УДК 546.81+615.9+616.13-084:001.5

ВАЗОТОКСИЧНА ДІЯ СВИНЦЮ: РОЛЬ ПОРУШЕНЬ В ОБМІНІ ЕНДОГЕННОГО ОКСИДУ АЗОТУ

Апихтіна О.Л.[1], Кошоруба А.В.[2], Коркач Ю.П.[2], Андрусишина І.М.[1], Лампека О.Г.[1]

[1]Інститут медицини праці АМН України, м. Київ

[2]Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, м. Київ

У статті розглядається проблема ролі порушень продукції та обміну оксиду азоту в тканинах аорти при дії свинцю. Показана здатність свинцю накопичуватися в аорті, значно стимулювати продукцію активних форм кисню і призводити до істотних змін в системі оксиду азоту, що виявлялися підвищенням активності індуцибельної ізоформи синтази оксиду азоту і рівня його стабільних метаболітів. При цьому створюються передумови до значного утворення високотоксичної речовини – пероксинитриту, що призводить посилення його цитотоксичної дії і виникнення відносного дефіциту оксиду азоту.

Ключові слова: оксид азоту, свинець, аорта, пероксинітрит, вазотоксична дія

Свинець є одним з найбільш шкідливих забруднювачів виробничого і навколишнього середовища [1], йому притаманна токсична дія на систему крові, нервову та серцево-судинну системи. І.М. Трахтенберг [2], Н.М. Кончаловська [3], Д.Д.Зербіно [4] розглядають свинець як етіологічний чинник захворювань серцево-судинної системи. За результатами поглиблених досліджень робітників, які тривало контактували зі сполуками свинцю, у 60% обстежених спостерігалися спастичні явища у капілярах, у 25% – феномен капілярної дистонії, у 34% – підвищений тонус судин головного мозку [5]. Дані спектроскопічних досліджень свідчать про статистично вірогідне підвищення вмісту Pb^{2+} в кістках стегна і гомілки ампутованих кінцівок осіб, хворих на облітеруючий ендартериїт, а також в трубчастих кістках хворих на неспецифічний аортоартериїт і людей, які померли від фатальних судинних захворювань головного мозку і серця [6]. Наявні експериментальні і клінічні дослідження вказують на здатність свинцю навіть у низьких дозах викликати підвищення артеріального тиску [2–6].

Реалізація вазотоксичних ефектів свинцю напряму залежить від функціонального стану ендотелію. Ендотелій судин здатний продукувати цілий ряд вазотропних речовин, що регулюють скоротливу активність судинної стінки, її морфофункціональний стан. Однією із таких речовин є оксид азоту – гідрофобний газ, що є потужним вазодилятатором; він приймає участь у підтримці гомеостатичних параметрів організму, формуванні базального судинного тонусу, регулює реологічні властивості крові, впливаючи на агрегацію формених елементів, стабілізує проникність судинної стінки, має вільнорадикальні властивості [7]. Основний шлях реалізації ефекту його дії полягає у стимуляції розчинної гемвмісної гуанілатциклази, що призводить до синтезу цГМФ та зростання активності Ca^{2+}-АТФаз, що здійснюють транспорт іонів кальцію всередину ендоплазматичного ретикулуму. При цьому концентрація іонів кальцію в цитоплазмі клітин знижується і гладком'язеві клітини розслаблюються [8].

NO синтезується в організмі з амінокислоти L-аргініну трьома основними ізоформами NO-синтази: двома конститутивними – нейрональною (nNOS) і ендотеліальною (eNOS) і однією індуцибельною (iNOS). Для активної діяльності NO-синтаз необхідні міцно зв'язаний гем, тетрагідробіоптерин (BH4), флавінові нуклеотиди (FAD, FMN), NADPH кальмодулін [7, 8].

Конститутивні ізоформи є Ca^{2+}/CaM-залежними і синтезують NO в порівняно невеликих кількостях протягом кількох секунд після активації, завдяки транзиторній асоціації з кальмодуліном (CaM) при підвищенні концентрації іонів кальцію в клітині та забезпечують перебіг швидких реакцій, таких як вазодилатація, нейротрансміссія. У нормі основна роль в регуляції ССС належить eNOS, що синтезується в ендотеліальних клітинах кровоносних судин, забезпечуючи гомеостатичний контроль кров'яного тиску і агрегації тромбоцитів [8].

На відміну від конститутивних ізоформ активність індуцибельної не залежить від іонів Ca^{2+} –

вона синтезується при патологічних станах через кілька годин після стимуляції цитокінами, γ-інтерфероном і ліпополісахаридами внаслідок транскрипції гена iNOS, продукуючи NO протягом тривалого часу і в кількостях, які перевищують в тисячу разів продукцію оксиду азоту в нормі [7, 9]. Оксид азоту у даному разі виявляє первинний цитотоксичний ефект, бактерицидну і пухлинноруйнуючу дію, що призводить до пошкодження тканин при імунологічних порушеннях.

У біологічних системах NO є дуже нестійкою сполукою і швидко перетворюється на іон нітриту (NO_2^-), але в присутності гемового Fe^{2+} і деяких інших перехідних металів NO_2^- перетворюється у більш стабільний іон нітрату (NO_3^-). В умовах організму серед метаболітів NO переважають нітрати [7, 8]. Завдяки нітрат- та нітритредуктазним реакціям нітрати і нітрити можуть відновлюватися до оксиду азоту, завершуючи таким чином процес обміну оксиду азоту в так званий цикл оксиду азоту. Цей неферментативний шлях утворення оксиду азоту є важливим в умовах гіпоксії, оскільки, на відміну від ферментативного (NO-синтазного), не потребує кисню. Стабілізація NO відбувається також завдяки включенню його в динітрозольні комплекси заліза з тіоловими лігандами або в S-нітрозотіоли, які в подальшому можуть поступово звільняти NO. Такі NO-вмісні комплекси утворюють в тканинах фізіологічно активне депо NO [10].

Варто зазначити, що біологічні ефекти оксиду азоту є дозозалежними — у фізіологічних концентраціях він приймає участь у реалізації багатьох фізіологічних процесів, при зменшенні його продукції розвивається недостатність оксиду азоту в організмі, але при гіперпродукції NO по мірі збільшення інтенсивності його впливу біологічні ефекти переростають у токсичні.

Цитотоксичні ефекти NO значною мірою зумовлено його здатністю з високою спорідненістю взаємодіяти з супероксид-аніоном (O_2^-), внаслідок чого утворюється пероксинітрит, який має більшу реакційну здатність порівняно із NO і O_2^-. Він ушкоджує білки, ліпіди клітинних мембран, порушує біоенергетичні процеси, дезорганізує судинний ендотелій, бере участь у процесах ендотоксемії та у нітрозилюванні тирозинових залишків у білках, ініціації перекисного окиснення, окисненні біологічних тіолів, що внаслідок призводить до серйозних біологічних наслідків, таких як апоптоз, мутації [7, 8, 9].

Таким чином NO метаболізується по одному з трьох основних шляхів:

1) запуск багатьох клітинних ефектів NO при звязуванні гему з гемвмісним ферментом гуанілатциклази, реакція з гемоглобіном, утворення аніонів NO_2^- і NO_3^-;
2) утворення високо- та низькомолекулярних нітрозотіолів (взаємодія з SH-групами амінокислот);
3) реакція з супероксиданіоном (O_2^-) із утворенням пероксинітриту ($ONOO^-$).

Амінокислота L-аргінін може утилізуватися в ендотелії двома основними шляхами: окрім NO-синтазного аргінін перетворюється аргіназою до сечовини і орнітину і за певних умов (дефіцит цієї амінокислоти, активація аргінази, нестача відповідних коферментів та ін.) може виникнути конкуренція за спільний субстрат між аргіназою та NO-синтазою [11]. Варто зазначити, що NOS є полифункціональною оксидоредуктазою і при недостатності аргініну вона може каталізувати утворення супероксиданіону (O_2^-) і перексду водню (H_2O_2)[7, 11, 12].

Враховуючи складні шляхи обміну оксиду азоту, а разом з цим і складні механізми його регуляції, відкривається багато можливих точок прикладення вазотоксичної дії свинцю, із розкриттям патогенезу судинних порушень при інтоксикації свинцем можлива подальша розробка методів та засобів її профілактики і лікування.

Метою дослідження було виявлення характеру змін у продукції та обміні ендогенного оксиду азоту в аорті щурів після експозиції ацетатом свинцю та оцінка їх ролі у реалізації вазотоксичної дії свинцю.

Методи дослідження

Дослідження проводили на статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар вагою 160—180 гр, які утримувалися у загальноприйнятих умовах віварію з вільним доступом до питної водогінної води, по 10 тварин у кожній групі. Щурам дослідних груп щоденно вводили внутрішньоочеревинно ацетат свинцю у дозі 1,53 мг/кг на фізіологічному розчині протягом 1 місяця (28 введень), тваринам контрольної групи — фізіологічний розчин. Після припинення експозиції половину тварин знеживлювали шляхом декапітації та проводили дослідження, а решту утримували в умовах віварію 1 місяць, після чого теж знеживлювали. Після розтину, одразу видаляли аорту та клали на лід, для біохімічних досліджень брали її нижню 2/3 частину.

Концентрацію свинцю в аорті визначали методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії у полум'ї [13].

У гомогенаті аорти проводили визначення біохімічних показників. 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 [14]. Рівень генерації супероксид-аніону у пробах оцінювали по зміні екстинкції при 550 нм за окисненням цитохрому С у 10 ммоль тріс-буфері після інкубації сумішей при 37° С протягом 30 хв [15]. Вміст нітрит-аніону (NO_2^-) визначали в безбілкових аліквотах надосадових проб після визначення активності NO-синтази у колориметричній реакції за допомогою реактиву Гріса методом Гріна [16]. Вміст нітрат-аніону (NO_3^-) визначали спектрофотометричним методом [17] у модифікації з бруцином. Активність сумарної NOS визначали за вмістом нітрит-аніону колориметричним методом [18]. Інкубаційна суміш складалася 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 ЕДТА. Розрахунок активності cNOS проводили шляхом віднімання від показника активності сумарної NOS показник активності iNOS. Низькомолекулярні нітрозотіоли (НМНТ) визначали в безбілковій кислоторозчинній фракції за методикою визначення NO_2^- після інкубації протягом 3 хв. проб в присутності катіонів Hg^{2+}. Визначення високомолекулярних нітрозотіолів проводили за методикою визначення NO_2^- в безбілкових аліквотах після гідролізу проб протягом 18 годин у присутності катіонів Hg^{2+} [19]. Визначення активності нітратредуктази проводили за змінами вмісту субстрату нітрат-аніону в фосфатному буфері (pH 7,4) в присутності надлишку NADH [20]. Активність аргінази визначали спектрофотометричним методом за вмістом сечовини [21]. Концентрацію сечовини оцінювали в безбілкових пробах колориметричним методом з набором реактивів фірми LACHEMA. Вміст загального білку в пробах визначали загальновідомим методом Бредфорда.

Результати дослідження та їх обговорення

При дослідженні вмісту свинцю в аорті щурів дослідної групи одразу після припинення експозиції виявлено зростання його концентрації у 10 разів порівняно із контрольними показниками (1,64 ± 0,06 та 16,36 ± 1,4 мкг/мг, контроль і дослід відповідно). Через 1 місяць після припинення експозиції вміст свинцю в тканинах аорти знизився і перевищував контрольні показники у 2,7 рази (1,67 ± 0,06 та 4,51 ± 0,36 мкг/мг, контроль і дослід відповідно), що свідчить про його поступове виведення з тканин аорти після припинення надходження в організм дослідних щурів.

У розвитку серцево-судинної патології активні форми кисню (АФК) відіграють виключно важливу роль. Кисневі радикали можуть виступати як як внутрішньо- так і міжклітинні медіатори передачі сигналу, вони здатні модулювати тонус і структуру судин, викликаючи скорочення судин та ріст гладком'язевих клітин судин, активують процеси руйнування протеогліканів і колагену, відіграють важливу роль у розвитку артеріальної гіпертензії [7, 22].

У аорті щурів дослідної групи після експозиції свинцем у першому періоді дослідження спостерігалося значне зростання показників продукції АФК. Так, швидкість утворення супероксид-аніону перевищувала відповідні показники тварин у контрольній групі у 6,8 рази (3,98 ± 0,29 та 26,34 ± 1,74, нмоль/мг білку • хв, контроль і дослід відповідно), а вміст пероксиду водню – у 5 разів (13,68 ± 0,84 та 68,08 ± 5,1, пмоль/мг білку, контроль і дослід відповідно). Через 1 місяць після припинення експозиції виявлено суттєве зниження рівня показників генерації АФК, які, проте, перевищували контрольні значення: продукція супероксид-аніону – у 4,1 рази (4,1 ± 0,49 та 17,0 ± 0,88, нмоль/мг білку • хв контроль і дослід відповідно), вміст пероксиду водню – у 3,9 рази (13,18 ± 0,69 та 31,74 ± 2,7, пмоль/мг. білку, контроль і дослід відповідно). Ці дані свідчать про суттєве підвищення утворення кисневих радикалів під дією свинцю, що може призвести до розвитку оксидативного стресу в організмі піддослідних тварин та вплинути на перебіг багатьох біохімічних процесів, зокрема, обміну оксиду азоту в організмі. Позитивна тенденція до зниження рівня генерації активних кисневих радикалів у постекспозиційному періоді може бути наслідком зниження вмісту свинцю в тканинах аорти, а також активації антиоксидантних систем організму.

При дослідженні активності конститутивної ізоформи NO-синтази в гомогенаті тканин аорти щурів у дослідній групі порівняно із показниками тварин у контрольній групі спостерігалося значне

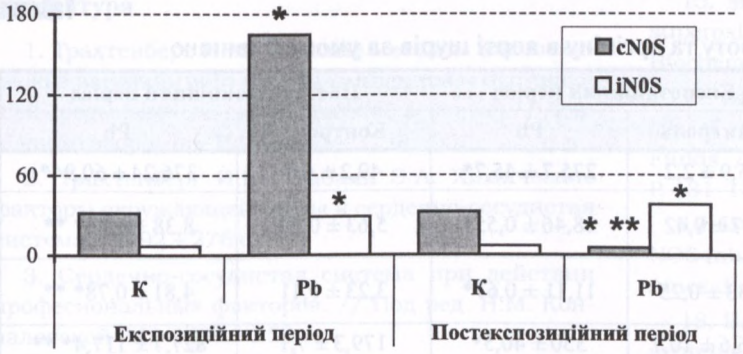

Рис. 1. *Зміна активності конститутивної та індуцибельної ізоформ NO-синтази в тканинах аорти щурів експонованих свинцем (пмоль/ мг білку·хв.).*

*Примітка: тут та на рис. 2, таблиці * – статистично вірогідно щодо контролю; ** – статистично вірогідна різниця між експозиційним та постекспозиційним періодом досліджень, P < 0,05.*

її підвищення у першому періоді досліджень, що можна розглядати як вияв адаптаційно-компенсаторних механізмів. Проте у постекспозиційному періоді виявлено значне зменшення активності даної ізоформи ферменту (рис. 2). Активність індуцибельної ізоформи NO-синтази значно підвищувалася у тварин у дослідних групах як після 1 місяця введення ацетату свинцю, так і у постекспозиційному преріоді (у 4,3 та 5,6 рази відповідно) (рис. 1).

У гомогенаті аорти щурів експонованих свинцем у обох періодах досліджень порівняно із відповідними показниками контрольної групи спостерігалося статистично достовірне зниження концентрації нітрит-аніону і низькомолекулярних нітрозотіолів та зростання концентрації високомолекулярних нітрозотіолів, причому у постекспозиційному періоді ці зміни були більш суттєві (рис. 2).

Таким чином, в аорті щурів при дії ацетату свинцю депонування оксиду азоту відбувалося переважно у вигляді високомолекулярних нітрозотіолів, що було більше виражено у постекспозиційному періоді. Це свідчить про активацію процесів нітрозилювання SH-груп білків, що може призвести до зміни чи порушення їх функціональної активності та мати негативні наслідки. Зниження рівня низькомолекулярних нітрозотіолів при дії свинцю можливе внаслідок зменшення пулу низькомолекулярних тіолів в аорті, оскільки свинець є типовою тіоловою отрутою і здатний блокувати вільні SH-групи.

Концентрація нітрат-аніону значно підвищувалася в аорті щурів дослідних груп як після 1 місяця експозиції свинцем, так і в постекспозиційному періоді (таблиця). Значне зростання концентрації високомолекулярних нітрозотіолів та нітрат-аніону може свідчити про підвищену продукцію оксиду азоту, та, за даними літератури [12], може бути зумовлене зростанням рівня пероксинітриту за умов розвитку оксидативного стресу.

У гомогенаті аорти щурів дослідної групи по закінченню експозиційного періоду спостерігалося підвищення нітратредуктазної активності порівняно із відповідними показниками контрольної групи тварин із наступним зниженням у постекспозиційному періоді (див таблиця). Зростання активності нітратредуктази, імовірно, зумовлене зростанням концентрації нітрат-аніону, який є субстратом для даного ферменту, може мати адаптаційно-компенсаторний характер.

В тканинах аорти експонованих свинцем щурів виявлено зростання активності аргінази, особливо у першому періоді досліджень (див таблиця). За таких умов можливе зниження концентрації аргініну в аорті та зменшення його біодоступності для NOS. Концентрація сечовини, яка має вазоконстрикторну дію, в аорті зростала у щурів дослідної групи як через місяць від початку досліджень, так і в постекспозиційному періоді (див таб-

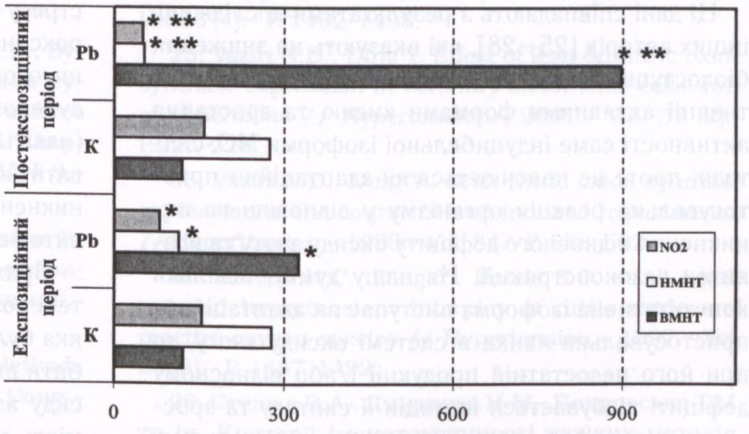

Рис. 2. *Зміна концентрації метаболітів NO в тканинах аорти щурів: нітрит-аніону (NO_2^-), високомолекулярних (ВМНТ) та низькомолекулярних нітрозотіолів (НМНТ) (пмоль/мг б.).*

Таблиця

Показники обміну оксиду азоту та аргініну в аорті щурів за умов дії свинцю

Показники	Експозиційний період		Постекспозиційний період	
	Контроль	Pb	Контроль	Pb
Концентрація нітрат-аніону (нмоль/мг б.)	45,9 ± 2,2	275,7 ± 45,7*	49,2 ± 4,3	376,24 ± 60,94*
Нітратредуктазна активність (нмоль/мг б. хв)	5,7 ± 0,42	18,46 ± 0,55*	5,63 ± 0,29	8,38 ± 1,89* **
Аргіназна активність (нмоль/мг б. хв)	3,33 ± 0,25	11,11 ± 0,67*	3,23 ± 0,11	4,81 ± 0,78* **
Концентрація сечовини (нмоль/мг б.)	176,6 ± 10,7	350 ± 40,5*	179,3 ± 7,1	827,7 ± 117,4* **

лиця) і не корелювала з показником активності аргінази, що може свідчити про активацію інших шляхів її продукції.

У даному експериментальному дослідженні виявлено, що свинець різнонаправлено впливає на активність конститутивної та індуцибельної ізоформ NO-синтази: знижує активність конститутивної, від якої, головним чином, залежить регуляція судинного тонусу та артеріального тиску, та підвищує активність індуцибельної ізоформи. Індукція генів, що кодують індуцибельну iNOS, може відбуватися внаслідок активації чинника транскрипції NFkB. Важливу роль в активації даного чинника відіграють вільні радикали, кальцій, цитокіни, інтерлейкіни, TNF-α [7, 9, 23]. G.T. Ramesh et al. [24] на культурі клітин було показано, що аплікація свинцю викликала активацію транскрипторних чинників, пов'язаних із окислювальним стресом, включаючи ядерний чинник NF-kB. Таким чином, прозапальні цитокіни та АФК можуть бути однією із причин активації індуцибельної NO-синтази.

Ці дані співпадають з результатами досліджень інших авторів [25–28], які вказують на зниження біодоступності оксиду азоту внаслідок його інактивації активними формами кисню та зростання активності саме індуцибельної ізоформи NO-синтази, проте це пояснюється як адаптаційно-пристосувальна реакція організму у відповідь на виникнення відносного дефіциту оксиду азоту та розвиток вазоконстрикції. На нашу думку, оскільки конститутивна ізоформа виступає як адаптаційно-пристосувальна ланка в системі оксиду азоту, то при його недостатній продукції і/або відносному дефіциті відбувається індукція її синтезу та зростання активності, що спостерігалося у першому періоді досліджень в аорті. Зростання ж індуцибельної ізоформи відбувається, імовірніше за все, внаслідок активації чинника транскрипції NFkB киснєвими радикалами (оскільки спостерігалося значне їх зростання), а також, цитокінами та іншими імуномедіаторами, так як свинець володіє вираженою імунотоксичною дією та здатен індукувати їх утворення [28]. Таким чином, зростання активності iNOS є однією із основних причин патологічних змін в системі оксиду азоту, спричиняє гіперпродукцію NO, а також може бути джерелом АФК, що внаслідок призводить до значного утворення пероксинітриту в організмі, сприяє виникненню відносного дефіциту оксиду азоту і може бути однією із основних причин розвитку ендотеліальної дисфункції.

В індукції iNOS і у гіперпродукції NO в судинах можуть відігравати роль клітини усіх трьох їх шарів (ендотеліального, м'язевого, адвентиційного), окрім того можливе надходження нейтрофілів і макрофагів в стінку судини та продукція ними оксиду азоту [12].

Зростання продукції оксиду азоту може стати важливою ланкою в патогенезі вазотоксичної дії свинцю, оскільки на тлі розвитку оксидативного стресу складаються усі передумови до продукції пероксинітриту у значній кількості та реалізації його цитотоксичної дії. При цьому високі концентрації супероксид-аніону здатні зв'язувати оксид азоту (навіть в умовах підвищеного його синтезу) і блокувати його біологічні ефекти, наслідком чого є виникнення відносного дефіциту оксиду азоту та розвиток ендотеліальної дисфункції.

Враховуючи стійкість зазначених змін у постекспозиційному періоді та відносно низьку дозу, яка була введена щурам (1,53 мг/кг), можна зробити висновок про високу чутливість системи оксиду азоту до дії свинцю та дуже велику значимість цих змін для організму в цілому, оскільки оксид азоту приймає участь у регуляції дуже багатьох процесів в організмі як на місцевому, так і на системному рівні.

Література

1. Трахтенберг И.М. Тяжелые металлы как химические загрязнители производственной и окружающей среды (эколого-гигиенические аспекты) // Довкілля та здоров'я.– 1997.– №2.– С. 48–52.

2. Трахтенберг И.М., Бабаян Э.А. Химические факторы окружающей среды и сердечно-сосудистая система.– 1992.– 276 с.

3. Сердечно-сосудистая система при действии професиональных факторов. // Под ред. Н.М. Кончаловской- М.– 1976.– 256 с.

4. Зербино Д.Д., Соломенчук Т.М., Поспишаль Ю.А. Свинец – этиологический фактор поражения сосудов: основные доказательства // Архив патологии.– 1997.– №1.– С.9–12.

5. Зербино Д.Д., Соломенчук Т.М. Свинець: ураження судинної системи // Укр. Медичний часопис.– 2002.– №2.– С. 79–83.

6. Rothenberg S. J., Kondrashov V., Manalo M. et al. Increases in hypertension and blood pressure during pregnancy with increased bone lead levels // Am. J. Epidemiol.– 2002.– №12.– P. 1079–1087.

7. Манухина Е.Б., Лямина Н.П., Долотовская П.В. и др. Роль оксида азота и свободных радикалов в патогенезе артериальной гипертензии // Кардиология.– 2002.– № 11.– ст.73–84.

8. Синяченко О.В., Звягина Т.В. Окид азота в терапевтической практике.– Донецк.– 2001.– 250 с.

9. Боженко А.И., Бабий В.П., Котюжинская С.Г., Николаевская И.В. Роль оксида азота в механизмах воспаления (обзор) // Теоретична та експериментальна медицина.– 2001.– №3.– С.13–17.

10. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Охотин В.Е., Косицын Н.С. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих – М.:Наука, 1997.– 156 с.

11. Сагач В.Ф., Базілюк О.В., Коцюруба А.В., Буханевіч О.М. Порушення ендотелійзалежних судинних реакцій, аргіназного та NO-синтазного шляхів обміну L-аргініну при артеріальній гіпертензії // Фізіологічний журнал.– 2000.– Т.46, № 3.– С. 3–12.

12. Стокле Ж.-К., Мюле Б., Андрианцитохайна Р., Клещев А. Гиперпродукция оксида азота в патофизиологии кровеносных сосудов (обор) // Биохимия.– 1998.– т.63, вып. 7.– С.976–983.

13. Perkin Elmer Corporation: Analytical Methods for Atomic Absorption Spectrometers, Norwallk,Conn.– 1975.– 368 p.

14. Huwiler M., Kohler H. Pseudo-catalic degradation of hydrogen peroxide in lactoperoxidase iodide system // Eur. journal Biochemistry.– 141, №1.– P. 69–74.

15. McCord J., Fridovich I. A quantitative test for superoxide radicals produced in biological systems // Biochemistry journal.– 1982.– 203, №3.– P. 551–558.

16. Green L.C., David A.W., Glosgowski J. et al. analisis of nitrate, nitrite and [15N] nitrate in biological Fluids // Anal. Biochemistry – 1982.– 126.– №1.– P. 131–138.

17. Isukahara H. Miura M., Isusida S. et al. Effect of NOS inhibitors on bone metabolism in growing rats // Amer. J. Phisiol.– 1996.– 271, №1 – P. 840–845.

18. Bredt D.S., Snyder S.H. Isolation of nitric oxide syntetase, a calmodulin-requuring enzyme // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.– 1990.– 87, №2.– P. 682–685.

19. Padgett C.M., Whorton A.R. Ctllular responses to nitric oxide role of protein S-thiolation/de thiolation // Arch. Biochem. Biophys.– 1998.– 358 (2).– P. 232–242.

20. Li H, Samouilov A, Liu X, Zweier JL. Characterization of the magnitude and kinetics of xanthine oxidase-catayzed nitrite reduction. Evaluetion of its role in nitric oxide generation in anoxic tissues // J. Biol. Chem.– 2001.– №6.– P. 276–277.

21. Garganta C.L., Bond J.S Assay and kinetics of arginase // Anal. Biochemistry.– 1982.– 126, №1.– P. 131–138.

22. Волин М.С., Дэвидсон К.А., Камински П.М. и др. Механизмы передачи сигнала оксидант – оксид азота в сосудистой ткани // Биохимия.– 1998.– Т.63, вып. 7.– С. 958–96.13

23. Ramesh G.T., Manna S.K., Aggarwal B.B., Jadhav A.L. Lead activates nuclear transcription factor-kappaB, activator protein-1, and aminoterminal c-Jun Kinase in pheochromocytoma cells // Toxicol. Appl. Pharmacol:, 1999.– V.155.– P. 280–286.

24. Vaziri N.D., Liang K., Ding Y. Increased nitric oxide inactivation by reactive oxygen species in lead-induced hypertension // Kidney International.– 1999.– Vol.56 (4).– P. 1492–1498.

25. Vaziri N.D., Ding Y. Effect of lead on nitric oxide synthase expression in coronary endothelial cells: role of superoxide // Hypertension.– 2001.– Vol. 37 (2).– P.223–226.

26. 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.

27. 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 (6).– P. 1487–1492.

28. Стежка В.А., Дмитруха Н.М., Покровська Т.М. та ін. Критерії імунотоксичності важких металів, методи скринінгового дослідження потенційної токсичної та імунотоксичної дії ксенобіотиків *in vitro* // Фізіологічний журнал.– 2000.– Т.46.– №2.– С.65–66.

Апыхтина Е.Л.[1], Кошоруба А.В.[2], Коркач Ю.П.[2], Андрусишина И.Н.[1], Лампека Е.Г.[1]

ВАЗОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ СВИНЦА: РОЛЬ НАРУШЕНИЙ В ОБМЕНЕ ЭНДОГЕННОГО ОКСИДА АЗОТА.

[1]Институт медицины труда АМН Украины, г. Киев
[2]Институт биохимии им. А.В. Палладина НАН Украины, г. Киев

В статье рассматривается проблема роли нарушений продукции и обмена оксида азота в тканях аорты при при воздействии свинца. Показана способность свинца значительно накапливаться в аорте, 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 высокотоксичного вещества – пероксинитрита, что ведет к усилению его цитотоксического действия и возникновению относительного дефицита оксида азота.

Ключевые слова: оксид азота, свинец, аорта, пероксинитрит, вазотоксическое воздействие

Apykhtina O.L.[1], Kotsuruba A.B.[2], Korkach Yu.P.[2], Andrusishyna I.M.[1], Lampeka O.G.[1]

VAZOTOXIC EFFECT OF LEAD: ROLE OF DISORDERS IN NITRIC OXIDE METABOLISM

[1]Institute for occupation health of the Medical Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv
[2]Palladin Institute of Biochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

The role of disorders in production and metabolism of nitrogen oxide in tissues of aorta under lead exposures is considered. The ability of lead to cumulate in the aorta, to significantly stimulate production of reactive oxygen species and cause intensive 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, is determined. Here, preconditions for substantial development of a highly toxic substance – peroxinitrite are created, resulting in the strengthening of its cytotoxic effect and occurrence of the relative nitrogen oxide deficiency.

Key words: nitric oxide, lead, aorta, peroxinitrite, vazotoxic action

Надійшла: 17.07.2007

Контактна особа: Апихтіна Олена Леонідівна, мол.наук. співроб. Інституту медицини праці АМН України, лабораторія промислової токсикології та гігієни праці при використанні хімічних речовин, 01033, м. Київ, вул. Саксаганського, 75, тел. роб.: (044) 289-51-85, тел. моб.: (067) 401-61-03