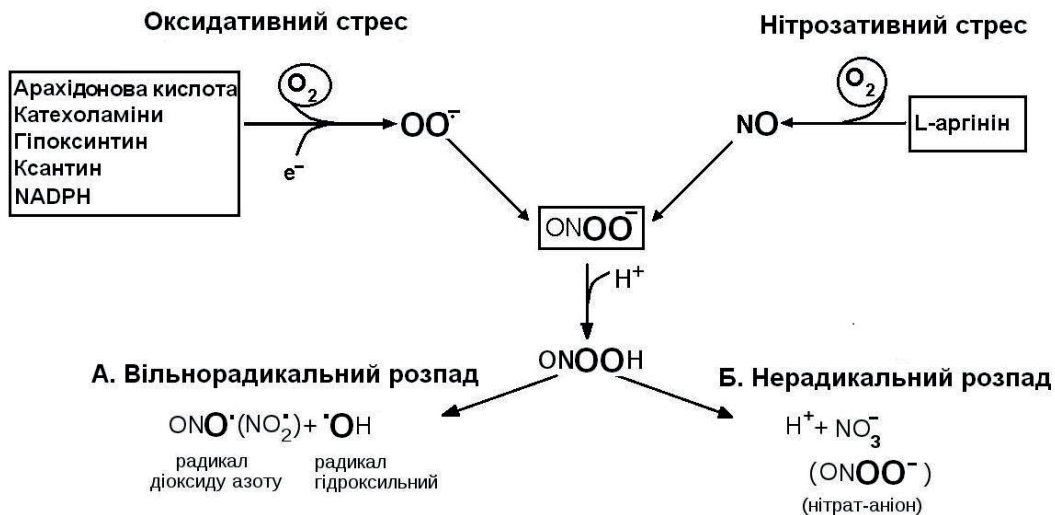


Рис.2. Схема утворення $\cdot OH$ -радикалу та аніонів NO_3^- за одночасної індукції у старих щурів і оксидативного, і нітрозативного стресу (жирним шрифтом виділено атоми кисню в молекулі нітрат-аніону, які походять із молекули супероксиду).

ВИСНОВКИ

1. У крові старих щурів збільшується інтенсивність як оксидативного, так і нітрозативного стресу. Внаслідок цього знижується стійкість еритроцитів до кислотного гемолізу.

2. Введення старим щурам 0,1 мг/кг НДЦ per os протягом 14 днів повністю відновлює стійкість мембрани еритроцитів до кислотного гемолізу.

3. Важливим біохімічним механізмом відновлення стійкості еритроцитів старих щурів за дії НДЦ є інгібування оксидативного стресу, тобто підвищеного генерування АФК в плазмі крові та в самих еритроцитах.

4. Вперше встановлено, що у старих щурів НДЦ пригнічує генерацію АФА, в т.ч. токсичного пероксинітриду, а також нормалізує циркулюючі пули сірководню - підвищує знижені плазмові, і навпаки, знижує підвищені еритроцитарні.

А.В.Коцюруба, Б.С.Копьяк, В.Ф.Сагач, Н.Я.Спивак

СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ ОБУСЛАВЛИВАЮТ СНИЖЕНИЕ СТОЙКОСТИ К КИСЛОТНОМУ ГЕМОЛИЗУ ЭРИТРОЦИТОВ СТАРЫХ КРЫС, КОТОРОЕ ПРЕДОТВРАЩАЕТСЯ НАНОДИСПЕРСНЫМ ДИОКСИДОМ ЦЕРИЯ

Встановлено, что у старых крыс в плазме и в эритроцитах крови увеличивается интенсивность оксидативного и нитрозативного стресса. Как следствие, возрастает часть нестабильных, гиперчувствительных к кислотному гемолизу эритроцитов. У старых животных она составляет 63,3%, что в 5 раз больше чем у взрослых (12,6%). Введение старым крысам per os на протяжении 14 суток 0,1 мг/кг нанодисперсного диоксида церия (НДЦ) снижало интенсивность и оксидативного, и, особенно, нитрозативного стресса, что восстанавливало стойкость эритроцитов к кислотному гемолизу. При этом полностью нормализовалась часть нестабильных эритроцитов, а также увеличивалась (от $190,1 \pm 23,4$ до $693,8 \pm 74,7$ усл.ед.) интегральный индекс стойкости сумарной популяции эритроцитов к кислотному гемолизу. НДЦ у старых животных нормализует циркулирующие пулы сероводорода – увеличивает сниженные плазменные и, наоборот, увеличивает повышенные эритроцитарные. Ключевые слова: эритроциты, нанодисперстный диоксид церия, оксидативный и нитрозативный стресс, сероводород.

A.V. Kotsuruba¹, B.S. Kopjak¹, V.F. Sagach¹, N.Ja.Spivak²

NANOCERIUM RESTORES THE ERYTHROCYTES STABILITY TO ACID HEMOLYSIS BY INHIBITION OF OXYGEN AND NITROGEN REACTIVE SPECIES IN OLD RATS

In experiments in vivo the effect of nanocerium (cerium oxide nanoparticles) on the stability of red blood cells to acid hemolysis, levels of both ROS and RNS generation and H₂S pools in plasma and erythrocytes of old rats were investigated. In red blood cells of old rats the proton penetration into the matrix of erythrocytes showed a significant raising and the fate of labile «aging» erythrocytes in old animals compared with adult were up-regulated. These phenomena paralleled with significant up-regulation of ROS and RNS generation. Introduction for 14 days per os to old rats 0.1 mg / kg of nanocerium fully restored resistance of erythrocytes to acid hemolysis by ROS and RNS in both plasma and erythrocytes reduction. Nanocerium decreased the erythrocytes and, conversely, significantly increased the plasma's pools of H₂S.

Key words: erythrocytes, acid hemolysis, old rats, proton penetration, cerium oxide nanoparticles, reactive oxygen and nitrogen metabolites, H₂S.

¹*O.O. Bogomoletz Institute of physiology NAS of Ukraine, Kyiv;*

²*Institute of microbiology and virusology NAS of Ukraine, Kyiv*

REFERENCES

1. Sagach VF, Baziljuk OV, Stepanenko LG, Korkach YuP, Kotsuruba AV. Enalapril action on nitric oxide synthesis, oxidative metabolism and vascular tone of aging rat. *Fiziol Zh.* 2007; 53(4):15–26 (Ukrainian).
2. Kleinbongard P, Schulz R, Rassaf T, Lauer T, Dejam A, Jax T, et al. Red blood cells express a functional endothelial nitric oxide synthase. *Blood.* 2006; 107(7): 2943 - 51.
3. Huang Z, Shiva S, Daniel B, Kim-Shapiro DB, Rakesh P. et al. Enzymatic function of hemoglobin as a nitrite reductase that produces NO under allosteric control. *J Clin Invest.* 2005; 115(7): 2099-107.
4. Crawford JH, Isbell TS, Huang Z, Shiva S, Chacko BK, et al. Hypoxia, red blood cells, and nitrite regulate NO-dependent hypoxic vasodilation. *Blood.* 2006; 107(2): 566 - 74.
5. Barbarash NA, Kuvshinov D, Chichlenko MV, Kolesnikov AO. Nitric oxide and human aging. *Adv Gerontol.* 2011; 24(2):256-9.
6. Fedorov SM, Baziljuk OV, Kotsuruba AV, Korkach YuP, Sagach VF. Magnetic-Laser influence on the system of nitric oxide and contractile activity of smooth muscles of rat aorta under hypertension. *Fiziol. Zh.* 2012; 58(6):36–47 (Ukrainian).
7. Chen S, Hou Y, Cheng G, Zhang C, Wang S, Zhang J. Cerium oxide nanoparticles protect endothelial cells from

- apoptosis induced by oxidative stress. *Biol Trace Elem Res.* 2013; 154(1):156-66.
8. Hirst SM, Karakoti A, Singh S, Self W, Tyler R, et al. Bio-distribution and in vivo antioxidant effects of cerium oxide nanoparticles in mice. *Environ Toxicol.* 2013; 28(2):107-18.
 9. Celardo I, De Nicola M, Mandoli C, Pedersen JZ, Traversa E, Ghibelli L. Ce³⁺ ions determine redox-dependent anti-apoptotic effect of cerium oxide nanoparticles. *ACS Nano.* 2011; 5(6):4537-49.
 10. Hussain S, Garantziotis S. Interplay between apoptotic and autophagy pathways after exposure to cerium dioxide nanoparticles in human monocytes. *Autophagy.* 2013 Jan;9(1):101-3.
 11. Pagliari F, Mandoli C, Forte G, Magnani E, Pagliari S, Nardone G, et al. Cerium oxide nanoparticles protect cardiac progenitor cells from oxidative stress. *ACS Nano.* 2012; 22(5):3767-75.
 12. Alili L, Sack M, von Montfort C, Giri S, Das S, et al. Downregulation of tumor growth and invasion by redox-active nanoparticles. *Antioxid Redox Signal.* 2013 ; 19(8):765-78.
 13. Estevez AY, Pritchard S, Harper K, Aston JW, Lynch A, et al. Neuroprotective mechanisms of cerium oxide nanoparticles in a mouse hippocampal brain slice model of ischemia. *Free Radic Biol Med.* 2011; 51(6):1155-63.
 14. Ciofani G, Genchi GG, Mazzolai B, Mattoli V. Transcriptional profile of genes involved in oxidative stress and antioxidant defense in PC12 cells following treatment with cerium oxide nanoparticles. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1840(1): 495-506.
 15. Botta A, Martínez V, Mitjans M, Balboa E, Conde E, Vinardell MP. Erythrocytes and cell line-based assays to evaluate the cytoprotective activity of antioxidant components obtained from natural sources. *Toxicol In Vitro.* 2014; 28(1):120-4.
 16. Martín-Ventura JL, Madrigal-Matute J, Martínez-Pinna R, Ramos-Mozo P, Blanco-Colio LM, et al. Erythrocytes, leukocytes and platelets as a source of oxidative stress in chronic vascular diseases: detoxifying mechanisms and potential therapeutic options. *Thromb Haemost.* 2012;108(3): 435-42.
 17. Terskov IA, Gittelzon II. Method chimicheskikh (kislotnich) erythrogram. *Biophysika.* 1957; 2(2): 259-66 (Russian).
 18. Svenson A. A rapid and sensitive spectrophotometric method for determination of hydrogen sulfide with 2,2'-dipyridyl disulfide. *Anal Biochem.* 1980; 107(1): 51 – 5.
 19. Jszakahara H. Effect of NOS inhibitions on bone methabolizm in growing rats. *Am J Physiol.* 1996; 270(5): E840-5.
 20. Kuthan H, Ullrich V, Estabrook RW. A quantitative test for superoxide radicals produced in biological systems. *Biochem J.* 1982; 203(3): 551-8.
 21. Huwiler M, Kohler H. Pseudo-catalytic degradation of hydrogen peroxide in the lactoperoxidase/H2O2/iodide system. *Eur J Biochem.* 1984; 141(1): 69-74.
 22. Conte D, Narindrasorasa KS, Sarkar B. In vivo and in vitro iron replaced zinc finger generates free radicals and causes DNA damage. *Eur J Biochem.* 1996; 271(9): 5125-30.
 23. Gavrilov VB, Gavrilova AP, Chmara NF. Heptane and iso-propanol estracts for diene conjugates concentration in blood plasma. *Lab. delo.* 1988; (2): 60-4 (Russian).
 24. Uchiyama M, Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem.* 1978; 86(1): 271-8.
 25. Lowery OH, Rosebrough NI, Farr AL, Randall RI. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951; 193(1): 265-75.
 26. Heckert G, Karakoti AS, Seal S. The role of cerium redox state in the SOD mimetic activity of nanoceria. *Biomaterials.* 2008; 29(9): 2705–9.
 27. Pirmohamed T, Dowding JM, Singh S, Wasserman B, Heckert E, et al. Nanoceria exhibit redox state-dependent catalase mimetic activity. *Chem Commun.* 2010; 46(8): 2736–8.
 28. Khan SA, Lee K, Minhas KM, Gonzalez DR, Raju SVY, et al. Neuronal nitric oxide synthase negatively regulates xanthine oxidoreductase inhibition of cardiac excitation-contraction coupling. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004;101(45): 15944-8.
 29. Förstermann U. Nitric oxide and oxidative stress in vascular disease. *Pflugers Arch.* 2010;459(6):923-39.
 30. Ghaffari S. Oxidative stress in the regulation of normal and neoplastic hematopoiesis. *Antioxid Redox Signal.* 2008 ;10(11):1923-40.

Матеріал надійшов до редакції 01.12.2014