

УДК 577.3+615

ВПЛИВ ЕНТЕРОСОРБЕНТІВ НА АКТИВНІСТЬ NO-СИНТАЗИ У КЛІТИНАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ВВЕДЕННЯ АФЛАТОКСИНУ В1

Х. М. Головчак¹, І. В. Панчук¹, Г. Л. Антоняк^{1, 2}, О. Є. Возна³
halyna_antonyak@yahoo.com; ch_golovchak@inenbiol.com.ua

¹Інститут біології тварин НААН, вул. Стуса, 38, Львів, 79034, Україна

²Львівський національний університет імені Івана Франка, вул. Саксаганського, 1, Львів, 79005, Україна

³Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, вул. Пекарська, 50, Львів, 79010, Україна

Афлатоксин В1 (AFB1) є одним із найшкідливіших природних токсинів, які часто забруднюють зернові культури і тваринні корми. За умов надходження AFB1 в організм тварин відбуваються порушення різних ланок метаболізму в клітинах крові та інших тканин і органів. Однак вплив афлатоксину В1 на систему синтезу оксиду нітрогену (NO) — ендogenous чинника, який бере участь у механізмах регуляції клітинних функцій, вивчений недостатньо. Синтез NO з L-аргініну відбувається за участю різних ізоформ NO-синтази (NOS), які функціонують у клітинах тварин і людини. Метою роботи було з'ясувати вплив AFB1 на загальну активність NO-синтаз в еритроцитах, клітинах нирки та слизової оболонки тонкого кишечника щурів і дослідити ефективність ентеросорбентів «Вітакорм-РЕО» та «Вітакорм-Ацидус» у корекції зумовлених афлатоксином змін у системі синтезу оксиду нітрогену.

Дослідження проводили на білих щурах-самцях з масою тіла 250 г, яких поділили на 6 груп. Перша група була контрольною. Щурам 2-ї групи вводили внутрішньошлунково афлатоксин В1 (15 мкг/кг маси) щодоби впродовж 14 днів. Тваринам 3-ї та 4-ї груп вводили AFB1 разом із препаратами «Вітакорм-РЕО» та «Вітакорм-Ацидус» відповідно. Щурам 5-ї і 6-ї груп давали з кормом лише зазначені ентеросорбенти.

У процесі досліджень встановлено, що розвиток експериментального афлатоксикозу в організмі тварин супроводжується зміною загальної активності клітинних NO-синтаз. На 7-му добу введення AFB1 цей показник в еритроцитах крові щурів збільшується на 70 %, а на 14-ту добу — на 30 %. Активність NOS у клітинах нирки тварин, котрим вводили афлатоксин, на 7-му і 14-ту доби експерименту збільшилась, відповідно, в чотири і два рази порівняно з показниками в контрольній групі. Загальна активність NO-синтаз зростала і в клітинах слизової оболонки тонкого кишечника щурів, хоча й меншою мірою, ніж у клітинах нирки та еритроцитах. Показано, що застосування ентеросорбентів «Вітакорм-РЕО» та «Вітакорм-Ацидус» нормалізує активність NO-синтаз у досліджуваних клітинах, причому «Вітакорм-РЕО» є ефективнішим чинником для профілактики зумовлених афлатоксином порушень, ніж «Вітакорм-Ацидус».

Ключові слова: АФЛАТОКСИН В1, NO-СИНТАЗИ, НІТРИТИ, ЕНТЕРОСОРБЕНТИ, ЩУРИ

EFFECTS OF ENTEROSORBENTS ON THE ACTIVITY OF NO-SYNTASE IN THE CELLS OF RATS IN THE CONDITIONS OF AFLATOXIN B1 INTAKE

Ch. M. Golovchak¹, I. V. Panchuk¹, H. L. Antonyak^{1, 2}, O. Ye. Vozna³
halyna_antonyak@yahoo.com, ch_golovchak@inenbiol.com.ua

¹Institute of Animal Biology, NAAS, Stusa St., 38, Lviv, 79034, Ukraine,

²Lviv Ivan Franko National University, Lviv, Saksahanskoho St., 1, 79005, Ukraine

³Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S. Z. Gzhytskyj, Pekarska st., 50, Lviv, 79010, Ukraine

Aflatoxin B1 (AFB1) is one of the most harmful natural toxins that often contaminate crops and animal feed. Intake of AFB1 by animals causes violations of various links of metabolism in blood cells and

other tissues and organs. However, the effect of aflatoxin B1 on the system of synthesis of nitric oxide (NO) — an endogenous factor that is involved in the mechanisms of cellular functions regulation is not studied sufficiently. The synthesis of NO from L-arginine occurs by different isoforms of NO-synthase (NOS) in the cells of animals and humans. The aim of the study was to determine the influence of AFB1 on the total NO-synthase activity in red blood cells, kidney cells and mucosa of the small intestine of rats and to investigate the effectiveness of sorbents «Vitakorm-REO» and «Vitakorm-Acidus» in the correction of aflatoxin-related changes in NO synthesis.

The study was conducted on white male rats weighing 250 g, which were divided into 6 groups. The first group was used as control. Rats in group 2 were administered intragastrically by aflatoxin B1 (15 mg/kg body weight daily) for 14 days. Animals of the 3rd and 4th groups were injected with AFB1 simultaneously with «Vitakorm-REO» and «Vitakorm-Acidus» respectively. The rats of 5th and 6th groups were given only sorbents with feed.

It was found that the development of experimental aflatoxicosis in animals was accompanied by the changes in the total cellular activity of NO-synthase. On the 7th day of AFB1 intake the activity of NOS in red blood cells of rats increased by 70 % and on the 14th day — by 30 %. NOS activity in kidney cells increased on the 7th and 14th day of experiment, respectively, by four and two times in comparison to control group. The total activity of NO-synthase increased in the cells of small intestine mucosa of rats to a lesser extent than in the cells of the kidney and erythrocytes. It is shown that the use sorbents «Vitakorm-REO» and «Vitakorm-Acidus» normalizes activity of NO-synthase in the studied cells, and «Vitakorm-REO» is more effective factor for prevention of aflatoxin-related disorders, than «Vitakorm-Acidus».

Keywords: AFLATOXIN B1, NO-SYNTASE, NITRITE, SORBENTS, RATS

ВЛИЯНИЕ ЭНТЕРОСОРБЕНТОВ НА АКТИВНОСТЬ NO-СИНТАЗЫ В КЛЕТКАХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ВВЕДЕНИЯ АФЛАТОКСИНА В1

Х. М. Головчак¹, И. В. Панчук¹, Г. Л. Антоняк^{1, 2}, О. Е. Возная³
halyna_antonyak@yahoo.com, ch_golovchak@inenbiol.com.ua

¹Институт биологии животных НААН, ул. Стуса, 38, Львов, 79034, Украина

²Львовский национальный университет имени Ивана Франко,
ул. Сакаганского, 1, Львов, 79000, Украина

³Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий
имени С. З. Гжицкого, ул. Пекарская, 50, г. Львов 79010, Украина

Афлатоксин В1 (AFB1) является одним из самых вредных природных токсинов, которые часто загрязняют зерновые культуры и животные корма. В условиях поступления AFB1 в организм животных происходят нарушения различных звеньев метаболизма в клетках крови и других тканей и органов. Однако влияние афлатоксина В1 на систему синтеза оксида азота (NO) — эндогенного фактора, участвующего в механизмах регуляции клеточных функций, изучено недостаточно. Синтез NO из L-аргинина происходит при участии различных изоформ NO-синтазы (NOS), которые функционируют в клетках животных и человека. Целью работы было выяснить влияние AFB1 на общую активность NO-синтазы в эритроцитах, клетках почки и слизистой оболочки тонкого кишечника крыс и исследовать эффективность энтеросорбентов «Витакорм-РЭО» и «Витакорм-Ацидус» в коррекции обусловленных афлатоксином изменений в системе синтеза оксида азота.

Исследования проводились на белых крысах-самцах с массой тела 250 г, которых разделили на 6 групп. Первая группа была контрольной. Крысам 2-й группы вводили внутривенно афлатоксин В1 (15 мкг/кг массы) ежедневно в течение 14 суток. Животным 3-й и 4-й групп вводили AFB1 вместе с препаратами «Витакорм-РЭО» и «Витакорм-Ацидус» соответственно. Крысы 5-й и 6-й групп получали с кормом только указанные энтеросорбенты.

В процессе исследований установлено, что развитие экспериментального афлатоксикоза в организме животных сопровождается изменением общей активности клеточных NO-синтаз. На 7-е сутки введения AFB1 этот показатель в эритроцитах крови крыс увеличивается на 70 %, а на 14-е сутки — на 30 %. Активность NOS в клетках почки животных, которым вводили афлатоксин, на 7-е и 14-е сутки эксперимента увеличилась, соответственно, в четыре и два раза по сравнению с

показателями в контрольній групі. Обща активність NO-синтази підвищилась і в клітках слизової оболонки тонкого кишечника крыс, хоча і в меншій ступені, ніж в клітках печінки і еритроцитах. Показано, що застосування ентеросорбентів «Вітакорм-РЭО» і «Вітакорм-Ацидус» нормалізує активність NO-синтази в досліджуваних клітках, причому «Вітакорм-РЭО» є більш ефективним фактором для профілактики обумовлених афлатоксином порушень, ніж «Вітакорм-Ацидус».

Ключевые слова: АФЛАТОКСИН В1, NO-СИНТАЗЫ, НИТРИТЫ, СОРБЕНТЫ, КРЫСЫ

Афлатоксини належать до найнебезпечніших забруднювачів зернових культур і кормів тварин. Продуктами афлатоксинів є деякі види мікроскопічних грибів роду *Aspergillus*, які широко розповсюджені в умовах теплої і вологої клімату та можуть розвиватися на зерні у разі недотримання норм його зберігання. Продуктовані за участю цих грибів токсини, потрапляючи в організм тварин і людини, впливають на обмінні процеси, імунну функцію, ріст і розвиток [1].

У попередніх дослідженнях з'ясовано [2], що за умов оксидативного стресу, зумовленого дією афлатоксину В1 (AFB1), в лейкоцитах щурів пригнічується активність NO-синтази (NOS, КФ 1.14.13.39) — ензимів, які каталізують утворення оксиду нітрогену (NO) з молекул L-аргініну. Оксид нітрогену (NO) — це універсальний ендogenous модулятор, який регулює активність імунної системи, тонус судин і гладких м'язів внутрішніх органів, виявляє антитромботичну дію, впливає на синтез білків та інші процеси в організмі. Залежно від концентрації цей чинник може проявляти пошкоджувальний або захисний вплив на функціонування клітин. Негативна дія оксиду нітрогену виявляється, коли його концентрація різко знижується або зростає внаслідок змін активності NOS під впливом різноманітних ендogenous та екзогенних чинників, зокрема токсинів біологічного походження. Різні ізоформи NO-синтази виявляються в клітинах крові та інших тканин в організмі людини і тварин [3–6]. Однак вплив афлатоксину В1 на активність NOS в еритроцитах та інших клітинах фактично не з'ясований.

Як відомо, різноманітні сорбенти, які зазвичай додають до корму, ураженого

токсикогенними грибами або мікотоксинами, зменшують негативний вплив афлатоксинів на організм тварин [7]. Тому актуальні дослідження динаміки NO-синтази у клітинах життєво важливих органів не лише за надходження афлатоксинів, але й за умов введення ентеросорбентів, які протидіють токсичному ураженню організму тварин.

У наших експериментах для запобігання розвитку афлатоксикозу використано два сорбенти, які дещо відрізняються за складом. Препарат «Вітакорм-Рео» — сорбційно-каталітичний комплекс із гастро- та коліпротекторною дією, який застосовують для профілактики та лікування токсикозів і кишкових розладів. В його склад входять клітковина, лігнін, пектин, геміцелюлози, бентоніт, вермікуліт і мурашина кислота. «Вітакорм-РЕО» призначають для профілактики та лікування токсикозів, якщо корми містять мікотоксини, хімічні забруднювачі, екзо- і ендотоксини. Препарат «Вітакорм-Ацидус» відрізняється від «РЕО» високою концентрацією органічних кислот, частка яких становить не менше 65 %.

Метою роботи було дослідити динаміку NO-синтазної активності в еритроцитах, клітинах нирки та слизової оболонки тонкого кишечника білих щурів за надходження афлатоксину В1 та визначити ефективність сорбентів («Вітакорм-Рео» та «Вітакорм-Ацидус») у корекції порушень, спричинених впливом цього токсину.

Матеріали і методи

Дослідження проводили на білих беспородних щурах-самцях середньою масою тіла 250 г згідно з «Положенням про використання тварин у біометричних

дослідах» [8]. Тварин поділили на 6 груп по 8–10 особин у кожній. Тварин 1-ї групи використовували як контроль (10 тварин). Щурам 2-ї групи щодоби внутрішньошлунково, через металевий зонд, вводили афлатоксин В1 («Sigma», США) дозою 15 мкг/кг впродовж 14 діб (10 тварин). Афлатоксин В1 перед введенням в організм тварин розчиняли в кип'яченій оливковій олії та вводили в кількості 0,25 мл/100 г маси тіла. Тваринам 3-ї групи вводили таку саму кількість АFB1 разом із препаратом «Вітакорм-РЕО» (ПП «НВК» Хімтехсервіс, Україна) (10 тварин). Щурам 4-ї групи вводили АFB1 разом із препаратом «Вітакорм-Ацидус» (10 особин). Препарати додавали до корму з розрахунку 1,5 г сорбенту на 1 кг корму. Щурам 5-ї і 6-ї груп давали з кормом лише сорбенти «Вітакорм-РЕО» (8 особин) і «Вітакорм-Ацидус» (8 особин), відповідно. Декапітацію здійснювали на 7-му та 14-ту доби експерименту (по 4–5 особин із кожної групи) під легким ефірним наркозом, користуючись правилами поводження з піддослідними тваринами. Визначення загальної активності NO-синтаз проводили у лізатах еритроцитів та гомогенатах клітин нирки і слизової оболонки тонкого кишечника тварин методом, який базується на аналізі вмісту нітритів [9]. Матеріалом досліджень були

кров та органи (нирки, селезінка) щурів, отримані після декапітації. Кров збирали у пробірки з гепарином, відділяли плазму центрифугуванням при 3 000 г впродовж 15 хв. Еритроцити тричі промивали 0,85 % NaCl, щоразу центрифугуючи суспензію клітин при 3 000 г впродовж 5 хв. Гемолізати отримували трикратним заморожуванням і відтаюванням суспензій, приготованих додаванням до еритроцитів бідистильованої води, з подальшим центрифугуванням при 8 000 г впродовж 15 хв на центрифугузі з охолодженням. Концентрацію білка визначали методом Лоурі [10]. Статистичне опрацювання результатів проводили, використовуючи програми Excel та Origin [11, 12].

Результати й обговорення

Результати експериментів свідчать про значний вплив афлатоксину В1 на активність NO-синтаз в усіх досліджуваних клітинах (еритроцити, клітини нирки та слизової оболонки тонкого кишечника). Зокрема, в еритроцитах на 7-му добу введення АFB1 загальна активність NOS зростає на 70 %, проте зі збільшенням тривалості експерименту вплив токсиканта зменшується: на 14-ту добу експерименту ензимна активність зростає лише на 30 % (рис. 1).

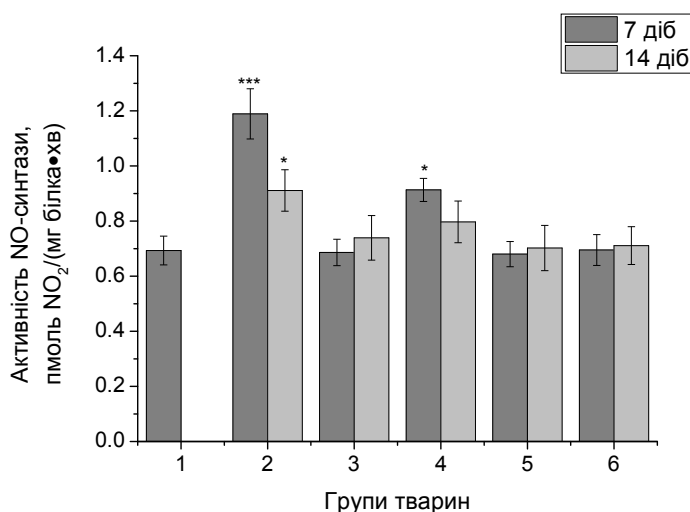


Рис. 1. Загальна активність NO-синтаз в еритроцитах щурів за умов введення афлатоксину В1 і сорбентів: 1 — контроль; 2 — АFB1; 3 — АFB1 + «Вітакорм-РЕО»; 4 — АFB1 + «Вітакорм-Ацидус»; 5 — «Вітакорм-РЕО»; 6 — «Вітакорм-Ацидус»

Примітка: на цьому та інших рисунках * — P<0,05; ** — P<0,01; *** — P<0,001 порівняно з контролем

Під час досліджень загальної активності NO-синтаз у гомогенатах клітин нирки щурів, котрим вводили афлатоксин В1, установлено, що на 7-му добу

експерименту цей показник збільшується майже в чотири рази, а на 14-ту добу залишається вдвічі вищим, ніж у тварин контрольної групи (рис. 2).

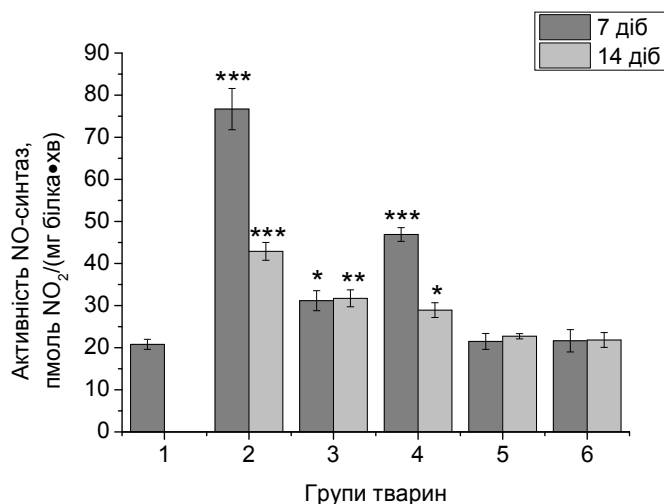


Рис. 2. Загальна активність NO-синтаз у клітинах нирки щурів за умов уведення афлатоксину В1 і сорбентів: 1 — контроль; 2 — AFB1; 3 — AFB1 + «Вітакорм-PEO»; 4 — AFB1 + «Вітакорм-Ацидус»; 5 — «Вітакорм-PEO»; 6 — «Вітакорм-Ацидус»

За умов уведення AFB1 разом із препаратом «Вітакорм-PEO» ензимна активність у гомогенатах нирки щурів 3-ї групи знижувалась порівняно з тваринами 2-ї групи, однак залишалась вірогідно вищою від контролю (на 50 і 53 %, відповідно на 7-му та 14-ту доби експерименту). Введення препарату «Вітакорм-Ацидус» тваринам, інтоксикованим афлатоксином В1, виявилось менш ефективним порівняно з «Вітакормом-PEO» у зменшенні загальної активності NO-синтаз у клітинах нирки. За таких умов ензимна активність на 7-му і 14-ту доби перевищувала контрольне значення відповідно на 125 % і 39 %. Як і в еритроцитах, введення сорбентів тваринам 5-ї і 6-ї груп не впливає на активність NOS у гомогенатах нирки тварин (рис. 2).

Для повнішого аналізу впливу афлатоксину В1 і сорбентів на функціональний стан системи оксиду

нітрогену досліджували концентрацію нітритів у клітинах тварин. Відомо, що вміст нітрит-аніона змінюється пропорційно до рівня внутрішньоклітинного синтезу NO [13]. Установлено, що в гомогенатах клітин нирки щурів цей показник був у межах контролю після 7 і 14 днів введення афлатоксину В1, тоді як активність NOS значно зростала. Можливо це спричинено активацією нітритредуктазної ланки утворення оксиду нітрогену, що може свідчити про розвиток гіпоксії в нирках за дії афлатоксину В1 [14].

У клітинах нирки тварин 4-ї і 6-ї груп, яким вводили «Вітакорм-Ацидус», цей показник зростав на 7-му добу за різних умов експерименту (рис. 3). Після введення «Вітакорму-PEO» концентрація нітритів вірогідно збільшувалась у щурів 3-ї групи, яким упродовж 14 днів вводили AFB1 (рис. 3).

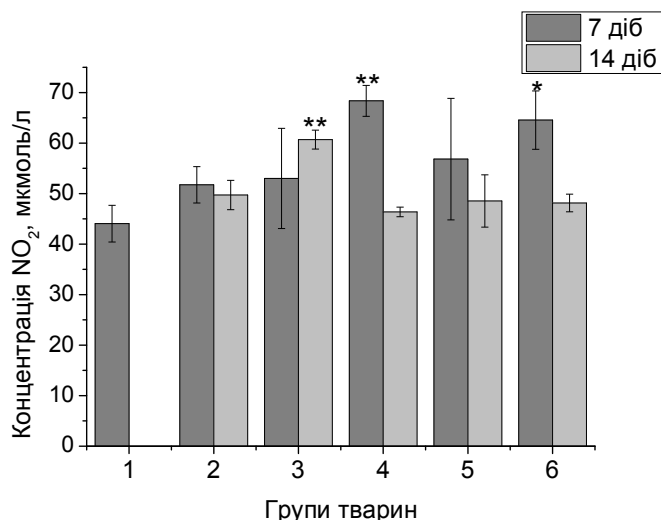


Рис. 3. Концентрація нітритів у клітинах нирки щурів за умов введення афлатоксину В1 і сорбентів: 1 — контроль; 2 — AFB1; 3 — AFB1 + «Вітакорм-PEO»; 4 — AFB1 + «Вітакорм-Ацидус»; 5 — «Вітакорм-PEO»; 6 — «Вітакорм-Ацидус»

Підвищення вмісту нітритів у 4-й та 6-й групах на сьому добу експерименту на тлі зниження активності NOS, ймовірно, спричинене посиленням процесів вивільнення NO з клітинних депо і наступним його перетворенням до NO₂⁻. Одним із стабільних метаболітів нітрогену оксиду є S-нітрозотіоли (RSNO), концентрація яких у клітині може бути на кілька порядків вищою, ніж концентрація вільного NO. RSNO відіграють важливу роль у регулюванні патологічних станів [15]. Також встановлено, що надлишкова кількість NO може пригнічувати активність NO-синтази в клітинах за рахунок взаємодії

з супероксидом [16]. Тому можна припустити, що препарат «Вітакорм-Ацидус» впливає на зазначені процеси в клітинах нирки.

Як свідчать отримані результати, під впливом афлатоксину В1 зростає загальна активність NO-синтази і в гомогенатах клітин слизової оболонки тонкого кишечника щурів, хоча й меншою мірою, ніж у клітинах нирки та еритроцитах. Зокрема, на 14-ту добу експерименту цей показник у тварин 2-ї групи збільшувався в 1,6 разу (рис. 4).

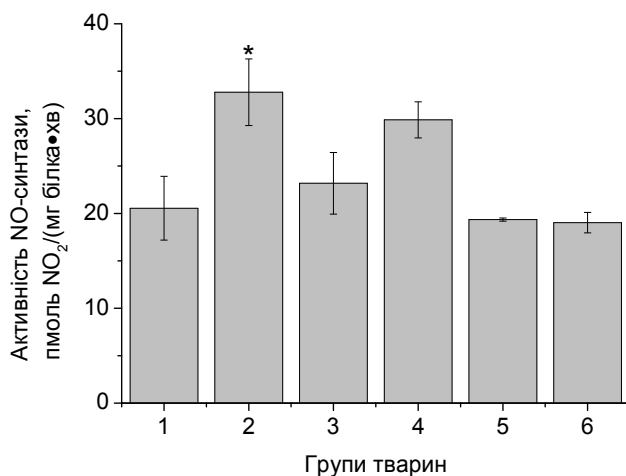


Рис. 4. Загальна активність NO-синтази у клітинах слизової оболонки тонкого кишечника щурів за умов 14-добового введення афлатоксину В1 і сорбентів: 1 — контроль; 2 — AFB1; 3 — AFB1 + «Вітакорм-PEO»; 4 — AFB1 + «Вітакорм-Ацидус»; 5 — «Вітакорм-PEO»; 6 — «Вітакорм-Ацидус»

За умов введення препаратів «Вітакорм-РЕО» та «Вітакорм-Ацидус» активність NO-синтаз у гомогенатах клітин слизової оболонки тонкого кишечника вірогідно не відрізнялась від контролю у щурів 5-ї і 6-ї груп, як і в тварин, яким

вводили афлатоксин В1 (3-тя і 4-та групи, рис. 4). Концентрація нітритів у клітинах слизової оболонки тонкого кишечника тварин усіх дослідних груп також була близькою до контрольних значень (рис. 5).

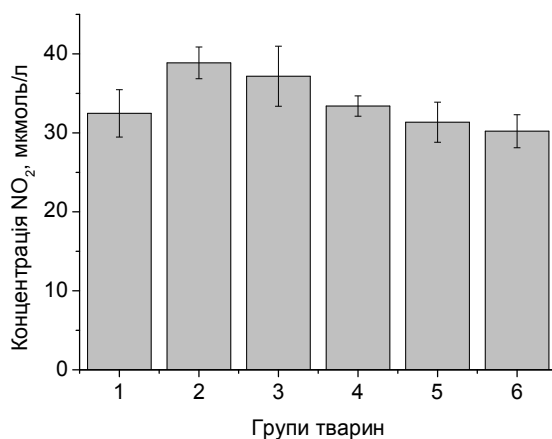


Рис. 5. Концентрація нітритів у клітинах слизової оболонки тонкого кишечника щурів за умов 14-добового введення афлатоксину В1 і сорбентів: 1 — контроль; 2 — АFB1; 3 — АFB1 + «Вітакорм-РЕО»; 4 — АFB1 + «Вітакорм-Ацидус»; 5 — «Вітакорм-РЕО»; 6 — «Вітакорм-Ацидус»

Результати проведених досліджень свідчать про те, що розвиток метаболічних порушень унаслідок інтоксикації організму афлатоксином В1 може опосередковуватись впливом цього токсину на функціональний стан системи оксиду нітрогену та активність NO-синтаз у клітинах крові та органів тварин. Зокрема, це стосується еритроцитів, які визначають кисень транспортну функцію крові, клітин нирки, які беруть участь у виведенні з організму продуктів метаболізму АFB1 і неметаболізованого афлатоксину, та клітин тонкого кишечника, в яких відбувається всмоктування АFB1 в кров. Застосування ентеросорбентів «Вітакорм-РЕО» та «Вітакорм-Ацидус» нормалізує активність NO-синтаз у досліджуваних клітинах і, таким чином, може зменшувати рівень опосередкованих оксидом нітрогену порушень метаболізму в тканинах і органах за умов надходження афлатоксину В1 в організм тварин.

Висновки

1. Надходження афлатоксину В1 спричиняє значне підвищення загальної

активності NO-синтаз в еритроцитах, клітинах нирки та слизової оболонки тонкого кишечника тварин. Найбільший рівень активації NOS виявляється в клітинах нирки, що свідчить про високий рівень ураження цього органу під впливом афлатоксину і токсичних продуктів метаболізму АFB1.

2. Застосування ентеросорбентів «Вітакорм-РЕО» та «Вітакорм-Ацидус» нормалізує активність NO-синтаз у досліджуваних клітинах, причому «Вітакорм-РЕО» є ефективнішим чинником для профілактики зумовлених афлатоксином порушень, ніж «Вітакорм-Ацидус».

Перспективи подальших досліджень. У зв'язку з актуальністю розробки методів профілактики та корекції шкідливого впливу афлатоксину В1 на метаболічні процеси в організмі тварин доцільно проводити подальші дослідження механізмів дії АFB1 та біохімічних ефектів ентеросорбентів, як і інших коригувальних препаратів, на метаболізм у клітинах органів і тканин.

1. Antonyak H. L., Babych N. O., Stephanyshyn O. M. Aflatoksyny: Biologichni efekty ta mehanizmy vplyvu na organism tvaryn i lyudyny [Aflatoxins: Biological effects and mechanisms of influence on animals and humans]. *Biologhiia tvaryn — The Animal Biology*, 2009, vol. 11, no. 1–2, pp. 16–26 (in Ukrainian).

2. Golovchak Ch. M., Antonyak H. L., Lysik I. A. Vplyv aflatoxynu B1 ta preparatu «Vitakorm-BSR-forte» na aktyvnist' NO-syntaz v lejkocytach shchuriv [Effect of aflatoxin B1 and drug «Vitakorm-BSR-forte» on NO-synthase activity in rats leukocytes]. *Biologhiia tvaryn — The Animal Biology*, 2012, vol. 14, no 1–2, pp. 596–600 (in Ukrainian).

3. Dede S., Deger Y., Kahraman T., Killijalp D. Effects of X-ray radiation of oxidation products of nitric oxide in rabbits treated with antioxidant compounds. *Turk. J. Biochem.*, 2009, 34, № 1, p. 15–18.

4. Kravchenko N. A., Yarmysh N. V. Reguljacyja ekspressii endotelial'noj NO-sintazy I disfunkciya sosudistoho endoteliya pri serdechno-sosudistoj patologii [Regulation of the expression of endothelial NO-synthase and vascular endothelial dysfunction in cardiovascular disease]. *Cytologiya i genetika — Cytology and Genetics*, 2008, vol. 42, no 4, pp. 69–80 (in Russian).

5. Sapatyj A. L., Krupnovytska I. G. Metabolichni osoblyvosti oksydu azotu u formuvanni endotelial'noi dysfunkcii za sercevo-sudynnyh zachvoryuvan' [Metabolic features of nitric oxide in the formation of endothelial dysfunction for cardiovascular disease]. *Liky Ukrainy — Medicine of Ukraine*, 2008, vol. 122, no 6, pp. 82–86 (in Ukrainian).

6. Chorna I. V., Vysockyj I. Y. Vmist metabolitiv oksydu azotu v limfocytach shchuriv za dii nyzkointensyvnoho rentgenivskogo oprominennya [The content of nitric oxide metabolites in rat lymphocytes by the action of low-intensity X-rays]. *Visnyk SumDU Seriya Medycyna — Bulletin of the SSU. Series Medicine*, 2010, no 1, pp. 42–47 (in Ukrainian).

7. Duchnytskyj V. B., Chmelnytskyj G. O., Bojko G. V., Ishchenko V. D. Veterynarna

mykotoksykologiya: navchal'nyj posibnyk [Veterinary mycotoxicology: Tutorial]. 2010, p. 203 (in Ukrainian).

8. Etyka likarya ta prava lyudyny: polozhennya pro vykorystannya tvaryn u biometrychnych doslidach [Medical ethics and human rights: the provisions of the use of animals in biomedical experiments] *Experym. ta clin. fiziologiya ta biochimiya — Ekperym. and clin. physiology and biochemistry*, 2003, vol. 22, no 2, pp. 108–109 (in Ukrainian).

9. Sybirna N. O., Burda V. A., Chajka Ya. P. Metody doslidzhennya systemy krovi: Navchal'no-metodychnyj posibnyk [Research Methods of Blood: Textbook]. *Vydavnychij centr LNU imeni Ivana Franka — Publishing Center of Ivan Franko LNU*, 2005, pp. 100 (in Ukrainian).

10. Lowry O. H. Protein determination with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951, vol. 193, pp. 265–275.

11. Lakyn G. F. Biometriya [Biometrics]. *Vyssh. shk. — High. sch.*, 1990. pp. 352 (in Russian).

12. Lapach S. N., Chubenko A. V., Babych P. N. Statisticheskiye metody v medicobiologicheskikh isslyedovaniyah s ispol'zovaniyem Excel [Statistical methods in biomedical studies using Excel]. M., Morion Publ., 2001. 408 p.

13. Dejam A., Hunter C. J., Pelletier M. M. Erythrocytes are the major intravascular storage sites of nitrite in human blood. *Blood*, 2005, 106, № 2, p. 734–739.

14. Bernatova I., Kopincova J., Puzserova A., Janega P., Babal P. Chronic low-dose L-NAME treatment increases nitric oxide production and vasorelaxation in normotensive rats. *Physiol Res.*, 2007, 56, № 2, p. 17–24.

15. Kevil Ch. G., Patel R. P. S-nitrosothiol biology and therapeutic potential in metabolic disease. *Curr Opin Investig Drugs*, 2010, 11, № 10, p. 1127–1134.

16. Gunett C., Lund D., McDowell A. *Arterioscler. Tromb. Vase. Biol.*, 2005, 25, № 8, p. 1647–1622.