УДК 612.111:616.155.18

Вплив системи L-аргінін – NO на про- та антиоксидантну рівновагу в еритроцитах щурів за умов алкогольної інтоксикації

Н.В. Єфіменко, Н.О. Сибірна

Львівський національний університет ім. Івана Франка; E-mail: nataliya_yefimenko@mail.ru

За умов експериментальної хронічної алкогольної інтоксикації виявлено зміни активності ферментів антиоксидантного захисту (супероксиддисмутази, каталази) та NO-синтази (NOS), вмісту стабільних продуктів метаболізму оксиду азоту і вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів у лізатах еритроцитів щурів. Показано, що за споживання субстрату NOS – L-аргініну тваринами з алкогольною інтоксикацією активність ензимів антиоксидантного захисту зростала в 2 рази на фоні зменшення вмісту ТБК-позитивних продуктів. Встановлено, що в гемолізатах еритроцитів щурів з алкогольною інтоксикацією значення сумарної активності NOS зменшувалося на 65% відносно контролю. Неселективний інгібітор Nω-нітро-L-аргінін метилового ефір (L-NAME), який є структурним аналогом L-аргініну, знижував вихідний рівень сумарної активності NOS на 23,4% у контролі та на 25% за умов патології. При споживанні щурами L-аргініну сумарна активність NOS збільшувалася в двох досліджуваних групах. Отримані результати свідчать про антиоксидантні властивості L-аргініну та незначний коригуючий вплив L-NAME.

Ключові слова: еритроцити; алкогольна інтоксикація; оксидативний стрес.

ВСТУП

Процес перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) властивий тканинам у нормі і відбувається, як правило, при побудові ліпідних мембранних структур, їх оновленні, під час біосинтезу низки гормонів. Проте вільнорадикальне окиснення може активізуватися за умов патології [1-3]. Тому для діагностики і прогнозування подальшого перебігу хвороби різного ґенезу одним із актуальних завдань є дослідження процесів ПОЛ та активності ферментів антиоксидантного захисту в нормі та за умов патології, а також впливу деяких чинників на інтенсивність цих процесів.

Клітинний вільнорадикальний гомеостаз забезпечується рівновагою між ферментативними та неферментативними системами генерації активних форм кисню та азоту (АФК, АФА відповідно) і системами їхнього знешкодження. Розвиток патологічних станів супроводжується порушенням цієї рівноваги й відбувається надлишкове генерування вільних радикалів на фоні дефіциту антиоксидантів [3, 4].

NO, як відомо, є вторинним посередником у передачі клітинних сигналів, модулятором біологічних функцій білків, а також залежно від умов, може проявляти функції оксиданта й антиоксиданта. Він за активністю займає проміжне місце між досить інертним азотом і активним киснем, а оскільки містить один неспарений електрон на зовнішній обіталі, то може виступати також як радикал (•NO). При взаємодії супероксидного радикала з оксидом азоту в клітині утворюється надзвичайно цитотоксична сполука – пероксинітрит ($ONOO^-$), яка безпосередньо або опосередковано може взаємодіяти з деякими молекулами у клітині, модифікуючи їхні біологічні функції. Виникає так званий оксидативно-нітрозативний стрес, який супроводжується

© Н.В. Єфіменко, Н.О. Сибірна

нітруванням білків, розривами ДНК, тощо [5 - 7]. Однак у низці робіт показано, що NO у наномолярних кількостях і вище може фактично уповільнювати ПОЛ, діючи як внутрішньоклітинна "пастка" для кисневих радикалів [8, 9].

Останнім часом з'явилися праці, в яких наводяться окремі дані вивчення стану процесів ПОЛ, антиоксидантної системи та інтенсивності утворення в організмі NO при токсичному ураженні печінки, підшлункової залози й інших органів за алкогольної інтоксикації. Проте, незважаючи на велику увагу дослідників до вивчення стану процесів пероксидації за такої патології, дотепер немає цілковитого уявлення про вплив АФК і АФА на внутрішньоклітинний метаболізм, зокрема еритроцитів, які, циркулюючи в руслі крові, є зручною мішенню для дії радикалів різноманітного походження [5 - 8].

Активація L-аргінін-NO - системи ґрунтується на здатності оксиду азоту лімітувати ключові ланки стрес-реакції та посилювати ендогенні захисні системи організму. Тому фармакологічна імітація активації цієї ланки регулювання введенням субстрату NOS (L-аргініну) може забезпечити ефективний антистресорний захист та підвищити адаптаційні можливості організму [8, 9]. Хоч $NO^{\cdot}$ не належить до істинних інтермедіатів окиснення етанолу, однак використання його донаторів в медицині як гепатопротекторів, імуномодуляторів вказує на те, що NO-залежна регуляція морфофункціонального стану різних клітин організму є важливою ланкою розробки терапевтичних засобів лікування алкоголізму та наслідків хронічної алкогольної інтоксикації [10, 11].

Метою нашого дослідження було вивчення впливу L-аргініну як субстрату NOS та інгібітора цього ензиму L-NAME на стан прота антиоксидантної рівноваги у еритроцитах щурів за умов експериментальної хронічної алкогольної інтоксикації.

МЕТОДИКА

Дослідження проводили на безпородних білих щурах з початковою масою 200-250 г. Експерименти проводили згідно з національними „Загальними етичними принципами проведення експериментів на тваринах", ухваленими Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2001), що узгоджуються з положеннями „Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" (Страсбург, 1986). Всі тварини отримували стандартний раціон віварію та вільний доступ до води.

Щурів було поділено на 6 груп: до 1-ї групи ввійшли контрольні тварини, до 2-ї та до 3-ї груп – тварини, які споживали L-аргінін та L-NAME відповідно, до 4-ї – тварини з алкогольною інтоксикацією, до 5-ї та до 6-ї – тварини з алкогольною інтоксикацією, які споживали L-аргінін та L-NAME відповідно.

Модель експериментальної хронічної алкогольної інтоксикації у щурів створювали введенням за допомогою зонду протягом 14 діб 20%-го розчину етанолу з розрахунку 6 г/кг маси тіла *per os* [12]. Щурам 1-ї, 2-ї й 3-ї груп вводили еквівалентний за калорійністю етанолу розчин глюкози у дозі 10,2 г/кг для збереження енергетичної цінності раціону.

Тварини 5-ї групи з моменту індукції алкогольної інтоксикації з питною водою, споживали розчин основного субстрату NOS – L-аргініну ("Reanal", Угорщина), у розрахунку 125 мг/кг; тварини 6-ї групи – розчин неселективного інгібітора NOS — L-NAME ("Sigma",США) у розрахунку 7 мг/кг. Використовувані розчини тварини отримували протягом 2 тиж, щоденно (з моніторингом і корекцією об'єму).

Супероксиддисмутазну активність (СОД, КФ 1.15.1.11) визначали у лізатах еритроцитів методом, який полягає у відновленні нітротетразолію супероксидними радикалами, котрі утворюються у реакції між феназинметасульфатом і відновленою формою

НАДН. Утворення нітроформазану – продукту відновлення нітротетразолію, блокується наявністю СОД [13]. Каталазну активність (КФ 1.11.1.6) вимірювали з використанням реакції перекису водню з молібдатом амонію [14]. Вміст сполук, що реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-позитивні продукти), визначали згідно з методикою Тімірбулатова [15]. Визначення вмісту нітрит-аніона (NO_2^-) проводили методом Гріна, використовуючи реактив Гріса [4, 16, 17]. Вміст нітрат-аніона (NO_3^-) визначали в безбілкових аліквотах лізатів після його відновлення цинковим пилом до нітрит-аніона (NO_2^-) [4, 18]. Сумарну активність NOS (КФ 1.14.13.19) вивчали за методикою, в основі якої лежить стехіометричне окиснення НАДФН у процесі реакції утворення NO з L-аргініну. Зменшення кількості НАДФН, яка еквімолярна такій утвореного NO, реєстрували спектрофотометрично при довжині хвилі 340 нм. Для підвищення специфічності вирахування ступінь окиснення НАДФН, пов'язаного лише з активністю NOS, використовували додаткову пробу, яка замість L-аргініну містила 0,3 мл водного розчину інгібітора NOS – L-NAME у аналогічній до субстрату концентрації. Різниця між ступенем окиснення НАДФН з L-аргініном і з інгібітором дає ступінь окиснення НАДФН, залежну від конкурентного неселективного інгібітора всіх ізоформ NOS, тобто активність NOS [4]. Концентрацію білка в зразках визначали за методом Лоурі [19]. Результати обробляли методами варіаційної статистики з визначенням вірогідності змін за критерієм t Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Відомо, що основні пошкоджувальні ефекти алкогольної інтоксикації є наслідками безпосередньої дії етанолу та його токсичних метаболітів, які утворюються в процесі біотрансформації алкоголю. Етанол та інтермедіати його окиснення можуть впливати на рівень окисно-відновних процесів у клітині із залученням NO-залежних сигнальних та метаболічних шляхів.

Нами було встановлено, що в еритроцитах щурів з алкогольною інтоксикацією значення сумарної активності NOS менше на 65% ($P < 0,05$) відносно контролю (рис. 1).

При введенні L-аргініну сумарна активність NOS збільшувалася в двох досліджуваних групах. Так, у нормі показник збільшився в 1,2 раза відносно контролю, а за умов алкогольної інтоксикації — в 1,9 раза щодо значень у тварин з інтоксикацією. Неселективний інгібітор L-NAME, який є структурним аналогом L-аргініну, знижував вихідний рівень сумарної активності NOS на 23,4% у контролі й на 25% за умов патології.

В організмі основними біологічними формами існування NO є S-нітрозотіоли і динітрозильні комплекси заліза, які здатні до взаємоперетворень. У нормі такі депо створюються за умов споживання L-аргініну, який виступає субстратом NOS, а при алкогольній інтоксикації вони можуть вивільнятися для інгібування активності NOS за принципом негативного зворотного зв'язку, оскільки

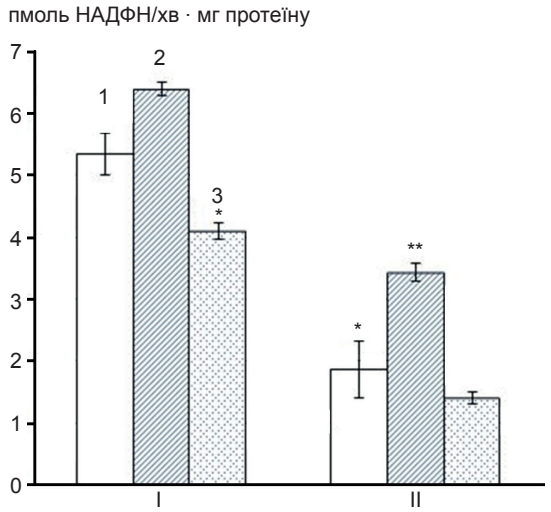

Рис.1. Активність NO-синтази у гемолізатах еритроцитів периферичної крові щурів у контролі (I) та за умов алкогольної інтоксикації (II): без додаткових факторів, 2 - з додаванням L-аргініну, 3 - з додаванням L-NAME.
* $P<0,05$ порівняно з контролем;
** $P<0,05$ порівняно з інтоксикацією

оксид азоту має здатність зв'язуватися з гемовою групою ферменту, знижуючи його активність [9 – 11].

Відомо, що в еритроцитах наявний власний синтез NO. Такий цікавий факт дає змогу поставити нову низку питань щодо ролі цього низькомолекулярного регулятора у функціонуванні еритроцитів. На думку деяких дослідників, нітрит-іони є внутрішньосудинним депо оксиду азоту, а дезоксигемоглобін діє як нітритредуктаза, здійснюючи внесок в еритроцитзалежну гіпоксичну вазодилатацію. Еритроцити можуть бути резервуаром для внутрішньосудинного нітрит-іона, вміст якого може змінюватися за умов патології [4, 9, 20]. Нами відмічено зменшення вмісту NO_2^- у лізатах еритроцитів щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією в 1,3 раза відносно значень у контрольних тварин (таблиця 1).

Споживання тваринами L-аргініну зумовлювало збільшення вмісту NO_2^- як у нормі, так і за умов алкогольної інтоксикації, а L-NAME – зниження вмісту NO_2^- в обох досліджуваних групах. У літературних джерелах є дані, які свідчать про те, що за умов алкогольної інтоксикації посилюється активність нітритредуктазних систем, які супроводжуються розвитком гіпоксичного стану [21]. Можна припустити, що зниження вмісту NO_2^- може бути пов'язано з активним його відновленням до NO в еритроцитах периферичної крові. Значна частина утвореного NO вивільняється з еритроцитів і бере участь у вазодилатації, а екзогенний L-аргінін поповнює собою сироватковий запас, стає субстратом для NOS, відновлюючи таким чином пул NO [9, 16]. Нами виявлено збільшення вмісту NO_3^- за умов алкогольної інтоксикації. Це пов'язано не з генерацією $NO^\cdot$ у процесі функціонування ферментів NOS, оскільки сумарна активність їх знижується, а з вивільненням $NO^\cdot$ зі зв'язаної форми – нітрозопохідних і залізонітрозильних комплексів, у тому числі і з нітрозогемоглобіну під час нітритредуктазних реакцій [9]. У контролі споживання L-аргініну сприяло підвищенню вмісту NO_3^-, тоді як за умов алкогольної інтоксикації – зниженню. Натомість додаткове введення L-NAME у обох досліджуваних групах зменшувало цей показник.

Відомо, що за умов гострого отруєння алкоголем і хронічної алкогольної інтоксикації в організмі ссавців відбуваються значні зміни не тільки у тканинах, які зазнають первинного контакту з алкоголем, а й у тих, де здійснюється його метаболізм [1-3]. У разі цієї патології швидкість процесів ПОЛ переважає над здатністю антиоксидантної системи нівелювати вплив надлишкової кількості вільних радикалів, які, взаємодіючи з макромолекулами клітин, спричиняють їхнє пошкодження. Прооксидантні властивості, в патогенезі алкогольної інтоксикації, мають такі АФК та АФА: супероксидний аніон-радикал, пероксид водню (H_2O_2), гідроксильний радикал (HO^-) і синглетний кисень ($^1O_2$), котрі, як і оксид азоту, є надзвичайно реакційноздатними [22, 23] .

Вміст стабільних метаболітів оксиду азоту (нмоль/мг протеїну) у еритроцитах периферичної крові щурів у контролі та за умов інтоксикації (M±m, n=6)

Групи тварин	NO_2^-, $\cdot 10^{-2}$	NO_3^-
Контроль	18,5±0,3	1,68±0,14
Введення		
глюкози і L-аргініну	22,1±0,8*	2,3±0,14*
глюкози і L-NAME	17,8±0,5	0,93±0,30*
Алкогольна інтоксикація	14,67±0,60*	3,25±0,23*
Введення		
L-аргініну	17,4±0,8**	1,9±0,1**
L-NAME	14,4±1,3	2,13±0,27**

Оскільки в еритроцитах ссавців основним ферментом, який каталізує реакцію розщеплення пероксиду водню, є каталаза, очікуваним наслідком оксидативного стресу за умов інтоксикації буде зростання її активності. Однак дослідження показало, що за умов алкогольної інтоксикації активність цього ферменту вірогідно знижується порівняно з контролем на 65% (рис.2).

Така зміна активності каталази зумовлюється, в основному, безпосереднім впливом на фізико-хімічні властивості мембранних структур, окисної модифікації ліпідних або білкових компонентів і зменшенням виходу у розчинну цитозольну фракцію цього ферменту [20]. Активність каталази може знижуватися в результаті зменшення концентрації субстрату, оскільки пришвидшується неферментативна реакція Фентона з утворенням ініціатора ПОЛ – радикала $OH^{\cdot}$. Можливою також є інактивація каталази внаслідок безпосереднього впливу етанолу чи продуктів його метаболізму на структурну організацію цього ферменту або пригнічення відповідних біосинтетичних процесів токсичною дією ацетальдегіду у попередників еритроїдних клітин червоного кісткового мозку. Споживання L-аргініну та L-NAME мало односпрямовану дію і призводило до підвищення цього показника як у нормі, так і за алкогольної інтоксикації.

Зниження активності СОД за умов алкогольної інтоксикації може бути пов'язане з впливом $ONOO^{-}$ (рис.3).

Пероксинітрит може пострансляційно модифікувати СОД за тирозиновими залишками з утворенням стабільного протеїнзв'язаного комплексу [5, 9]. Слід відзначити, що споживання L-аргініну та L-NAME як у нормі, так і за умов алкогольної інтоксикації супроводжувалося підвищенням активності цього ферменту. Підвищення активності СОД за умов алкогольної інтоксикації на тлі досліджуваних чинників може бути пов'язане зі зменшенням пулу пероксинітриту, що відбувається за зниження продукції NO або в разі інгібування генерації супероксиду.

Сумарний вміст метаболітів NO підвищується внаслідок збільшення вмісту NO_3^{-}. Така зміна сприяє ушкоджувальній дії продуктів ПОЛ і суттєво підсилює ефект вільнорадикального окиснення. У лізатах еритроцитів за алкогольної інтоксикації вміст ТБК-позитивних продуктів збільшувався відносно контролю в 1,7 раза (рис.4).

Як відомо, активація процесів ПОЛ при одночасному зниженні активності ферментів АОЗ є одним з провідних чинників прогре-

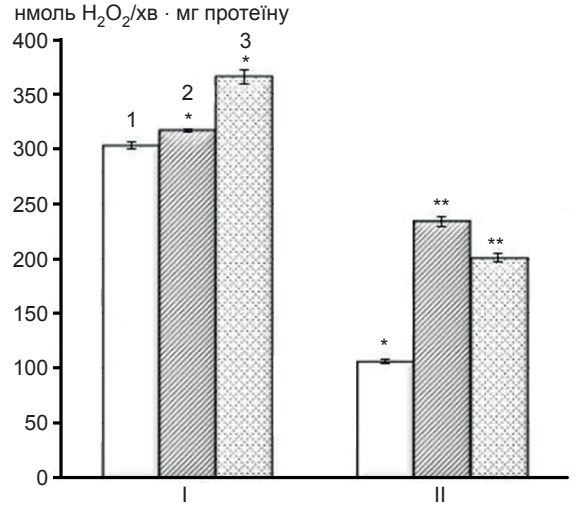

Рис.2. Активність каталази у гемолізатах еритроцитів периферичної крові щурів у контролі (I) та за умов алкогольної інтоксикації (II): без додаткових факторів, 2 - з додаванням L-аргініну, 3 - з додаванням L-NAME

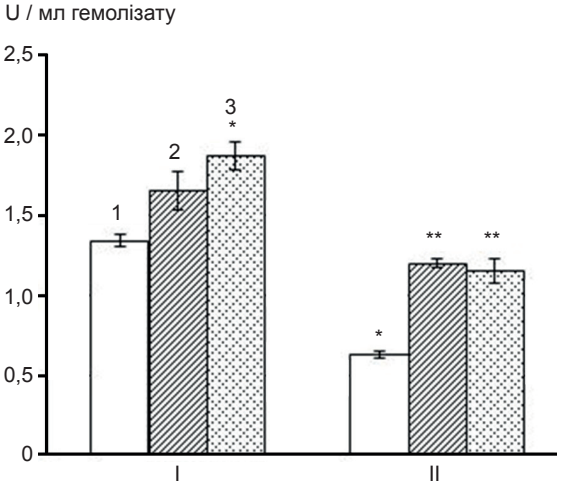

Рис.3. Активність супероксиддисмутази у гемолізатах еритроцитів периферичної крові щурів у контролі (I) та за умов алкогольної інтоксикації (II): без додаткових факторів, 2 - з додаванням L-аргініну, 3 - з додаванням L-NAME

сування хронічної ендогенної інтоксикації та трансформування нормальних тканин у нефункціонуючі. Продукти ПОЛ викликають трансформування клітин печінки у колагенпродукуючі, стимулюють купферовські клітини до надлишкового синтезу колагену III і ініціюють фіброгенез у печінці хворих [10]. Споживання L-аргініну та L-NAME тваринами 2-ї та 3-ї груп відповідно, не супроводжувалося достовірними змінами ТБК-позитивних продуктів у лізатах еритроцитів. Однак за умов алкогольної інтоксикації при введенні L-аргініну та L-NAME спостерігали зменшення вмісту вторинних продуктів ПОЛ.

Таким чином, результати проведених досліджень підтверджують те, що за умов алкогольної інтоксикації посилюється окисний стрес. Своєрідний «антиоксидантний» ефект NO дає змогу припустити, що взаємодія супероксидного аніон-радикала і NO може бути біологічно важливим шляхом детоксикації потенційно небезпечних АФК за умов алкогольної інтоксикації. Це відбувається за рахунок утворення пероксинітритної кислоти і її дисоціації з утворенням протона (H^+) і NO_3^- [5, 9, 22, 23]. Однак є літературні дані, які свідчать про те, що NO здатний посилювати негативні ефекти супероксидного радикала й

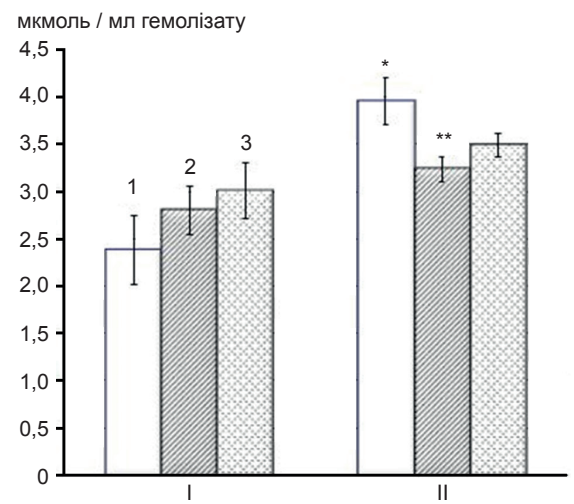

Рис.4. Вміст кінцевих продуктів перекисного окиснення ліпідів у контролі (I) та за умов алкогольної інтоксикації (II): без додаткових факторів, 2 - з додаванням L-аргініну, 3 - з додаванням L-NAME

інших АФК, роль яких у патогенезі токсичного ураження тканин і розвитку ендотоксемії за алкогольної інтоксикації може вважатися доведеною. Цей шлях можливий за рахунок утворення цитотоксичного $OONO^-$ або вільнорадикального розпаду пероксинітритної кислоти на два токсичні радикали OH^- і NO_2^-, які є ініціаторами ПОЛ [5, 7, 22].

Екзогенне введення L-аргініну за умов алкогольної інтоксикації сприяє його посиленому метаболізму окисним шляхом, що в свою чергу зумовлює підвищення концентрації NO до фізіологічного рівня. У цьому разі NO виступає як антиоксидант, оскільки зв'язуючись з Fe^{2+}, що входить до складу гемвмісних протеїнів (гуанілатциклаза, власне NO-синтаза, гемоглобін, цитохромоксидаза, цитохром P_{450}, ксантиноксидаза, пероксидаза, мієлопероксидаза, каталаза тощо), він гальмує утворення цитотоксичних радикалів, утворених в ході окисних реакцій. При споживанні алкоголізованими тваринами L-NAME знижувалася сумарна активність NOS, що супроводжувалося зменшенням кількості пероксинітриту, утвореного de novo. Це сприяло вирівнюванню оксидантно-прооксидантної рівноваги.

За споживання *per os* тваринами з інтоксикацією субстрату NOS - L-аргініну показано нормалізацію показників системи антиоксидантного захисту, а саме: підвищення активності його ферментів, зниження концентрацій кінцевих продуктів ПОЛ. Споживання алкоголізованими тваринами L-NAME виявляло позитивний коригуючий ефект на активність ферментів антиоксидантного захисту та вміст продуктів ПОЛ, але меншою мірою, ніж за умов споживання L-аргініну.

Н.В. Ефименко, Н.А. Сибирная

ВЛИЯНИЕ СИСТЕМЫ L-АРГИНИН – NO НА ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОЕ РАВНОВЕСИЕ В ЭРИТРОЦИТАХ КРЫС ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

В условиях экспериментальной хронической алкогольной интоксикации выявлены изменения активности ферментов

антиоксидантной защиты (супероксиддисмутазы, каталазы) и NO-синтазы (NOS), содержания стабильных продуктов метаболизма окисла азота и уровня продуктов перекисного окисления липидов в лизатах эритроцитов крыс. Показано, что при употреблении субстрата NOS – L-аргинина животными с алкогольной интоксикацией активность энзимов антиоксидантной защиты возрастает в 2 раза на фоне уменьшения содержания ТБК-позитивных продуктов. Установлено, что в гемолизатах эритроцитов крыс с алкогольной интоксикацией значение суммарной активности NOS уменьшалось на 65% относительно контроля. Неселективный ингибитор Nω–нитро-L-аргинин метилового эфир (L-NAME), который является структурным аналогом L-аргинина, понижал выходной уровень суммарной активности NOS на 23,4% в контроле и на 25% при патологии. При потреблении крысами L-аргинина суммарная активность NOS увеличивалась в двух исследуемых группах. Полученные результаты свидетельствуют о антиоксидантных свойствах L-аргинина и незначительном корректирующем воздействии L-NAME.
Ключевые слова: эритроциты; алкогольная интоксикация; оксидативный стресс.

Львовский национальный университет имени Ивана Франко

N.V. Yefimenko, N.O. Sybirna

EFFECT OF L-ARGININE – NO ON PROOXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE IN ERYTHROCYTES OF RATS UNDER ALCOHOL INTOXICATION

It was shown changes in the activity of antioxidant enzymes (superoxide dismutase, catalase) and NO-synthase (NOS), in the content of stable metabolic products of nitric oxide and levels of lipid peroxidation products in erythrocytes of rats under alcoholic intoxication. It was shown that animals with alcohol intoxication under of the admission of the main substrate NOS – L-arginine activity of antioxidant protection enzymes was increased in twice on the fond of TBA-positive products decrease contents. Established in hemolisate red blood cells in rats with alcohol inrotoxication value of total NOS activity decreases by 65% compared to control. Not selective inhibitor Nω–nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), which is a structural analog of L-arginine, reduced output level of total NOS activity by 23.4% in the control and 25% under conditions of pathology. The consumption of rats L-arginine NOS total activity increased in the two study groups. The results testify that L-arginine has antioxidant properties, whereas L-NAME exerts a slightly stabilizing influence.
Key words: erythrocytes; alcoholic intoxication; oxidative stress.

Department of Biochemistry, Ivan Franko Lviv National University

REFERENCES

1. Gulyĭ MF. Metabolic disorders and their correction in the human body for alcoholism and drug addiction. Ukr Biochem J. 2000; 72(6): 103-6. [Ukrainian].
2. Das SK, Vasudevan DM. Monitoring oxidative stress in patients with non-alcoholic and alcoholic liver diseases. Indian J Clin Biochem. 2005; 20(2): 24-8.
3. Tsyntar TP. Lipid peroxidation and oxidative modification of proteins in non-alcoholic steatohepatitis, combined with chronic obstructive pulmonary disease. BMH J. 2014; 18, № 3 (71): 166-8. [Ukrainian].
4. Sybirna NO, Mayevska OM, Barska ML. Research of separate biochemical indexes under oxidative stress. Lviv: Publishing center of the Ivan Franko Lviv National University; 2006. [Ukrainian].
5. Sharipov RR, Kotsuruba AV, Kopyak BS, Sagach VF. Induction of nitrosative stress in mitochondria of rats hearts in experimental ischemia-reperfusion of the brain and its correction by ecdysterone. Fiziol Zh. 2014; 60(5); 3-13. [Ukrainian].
6. Yolkina NM, Kazakova VV, Konoshenko SV. Description of some indices erythrocytes inwardly to metabolism in condition of active oxygen forms generation in vitro. Exp and Clin Phys and Biochem. 2005; 3: 50-3. [Ukrainian].
7. Husain K, Mejia J, Lalla J, Kazim S. Dose response of alcohol-induced changes in BP, nitric oxide and antioxidants in rat plasma. Pharmacol Res. 2005; 51: 337–43.
8. Sybirna NO, Lyuta MYa, Klymyshyn NI. Molecular mechanisms of nitric oxide deposition in erythrocytes. Studia Biologica. 2010; 4 (1): 143–60. [Ukrainian].
9. Drel VR. Main mechanisms of the initiation and development of diabetic complications: the role of nitrative stress. Stud Biol. 2010; 4(2): 141–58. [Ukrainian].
10. Acevedo CG, Carrasco G, Burotto M, Rojas S, Bravo I. Ethanol inhibits L-arginine uptake and enhances NO formation in human placenta. Life Sci. 2001; 68: 2893–903.
11. Sybirna NO, Vovk OI, Fedorovych AM. Influence of L-arginine and NOS inhibitors on antioxidant system of platelets under type 1 diabetes mellitus. Visn Lviv Univ. Series Biology. 2004; 38: 50-6. [Ukrainian].
12. Burov YuV, Vedernikova NN. Neurochemical and Pharmacological journal of alcoholism. Moscow: Medicine; 1985. [Russian].
13. Chevari ST, Andal T, Shtrenger Ya. Determination of antioxidant parameters of blood and their diagnostic value in a sear and yellow leaf. Lab business. 1991; 10: 9-13. [Russian].
14. Koroluk MA, Ivanova LI, Maiorova IG, Tokarev VE. A method for measuring catalase activity. Lab business. 1988; 1: 16–9. [Russian].
15. Timirbulatov R, Seleznev E. Method for increasing intensity of free radical oxydation of blood lipid containing components and its diagnostic value. Lab business. 1981; 4: 209–11. [Russian].
16. Gromov LA , Belenichev IF, Gonchar-Cherdakli LG, Zher-

novaja GA. Effect of anticonvulsants on the nitric oxide system. Ukr Biochem J. 2013; 85 (1): 79-83. [Russian].
17. Green LC, Wagner DA, Glogowski J.G. Analysis of nitrate, nitrite and 15N—nitrate in biological fluids. Anal Biochem. 1982; 126 (1): 131–8.
18. Kiselyk IO, Lutsyk MD, Shevchenko Yu. Peculiarities of determining nitrates and nitrites in blood of the patients with viral hepatitis and jaundices of another etiology. Diagn Lab. 2001; 3: 43–5. [Ukrainian].
19. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin-Phenol reagents. J Biol Chem. 1951; 193: 265-75.
20. Dudok K, Starykovich L, Vlokh I, Dudok T, Grinchishin N., Sybirna N. Structural and functional peculiarities of haemoglobin and the blood erythrocyte enzymes activity of the rats at the duration of ethanol intoxication. Visn Lviv Univ. Series Biol. 2008; 47: 74-80. [Ukrainian].
21. Zahorodnyi M, Svintsitskyi I. Endothelial dysfunction in hypertension: current views on the causes and pathogenetic mechanisms, diagnosis and therapeutic strategies. Cardiology. 2013; 2:17-27. [Ukrainian].
22. Pefeiffer S, Gorren ACF, Pitters E, Schmidt K, Werner ER, Mayer B. Allosteric modulation of neuronal nitric oxide synthase by the pterin-site inhibitor 4- aminotetrahydrobiopterin. Biochem J. 1997; 328: 349 - 52.
23. Xia Y, Dawson VL, Dawson TM, Snyder SH, Zweier JL. Nitric oxide synthase generates superoxide and nitric oxide in arginine-depleted cells leading to peroxynitrite-mediated cellular injury. Proc Natl Acad Sci USA. 1996; 93(13): 6770-4.

Матеріал надійшов до редакції 12.11.2015