

Н. М. Кургалюк, А. В. Коцюруба, В.Ф. Сагач

Модифікація продукції оксиду азоту за умов гострої гіпоксії під впливом екзогенних інтермедіатів циклу Кребса

Исследовано влияние сукцината (50 мг/кг) и α -кетоглутарата (200 мг/кг) на утилизацию L-аргинина по двум альтернативным – окислительному (синтез оксида азота) и неокислительному (синтез мочевины и полиаминов) путях метаболизма, в эритроцитах, плазме крови и ткани печени крыс линии Вистар в условиях острой гипоксии (7 % кислорода в азоте, 30 мин). Острая гипоксия сопровождалась достоверным снижением содержания стабильных метаболитов оксида азота в эритроцитах и печени на фоне их стабильного содержания в плазме крови. Экзогенный сукцинат стимулировал продукцию оксида азота в условиях острой гипоксии в крови и ткани печени, тогда как α -кетоглутарат – только в печени. Сделан вывод о существовании метаболического контроля продукции оксида азота интермедиами цикла трикарбоновых кислот.

ВСТУП

Принципи фармакологічної корекції станів, котрі супроводжуються гострою гіпоксією [22], засвідчують, що провідну роль у формуванні резистентності клітин і підтриманні їх функціонального стану відіграє енергетичний обмін [8, 17]. Гіпоксія зумовлює порушення електронно-транспортного ланцюга мітохондрій (МХ), продукції активних форм кисню та системи антиоксидантного захисту [6, 27]. Основою протекторної дії природних для організму метаболітів, зокрема інтермедіатів циклу трикарбонових кислот (ЦТК), за умов гіпоксії є регуляція фізіологічних функцій і підтримання метаболізму життєво важливих органів і систем [21].

У літературі є відомості про антигіпоксичний захисний ефект інтермедіата ЦТК сукцинату і підвищення компенсаторної ролі сукцинатаоксидазного шляху окиснення при гіпоксії [18, 19]. Однак застосування сукцинату як антигіпоксичного препарату

дає позитивний результат не у всіх випадках, імовірно, через погану клітинну проникливість останнього. Нині активно досліджується можливість використання як антигіпоксантів при ішемії міокарда попередників сукцинату у реакціях переамінування, що можуть утворюватися за гіпоксичних умов – α -кетоглутарату, аланіну, пірувату [12]. З'ясовано декілька метаболічних циклів у т.ч. ЦТК і орнітиновий (сечовини), з якими функціонально пов'язаний цикл оксиду азоту ($\text{NO} \rightarrow \text{NO}_2 \rightarrow \text{NO}_3 \rightarrow \text{NO}_2 \rightarrow \text{NO}$) [24]. Метаболізм останнього розглядається як частина стратегії захисту енергетичного апарату клітини за екстремальних навантажень, що може запобігати розвитку порушень у ділянці електронно-транспортного ланцюга МХ [14].

Функціонування циклу сечовини, або орнітинового циклу (орнітин \rightarrow цитрулін \rightarrow аргінінсукцинат \rightarrow аргінін \rightarrow орнітин), пов'язане не тільки з ЦТК, а й з циклом NO, де ключова роль відведена амінокислоті L-аргініну [1, 2, 34, 35]. У циклі сечовини беруть

© Н. М. Кургалюк, А. В. Коцюруба, В.Ф. Сагач

участь дві амінокислоти, які не входять до пептидних ланцюгів білків ссавців (орнітин і цитрулін), і дві амінокислоти, які вступають у реакції утворення пептидних зв'язків (аргінін і аспарагінова кислота). Аргінін є безпосереднім попередником і сечовини, і NO [29]. За участю ферменту аргінази здійснюється гідроліз аргініну з утворенням сечовини й орнітину (кисненезалежний шлях), тоді як за участю NO-синтаз L-аргінін може перетворюватися до цитруліну з утворенням NO (кисненезалежний шлях) [35]. Співвідношення шляхів окисного та неокисного метаболічних перетворень L-аргініну й здатності системи до біосинтезу NO значною мірою залежить від гіпоксії [13, 25], розвитку апоптозу й адаптації [20].

Відомо, що NO за умов зниженого вмісту кисню може відігравати регуляторну роль акцептора електронів у дихальному ланцюгу МХ, підтримуючи функціональну здатність останніх [24]. Зв'язувальною ланкою між ЦТК і циклом карбаміду є аргінінсукцинат, який утворюється з цитруліну, розпадається на аргінін і fumarat, причому останній зазнає перетворень до аспартату, чим підтримує каталітичну здатність циклу Кребса [35]. NO_3^- в основному виводиться з організму чи відновлюється до NO_2^- , тоді як NO_2^- знову відновлюється до NO.

Дослідження авторів свідчать про те, що NO може бути паракринним регулятором функціонування клітин [3], а також ставлять актуальним питання стосовно ролі вільнорадикальних форм кисню й азоту у трансдукції сигналу в клітину [33]. Активація холінергічних регуляторних механізмів, опосередкована за участю NO [3], виступає одним із провідних чинників формування резистентності до станів, які супроводжуються гіпоксичними процесами [5].

Метою нашого дослідження було з'ясування NO-залежних механізмів антигіпоксичної протекторної ролі інтермедіатів циклу Кребса (сукцинату і α -кетоглутарату) у крові і тканині печінки білих щурів.

МЕТОДИКА

Дослідження проведено на 96 щурах-самцях лінії Вістар масою 0,2–0,22 кг, які утримувались в умовах віварію на стандартному раціоні. Перед дослідженням тварин поділили на 6 груп по 8 тварин у кожній. I групу складали інтактні щури, яким перед дослідом вводили 1 мл фізіологічного розчину. II та III групу складали тварини, яким парентерально вводили сукцинат натрію (50 мг/кг) або α -кетоглутарат натрію (200 мг/кг). Час дії препаратів 30 хв. IV групу тварин поміщали в обладнану камеру, яка вентилювалася сумішшю повітря (7 % кисню в азоті). З метою поглинання вуглекислого газу і водяних парів у камері використовували адсорбент. Перед дослідом цій групі тварин вводили 1 мл 0,9%-го NaCl. Іншим групам (V, VI) за 30 хв до експерименту парентерально вводили в аналогічних дозах б-кетоглутарат натрію або сукцинат. Тварини IV–VI груп знаходилися за гіпоксичних умов у камері впродовж 30 хв, після чого їх декапітували.

Синтез NO у крові (плазма, еритроцити) та гомогенаті тканини печінки оцінювали за вмістом стабільних метаболітів (NO_2^- і NO_3^-) у безбілкових аліквотах проб. Вміст нітрит-аніона (NO_2^-) визначали за допомогою реактиву Грісса методом Гріна [31] у нашій модифікації, вміст NO_3^- – за допомогою бруцинового реактиву [28]. Вміст сечовини визначали за реакцією з диметилмонооксимом [9], вміст поліамінів – за кількістю путресцину з використанням 2,4-динітрофторбензолу [26]. Вміст білка вимірювали за методом Бредфорда [30]. Результати досліджень обробляли статистично, використовуючи критерій t Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Парентеральні ефекти впливу екзогенного сукцинату зумовлені підвищенням вмісту нітрит-аніона передусім у крові щурів: в

еритроцитах на 39 % ($P < 0,05$), у плазмі крові втричі ($P < 0,01$). Також встановлено зниження вмісту сечовини у плазмі на 29 % ($P < 0,01$) з одночасним вірогідним підвищенням в еритроцитах на 154 % ($P < 0,001$) за зазначених умов. Саме останнє, ймовірно, є причиною того, що збільшується й сумарний вміст поліамінів у еритроцитах (таблиця).

За введення α -кетоглутарату натрію у крові (еритроцитах, плазмі) і тканині печінки підвищувався вміст нітрит- і нітрат-аніонів, однак відсоток зростання був вірогідним лише у плазмі крові (59 %, $P < 0,01$) та значно меншим порівняно зі уведенням сукцинату контрольним щурам. Імовірно, зниження вмісту нітрит-аніона

зумовлене його окисненням до нітрат-аніона, оскільки за цих умов спостерігали вірогідне збільшення вмісту останнього в еритроцитах. При цьому збільшувався вміст сечовини.

Гостра гіпоксія супроводжується змінами вмісту стабільних метаболітів NO – нітрит- і нітрат-аніонів. Відомо, що NO-синтазна активність (синтез NO de novo з L-аргініну) залежить від наявності кисню [34, 35] і може супроводжуватися збільшенням продукції супероксид-аніона за умов гіпоксії [24, 29]. Відомо, що NO може конкурувати з супероксиддисмутазою за супероксид-аніон з утворенням пероксинітриту (ONOO^-) [15]. Останній за наявності надлишку протонів утворює перокси-

Вміст нітрит- і нітрат-аніонів, сечовини і сумарних поліамінів у еритроцитах, плазмі крові та у печінці щурів за умов гострої гіпоксії та введення інтермедіатів циклу трикарбонових кислот ($M \pm m$; $n=8$)

Схема дослідження, група тварин	NO_2^- , пмоль/мг білка	NO_3^- , нмоль/мг білка	Сечовина, нмоль/мг білка	Поліаміни, нмоль/мг білка
Еритроцити				
Контроль (I група)	18,26 \pm 1,30	1,57 \pm 0,03	3,23 \pm 0,14	0,35 \pm 0,04
Сукцинат (II група)	25,39 \pm 1,70*	1,27 \pm 0,03*	8,21 \pm 0,36*	0,59 \pm 0,09*
α -кетоглутарат (III група)	20,88 \pm 1,61	2,20 \pm 0,37*	4,25 \pm 0,36*	0,53 \pm 0,16
Гостра гіпоксія (IV група)	7,57 \pm 0,91*	0,58 \pm 0,07*	1,84 \pm 0,38*	0,12 \pm 0,04*
Сукцинат і гостра гіпоксія (V група)	27,79 \pm 3,13**	0,69 \pm 0,09	1,61 \pm 0,09	0,59 \pm 0,09**
α -кетоглутарат і гостра гіпоксія (VI група)	15,84 \pm 1,22**	0,79 \pm 0,06**	3,81 \pm 0,10**	0,32 \pm 0,08**
Плазма крові				
Контроль (I група)	49,10 \pm 4,30	18,98 \pm 2,86	307,17 \pm 10,0	8,43 \pm 0,44
Сукцинат (II група)	225,34 \pm 34,08*	18,98 \pm 1,36	218,55 \pm 8,88*	8,33 \pm 0,56
α -кетоглутарат (III група)	78,05 \pm 5,77*	14,72 \pm 1,41	213,49 \pm 18,91*	8,72 \pm 0,29
Гостра гіпоксія (IV група)	69,26 \pm 9,23	7,04 \pm 0,08*	80,86 \pm 7,76*	1,76 \pm 0,35*
Сукцинат і гостра гіпоксія (V група)	104,35 \pm 9,18**	8,74 \pm 0,13**	61,41 \pm 3,61**	4,68 \pm 0,93**
α -кетоглутарат і гостра гіпоксія (VI група)	37,65 \pm 7,65**	12,51 \pm 1,12**	90,45 \pm 6,24	5,21 \pm 0,43**
Печінка				
Контроль (I група)	269,88 \pm 32,67	93,59 \pm 17,31	271,93 \pm 31,29	65,77 \pm 7,08
Сукцинат (II група)	300,72 \pm 26,41	90,54 \pm 7,44	213,70 \pm 22,92*	55,86 \pm 4,25
α -кетоглутарат (III група)	295,51 \pm 27,16	124,83 \pm 20,26	344,46 \pm 24,14*	67,81 \pm 4,31
Гостра гіпоксія (IV група)	171,69 \pm 6,89*	27,42 \pm 1,54*	45,74 \pm 2,80*	36,85 \pm 3,87*
Сукцинат і гостра гіпоксія (V група)	481,90 \pm 24,40**	27,10 \pm 1,24	81,14 \pm 7,78**	32,49 \pm 2,32
α -кетоглутарат і гостра гіпоксія (VI група)	634,32 \pm 39,49**	27,59 \pm 3,13	44,04 \pm 4,51	31,13 \pm 2,16

Примітка. * зміни порівняно з контролем вірогідні ($P < 0,05$); ** те саме між IV і V–VI групами.

нітритну кислоту (ONOOH) яка може розпадатися з утворенням нітрат-аніона, або двох радикалів – гідроксильного ($\cdot\text{OH}$) та діоксиду азоту ($\cdot\text{NO}_2$). Гідроксильний радикал, як і оксид азоту (NO) здатний активувати розчинну гуанілатциклазу, а $\cdot\text{NO}_2$ при взаємодії з $\cdot\text{NO}$ утворює, в кінцевому підсумку, нітрит-аніон ($\cdot\text{NO} + \cdot\text{NO}_2 \rightarrow \text{N}_2\text{O}_3 \rightarrow 2\text{NO}_2^-$). При взаємодії $\cdot\text{OH}$ -радикала з ONOO \cdot відтворюється NO ($\text{OH} + \text{ONOO}\cdot \rightarrow \text{NO} + \text{O}_2 + \text{OH}\cdot$). Отже, узагальнюючи, можна сказати, що за умов оксидативного стресу, що спостерігається при гіпоксії, NO взаємодіє з двома радикалами кисню – супероксид-аніоном і гідроксил-радикалом з утворенням стабільних метаболітів NO_2^- та NO_3^- , а також, як проміжні сполуки – утворює гідроксильний радикал і діоксид азоту, які можуть зумовлювати посилення процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) [20].

Вірогідне зниження за гострої гіпоксії вмісту нітрит-аніона в еритроцитах (59 %, $P < 0,01$) та печінці (36,4 %, $P < 0,05$) на фоні стабільного вмісту у плазмі крові, можливо, і є свідченням інтенсивного утворення пероксинітриду, а також вказує на те, що вихід NO з еритроцитарного та гепатоцитарного депо є важливим регуляторним компонентом підтримання гомеостазу [13, 33].

Утворення NO в NO -синтазній і нітритредуктазних реакціях сприяє підвищенню постачання кисню у тканини. Переносники кисню – гемоглобін і міоглобін, виявляючи нітритредуктазну і NO -зв'язувальну активність, відіграють унікальну роль у регуляторній системі NO . З одного боку, функціональні властивості цих протеїнів контролюються NO , а з іншого – перехоплюючи і депонуючи NO , вони формують мобільний фізіологічний резерв цієї сполуки, забезпечуючи його дію на значні відстані від місця утворення [13].

За умов гострої гіпоксії у щурів, що отримували сукцинат (V група) вірогідно збільшується вміст нітрит-аніона у плазмі

(50,5 %, $P < 0,05$) й еритроцитах (267 %, $P < 0,01$) порівняно з IV групою (гостра гіпоксія). Причиною цього може бути як посилення депонування NO , так і зменшення утилізації останнього на утворення пероксинітриду. Показано, що під впливом екзогенного сукцинату за умов гіпоксії посилюється синтез гемоглобіну та міоглобіну. Збільшення концентрації дихальних гемпротеїнів крові та м'язів сприяє підвищенню як потужності системи “боротьби” за кисень, так і депонування NO [1]. Особливе значення у цій системі має гемоглобін [20].

За умов гіпоксії зростає функціональна роль цитрулінового циклу (цитрулін–аргінін–осукцинат–аргінін–цитрулін), причому інтермедіати ЦТК можуть посилювати синтез аргініносукцинату. Рециркування цитруліну до L-аргініну сприяє лише збільшенню біосинтезу de novo NO , але не підтриманню функціональної здатності циклу сечовини у печінці. На це вказує зниження вмісту карбаміду за умов гіпоксії як у крові (24 %, $P < 0,05$; 43 %, $P < 0,01$ у плазмі й еритроцитах відповідно), так і у тканині печінки (83 %, $P < 0,01$). При цьому знижується і вміст поліамінів. Вміст сумарних (спермін, спермідин і путресцин) поліамінів, що утворюються із орнітину практично у всіх клітинах організму, за умов гострої гіпоксії під впливом сукцинату збільшується передусім у крові – у плазмі 166 % ($P < 0,01$), у еритроцитах 392 % ($P < 0,01$) але не у печінці.

Утворення сукцинату з α -кетоглутарату за умов гіпоксії лімітується величиною потоку через α -кетоглутаратдегідрогеназу [18], значно залежить від внутрішньомітохондріальної концентрації α -кетоглутарату і регулюється співвідношенням НАДН/НАД $^+$. Одночасне утворення α -кетоглутарату та НАД $^+$ у МХ значно збільшує швидкість окиснення α -кетоглутарату, що ефективно стимулює анаеробне утворення АТФ у МХ серця, яке посилюється ацетилхоліном [4,5].

За умов гіпоксії під впливом α -кетоглутарату нами встановлено збільшення в еритроцитах вмісту карбаміду (107 %, $P < 0,01$) та нітрит-аніона (вдвічі), однак значна частина його зазнає перетворень до нітрат-аніона (вірогідне збільшення пулу NO_3^- на 36,2 %, $P < 0,05$). Слід зазначити, що відсоток стимульованої NO-продукції у крові значно менший порівняно з сукцинатом (див. таблицю).

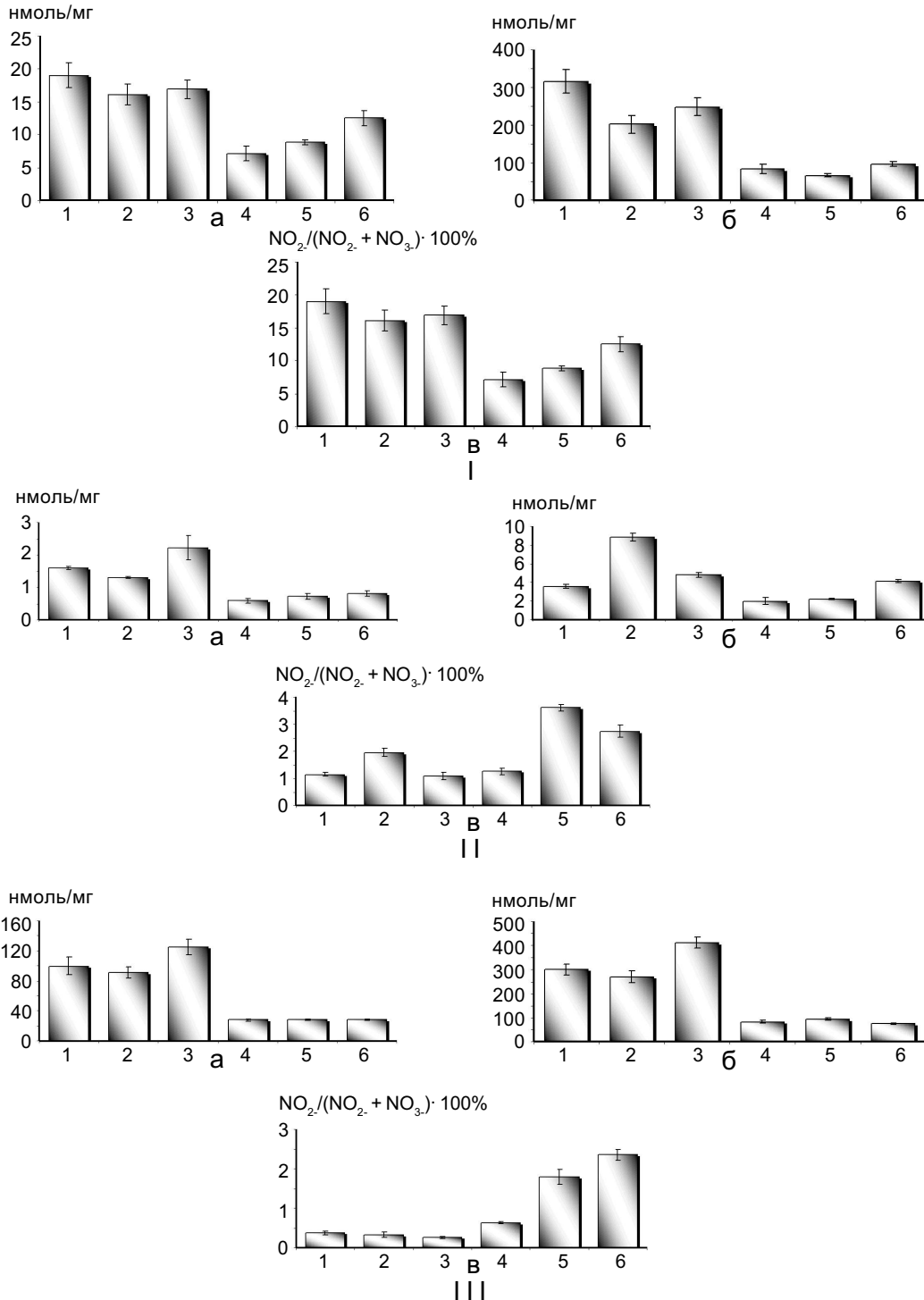
Відомо, що функціонування повного (орнітинцитрулін \rightarrow аргініносукцинат \rightarrow аргінін \rightarrow орнітин) циклу сечовини специфічне лише для тканини печінки, нирок й ентероцитів тонкої кишки, що мають здатність окиснювати орнітин до цитруліну у МХ. Після відкриття NO-синтазної реакції (L-аргінін + $\text{O}_2 \rightarrow$ L-цитрулін + NO), що відбувається практично у всіх клітинах організму, стало зрозуміло, що клітини мають здатність до немітохондріального утворення цитруліну [34], в т.з. цитруліновому циклі (аргінін \rightarrow цитрулін \rightarrow аргініносукцинат \rightarrow аргінін), що є практично неповним циклом сечовини.

Під впливом α -кетоглутарату у тканині печінки встановлено вище порівняно з ефектами сукцинату утворення нітрит-аніона як метаболіту NO за умов гіпоксії. Зокрема, під впливом сукцинату вміст нітрит-аніона збільшився на 180,6 % ($P < 0,001$), а для α -кетоглутарату цей показник був значно вищим (на 269,7 %, $P < 0,001$). Під впливом α -кетоглутарату, на противагу ефектам сукцинату, у тканині печінки (див. таблицю) зростає роль продукованого NO, що засвідчує вірогідне збільшення частки нітрит-аніона (NO_2^-) у сумі нітрит- (NO_2^-) і нітрат-аніонів (NO_3^-) (рисунок). Таким чином, нами встановлено вірогідне зростання продукції оксиду азоту під впливом екзогенного КГЛ за умов гіпоксії у тканині печінки.

Отримані раніше дані [4–7], пов'язані з реалізацією ефектів катехоламінів, сукцинату, α -кетоглутарату і ацетилхоліну, виявили наявність взаємнорегуляторного

зв'язку між цими сполуками, що спонукало авторів об'єднати їх у дві системи: адреналін – сукцинат і ацетилхолін – α -кетоглутарат. Компоненти цих субстратно-гормональних пар функціонують рівноправно: як гормони регулюють окиснення субстрату, так і субстрат може регулювати вміст відповідного гормону [3, 10, 11]. Для α -кетоглутарату досліджено холіноміметичний ефект, пов'язаний зі змінами вмісту ацетилхоліну й активності холінестерази у тканинах і крові [4, 7]. Авторами [8] показано, що зміна співвідношення цАМФ/цГМФ є важливим чинником переходу з адренергічної на холінергічну фазу регуляції і відіграє важливу роль у підвищенні резистентності організму за екстремальних навантажень [16].

Стимуляція ацетилхоліном енергетичних процесів [5], як і системи NO [3], пов'язана з активацією обміну і окисненням у МХ α -кетоглутарату [14] і супроводжується зниженням окиснення сукцинату [10]. Таким чином, щодо окиснення останнього дія ацетилхоліну і катехоламінів є реципрокною [11, 14, 17–19]. Перехід від інтенсивнішого окиснення сукцинату, що проявляє адреноміметичний вплив, зумовлює синтез й вихід NO з еритроцитарних депо, якими є гемоглобін-NO-комплекси [14], до менш інтенсивнішого α -кетоглутарату добре узгоджується з відомим зниженням тканинного дихання при активації холінергічної системи організму через активацію синтезу NO. Як відомо, окиснення сукцинату характеризується більшою інтенсивністю при меншому коефіцієнті корисної дії, зумовленому включенням у роботу тільки двох пунктів спряження у дихальному ланцюгу. Активація цього субстрату вигідна при дії стресорних чинників і катехоламінів, і, як показують наші дослідження, спрямована на продукцію NO у крові. Ці умови термінової й інтенсивної діяльності супроводжуються значним зростанням швидкості поглинання



Зміни частки нітритів і нітратів (а), карбаміду і поліамінів (б), нітритів у загальній сумі нітритів і нітратів (в) у плазмі крові (I), еритроцитах (II) і печінці (III) щурів за умов парентерального введення сукцинату (50 мг/кг) та α -кетоглутарату натрію (200 мг/кг) та гострої гіпоксії (7 % кисню в азоті, 30 хв): 1 – контроль, 2 – сукцинат, 3 – α -кетоглутарат, 4 – гостра гіпоксія, 5 – сукцинат і гостра гіпоксія, 6 – α -кетоглутарат і гостра гіпоксія

кисню, з одного боку, і активацією вільнорадикального окиснення, з іншого. Таким чином, обмеження процесів ліпопероксидації за умов гіпоксичних навантажень, як і негативний вплив продуктів обміну катехоламінів, може ефективно обмежуватись NO внаслідок утворення пероксинітриту і 6-нітрокатехоламінів [32].

На відміну від сукцинату, окиснення α -кетоглутарату, як і інших НАД-залежних субстратів, менш інтенсивне, однак має вищий коефіцієнт корисної дії, зумовлений роботою всіх пунктів спряження. Окрім цього, активація окиснення цього субстрату призводить до підвищення субстратного фосфорилування і синтезу ГТФ. Такий режим адекватний для забезпечення анаболічних і відновних процесів, що можуть бути пов'язані з вазодилатацією судин під впливом ендogenous NO, і α -кетоглутарату [21]. Активація екзогенним α -кетоглутаратом холінергічної ланки вегетативної нервової системи [7, 12] з одночасним пригальмовуванням адренергічних процесів, що сприяє пролонгуючій дії цього субстрату, зумовлена, передусім, ефектами NO, що виступає як нова компонента стреслімітуючої ланки стресу [20].

Виходячи з цього, можна по-новому оцінити роль двох медіаторно-субстратно-нуклеотидних систем: катехоламіні-сукцинат-АТФ-цАМФ і ацетилхолін- α -кетоглутарат-ГТФ-цГМФ за умов гіпоксичних навантажень. Активація окиснення сукцинату під впливом катехоламінів викликає синтез гему і підвищення регуляторної ролі NO як результат збільшення фізіологічно активних депо (гемового і негемового заліза, тіолів), з одночасним підвищенням у печінці синтезу NO з L-аргініну у цитруліновому циклі при зростанні холінергічних впливів. Така циклічність роботи двох систем (активація й інгібування одночасно) розгортається і узгоджується у часі з коливаннями вмісту кальцію і програмованої активності МХ у нітритредуктазних реакціях, що дає змогу

МХ переходити на режим нітратно-нітритного дихання [24].

Таким чином, проведені дослідження засвідчили існування метаболітного контролю синтезу de novo NO інтермедіатами циклу Кребса (сукцинат і α -кетоглутарат) і наявність системного механізму для підтримання функціонального стану мітохондріального енергозабезпечення за умов гіпоксії.

N. M. Kurhalyuk, A. V. Kotsuruba, V. F. Sahach

THE MODIFICATION OF NITRIC OXIDE PRODUCTION BY EXOGENOUS SUBSTRATES OF KREBS CYCLE UNDER ACUTE HYPOXIA

Hypoxia causes the disruption of mitochondria electron respiratory chain, production of active oxygen forms and the unoxidative protection. In experiments on Wistar rats the influence of sodium succinate (50 mg/kg) and α -ketoglutarate (200 mg/kg) on NO_2^- , NO_3^- , urea and polyamines contents in blood and liver under acute hypoxia (7% O_2 in N_2 , 30 min) was investigated. Nitrite and nitrate content decreased in erythrocytes and liver but not in plasma under acute hypoxia. The exogenous succinate (SK) stimulated production of nitric oxide in erythrocytes and liver while α -ketoglutarate (KG) only in liver. The switch from more intensive SK oxidation that reveals adrenomimetic influence and causes the synthesis and release of NO from erythrocyte, to less intensive KG correlates with well-known decrease of tissue respiration under the activation of the cholinergic system due to urea cycle activation particularly in liver. The activation of the SK oxidation takes place mainly under the different stress conditions and causes NO production in the blood cells. These conditions of the intensive and fast action under acute hypoxia are accompanied on the one hand by the increase of oxygen input ratio and on the other hand by activation of the free radical oxidation. The protective effect of the natural Krebs cycle intermediates – SK and KG in particular, is related to the regulation of NO synthesis and its metabolism in the main organs. These results proved the existence not only metabolite control of NO system by Krebs cycle intermediates, but the existence of the systemic mechanism for the support of the functional state of mitochondria under hypoxia.

*Ivan Franko Lviv National University, Ukraine;
Palladin Institute of Biochemistry NAS Ukraine, Kyiv;
O.O. Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ванін А.Ф. Оксид азота: регуляція клітинного метаболізму без участя системи клітинних рецепторів // Біофізика. – 2001. – 46, Вып. 4. – С. 631–641.

2. Ванін А.Ф., Кубрина Л.Н., Маленкова И.В., Мордвинцев Н.И. L-аргинин – ендогенний джерело оксиду азоту в тканинах тварин *in vivo* // Біохімія. – 1991. – **56**, № 5. – С. 935–939.
3. Данилович Ю.В., Тугай В.А. Утворення NO та H₂O₂ у стромальних клітинах ендометрія за дії ацетилхоліну // Укр. біохім. журн. – 2001. – **73**, № 3. – С. 110–115.
4. Долиба Н.М., Кургалюк Н.Н., Абдулла Локаль і др. Реципрокне сукцинату і катехоламинам діяння введенних α-кетоглутарату натрія і ацетилхоліну на окислення субстратів в мітохондріях серця і нейрогормональний статус організму. – В кн.: Янтарна кислота в медицині, харчовій промисловості, сільському господарстві. – Пушчино, 1997. – С. 21–27.
5. Долиба М.М. Механізми холінергічної регуляції енергетичного обміну в міокарді і травних залозах: Автореф. дис. ... д-ра біол.наук. – Львів. Ін-т фізіології і біохімії тварин. – Львів, 1993. – 45 с.
6. Долиба М.М., Гордій С.К., Коробов В.М. Вплив гіпоксичної гіпоксії на енергетичний обмін у мітохондріях печінки та вміст ацетилхоліну в різних тканинах // Фізіол. журн. – 1996. – **42**, № 5–6. – С. 45–50.
7. Долиба М.М., Кургалюк Н.М., Музика Ф.В. та ін. Синергізм дії α-кетоглутарату і ацетилхоліну на енергетичний обмін в мітохондріях // Фізіол. журн. – 1993. – **39**, № 5–6. – С. 65–70.
8. Дорощев Г.И., Кожемякин Л.А., Ивашкин В.Т. Циклические нуклеотиды и адаптация организма. – Л.: Наука, 1978. – 181 с.
9. Колб В. Г., Калашникова В. С. Клиническая биохимия. – Минск, 1976. – 311 с.
10. Кондрашова М.Н. Взаимодействие процессов переаминирования и окисления карбоновых кислот при разных функциональных состояниях ткани // Биохимия. – 1991. – **56**, № 3. – С. 388–404.
11. Кондрашова М.Н. Реципрокная регуляция дыхания и структурного состояния митохондрий гормонально-субстратной системой. – В кн.: Труды Международ. конф. “Митохондрии, клетки и активные формы кислорода” (Пушчино, 6–9 июня 2000 г.) – Пушчино, 2000. – С. 71–74.
12. Кондрашова М.Н. Трансаминазный цикл окисления субстратов в клетке как механизм адаптации к гипоксии. – В кн.: Фармакологическая коррекция гипоксических состояний. – М., 1989. – С. 51–70.
13. Коробов В.М. Роль оксиду азоту в регуляції транспорту газів // Укр. біохім. журн. – 2001. – **73**, № 3. – С. 13–18.
14. Кургалюк Н.М. Вплив інтермедіатів циклу трикарбонових кислот на систему оксиду азоту за гострої гіпоксії організму // Там само. – 2002. – **74**, № 4. – С. 85–90.
15. Кургалюк Н.М. Вплив модифікації продукції оксиду азоту L-NNA на стан системи антиоксидантного захисту і перекисного окиснення ліпідів у крові та тканинах щурів з різною резистентністю до гіпоксії // Фізіол. журн. – 2001. – **47**, № 2. – С. 52–59.
16. Кургалюк Н.М., Горинь О.В., Гальків М.О., Гордій С.К. Роль холінергічних механізмів регуляції в адаптивних реакціях організму до дії екстремальних навантажень // Там само. – 1998. – **44**, № 3. – С. 164–165.
17. Лукьянова Л.Д. Биознергетические механизмы формирования гипоксических состояний и подходы к их фармакологической коррекции. – В кн.: Фармакологическая коррекция гипоксических состояний. – М., 1989. – С. 11–44.
18. Маевский Е.И., Гришина Е.В., Розенфельд А.С. и др. Анаэробное образование сукцината и облегчение его окисления – возможные механизмы адаптации клетки к кислородному голоданию // Биофизика. – 2000. – **45**, № 3. – С. 509–513.
19. Маевский Е.И., Розенфельд А.С., Гришина Е.В., Кондрашова М.Н. Экспериментальное доказательство преимущественного образования и окисления сукцината при гипоксии. – В кн.: Труды Междунар. конф. “Митохондрии, клетки и активные формы кислорода”. – Пушчино, 2000. – С. 102–104.
20. Мальшев И.Ю., Манухина Е.Б. Стресс, адаптация и оксид азота // Биохимия. – 1998. – **63**, № 7. – С. 992–1006.
21. Мойбенко О.О., Сагач В.Ф., Ткаченко М.М. Фундаментальні механізми дії NO на серцево-судинну систему як основи патогенетичного лікування її захворювань // Фізіол. журн. – 2004. – **50**, № 1. – С. 11–26.
22. Мойбенко О.О., Юзьків М.Я., Тумановська Л.В., Коцюруба А.В. Гостра ішемія-реперфузія міокарда: роль системи оксиду азоту // Там само. – 2004. – **50**, № 2. – С. 34–42.
23. Писаренко О.И., Хлопков В.Н., Ругге Э.К. Изучение методом ЯМР образования сукцината из экзогенных предшественников в неаэрируемых митохондриях сердца крысы // Биохимия. – 1986. – **51**, № 7. – С. 1174–1179.
24. Реутов В. П., Сорокина Е. Г., Охотин В. Е., Косицин Н. С. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих. – М., 1998. – 156 с.
25. Сагач В.Ф., Богуславський А.Ю., Дмитрієва А.В., Надточій С.М. Роль NO та мітохондріальної пори в зміні кисневих режимів працюючого скелетного м'язу // Фізіол. журн. – 2004. – **50**, № 2. – С. 19–26.
26. Сятин С.П., Березов Т.Т. Спектрофотометрический метод определения орнитиндекарбоксилазы с помощью 2,4-динитрофторбензола // Вопр. мед. химии. – 1980. – **26**, № 4. – С. 561–564.
27. Abu-Soud H., Ichimori K., Presta A., Stuehr D. Electron transfer, oxygen binding, and nitric oxide feedback inhibition in endothelial nitric-oxide synthase // J. Biol. Chem. – 2000. – **275**, № 23. – P. 17349–17357.
28. Bank N.R., Aynedjian H.S. Role of EDRF (nitric oxide) in diabetic renal hyperfiltration // Kidney Int. – 1993. – **43**. – P. 1306–1312.

29. Boucher L.G., Moali C., Tenu J. Nitric oxide biosynthesis, nitric oxide synthase inhibitors and arginase competition for L-arginine utilization // *Cell. Mol. Life Sci.* – 1999. – **55**. – P. 1015–1028.
30. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitative of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding // *Anal. Biochem.* – 1976. – **72**, № 1. – P. 242–254.
31. Green L.C., David A.W., Glogowski J. et al. Analysis of nitrate, nitrite and [¹⁵N]-nitrate in biological fluids // *Ibid.* – 1982. – **126**, № 1. – P. 131–138.
32. Palumbo A., Astarita G., Ischia M. Inhibition of neuronal nitric oxide synthase by 6-nitrocatecholamines, putative reactions products of nitric oxide with catecholamines under oxidative stress conditions // *Biochem. J.* – 2001. – **356**. – P. 105–110.
33. Spencer N., Zeng H., Patel R., Hogg N. Reaction of S-Nitrosoglutathione with the heme group of deoxyhemoglobin // *J. Biol. Chem.* – 2000. – **275**, № 47. – P. 36562–36567.
34. Wu G. Synthesis of citrulline and arginine from proline in enterocytes of postnatal pigs // *Am. J. Physiol.* – 1997. – **272**. – P. G1382–G1390.
35. Wu G., Morris S. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond // *Biochem. J.* – 1998. – **336**. – P. 1–17.

*Львів. нац. ун-т ім. І. Франка М-ва освіти і науки України;
Ин-т біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Київ;
Ин-т фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, Київ*

*Матеріал надійшов до
редакції 15.12.2004*