

О.Л.Апихтіна¹, А.В.Коцюруба², к.б.н.,
І.М.Андрюшина¹, к.б.н., О.Г.Лампека¹, Ю.П.Коркач²

ПРОДУКЦІЯ ОКСИДУ АЗОТУ В ПЕЧІНЦІ ЗА УМОВ ВПЛИВУ АЦЕТАТУ СВИНЦЮ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

1. – Інститут медицини праці АМН України, м.Київ;
2. – Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, м.Київ

Печінка відіграє визначну роль у проміжному обміні амінокислот та вуглеводів, синтезі і розпаді білків і глікопротеїнів, регулюванні обміну жирів та холестерину, метаболізмі і руйнуванні гормонів, лікарських речовин та ксенобіотиків [1]. Функціонування печінки визначається складними механізмами взаємодії гетерогенних субпопуляцій клітин, які формують печінку. Вони включають в себе гепатоцити (паренхіматозні клітини), макрофаги (клітини Купфера), клітини жовчних каналів, тканинні базофіли (клітини Іто), а також ендотеліальні клітини, які вистилають синусоїди. Всі ці клітини здатні генерувати оксид азоту (NO), який приймає участь у більшості метаболічних процесів, що відбуваються в печінці [2, 3]. Зокрема, у досліджах *in vitro* показано здатність NO пригнічувати білковий синтез, а також справляти регулюючий вплив на гомеостаз глюкози, завдяки пригніченню індукваного глюкагоном глюконеогенезу у печінці тварин [2]. Припускають, що NO приймає участь у регуляції міжклітинної взаємодії в печінці, неспецифічній імунній відповіді, а також у процесах утворення та секреції жовчі [3].

NO здатний легко зв'язуватись з простетичною гемовою групою ферментів і може, таким чином, впливати на їх активність. Це стосується, зокрема, гемвісних білків типу цитохрому P450, які приймають участь у дезактивації та метаболізмі лікарських речовин, ксенобіотиків, продуктів метаболізму [2]. За фізіологічних умов оксид азоту проявляє цитопротекторну дію, забезпечує розслаблення судин у печінці, запобігає розвитку тромбозу, висту-

пає у якості антиоксиданта, проте при надлишковому його утворенні виявляє цитотоксичну дію.

Результати експериментальних та клінічних досліджень свідчать про істотну роль змін в системі оксиду азоту у патогенезі цирозу печінки. Гемодинамічні порушення при цирозі можуть бути спричинені гіперпродукцією NO внаслідок активації індукцибельної ізоформи NO-синтази ендотеліальними та екзотоксинами [4]. Про посилення продукції NO при цирозі свідчить зростання рівня нітрат-аніону та cGMP в сечі хворих [2].

Оксид азоту у фізіологічних умовах виконує протипухлинну дію, приймає участь на всіх етапах канцерогенезу. Проте у разі значної гіперпродукції NO можлива реалізація його мутагенної дії. Це може бути пов'язано із нітрозативним дезамінуванням, розривом ланцюгів ДНК під дією нітрит-аніону, окислювальним дезамінуванням під дією пероксинітриду, модифікацією ДНК метаболічно активними N-нітрозозамінами [2]. Окрім того було показано пригнічення біологічної трансформації токсичних речовин, у тому числі генотоксикантів, за умов значної індукції синтезу оксиду азоту в печінці [5].

На сьогодні відсутні наукові дані щодо впливу важких металів, зокрема свинцю, на продукцію NO в печінці. Разом з тим, відомо, що свинець здатний активно накопичуватись у даному органі, порушувати мікроциркуляцію та викликати морфо-функціональні зміни [6]. Так показано, що у мишей після 30-денної експозиції ацетатом свинцю у дозі 10 мг/кг спостерігались значне ураження стінок кровоносних судин з роз-

витком стазів та сладжів, а також проліферація сполучної тканини як навколо печінкових часточок, так і навколо гемокапілярів всередині часточок з формуванням фіброзу [7].

Метою даного дослідження було встановити вплив свинцю на показники продукції та обміну оксиду азоту в печінці білих щурів на фоні експозиції ацетатом свинцю.

Методи дослідження.

Дослідження проводили на статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар, які утримувались у звичайних умовах віварію із вільним доступом до питної водогінної води. Тварини були розподілені на дві групи: контрольна і дослідна, по 30 у кожній групі. Щурам дослідної групи щоденно вводили внутрішньочеревинно ацетат свинцю у дозі 1,53 мг/кг у фізіологічному розчині протягом 1 міс (28 введень), тваринам контрольної групи вводили фізіологічний розчин. Після припинення введення половину тварин знеживлювали під легким ефірним наркозом шляхом декапітації та проводили дослідження, а решту утримували в умовах віварію ще 1 міс, після чого їх теж знеживлювали.

Концентрацію свинцю у крові та органах визначали методом атомно-абсорбційної спектроскопії в полум'ї [8].

Рівень загальних SH-груп в гомогенаті печінки оцінювали з використанням реактиву Елмана [9], рівень низькомолекулярних SH-груп визначали після осадження трихлорцтовою кислотою. За різницею низькомолекулярних і загальних SH-груп розраховували кількість високомолекулярних SH-груп. Вміст пероксиду водню (H₂O₂) визначали спектрофотометрично після додавання аліквоти проб до розчину йодиду калію (0,1 моль) із надлишком лактопероксидази (50 нмоль) у фосфатному буфері (0,05 моль) при довжині хвилі 353 нм [10]. Рівень генерації супероксид-аніону у пробах оцінювали по зміні екстинції при 550 нм за окисленням цитохрому C у 10 ммоль тріс-буфері після інкубації сумішей при 37 °C протягом 30 хв [11]. Визначення рівнів генерації ОН-радикалу проводили в інкубаційній суміші по приросту малонового діальдегіду, визначаючи екстинцію при 532 нм. Інкубаційну суміш готували шляхом

додавання до проби 20 ммоль дезоксирибози, 1 ммоль H_2O_2 , 20 ммоль натрійфосфатного буферу; після інкубації протягом 60 хв при $37^\circ C$ додавали 0,5 мл 1% розчину трихлороцтової кислоти і витримували 20 хв на киплячій водяній бані та охолоджували. Вміст OH-радикалу, що генерувався за 60 хв інкубації, виражали в умовних одиницях $\Delta E \cdot 10^2$ за 60 хв на 1 мг білку проби [12]. Вміст нітрит-аніону (NO_2^-) визначали в безбілкових і в надосадових аліквотах проб після визначення активності NO-синтази у колориметричній реакції за допомогою реактиву Гріса методом Гріна [13]. Вміст нітрат-аніону (NO_3^-) визначали спектрофотометричним методом [14] у модифікації з бруцином. Активність сумарної NOS визначали за вмістом новоутвореного нітрит-аніону колориметричним методом [15]. Інкубаційна суміш складалась з 50 ммоль фосфатного буфера (pH 7,4), 1,25 ммоль $CaCl_2$, 1 ммоль NADPH, 1 ммоль L-аргініну. Для визначення iNOS в інкубаційну суміш замість $CaCl_2$ додавали 0,1 ммоль EDTA. Розрахунок активності cNOS проводили шляхом віднімання від показника активності сумарної NOS показника активності iNOS. Низькомолекулярні нітрозотіоли (НМТ) визначали в безбілковій кислоторозчинній фракції проб за методикою визначення NO_2^- після інкубації протягом 3 хв в присутності катіонів Hg^{2+} . Визначення високомолекулярних нітрозотіолів проводили за методикою визначення NO_2^- в безбілкових аліквотах після гідролізу проб протягом 18 год в присутності катіонів Hg^{2+} [16]. Визначення активності нітратредуктази проводили за змінами вмісту субстрату нітрат-аніону в фосфатному буфері (pH 7,4) в присутності надлишку NADH [17]. Активність аргінази визначали спектрофотометричним методом за приростом вмісту сечовини [18]. Концентрацію сечовини оцінювали в безбілкових пробах колориметричним методом, використовуючи набір реактивів фірми LACHEMA. Вміст загального білку в пробах визначали загальновідомим методом Бредфорда.

Результати та їх обговорення.

Концентрація свинцю в печінці шурів після 28 введень ацетату свин-

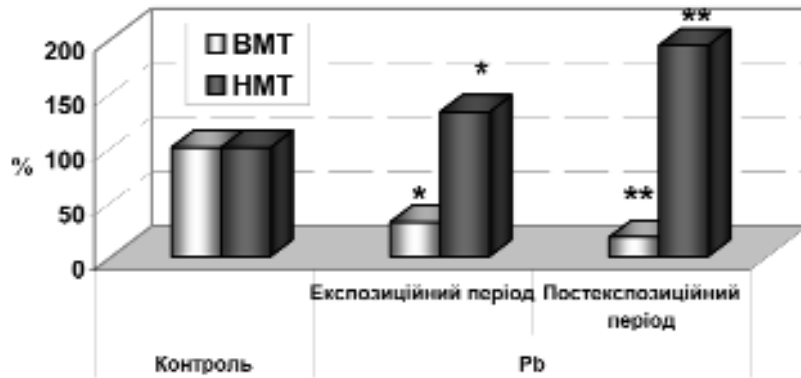


Рис. 1. Рівень низько- (HMT) та високомолекулярних (BMT) тіолів в печінці шурів (у % по відношенню до контролю).

Примітки: на цьому рисунку, рис 2,3 та в таблиці

*. — $p < 0,05$ у порівнянні з контролем;

** — статистично достовірна різниця між експозиційним і постекспозиційним періодом.

цю зросла у 3,6 рази порівняно з контрольними показниками ($0,98 \pm 0,05$ та $3,56 \pm 0,25$ мкг/мг, відповідно), у постекспозиційному періоді концентрація свинцю знизилась і перевищувала контрольні рівні у 1,5 рази ($0,98 \pm 0,08$ та $1,45 \pm 0,32$ мкг/мг, відповідно), що свідчить про поступове виведення даного металу із печінки шурів після припинення експозиції.

У печінці шурів після експозиції свинцем статистично вірогідно зростає концентрація низькомолекулярних тіолів (небілкових SH-груп) та знижується концентрація високомолекулярних тіолів (білкових SH-груп), що особливо виражено у постекспозиційному періоді (рис.1). Зниження рівня високомолекулярних тіолових сполук у печінці експонованих шурів можна пояснити тим, що свинець є типовою тіоловою отрутою. — він блокує SH-групи в амінокислотах, особливо тих, які входять до складу білків, викликаючи при цьому порушення структури та зміни їх функціональної активності. Окрім того, зниження рівня білкових SH-груп можливе внаслідок перетворення сульфгідрильних груп в дисульфідні у разі взаємодії із активними формами кисню та внаслідок утворення нітрозотіолів (RS-NO) за їх нітрозилування активними метаболітами азоту (АМА) [19].

Глутатіон складає близько 90-95% загальної кількості низькомолекулярних тіолових сполук [19], приймає участь у детоксикації ор-

ганізму. При надходженні в організм певних токсичних речовин активно підвищується його синтез і зростає рівень в крові та органах. Можливо, і в нашому випадку зростання рівня низькомолекулярних сполук, що містять SH-групи, обумовлене саме підвищенням утворенням глутатіону за дії свинцю або ж, навпаки, за рахунок підвищення денатурації білкових молекул, яке має місце навіть за дії відносно низьких доз токсичних речовин, в тому числі і сполук свинцю [20, 21].

Підвищена продукція активних форм кисню (АФК), порушення прооксидантно-антиоксидантного статусу і, як наслідок, розвиток оксидативного стресу є одним із основних механізмів у розвитку свинцевої інтоксикації. АФК відіграють важливу роль у перебігу багатьох фізіологічних та патологічних процесів в організмі, у тому числі у обміні оксиду азоту.

У печінці шурів, яким вводили ацетат свинцю, відразу після припинення експозиції спостерігали значне зростання рівня пероксиду водню та генерації супероксид-аніону і гідроксил-радикалу порівняно із відповідними показниками у контрольній групі шурів. Так, швидкість утворення супероксид-аніону перевищували контрольні показники у 13,5 разів ($1,87 \pm 0,16$ та $25,4 \pm 2,21$ нмоль/мг білку \cdot хв, відповідно), гідроксил-радикалу. — у 12 разів ($4,9 \pm 0,3$ та $59,16 \pm 4,4$ о.о.), а вміст пероксиду водню. — у 19,4 рази ($2,58 \pm 0,41$ та $50,06 \pm 10,92$ пмоль/мг.

білку•хв.). Ці дані свідчать про істотне підвищення утворення кисневих радикалів під дією свинцю, що може призвести до розвитку оксидативного стресу в організмі дослідних тварин та вплинути на перебіг багатьох біохімічних процесів, зокрема, обміну оксиду азоту в організмі.

Через 1 міс після припинення експозиції виявлено суттєве зниження рівня даних показників, які, проте, перевищували контрольні значення: утворення супероксид-аніону — у 4,4 рази ($2,68 \pm 0,5$ та $11,86 \pm 1,91$ нмоль/мг білку•хв, відповідно), вміст пероксиду водню. — у 3,9 рази ($2,98 \pm 0,19$ та $11,74 \pm 0,83$ пмоль/мг білку), утворення гідроксил-радикалу. — у 3,1 рази ($4,82 \pm 0,38$ та $14,76 \pm 0,65$ у.о.). У постекспозиційному періоді тенденція до зниження рівня генерації активних кисневих радикалів може розглядатись як прояв компенсаторних реакцій, можливо, за рахунок активації антиоксидантних систем організму.

Оксид азоту синтезується в організмі із амінокислоти L-аргініну трьома основними ізоформами синтази оксиду азоту (NOS, NO-синтаза): двома конститутивними — нейрональною (nNOS) і ендотеліальною (eNOS) і однією індукційною (iNOS). Для активної діяльності NO-синтази необхідні міцно зв'язаний гем, тетрагідробіоптерин (BH_4), флавінові нуклеотиди (FAD, FMN), NADPH і кальмодулін [22].

Конститутивні ізоформи є Ca^{2+}/CaM -залежними і синтезують NO у порівняно невеликих кількостях протягом кількох секунд після їх активації завдяки транзитній асоціації з кальмодуліном (CaM) при підвищенні концентрації іонів кальцію в клітині. Ці ізоформи регулюються кальціємобілізуючими гормонами, що запускають синтез NO для опосередкування швидких реакцій, таких, як вазодилатація чи нейротрансмісія [22]. На відміну від конститутивних ізоформ активність індукційної NOS не залежить від іонів Ca^{2+} . Вважають, що вона не знаходиться постійно в клітині, а синтезується при патологічних станах після стимуляції цитокінами (γ -інтерферон, $L-1\beta$, ФНП- α) чи ліпополісахаридами, продукуючи NO протягом тривалого часу і в кількостях, які перевищують в тисячу разів продукцію оксиду азоту в нормі [23].

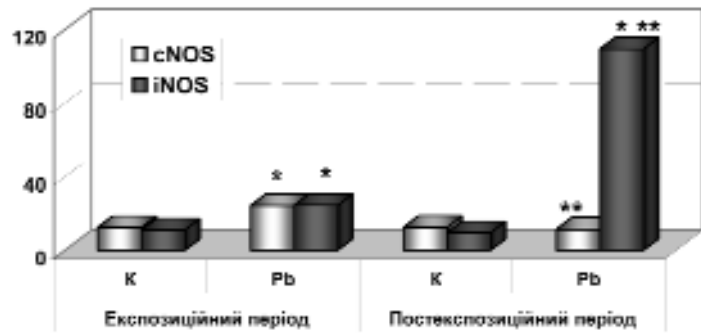


Рис. 2. Зміна активності конститутивної (cNOS) та індукційної (iNOS) ізоформ NO-синтази в печінці щурів, експонованих свинцем (пмоль/хв•мг білку).

Оксид азоту у даному випадку проявляє первинний цитотоксичний ефект, бактерицидну і пухлиноруйнуючу дію, що призводить до пошкодження тканин при імунологічних порушеннях.

У гомогенаті печінки щурів після 28 введень ацетату свинцю підвищувалась активність конститутивної ізоформи NO-синтази (рис. 2), що можна розглядати як прояв компенсаторно-адаптаційної реакції на початковій стадії свинцевої інтоксикації. У постекспозиційному періоді в печінці тварин дослідної групи спостерігалось зниження активності даної ізоформи до рівня контрольного.

Активність індукційної NO-синтази у печінці дослідних тварин після введення ацетату свинцю вірогідно підвищувалась у першому періоді досліджень та істотно зростає (у 10 разів) у постекспозиційному періоді (рис. 2), що може бути пов'язано із стимуляцією синтезу iNOS або із посттрансляційною активацією даної ізоформи ферменту при свинцевій інтоксикації. Ці дані підтверджуються результатами досліджень інших авторів, де було виявлено методом імуноблотингу зростання кількості саме індукційної ізоформи NO-синтази, а також підвищення її активності в аорті та нирках дослідних тварин при дії сполук свинцю [24, 25].

Прозапальні цитокіни, наприклад інтерферон- γ , інтерлейкін- $1-\beta$ та ін., можуть діяти як тригери, які переключають синтез NO із конститутивної ізоформи NO-синтази на індукційну. Індукція генів під дію може відбуватись в результаті активації фактора транскрипції NFkB. Важливу роль в активації да-

ного фактора відіграють вільні радикали кисню і азоту, кальцій, цитокини, інтерлейкіни, TNF- α [26]. Таким чином, вільні радикали можуть бути однією із причин активації індукційної NO-синтази та гіперпродукції NO.

Оксид азоту, синтезований конститутивною NOS, відповідальний за забезпечення нормального кровотоку та міжклітинної взаємодії, у той час як NO, що продукується індукційною NOS, може бути причетним до пошкодження печінки [2]. Так у хворих на алкогольний цироз печінки, вірусний гепатит та холестази не спостерігалось істотних змін активності cNOS у тканинах печінки, проте суттєво зростає активність iNOS [3].

У окисненованих біологічних системах NO являє собою дуже нестійку сполуку і швидко спонтанно окислюється, утворюючи іон нітриту (NO_2^-). В присутності гемового Fe^{2+} (наприклад, в оксигемоглобіні) деяких інших перехідних металів NO_2^- окислюється ферментативно в більш стабільний іон нітрату (NO_3^-). Окрім того оксид азоту може взаємодіяти із SH-групами низько- та високомолекулярних тіолів з утворенням нітрозотіолів. Завдяки нітрат- і нітрит-редуктазним реакціям нітрати і нітрити можуть послідовно відновлюватись до оксиду азоту, завершуючи процес обміну оксиду азоту в так званому циклі оксиду азоту [22]. Таким чином, стабільні окислені метаболіти оксиду азоту (NO_2^- та NO_3^-) виконують в організмі роль депо NO.

У гомогенаті печінки експонованих свинцем щурів, порівняно із показниками тварин контрольної групи, спостерігали зростання пулів

нітрит-аніону, високо- та низькомолекулярних нітрозотіолів, що було особливо виражено у постекспозиційному періоді (рис.3). Такі зміни, поряд зі зростанням активності iNOS, можуть свідчити про підвищену продукцію оксиду азоту в печінці дослідних тварин за умов впливу свинцю.

Підвищене нітрозилування низько- та високомолекулярних тіолів може призвести до зміни їх функціональної активності та негативно вплинути на перебіг біохімічних реакцій. Якщо за фізіологічних умов нітрозотіолі чинять цитопротекторну дію та приймають участь у регуляції багатьох клітинних процесів, то при значному зростанні їх концентрації спостерігається активація нітрозилуючих реакцій із розвитком так званого нітрозативного стресу, що призводить до підвищеного утворення нітрозозамінів, дезамінування основ ДНК та інших біомолекул [27].

Концентрація нітрат-аніону у печінці тварин, що отримували свинець, була достовірно вищою порівняно із контрольними показниками у обох періодах досліджень (таблиця). Відсутність істотного зростання нітрат-ніону поряд із збільшенням концентрації інших метаболітів оксиду азоту можна пояснити зростанням активності нітратредуктази (таблиця), яка відновлює нітрат-аніон до нітрит-аніону. Даний фермент активується в умовах гіпоксії і забезпечує утворення оксиду азоту без участі кисню, що має важливе пристосувальне значення.

Аргіназа здійснює синтез орнітину та сечовини із амінокислоти L-аргініну, конкуруючи, таким чином, за спільний субстрат із синтазою оксиду азоту. У нашому дослідженні виявлено зростання активності даного ферменту в печінці експонованих

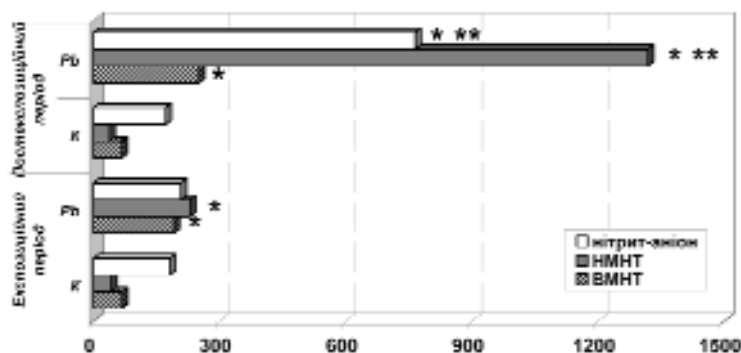


Рис. 3. Зміна концентрації нітрит-аніону (NO_2^-), високомолекулярних (BMNT) та низькомолекулярних (HMNT) нітрозотіолів у печінці щурів, експонованих свинцем (пмоль/ мг білку).

свинцем щурів, особливо у постекспозиційному періоді (таблиця). За таких умов можливе зниження концентрації аргініну в тканинах печінки, а також зменшення його біодоступності для NOS. Важливо відзначити, що NO-синтаза належить до групи оксидаз, яка за певних умов, наприклад при нестачі субстрату (L-аргініну) чи кофакторів (особливо BH_4), здатна синтезувати супероксид-аніон замість оксиду азоту або паралельно синтезувати обидва ці продукти, що є передумовою утворення пероксинітриду [23, 26].

Оксид азоту здатний з великою спорідненістю взаємодіяти із супероксид-аніоном з утворенням пероксинітриду (ONOO^-) — високотоксичної речовини, що має більшу реакційну здатність порівняно із NO^- і O_2^- . Пероксинітрид ушкоджує білки, ліпідні клітинні мембрани, дезорганізує ендотелій судин, бере участь у процесах ендотоксемії, порушує біоенергетичні процеси, блокуючи гліколітичний синтез АТФ і пригнічуючи транспорт електронів у мітохондріях, порушує функціонування еритроцитів та транспорт ними життєво необхідних речовин, особ-

ливо кисню. Він бере участь у багатьох хімічних реакціях, у тому числі в нітрозилуванні тирозинових залишків у білках, пригніченні транспорту електронів у мітохондріях, окисленні біологічних тіолів, що призводить до серйозних біологічних наслідків. — апоптозу, мутацій [22, 23, 26]. У фізіологічних умовах утворення ONOO^- незначне, оскільки надлишок супероксиду видаляється супероксиддисмутазою з утворенням H_2O_2 . Проте при патологічних станах, зокрема у разі виникнення оксидативного стресу, в організмі складаються передумови до продукції пероксинітриду у кількості, достатній для прояву його токсичних ефектів.

Таким чином, нами отримані дані, які свідчать, що накопичення свинцю в печінці дослідних тварин змінює рівні тіолів (зниження вмісту високомолекулярних, підвищення вмісту низькомолекулярних тіолів), приводить до істотного зростання генерації активних форм кисню, а також до порушення в системі оксиду азоту. Останні проявлялись в зростанні активності індуктибельної ізоформи NO-синтази та рівня усіх досліджених метаболітів NO (BMNT, HMNT, нітрит-

Таблиця

Дія свинцю на біохімічні показники в печінці щурів ($M \pm m$; $n = 15$)

Показники	Експозиційний період		Постекспозиційний період	
	контроль	Pb	контроль	Pb
NO_3^- (нмоль/мг білку)	$116,4 \pm 5,1$	$145,5 \pm 7,9^*$	$114,2 \pm 3,9$	$175,4 \pm 18,5^*$
Нітратредуктаза (нмоль/мг білку·хв)	$0,76 \pm 0,04$	$3,4 \pm 0,28^*$	$0,75 \pm 0,06$	$10,73 \pm 1,13^* **$
Аргіназа (нмоль/мг білку· хв)	$1,57 \pm 0,05$	$5,14 \pm 0,75^*$	$1,55 \pm 0,05$	$9,68 \pm 0,39^* **$

та нітрат-аніону) і свідчать про гіперпродукцію NO за дії свинцю. У цих умовах створюються передумови до значного утворення пероксинітриду та реалізації його токсичних ефектів. Зростання активності аргінази може мати пристосувальне значен-

ня, оскільки при цьому синтезується сечовина, яка має антиоксидантні властивості, проте це може також призвести до виникнення дефіциту аргініну, що є субстратом для NO-синтаз. При цьому останні можуть бути джерелом АФК, продукуючи супе-

роксид-аніон, і тим самим сприяти розвитку оксидативного стресу, утворенню пероксинітриду, що викликає серйозні зміни в реалізації фізіологічних функцій оксиду азоту.

ЛИТЕРАТУРА

1. Внутренние болезни./ Под. ред. Харрисона Т.Р. — М. "Медицина", 1996. — Кн.7. — С. 172-188.
2. Тейлор Б.С., Аларсон Л.Х., Биллиар Т.Р. Индуцибельная синтаза оксида азота в печени: регуляция и функции. // Биохимия. — 1998. — Т.63, вып.7. — С. 905-923.
3. Mc.Naughton L., Puttagunta L., Martinez-Cuesta M.A. Distribution of nitric oxide synthase in normal and cirrhotic human liver. // PNAS. — 2002. — Vol. 99, №26. — P. 17161-17166.
4. Ferguson J.W., Dover A.R., Chia S. et al. Inducible nitric oxide synthase activity contributes to the regulation of peripheral vascular tone in patients with cirrhosis and ascites // GUT. — 2006. — Vol.55. — P. 542-546.
5. Каримов Х.Я., Иноятова Ф.Х., Мухамедова М.Т. Изменения некоторых показателей синтеза окиси азота в ранние периоды развития гепатокарциногенеза. // Лікарська справа. — 2002. — №7. — С. 90-92.
6. Нариси вікової токсикології/ За ред. І.М. Трахтенберг. — К.: "Авіцена", 2005. — 256 с.
7. Каширина Н.К., Куніца О.І. Морфологічна характеристика мікроциркуляторних судин печінки при триваломому введенні ацетату свинцю. // Галицький лікарський вісник. — 2003. — Т.10, 34. — С. 93-94.
8. Perkin Elmer Corporation: Analytical methods for atomic absorption spectrometers, Norwalk, Conn. — 1975. — 368 p.
9. Ellman G.I. Tissue sulfhydryl groups // Arch. Biochim. Biophys. — 1959. — Vol. 82. — P. 70.
10. Huwiler M., Kohler H. Pseudo-catalytic degradation of hydrogen peroxide in lactoperoxidase/H₂O₂/iodide system // Eur. journal Biochemistry. -1984. — Vol. 141, №1. — P. 69-74.
11. McCord J., Fridovich I. A quantitative test for superoxide radicals produced in biological systems // Biochemistry journal. — 1982. — Vol. 203, №3. — P. 551-558.
12. Conte D., Narindrasosa K.S., Sarkar B. In vivo and in vitro iron-replaced zinc finger generates free radicals and causes DNA damage // J. Biology Chemistry. — 1996. — Vol. 271, №9. — P. 5125-5130.
13. Green L.C., David A.W., Glogowski J. et al. Analysis of nitrate, nitrite and [15N] nitrate in biological fluids // Anal. Biochemistry. — 1982. — Vol. 126. — №1. — P.131-138.
14. Isukahara H. Miura M., Isusida S. et al. Effect of NOS inhibitors on bone metabolism in growing rats // Amer. J. Physiol. — 1996. — Vol. 271, №1. — P. 840-845.
15. Bredt D.S., Snyder S.H. Isolation of nitric oxide synthetase, a calmodulin-requiring enzyme // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1990. — Vol. 87, №2. — P.682-685.
16. Padgett C.M., Whorton A.R. Cellular responses to nitric oxide role of protein S-thiolation/de thiolation // Arch. Biochem. Biophys. — 1998. — Vol. 358 (2). — P.232-242.
17. Li H, Samouilov A, Liu X, Zweier J.L. Characterization of the magnitude and kinetics of xanthine oxidase-catalyzed nitrite reduction. Evaluation of its role in nitric oxide generation in anoxic tissues // J. Biol. Chem. — 2001. — №6. — С. 276-277.
18. Garganta C.L., Bond J.S Assay and kinetics of arginase // Anal. Biochemistry. — 1982. — Vol. 126, №1. — P. 131-138.
19. Барабой В.А. Биоантиоксиданты. — К.: "Книга плюс", 2006. — 462 с.
20. Соколовский В.В. Тиоловые антиоксиданты в молекулярных механизмах неспецифической реакции организма на экстремальное воздействие // Вопр. мед. химии. — 1988. — №6. — С. 2-11.
21. Торчинский Ю.М. Сера в белках. — М.: "Наука", 1977. — 303 с.
22. Сняченко О.В., Звягина Т.В. Оксид азота в терапевтической практике. — Донецк, 2001. — 250 с.
23. Манухина Е.Б., Лямина Н.П., Долотовская П.В. и др. Роль оксида азота и кислородных свободных радикалов в патогенезе артериальной гипертензии. // Кардиология. — 2002. — №11. — С. 73-84.
24. Gonick H.C., Ding Y.; Bondy S.C. et al. Lead-Induced Hypertension. Interplay of Nitric Oxide and Reactive Oxygen Species. // Hypertension. — 1997. — Vol.30. — P.1487-1492.
25. Vaziri N.D.; Ding Y.; Ni Z. Nitric Oxide Synthase Expression in the Course of Lead-Induced Hypertension. // Hypertension. — 1999. — Vol. 34. — P. 558-562.
26. Маеда Х., Акаике Т. Оксид азота и кислородные радикалы при инфекции, воспалении и раке (обзор) // Биохимия. — 1998. — Т.63, вып. 7. — С.1007-1019.
27. Каминская Л.Ю. Жлоба А.А., Александрова Л.А. и др. Влияние донатора NO нитрозотиола глутатиона на уровень окислов азота и малонового диальдегида в крови крыс. // Артериальная гипертензия. — 2005. — Т.11, №1. — С.10-17.

О.Л.Апыхтина, А.В.Коцюрuba, І.М.Андрусихина,
О.Г.Лампека, Ю.П. Коркач

ПРОДУКЦИЯ ОКСИДА АЗОТА В ПЕЧЕНИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СВИНЦА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Показана способность свинца накапливаться в печени, изменять уровень низко- и высокомолекулярных тиолов, значительно стимулировать продукцию активных форм кислорода и приводить к существенным изменениям в системе оксида азота, что проявлялось повышением активности индуцибельной изоформы синтазы оксида азота и уровня стабильных его метаболитов. При этом создаются предпосылки к значительному образованию высокотоксического вещества - пероксинитрита, что может существенно повлиять на протекание многих процессов как в печени, так и в организме в целом.

О.Л.Апыхтина, А.В.Котсурuba, І.М.Андрусихина,
О.Г.Лампека, Ю.П.Коркач

NITRIC OXIDE PRODUCTION IN THE LIVER IN LEAD ACETATE EXPOSURES

The role of disorders in production and metabolism of nitrogen oxide in the liver in pathological states, under lead exposures in particular, is considered. The ability of lead to cumulate in the liver and effect of the level of low and high molecular thiols, to significantly stimulate production of reactive oxygen species and cause intense changes in the nitric oxide system, resulting in the increase of activity of inducible isoform of nitric oxide synthase and in the level of its main metabolites are determined. Here, preconditions for substantial development of a highly toxic substance peroxynitrite are created, that can significantly effect the development of many processes both in the liver and in the body in general.