

М.Р.Гжегоцький, Л.В.Паніна, О.І.Терлецька, С.М.Ковальчук

Функціональні прояви та метаболічні основи модулюючого впливу нітриту натрію в мозку за умов гемічної гіпоксії

Исследовали показатели свободнорадикального гомеостаза митохондрий мозга крыс в период максимального развития гемической гипоксии, вызванной введением нитрита натрия. По устойчивости к гипобарической гипоксии экспериментальные животные предварительно были разделены на две группы. При этом в митохондриях мозга высокоустойчивых крыс вследствие введения нитрита натрия регистрировали увеличение содержания нитрит-ионов, а также интенсификацию про- и антиокислительных процессов по сравнению с контролем. Характерным для группы низкоустойчивых животных вследствие влияния нитросоединения было снижение всех исследованных показателей свободнорадикального гомеостаза в митохондриях мозга. Введение токсической дозы указанного прогипоксического фактора дало возможность выявить типологические особенности развития окислительно-восстановительных процессов в митохондриях мозга экспериментальных животных с разной резистентностью к действию гипоксии.

ВСТУП

Тканина мозку характеризується інтенсивним обміном речовин та споживанням кисню і тому є однією з найчутливіших до гіпоксії. Важливим посередником у реалізації обмінних перетворень у мозку є оксид азоту (NO) та деякі інші вільнорадикальні похідні [11, 17, 18]. За фізіологічних умов ця молекула, утворена у клітинах нервової системи, бере участь у чітких взаємозумовлених процесах між нейронами, внутрішньоклітинного передавання сигналу, виділення нейротрансмітерів тощо. При надмірному утворенні чи при введенні донорів NO у токсичних концентраціях відбуваються значні порушення функціональної активності нейрональних структур та низки контрольованих ними процесів [31]. Оскільки загальний фон функціональних та обмінних перетворень у клітинах нервової системи значною мірою визначається активністю мітохондрій, особливо акту-

альними є дослідження функціонально-метаболічного стану цих органел за гіпоксичних умов.

Метою нашої роботи було проведення аналізу показників вільнорадикального гомеостазу мітохондрій мозку за умов введення нітриту натрію – донатора оксиду азоту та важливого прогіпоксичного фактора антропогенного походження у період максимального розвитку гіпоксії.

МЕТОДИКА

Дослідження проведено на нелінійних щурах-самцях масою 180–220 г, яких утримували за стандартних умов віварію. За резистентністю до гіпоксії тварини були розділені за методом Березовського [1]. Критерієм резистентності щурів до дефіциту кисню при експозиції у протоковитяжній барокамері на умовній висоті 11000 м був час від моменту підняття (швидкість 180 м/с) до появи другого

агонального вдиху. У досліджуваній популяції не виявлено щурів, які б за часом перебування на висоті відповідали високій резистентності (до 20 хв), тому тварини були розділені на 2 групи (по 10 у кожній): до 2 хв – щури з умовно низькою резистентністю і до 12 хв – щури з умовно високою резистентністю. Розчин нітриту натрію вводили внутрішньоочеревинно у дозі 2 мг/100 г. Контрольним щурам вводили відповідний об'єм фізіологічного розчину. Дослідження проводили через 1 год після введення препарату, що згідно з даними літератури є періодом максимального розвитку гіпоксії – піка утворення метгемоглобіну (близько 40 % від загального вмісту гемоглобіну) та корелювало із зафіксованим нами високим відсотком пероксидіндукованого гемолізу еритроцитів [3,17]. Мітохондрії мозку виділяли за загальноприйнятим методом диференційного центрифугування такого складу (ммоль/л): сахарози – 250, ЕДТА – 1, тріс-НСІ буфера – 4 (рН 7,4). Вміст білка в мітохондріях визначали за методом Лоурі [27]. Спектрофотометрично реєстрували показники про- та антиоксидантної активності мітохондрій мозку. Зокрема, оцінювали рівень Fe^{2+} -індукованого нагромадження ТБК-активних продуктів методом Тимірбулатова та співавт. [19] у модифікації Мартинюка та співавт. [11]. Загальну антиоксидантну активність (АОА) характеризували за описаним методом [11]. Для цього визначали співвідношення нагромадження ТБК-активних продуктів при активації перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у двох різних кількостях досліджуваного матеріалу при постійному об'ємі середовища інкубації. Індекс $I_{АОА}$ розраховували за формулою:

$$I_{АОА} = \frac{E_1 \cdot m_2}{E_2 \cdot m_1},$$

де E_1, E_2 – оптичні густини двох проб; m_1, m_2 – кількість матеріалу в цих пробах. Досліджували активність супероксиддисмутази (СОД) за реакцією аутоокиснення

кверцетину [9]. Оцінювали активність каталази за здатністю пероксиду водню утворювати з солями молібдену стійкий забарвлений комплекс [8]. Визначали активність глутатіонпероксидази, оцінюючи різницю між кількістю відновленого глутатіону в контрольній і дослідній пробах за кольоровою реакцією з 5,5-дитіобіс-2-нітробензойною кислотою [12]. Також за цією реакцією реєстрували вміст відновленого глутатіону у описаній послідовності [2]. Визначали концентрацію похідного оксиду азоту – нітрит-іона методом Гріна [26]. Статистичну обробку результатів проводили з використанням критерію t Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Нами встановлено, що введення токсичної дози вказаного прогіпоксичного фактора у тварин з різною резистентністю до гіпобаричної гіпоксії призвело до неоднакових змін досліджуваних показників у мітохондріях мозку. Водночас слід зазначити, що в тварин контрольної групи з умовно високою та низькою резистентністю до гіпоксії не було виявлено вірогідних відмінностей досліджуваних показників системи про- та антиоксидантна активність, тому контролем при аналізі ефектів введення нітриту натрію були середньостатистичні показники загальної вибірки тварин. Так, характерною особливістю функціонально-метаболического стану мітохондрій з високою резистентністю тварин стало збільшення у 2,4 раза вмісту нітрит-іонів і виразна мобілізація усіх досліджуваних показників вільнорадикального гомеостазу. Спостерігали збільшення вмісту ТБК-активних продуктів (на 24,5 %) у порівнянні з контрольною групою, а також вірогідну активацію антиперекисної ланки АОА. Активність глутатіонпероксидази збільшувалася на 67 %, каталази – на 43 %, СОД – на 20 %. $I_{АОА}$, що, в основному, харак-

теризує зміни активності неферментативної ланки антиоксидантного захисту, та вміст відновленого глутатіону у мітохондріях цієї групи тварин були вищими від контрольних значень на 16 і 15 % відповідно (таблиця).

Незважаючи на найвищий з-поміж інших вміст у тканині мозку фосфоліпідів і поліненасичених жирних кислот, іонів заліза (II), що робить її особливо чутливою до окисного стресу, відмічене нами незначне збільшення вмісту ТБК-активних продуктів можна пояснити специфічним ефектом дії нітросполук, опосередкованим взаємодією з потенційними субстратами ПОЛ – жирнокислотними складовими мембранних структур і безпосередньо з ТБК-активними продуктами [16, 17, 23]. Вагомий вплив на характер процесів ліпопероксидації мала також зареєстрована нами загальна мобілізація усіх досліджуваних ланок антиоксидантного захисту (див. таблицю).

Для тканини мозку характерний фізіологічно зумовлений низький вміст таких ензимів антиоксидантного захисту, як СОД, каталаза та глутатіонпероксидаза. В основному, фактори антиоксидантного захисту мозку містяться не у його тканині, а забезпечуються кровотоком [28, 34]. Відмічене нами істотне підвищення потужності антиперекисної ланки антиоксидантного захисту у мітохондріях мозку високорезис-

тентних тварин, індуковане змінами кисневого обміну, зумовлене, очевидно, мобілізацією як антиоксидантних ензимів, так і деяких інших мітохондріальних складових з антиоксидантними властивостями. Згідно з даними літератури, ліпопероксидазна активність мітохондрій представлена глутатіонпероксидазою міжмембранного простору за наявності металів змінної валентності та різновидом даного ензиму, відомим, як фосфоліпідгідропероксид глутатіонпероксидаза, задіяним у відновленні ліпідних пероксидів, асоційованих з мембраною. Пероксидазна активність забезпечується каталазою, а також деякими компонентами ланцюга транспорту електронів та цитратного циклу. Зокрема, розкласти різні пероксиди за наявності сукцинату може убіхінон [25]. Пероксидазну дію може виявляти оксидаза цитохрому с [33]. Антиоксидантні властивості, у порядку підвищення потенційної здатності до інгібування Fe²⁺-індукованого нагромадження ТБК-активних продуктів, мають такі інтермедіати циклу Кребса, як цитрат, оксалоацетат, сукцинат і малат [18, 29].

Важливим неферментативним антиоксидантом, вміст якого, як вважається, корелює з інтенсивністю процесів ліпопероксидації, є відновлений глутатіон – головний мітохондріальний тіол [30]. Його

Показники про- та антиокисної активності мітохондрій мозку щурів через одну годину після введення нітритру натрію (M±m; n = 10)

Показник	Контроль	Тварини з високою резистентністю	Тварини з низькою резистентністю
ТБК-активні продукти, нмоль/мг	28,45 ± 2,47	35,43 ± 3,08 *	17,67 ± 1,53 *
I _{АОА} , відн. од.	1,07 ± 0,05	1,24 ± 0,09 *	0,89 ± 0,07 *
Супероксиддисмутазна активність, ум.од.	21,35 ± 1,32	25,62 ± 1,84 *	13,45 ± 1,28 *
Глутатіон відновлений, мкмоль GSH/мг	0,89 ± 0,06	1,02 ± 0,07 *	0,70 ± 0,05 *
Активність глутатіонпероксидази, мкмоль GSH · хв ⁻¹ · мг ⁻¹	0,75 ± 0,05	1,25 ± 0,11 *	0,41 ± 0,03 *
Каталазна активність, мкмоль Н ₂ О ₂ /мг	1,17 ± 0,09	1,67 ± 0,07 *	0,92 ± 0,08 *
NO ₂ ⁻ , нмоль/мг	1,98 ± 0,17	4,75 ± 0,39 *	1,15 ± 0,07 *

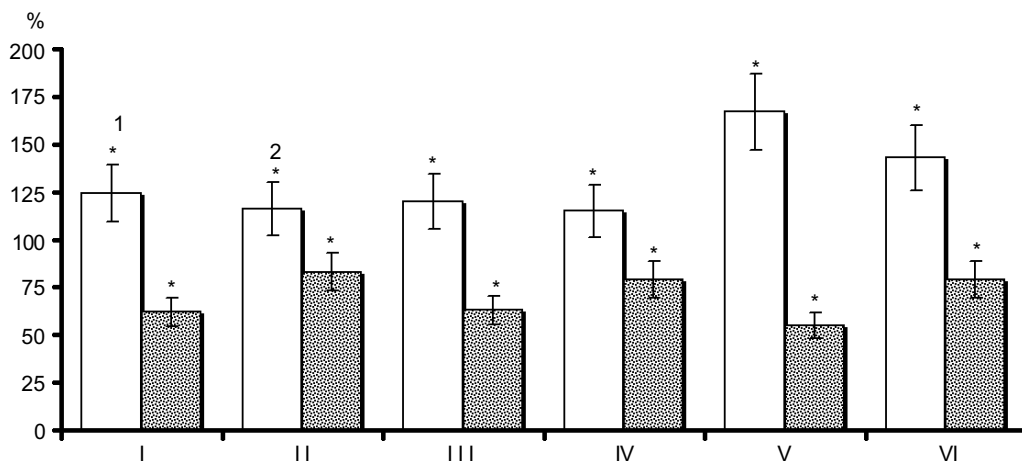
Примітка: Показники розраховували на міліграм білка.* P < 0,05 відносно контролю.

вміст у мітохондріях високорезистентних тварин був достовірно вищим від контролю. Відомо, що при взаємодії глутатіону та інших тіолів з оксидом азоту і його похідними спостерігається утворення нітрозотіолів [30]. Синтез і розпад цих сполук відбувається за участю молекулярного кисню з утворенням O_2^- [30]. Це, ймовірно, було однією з причин відміченого нами впливу СОД і каталази.

У мітохондріях тварин з низькою резистентністю на відміну від тварин з високою резистентністю виявлено істотне зниження як вмісту нітрит-іонів, так і усіх досліджуваних показників вільнорадикального гомеостазу. Вміст нітрит-іонів і рівень нагромадження ТБК-активних продуктів були нижчими від контролю на 42 та 37,9 % відповідно. Спостерігалось також односпрямоване зниження реакційної здатності компонентів як антирадикальної, так і антиперекисної ланки антиоксидантного захисту, а саме: активності СОД – на 37 %, вмісту глутатіону відновленого – на 21 %, загальної антиоксидантної активності, згідно з I_{AOA} , – на 17 %, а також каталазної та глутатіонпероксидазної активності на 21 та 45 % відповідно (див. таблицю, рисунок).

Зміни показників про- та антиоксидантної активності у мітохондріях тварин з низькою та високою резистентністю корелюють з нагромадженням нітрит-іонів. Це дає змогу пов'язувати відмічені особливості зі специфічним впливом нітритної інтоксикації та вихідним функціонально-метаболічним станом цих органел, що відмічалось і при дослідженні тканини печінки [14, 17].

При введенні високих доз нітритів певна кількість нітрит-іонів зв'язується з гемовмісними білками, низькомолекулярними тіоловмісними речовинами, залізо-сірчаними сполуками та вторинними амінами, формуючи комплекси з деякими компонентами мембранних структур [17]. Водночас за умов гіпоксії дезоксиформи гемовмісних білків, зокрема і тих, що входять до складу дихального ланцюга мітохондрій, мають властивість відновлювати нітрит-іони до оксиду азоту, який, взаємодіючи з кисневими вільнорадикальними інтермедіатами, реалізує свої антиоксидантні властивості та пригнічує розвиток процесів ліпопероксидації. Вказані особливості взаємодії нітросполук можуть певною мірою пояснювати відмічене нами зменшення вмісту як нітрит-іонів, так і ТБК-



Зміни нагромадження ТБК-активних продуктів (I), індексу загальної антиоксидантної активності (II), супероксиддисмутазної активності (III), вмісту відновленого глутатіону (IV), активності глутатіонпероксидази (V) та каталазної активності (VI) у мітохондріях мозку високорезистентних (1) і низькорезистентних тварин (2) за умов введення нітриту натрію.

* $P < 0,05$ відносно контролю

активних продуктів у мітохондріях тварин з низькою резистентністю. Поряд з цим зареєстроване зниження вмісту ТБК-активних продуктів у період максимального розвитку гіпоксії у мітохондріях даної групи тварин, може мати декілька пояснень, серед яких імовірно виснаження пулу потенційних ТБК-активних субстратів, спричинене як специфічною модулюючою дією реакційноздатних похідних оксиду азоту, так і неспецифічним впливом гемічної та тканинної гіпоксії на обмінні процеси. Подібний ефект спостерігали і інші автори [23]. При додаванні монооксиду азоту до субстратів з прооксидантними властивостями нами зареєстровано зменшення нагромадження ТБК-активних продуктів. Встановлено, що оксид азоту та його похідні можуть інгібувати їх утворення, розкладаючи первинні інтермедіати ПОЛ (15-гідропероксидкозатетраснову кислоту і деякі інші гідроперокси) та продукти наступних етапів ліпопероксидації – ТБК-прекурсори (біциклічні ендоперокси, МДА тощо) за допомогою нітрузування та інших окисних модифікацій, пояснюючи таким чином зниження вмісту ТБК-активних продуктів та нітрит-іонів, яке спостерігалось у наших дослідженнях. Окрім того відомо, що МДА – один із основних ТБК-активних продуктів, є попередником малонової кислоти – проміжний продукт обміну речовин, інтенсивність біосинтезу яких посилюється при розвитку тканинної гіпоксії. Ця сполука бере участь у регуляції енергетичного обміну, впливаючи на стан окисно-відновних процесів у мітохондріях [4]. Біосинтез малонату має важливе значення у формуванні адаптивних реакцій клітин за умов впливу різних несприятливих чинників. Серед можливих шляхів утилізації малонової кислоти розглядається використання її в реакціях ліпогенезу [5].

Ще одним можливим механізмом зниження пулу потенційних ТБК-субстратів, відміченого у мітохондріях мозку тварин

даної групи при дії надлишку нітросполук і гіпоксії, є дисрегуляція гомеостазу Ca^{2+} – ключового модулюючого чинника мітохондріальної функціональної активності [16]. За таких умов імовірним є дія фосфоліпаз, що призводить до низки перетворень, які завершуються апоптозом [22]. Процеси гідролізу ліпідного компонента ліпопротеїдних мембран, у тому числі мітохондріальних, що активізуються при цьому, супроводжуються нагромадженням неетерифікованих жирних кислот, які за гіпоксичних умов можуть використовуватись як основний субстрат у підтриманні енергетичного потенціалу клітин [20].

При гіпоксії під впливом нітросполук [21] основним енергетичним субстратом є глюкоза. Джерелом глюконеогенезу у вищих організмів поряд з іншими продуктами (амінокислоти, піруват, лактат, кетоніві продукти) є жирні кислоти. Характерною особливістю такого фізіологічного процесу, як конверсія жирних кислот у вуглеводи, є його активація при гіпоксичних і різноманітних екстремальних впливах, що сприяє розвитку адаптивно-компенсаторних змін клітинних структур в умовах зниження вмісту кисню [10]. Водночас поряд з дезорганізацією ліпідного компонента мембранних структур, судячи зі змін нагромадження потенційних субстратів ліпопероксидації у мітохондріях низькорезистентних тварин, ефект дії нітросполук зумовлений специфічними мультифакторними проявами властивостей, опосередковуючи також зниження білкового компонента деяких ензимів, у тому числі антиоксидантів [24]. Зокрема, ефект NO-залежної цитотоксичності поширюється на ендогенні ферментативні антиоксидантні системи: каталазу, глутатіонпероксидазу, Cu,Zn-СОД і Mn-СОД. Установлений факт може бути однією з основних причин однонаправленого зниження антиоксидантної реакційної здатності, відміченої нами у мітохондріях мозку тварин цієї групи.

Взаємодія NO та його похідних з тіоловмісними макромолекулами типу глутатіону, цистеїну за фізіологічних умов сприяє стабілізації вмісту нітросполук, проте при їх надлишку призводить до пошкодження нейрональних структур, опосередкованого нітруванням тирозинових груп [6, 30], що, ймовірно, може бути поясненням виявленого нами зменшення (на 21 %) вмісту відновленого глутатіону у мітохондріях мозку низькорезистентних тварин за таких умов експерименту. Вважається, що альтерації вмісту мітохондріального глутатіону роблять вагомий внесок пошкодження тканини мозку при гіпоксії, що також асоціюється з розвитком апоптичних змін [32]. При цьому активуються внутрішньоклітинні процеси, збільшуючи проникність зовнішньої мітохондріальної мембрани через відкриття пор. У результаті подібних змін цитохром *c* переміщується з міжмембранного простору мітохондрій у цитоплазму клітини, де приєднується до фактора Араф-1 [33]. Надалі внаслідок протеолітичних реакцій активуються ДНКазы, наслідком чого є загибель клітини [33]. При гіпоксії, яка супроводжується нестачею поживних речовин та ацидозом, значно збільшується частка клітин, що не функціонують. Водночас при однаковому способі пошкодження у досліджуваній популяції тварин є організми, клітинні структури яких гинуть у першу чергу, а також такі, що виявляють більш високу резистентність структурних елементів до окисного стресу [7, 15].

Таким чином, результати наших досліджень і дані літератури свідчать, що характер реакції організму на дію подразнювальних чинників визначається фазовим станом і рівнем енергізації мітохондріальних структур. Односпрямоване зниження усіх досліджуваних показників у мітохондріях мозку тварин з низькою резистентністю на відміну від тварин з високою резистентністю можна пов'язувати з виснаженням у даний період субстратних та

енергетичних резервів, що може бути зумовлене розвитком деструктивних процесів. Поряд з цим, відмічене нами у мітохондріях тварин з високою резистентністю у період максимального розвитку гіпоксії більше нагромадження нітрит-іонів – індуктора нітритредуктазної активності цитохромоксидази та більша інтенсивність прота антиоксидантних процесів свідчать про вищий рівень функціонально-метаболическої активності цих органел. Отримані результати обґрунтовують також необхідність типологічного підходу при з'ясуванні механізму дії та визначенні шляхів корекції впливу досліджуваного прогіпоксичного фактора.

Дослідження були проведені при підтримці WUBMRC (West-Ukrainian BioMedical Research Center)

M.R.Gzhegotsky, L.V.Panina, O.I.Terletska, S.M.Kovalchuk

FUNCTIONAL-METABOLIC BASIS OF NITRIC OXIDE DERIVATES MODULATORY INFLUENCE IN BRAIN UNDER THE CONDITION OF HEMIC HYPOXIA

Free radical homeostasis parameters of rat's brain mitochondria under conditions of sodium nitrite administration at the peak of hypoxia had been studied. Prior to study experimental animals have been divided into two groups depending on resistance to hypobaric hypoxia. In brain mitochondria of high-resistant to hypoxia rats increase of the nitrites-ions contents and also intensification of pro- and antioxidative processes were registered in comparison with the control group. Decrease of all investigated free radical homeostasis parameters in brain mitochondria of low-resistant to hypoxia animals in comparison with the control group was determined. Administration of pro-hypoxic factor in toxic dose allowed us to reveal specific peculiarities of redox processes development in the brain mitochondria of experimental animals with different resistance to hypoxia.

Lviv National Medical University named after Danylo Halysky, Ukraine

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Березовский В.А. Бойко К.А., Клименко К.С. и др. Гипоксия и индивидуальные особенности реактивности. – К.: Наук. думка, 1978. – 214 с.
2. Гадзиева И.Н. Методические рекомендации по

- дифференциальной диагностике различных форм ишемической болезни сердца с использованием определения компонентов глутатионовой пероксидазной каталитической системы в эритроцитах крови. – Одесса: Изд-во МЗ СССР, 1982. – 25 с.
3. Гжегоцький М.Р., Ковальчук С.М., Паніна Л.В. та ін. Метод визначення пероксидної резистентності еритроцитів та його інформативність за фізіологічних умов та при інтоксикації організму // Експерим. та клін. фізіологія та біохімія. – 2004. – № 3. – С. 58–64.
 4. Давыдов В.В. Особенности обмена свободной малоновой кислоты в тканях крыс // Укр. биохим. журн. – 1991. – **63**, № 1. – С. 56–60.
 5. Давыдов В.В. Пути образования эндогенного малоната в печени крыс // Там же. – 1993. – **65**, № 2. – С. 85–88.
 6. Зозуля Ю.А., Сенько Л.Н. Мультифункциональность и метаболизм оксида азота в центральной нервной системе // Теор. медицина. – 2000. – **6**, №1. – С. 3–25.
 7. Ковальчук С.Н., Тимочко М.Ф. Особенности метаболической регуляции компенсаторных систем с различным уровнем резистентности. – В кн.: Материалы Междунар. конф. посвящ. 75-летию со дня рождения А.М.Уголева “Механизмы функционирования висцеральных систем”. – Спб., 2001. – С. 359–360.
 8. Корольюк М.А. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
 9. Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.В. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина // Вопросы мед. химии. – 1990. – № 2. – С. 88–91.
 10. Лебкова Н.П. Современные представления о внутриклеточных механизмах обеспечения энергетического гомеостаза в норме и при патологии // Вестн. РАН. – 2000. – № 9. – С. 16–22.
 11. Мартынюк В.Б., Ковальчук С.М., Тимочко М.Ф. и др. Индекс антиокислительной активности биологического материала // Лаб. дело. – 1991. – № 3. – С. 19–22.
 12. Моин В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Там же. – 1986. – № 6. – С. 724–727.
 13. Паніна Л.В., Тимочко М.Ф., Терлецька О.І. та ін. Роль оксиду азоту в розвитку антигіпоксичної адаптації // Експерим. та клін. фізіологія та біохімія. – 1999. – № 4. – С.29–39.
 14. Паніна Л.В., Гжегоцький М.Р., Ковальчук С.М. Особливості метаболічних змін у мітохондріях печінки при гемічній гіпоксії. – У кн.: Матеріали міжнар. конф. „Клітинні і субклітинні механізми функціонування травної системи”, приуроченої до 80-ліття з дня народження проф. І.В.Шостаковської, 2004 р. – Львів, 2004. – С. 59.
 15. Паніна Л.В., Терлецька О.І., Ковальчук С.М. Особливості функціонально-метаболічної активності мітохондрій мозку при гемічній гіпоксії // Фізіол. журн. – 2006. – **52**, № 2. – С. 151.
 16. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Пинелис В.Г. и др. Компенсаторно-приспособительные механизмы при нитритной гипоксии у крыс // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1993. – № 11. – С. 506–508.
 17. Реутов В.П. Цикл окиси азота в организме млекопитающих // Успехи биол. химии. – 1995. – **35**. – С. 189–228.
 18. Сирота Т.В. Антиоксидантные (антирадикальные) свойства субстратов цикла Кребса. – В кн.: Материалы Всерос. рабочего совещания “Митохондрии в патологии”. – Пущино, 2001. – С.110–112.
 19. Тимирбулатов Р.А., Селезнев Е.И. Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение // Лаб. дело. – 1981. – № 4. – С. 209–211.
 20. Тимочко М.Ф., Слісєєва О.П., Кобилінська Л.І. та ін. Метаболічні аспекти формування кисневого гомеостазу в екстремальних станах. – Львів, 1998. – 141 с.
 21. Bolanos J.P., Ciudad P., Garcia-Nogales P. et al. Regulation of glucose metabolism by nitrosative stress in neural cells // Mol. Aspects Med. – 2004. – **25**, № 1–2. – P. 61–73.
 22. Brookes P.S., Yoon Y., Robotham J.L. et al. Calcium, ATP, and ROS: a mitochondrial love-hate triangle // Amer. J. Physiol. Cell Physiol. – 2004. – **287**. – P. C817–C833.
 23. d’Ischia M., Palumbo A., Buzzo F. Interactions of nitric oxide with lipid peroxidation products under aerobic conditions: inhibitory effects on the formation of malondialdehyde and related thiobarbituric acid-reactive substances // Nitric Oxide. – 2000. – **4**, № 1. – P. 4–14.
 24. Dobashi K., Pahan K., Chahal A. et al. Modulation of endogenous antioxidant enzymes by nitric oxide in rat C6 glial cells // J.Neurochem. – 1997. – **68**, №5. – P. 1896–1903.
 25. Eto Y., Kang D., Hasegawa E. et al. Succinate-dependent lipid peroxidation and its prevention by reduced ubiquinone in beef heart submitochondrial particles // Arch. Biochem. Biophys. – 1992. – **295**. – P. 101–106.
 26. Green L.C., Wagner D.A., Glosowski J. et al. Analysis of nitrate, nitrite and [15N]nitrate in biological fluids // Anal. Biochem. – 1982. – **126**. – P. 131–138.
 27. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. et al. Protein measurement with Folin reagent // J. Biol Chem. – 1951. – **193**. – P. 265–275.
 28. Nomura K., Imai H., Koumura T. et al. Mitochondrial phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase inhibits the release of cytochrome c from mitochondria by suppressing the peroxidation of cardiolipin in hypoglycaemia-induced apoptosis // Biochem. J. – 2000. – **351**. – P. 183–193.

29. Puntel R.L., Nogueira C.W., Rocha J.B. Krebs cycle intermediates modulate thiobarbituric acid reactive species (TBARS) production in rat brain in vitro // *Neurochem. Res.* – 2005. – **30**, № 2. – P.225–235.
30. Sarkela T.M., Berthiaume J., Elfering S. et al. The modulation of oxygen radical production by nitric oxide in mitochondria // *J. Biol. Chem.* – 2001. – **276**. – P. 6945–6949.
31. Seilicovich A., Lasaga M., Befumo M. et al. Nitric oxide inhibits the release of norepinephrine and dopamine from the medial basal hypothalamus of the rat // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1995. – **92**, № 24. – P. 11299–11302.
32. Sims N.R., Nilsson M., Muyderman H. Mitochondrial glutathione: a modulator of brain cell death // *J Bioenerg Biomembr.* – 2004. – **36**, № 4. – P. 329–333.
33. Turrens J.F. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. Topical Review // *J.Physiol.* – 2003. – **552**, № 2. – P. 335–344.
34. Ursini F., Heim S., Kiess M. et al. Dual function of the selenoprotein PHGPx during sperm maturation // *Science.* – 1999. – **285**. – P. 1393–1396.

*Львів. нац. мед. ун-т ім. Данила Галицького МОЗ
України*

*Матеріал надійшов до
редакції 19.10.2006*