

## ВПЛИВ N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІНУ НА NO-СИНТАЗНИЙ ШЛЯХ ГЕНЕРАЦІЇ ОКСИДУ АЗОТУ В АОРТІ ТА СЕРЦІ ЩУРІВ ІЗ СТРЕПТОЗОТОЦИНІНДУКОВАНИМ ДІАБЕТОМ

Н. М. ГУЛА, Г. В. КОСЯКОВА, А. Г. БЕРДИШЕВ

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;  
e-mail: ngula@biochem.kiev.ua

*На моделі стрептозотоциніндукованого діабету досліджено вплив насиченого NAE – N-стеароїлетаноламіну (NSE) – на NO-синтазний шлях генерації оксиду азоту в тканинах аорти та серця щурів, а також на стан ендотеліязалежних реакцій гладеньких м'язів аорти. Показано, що розвиток захворювання супроводжується дисбалансом в системі синтезу оксиду азоту у тканинах та органах серцево-судинної системи, який полягає в активації індукційної ізоформи NO-синтази (iNOS), значному інгібуванні її конститутивної ізоформи та аргінази – ферменту, що конкурує за субстрат з NO-синтазою. Незважаючи на гіперпродукцію оксиду азоту, доступність його для клітин та тканин зменшується, що виявляється у значному зниженні ендотеліязалежних реакцій розслаблення аорти щурів із стрептозотоциніндукованим діабетом. Введення щурам із розвинутою формою цукрового діабету NSE спричинює інгібування активності iNOS та підвищення активності cNOS і аргінази у досліджуваних тканинах. Нормалізація процесів синтезу NO за дії NSE супроводжується відновленням судинних реакцій розслаблення, що свідчить про покращення функціонального стану ендотелію судин у щурів з експериментальним цукровим діабетом.*

*Ключові слова:* N-стеароїлетаноламін (NSE), оксид азоту (NO), NO-синтаза, аргіназа, поліаміни, цукровий діабет.

**N**-ацилетаноламіни (NAE) – це клас мінорних ліпідів, що входить до складу ендогенної канабіноїдної системи організму [1]. Представникам цього класу притаманний широкий спектр біологічної активності, зокрема для них показана протизапальна, антиоксидантна, мемраностабілізуюча, імуномодулююча, нейропротекторна та адаптогенна дія [2]. Найбільш вивченими є ненасичені представники цього класу (анандамід, 2-арахідоноїлгліцерол та ін.), біологічні ефекти яких реалізуються переважно через взаємодію з канабіноїдними рецепторами. Механізми дії насичених NAE (N-пальмітоїлетаноламін, N-стеароїлетаноламін), які не є агоністами канабіноїдних рецепторів, але виявляють канабіміметичні властивості, залишаються досі маловивченими. З літератури відомо, що значна кількість біологічних ефектів як ненасичених, так і насичених NAE реалізується через взаємодію останніх із системою оксиду азоту (NO) [3, 4]. Сьогодні доведено, що NO синтезується в організмі тварин та людини ферментативно, за участю сімейства NO-синтаз, і є одним із потужних біорегуляторів, той чи інший ефект якого визначається, передусім,

його концентрацією. Так, фізіологічна кількість NO необхідна для забезпечення процесів вазодилатації, нейротрансмісії, внутрішньоклітинної сигналізації та ін. Значне зростання вмісту цього метаболіту, спричинене активацією індукційної ізоформи NO-синтази, характерно для реалізації імунної відповіді, розвитку запалення та патологічних процесів, які супроводжуються оксидативним стресом. Показано, що дисбаланс у системі оксиду азоту, який виникає за багатьох патологій, сприяє розвитку ускладнень деяких захворювань, зокрема таких як цукровий діабет I типу.

Метою роботи було вивчити вплив насиченого NAE- N-стеароїлетаноламіну (NSE) – на біохімічні показники, що відповідають за NO-синтазний шлях генерації NO, а саме: активність конститутивної (cNOS), індукційної (iNOS) ізоформ NO-синтази, вміст стабільних метаболітів NO – нітрат- та нітрит-аніонів, а також активність аргінази та вміст сечовини, сумарних поліамінів в аорті та серці щурів із стрептозотоциніндукованим діабетом. Крім того, оцінити вплив NSE на ендотеліязалежні скорочувальні реакції гладеньких м'язів аорти щурів із цукровим діабетом.

### Матеріали і методи

У дослідженні використовували щурів-самців лінії Вістар з масою тіла 250–280 г. Цукровий діабет індукували одноразовим введенням тваринам розчину стрептозотоцину («Sigma», США), внутрішньочеревинно, з розрахунку 50 мг/кг маси тіла. Розвиток захворювання контролювали за зростанням вмісту глюкози у крові. Вміст останньої визначали о-толуїдиновим методом із використанням стандартних наборів реактивів для фотометричного визначення глюкози в біологічних рідинах («Філіст діагностика», Україна). Через 3 місяці після індукції діабету (стадія судинних ускладнень захворювання) щурів було поділено на 2 групи: перша – контрольна «Діабет» ( $n = 30$ ), тварини другої групи ( $n = 34$ ) отримували водну суспензію NSE per os із розрахунку 50 мг/кг маси тіла, протягом 10 днів. Окремо було виділено групу інтактного контролю ( $n = 21$ ). Після закінчення експерименту тварин забивали під нембуталовим наркозом. Для дослідження відбирали аорту та серце щурів.

Вміст нітрит-аніону ( $\text{NO}_2^-$ ) визначали в безбілкових аліквотах гомогенатів спектрофотометричним методом з використанням реактиву Гріса [5], а нітрат-аніону ( $\text{NO}_3^-$ ) – за допомогою бруцинового реактиву [6].

Сумарну активність NO-синтаз у гомогенатах аорти та серця щурів встановлювали за кількістю утвореного після інкубації нітрит-аніону ( $\text{NO}_2^-$ ), який визначали методом [5]. Склад інкубаційної суміші, об'ємом 1 мл, містив 50 мМ  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ -NaOH-буфер (pH 7,0), 1 мМ  $\text{MgCl}_2$ , 2 мМ  $\text{CaCl}_2$ , 1 мМ NADPH, 2,2 мМ L-аргініну та 0,2 мл проби, що містила 1–2 мг білка для тканини аорти та 5–8 мг для серцевої тканини. Час інкубації становив 60 хв. Для визначення активності iNOS до складу інкубаційної суміші замість  $\text{CaCl}_2$  для зв'язування ендogenous  $\text{Ca}^{2+}$  додавали EGTA до кінцевої концентрації 4 мМ. Активність cNOS розраховували як різницю активності сумарної NOS та iNOS. Активність аргінази визначали за кількістю сечовини, що утворилася внаслідок реакції, колориметричним методом із використанням диметилглюксиму [7]. Інкубаційна суміш для визначення активності аргінази містила 10 мМ L-аргініну, 5 мМ  $\text{NaHCO}_3$  (pH 9,5) та 0,1 мл проби [8]. Рівень поліамінів оцінювали за кількістю путресцину, вміст якого визначали за допомогою динітрофторбензену [9]. Результати виражали на мг білка, який визначали методом M. Bredford [10]. Дані обробляли статистично з використанням *t*-критерію Стьюдента.

Фізіологічні дослідження проводили на препаратах аорти щурів. Після декапітації у тварин вилучали грудну аорту, яку ретельно препарували під мікроскопом і нарізали на сегменти з урахуванням циркулярної орієнтації її гладеньком'язового шару (під кутом  $\sim 45^\circ$ ). Ширина такого кільцевого фрагмента не перевищувала 1 мм, маса – 0,5–0,7 мг. Препарати поміщали у проточну термостатовану (35–36 °C) камеру, яка була заповнена буферним розчином Кребса такого складу (ммоль/л):  $\text{NaCl} - 133,0$ ;  $\text{KCl} - 4,7$ ;  $\text{NaHCO}_3 - 16,3$ ;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 - 1,38$ ;  $\text{CaCl}_2 - 2,5$ ;  $\text{MgCl}_2 - 1,05$ ; глюкоза – 7,8; трис – 10,0, pH 7,4. У камері препарат піддавали пасивному розтягуванню силою 1,6–1,8 мН і витримували в такому стані 30–60 хв. Скорочувальну активність гладеньких м'язів грудного відділу аорти реєстрували за допомогою механоелектричного перетворювача 6MX1C у режимі, що наближався до ізометричного. Активацію гладеньких м'язів здійснювали додаванням до буферного розчину норадреналіну ( $2 \cdot 10^{-5}$  моль/л, «Sigma», США). Сталий рівень цього скорочення приймали за 100%. Від нього проводили розрахунки змін амплітуди розслаблення гладеньких м'язів на ендотелійзалежний агоніст – ацетилхолін йодид,  $10^{-5}$  моль/л, «Sigma», США [11].

### Результати та обговорення

Виникнення цукрового діабету, як відомо, спричинене руйнуванням інсулінсекретуючих клітин підшлункової залози. Показано, що в механізмах ушкодження цих клітин бере участь NO. Стрептозотоцинова модель цукрового діабету у щурів відтворює зумовлену оксидом азоту загибель клітин, оскільки стрептозотозин є донатором NO.

Як видно з даних, наведених на рис. 1, у тварин після введення стрептозотоцину відбувається поступове зростання вмісту глюкози у крові, відповідно зменшується маса тіла (дані не представлені), що свідчить про розвиток цукрового діабету.

Численними експериментальними дослідженнями встановлено, що дисбаланс у системі синтезу NO при діабеті відбувається не тільки у клітинах підшлункової залози, але й у клітинах та органах кардіоваскулярної системи, що зумовлює розвиток судинних ускладнень захворювання.

У табл. 1 наведено результати досліджень активності конститутивної та індукційної ізоформ NO-синтази в аорті та серці щурів. З цих даних видно, що при діабеті відбувається значне зростання активності iNOS і знижен-

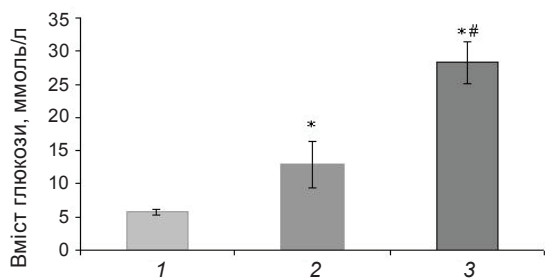


Рис. 1. Вміст глюкози у крові щурів у динаміці розвитку цукрового діабету: 1 – вихідний стан; 2 – через 20 днів після індукції діабету (проміжний стан); 3 – через 90 днів після індукції діабету. \* Зміни вірогідні ( $P < 0,05$ ) відносно значень у вихідному стані; # зміни вірогідні ( $P < 0,05$ ) відносно значень у проміжному стані

ня активності cNOS порівняно з інтактним контролем. Введення діабетичним тваринам суспензії NSE зумовлює значне інгібування активності iNOS і сприяє відновленню активності cNOS.

У табл. 2 наведено дані щодо визначення вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту – нітрит ( $\text{NO}_2^-$ ) та нітрат ( $\text{NO}_3^-$ ) аніонів. При діабеті в тканинах аорти щурів завдяки значній активації iNOS продукується надмірна кількість  $\text{NO}_2^-$ , в той час як вміст  $\text{NO}_3^-$  дещо знижується порівняно з контролем. У серцевій тканині спостерігається зниження вмісту як нітрит-, так і нітрат-аніонів. Введення NSE сприяє подальшому зниженню рівня  $\text{NO}_2^-$  та достовірному зростанню вмісту  $\text{NO}_3^-$ .

Під час дослідження не було виявлено істотних змін щодо активності аргінази в серці щурів із цукровим діабетом, тоді як в аорті спостерігається зниження активності цього ферменту (табл. 3). Як у тканині серця, так і аорти при діабеті відбувається зменшення

вмісту сечовини, а вміст поліамінів у тканині серця істотно не змінюється, проте в аорті відбувається значне зниження рівня цих метаболітів. У разі введення NSE було виявлено тенденцію до зростання активності аргінази в тканині аорти, а також вірогідне збільшення вмісту сечовини, і спостерігається зростання рівня поліамінів в серці та аорті щурів.

Результати фізіологічних досліджень наведено на рис. 2. Як видно, здатність до розслаблення гладеньких м'язів аорти щурів із цукровим діабетом під впливом ацетилхоліну після попереднього скорочення, спричиненого норадреналіном, значно знижується (приблизно на 70% порівняно з інтактним контролем). Введення NSE сприяє відновленню реакції на ацетилхолін гладеньких м'язів аорти щурів.

Питання щодо ролі оксиду азоту та його похідних у розвитку цукрового діабету і його ускладнень широко дискутується в сучасній літературі. На сьогодні відомо, що в нормі NO опосередковує або мімікрує значну кількість ефектів інсуліну, зокрема стимуляцію транспортування та окислення глюкози, кардіопротекторний ефект за ішемічно-реперфузійних ушкоджень та ін. [12, 13]. Показано, що зв'язування інсуліну з рецепторами супроводжується активацією синтезу NO ендотеліальною ізоформою NO-синтази. Висловлюють припущення щодо месенджерної ролі NO в реалізації ефектів інсуліну [14].

Сьогодні вважають загальноприйнятим, що основним механізмом, за яким відбувається деструкція інсулінсекретуючих клітин підшлункової залози і, відповідно, розвиток цукрового діабету є аутоімунний процес, що супроводжується дисбалансом у системі оксиду азоту. Цитокіни, що продукуються імункомпетентними клітинами (як правило  $\text{IL1}_\beta$  та  $\text{IFN}\gamma$ ), спричинюють індукцію iNOS

Таблиця 1. Активність cNOS та iNOS у тканинах аорти та серця щурів

Показники	Тканина	Контроль	Діабет	Діабет + NSE
Активність cNOS, пмоль $\text{NO}_2^-$ /хв на 1 мг білка	серце	5,60 ± 0,64 n = 21	0,66 ± 0,08* n = 30	5,11 ± 0,7# n = 34
	аорта	82,64 ± 11,42 n = 10	10,13 ± 1,29* n = 15	187,84 ± 13,2# n = 15
Активність iNOS, пмоль $\text{NO}_2^-$ /хв на 1 мг білка	серце	1,8 ± 0,2 n = 21	5,72 ± 0,76* n = 30	2,22 ± 0,21# n = 34
	аорта	43,35 ± 5,98 n = 10	178,15 ± 14,23* n = 15	0,2 ± 0,034# n = 15

Тут, а також у табл. 2 і 3: \* зміни вірогідні відносно значень у групі "Контроль"; # зміни вірогідні відносно значень у групі "Діабет"

Таблиця 2. Вміст стабільних метаболітів NO у тканині аорти щурів

Показники	Тканина	Контроль	Діабет	Діабет + NSE
Вміст NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , пмоль/мг білка	серце	61,98 ± 3,94 n = 21	40,40 ± 2,14*	23,68 ± 3,12#
	аорта	882,01 ± 59,75 n = 10	2675,98 ± 167,03*	992,93 ± 27,00#
Вміст NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , нмоль/мг білка	серце	39,32 ± 3,21 n = 21	29,09 ± 2,00	58,21 ± 6,33#
	аорта	707,396 ± 20,2 n = 10	484,38 ± 17,80*	705,51 ± 20,95#

Таблиця 3. Активність аргінази, вміст сечовини та поліамінів у тканині аорти та серця щурів

Показники	Тканина	Контроль	Діабет	Діабет + NSE
Активність аргінази, нмоль сечовини/хв на 1 мг білка	серце	3,14 ± 0,29	2,88 ± 0,21	3,10 ± 0,46
	аорта	96,46 ± 4,79	80,11 ± 5,35*	91,60 ± 5,04#
Вміст сечовини, мкмоль/мг білка	серце	165,99 ± 4,28	126,66 ± 4,88*	132,44 ± 5,83
	аорта	208,87 ± 9,73	164,12 ± 7,20*	217,60 ± 10,53#
Вміст поліамінів, нмоль/мг білка	серце	28,51 ± 4,39	26,59 ± 2,47	43,36 ± 3,33*#
	аорта	515,66 ± 52,36	283,19 ± 8,96*	311,03 ± 9,29*#

в β-клітинах підшлункової залози. Надмірна кількість NO, що генерується цією ізоформою NO-синтази, бере участь у руйнуванні ядерної ДНК інсулінсекретуючих клітин [15]. Подібні зміни в системі оксиду азоту, за даними літератури і за результатами власних досліджень (табл. 1), відбуваються у клітинах та органах кардіоваскулярної системи, що є одним із факторів розвитку ускладнень діабету. Зниження активності cNOS і відповідна активація iNOS на тлі оксидативного стресу, який супроводжує розвиток цієї патології, значно зменшують біодоступність NO, оскільки останній швидко

вступає в реакції пероксидного окислення з утворенням низки вільнорадикальних сполук. З літератури відомо, що при діабеті не відбуваються зміни в експресії гена cNOS. Однією з причин зниження активності ферменту є дисоціація останнього під впливом пероксинітриду (ONOO<sup>-</sup>), який утворюється в умовах гіперпродукції NO, завдяки активації iNOS [16]. Таким чином, інгібування активності iNOS за дії NSE сприяє відновленню активності cNOS, а також зменшенню ушкоджуючого впливу NO та ONOO<sup>-</sup> на клітини ендотелію судин. В наших дослідженнях привертають увагу дані щодо зниженого вмісту нітрит-аніону у тканині серця у разі гіперпродукції NO (табл. 2). Аналіз даних літератури свідчить про те, що таке зниження вмісту NO<sub>2</sub><sup>-</sup> може бути обумовлено утворенням вільнорадикальних похідних оксиду азоту або процесами депонування NO, наприклад, у вигляді нітрозотіолів та ін. [17]. Відновлення балансу в системі синтезу NO під час введення NSE сприяє стабілізації реактивних форм оксиду азоту у вигляді нітрат-аніону, що підтверджується зростанням вмісту цього метаболіту.

Відомо, що попередником синтезу оксиду азоту є амінокислота L-аргінін, метаболізм якої здійснюється за двома основними шляхами: окисним (синтез NO) та неокисним — гід-

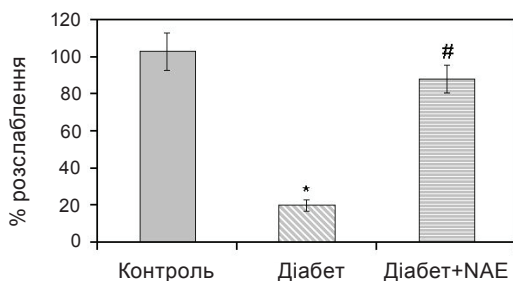


Рис. 2. Ацетилхолінова реакція гладеньких м'язів аорти щурів. \* Зміни вірогідні ( $P < 0,05$ ) відносно значень у контролі; # зміни вірогідні ( $P < 0,05$ ) відносно значень при діабеті

ролітичне розщеплення за участю аргінази з утворенням сечовини та L-орнітину. Останній є попередником синтезу поліамінів, які, за даними літератури, є інгібіторами NO-синтаз [18, 19]. Отже, аргіназа як конкуруючий за субстрат фермент та метаболіти подальшого перетворення її продуктів – поліаміни – здатні істотно впливати на активність NO-синтазної реакції. Результати наших досліджень (табл. 3) показали, що при цукровому діабеті у тканинах серця та аорти щурів відбувається пригнічення аргіназного шляху перетворення L-аргініну (найбільш виразно в аорті щурів), про що свідчать дані щодо активності аргінази, вмісту сечовини та поліамінів у вищезгаданих тканинах. За даними літератури, зниження активності аргінази та вмісту поліамінів при діабеті відбувається і у клітинах підшлункової залози [20]. На нашу думку, пригнічення аргіназної реакції пов'язано з вичерпанням пулу L-аргініну внаслідок активації iNOS, оскільки застосування в інших дослідженнях екзогенного L-аргініну сприяє зростанню вмісту поліамінів у панкреатичній тканині. Результати наших досліджень показали, що інгібування iNOS за дії NSE сприяє нормалізації активності аргінази, вмісту сечовини та зростанню вмісту поліамінів в аорті та серці щурів із цукровим діабетом. Відомо, що поліаміни відіграють важливу роль у процесах репарації ушкоджених тканин [21], отже, підтримання фізіологічних концентрацій цих сполук необхідно особливо на стадії ускладнень цукрового діабету, коли деструктивних змін зазнають системи органів.

Результати нашого дослідження показали, що NSE сприяє відновленню судинних реакцій на ацетилхолін у щурів із стрептозотиніндукованим діабетом. Ацетилхолін, як відомо, є агоністом мускаринових рецепторів. Він зумовлює розслаблення гладеньких м'язів цілісного ендотелію, оскільки цей ефект опосередкований дією NO, який синтезується ендотелієм судин. Таким чином, відновлення ендотелійзалежних реакцій розслаблення гладеньких м'язів аорти щурів із стрептозотининовим діабетом у разі введення NSE є свідченням нормалізації NO-синтазного шляху генерації оксиду азоту в ендотелії, що полягає у встановленні балансу активності конститутивної, індукційної ізоформ NO-синтази та аргінази.

Автори висловлюють щиру подяку академіку НАН України В. Ф. Сагачу за надану можливість проведення фізіологічних досліджень.

### **ВЛИЯНИЕ N-СТЕАРОИЛЭТАНОЛАМИНА НА NO-СИНТАЗНЫЙ ПУТЬ ГЕНЕРАЦИИ ОКСИДА АЗОТА В АОРТЕ И СЕРДЦЕ КРЫС СО СТРЕПТОЗОТОЦИН- ИНДУЦИРОВАННЫМ ДИАБЕТОМ**

*Н. М. Гулая, Г. В. Косякова,  
А. Г. Бердышев*

Институт биохимии им. А. В. Палладина  
НАН Украины, Киев;  
e-mail: ngula@biochem.kiev.ua

На модели стрептозотининдуцированного диабета исследовано влияние насыщенного NAE – N-стеароилэтанолamina (NSE) – на NO-синтазный путь генерации оксида азота в тканях аорты и сердца крыс, а также на состояние эндотелийзависимых реакций гладких мышц аорты. Показано, что развитие заболевания сопровождается дисбалансом в системе синтеза оксида азота в тканях органов сердечно-сосудистой системы, который заключается в чрезмерной активации индуцибельной изоформы NO-синтазы (iNOS), значительном ингибировании ее конститутивной изоформы и аргиназы – фермента, конкурирующего за субстрат с NO-синтазой. Несмотря на гиперпродукцию оксида азота, доступность его для клеток и тканей уменьшается, что проявляется в значительном снижении эндотелийзависимых реакций расслабления аорты диабетических крыс. Введение крысам с развитой формой сахарного диабета NSE вызывает ингибирование активности iNOS, что способствует повышению активности cNOS и аргиназы в исследованных тканях. Нормализация процессов синтеза NO под действием NSE сопровождается восстановлением сосудистых реакций расслабления, что свидетельствует об улучшении функционального состояния эндотелия сосудов у крыс с экспериментальным сахарным диабетом.

**Ключевые слова:** N-стеароилэтанол-амин (NSE), оксид азота (NO), NO-синтаза, аргиназа, полиамины, сахарный диабет.

**THE EFFECTS  
OF N-STEAROYLETHANOLAMINE  
ON THE NO-SYNTASE WAY OF NO  
GENERATION IN THE AORTA AND  
HEART OF STREPTOZOTOCIN-  
INDUCED DIABETIC RATS**

*N. M. Gulaya, G. V. Kosiakova,  
A. G. Berdyshev*

Palladin Institute of Biochemistry, National  
Academy of Science of Ukraine, Kyiv;  
e-mail: ngula@biochem.kiev.ua

**S u m m a r y**

The aim of the presented experiments was to study the influence of saturated NAE – N-stearoylethanolamine (NSE) on the NO synthesis by NO-synthases in aorta and heart tissues of rats with developmental (12-week) streptozotocin-induced (50 mg/kg of body weight) diabetes. Also we evaluated the state of endothelium-dependent relax reactions of aorta smooth muscles.

It was shown that the development of diabetes is accompanied with disbalance of NO-synthesis wich consist in inducible NOS (iNOS) activation and inhibition of constitutive NOS (cNOS) and arginase activities. The aorta smooth muscle endothelium-dependent relax reactions were decreased in diabetic rats. The NSE administration to rats with development streptozotocin-induced diabetes resulted in inhibition of iNOS activity and elevation of cNOS and arginase activities in these tissues. Normalization of NO-synthesis under NSE action was accompanied with restoration of aorta smooth muscle endothelium-dependent relax reactions in diabetic rats.

**Key words:** N-stearoylethanolamine (NSE), nitric oxide (NO), NO-synthase, arginase, polyamines, diabetes.

1. *Хаспеков Л. Г., Бобров М. Ю.* // *Нейрохимия.* – 2006. – **23**, № 2. – С. 85–105.
2. *Schmid H. H. O., Schmid P. C. and Natarajan V.* // *Prog. Lipid. Res.* – 1990. – **29**. – P. 1–43.

3. *Deutsch D., Goligorsky M., Schmid P. et al.* // *J. Clin. Invest.* – 1997. – **100**. – P. 1538–1546.
4. *Stefano G., Szlet M., Magazine H., Bilfiner T.* // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 1998. – **31**. – P. 813–820.
5. *Green L. C., David A. W., Glogowski J. et al.* // *Anal. Biochem.* – 1982. – **126**, N 1. – P. 131–138.
6. *Bank N. R., Aynedjian H. S.* // *Kidney Int.* – 1993. – **43**. – P. 1306–1312.
7. *Колб В. Г., Калашикова В. С.* *Клиническая биохимия.* – Минск. Беларусь. – 1976. – 311 с.
8. *Garganta C. L., Bond J. S.* // *Anal. Biochem.* – 1982. – **126**, N 1. – P. 131–138.
9. *Сяткин С. П., Березов Т. Т.* // *Вопр. мед. химии.* – 1980. – **26**, № 4. – С. 561–564.
10. *Bradford M. M.* // *Anal. Biochem.* – 1976. – **72**. – P. 248–254.
11. *Ткаченко М. М., Сагач В. Ф., Базілюк О. В. та ін.* // *Фізіол. журн.* 2005. – **51**, № 3. – С. 32–38.
12. *Young M. E., Radda G. K., Leighton B.* // *Biochem. J.* – 1997. – **322**. – P. 223–238.
13. *Gao F., Gao E., Yue T. L. et al.* // *Circulation.* – 2002. – **105**(12). – P. 1497–502.
14. *Kahn N. N., Acharya K., Bhattacharya S. et al.* // *IUBMB Life.* – 2000. – **49**. – P. 440–450.
15. *Зак К. П., Малиновская Т. Н., Тронько Н. Д.* *Иммунитет у детей, больных сахарным диабетом.* – К.: Книга плюс, 2002. – 111с.
16. *Zou M. N., Cochen R., Ullrich V.* // *Endothelium.* – 2004. – **11**, N 2. – P. 89–97.
17. *Arnelle D. R., Stamler J. S.* // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1995. – **318**, N 2. – P. 279–285.
18. *Blachier F., Mignon A., Soubrane O.* // *Nitric Oxide.* – 1997. – **1**(3). – P. 268–272.
19. *Hu J., Mahmoud M. I., el-Fakahany E. E.* // *Neurosci.Lett.* – 1994. – **175**(1–2). – P. 41–5.
20. *Li H., Meininger C. J., Hawker J. R. et al.* // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2001. – **280**. – P. E75–E82.
21. *Morrison R. F., Seidel E. R.* // *Cardiovasc. Res.* – 1995. – **29**. – P. 841–847.

Отримано 16.07.2007