

НИТРОКСИДЕРГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

Юлия Константиновна КАРАМАН, Татьяна Павловна НОВГОРОДЦЕВА,
Наталья Владимировна БИВАЛЬКЕВИЧ, Елена Григорьевна ЛОБАНОВА,
Вера Иннокентьевна ЯНЬКОВА

Владивостокский филиал ДНЦ ФПД СО РАМН –
НИИ медицинской климатологии и восстановительного лечения
690105, г. Владивосток, ул. Русская, 73г

В эксперименте на крысах установлена роль нитроксидазной системы в механизмах регуляции окислительного стресса. Развитие окислительного стресса осуществляли воздействием на крыс высокожировой нагрузкой в течение 180 суток. Показано, что активация нитроксидазных механизмов коррелирует с повышением антиоксидантного статуса организма, и, напротив, ингибирование синтеза оксида азота смещает прооксидантно-антиоксидантное равновесие в сторону интенсификации свободнорадикального окисления липидов.

Ключевые слова: окислительный стресс, оксид азота, антиоксидантная система, высокожировая нагрузка.

Процессы свободнорадикального окисления, лежащие в основе метаболизма всех клеток и определяющие адаптивную состоятельность организма к действию повреждающих факторов, являются не только необходимым звеном жизнедеятельности, но и выступают как универсальное неспецифическое звено в развитии многих патологических состояний. Показателем изменения стационарного равновесия окислительно-восстановительных реакций является дисбаланс в системе «прооксиданты-антиоксиданты», смещение которого в сторону прооксидантов приводит к формированию окислительного стресса [1]. Имеющиеся к настоящему времени данные позволяют считать, что как в индукции окислительного стресса, так и в механизмах антиоксидантной защиты (АОЗ) принимает участие оксид азота (NO) [2]. Физиологический эффект взаимодействия активных форм кислорода (АФК) и NO остается предметом активных дебатов. Есть исследования, свидетельствующие о том, что NO способен усиливать негативные эффекты супероксидного радикала и других АФК [3]. В ряде работ *in vitro* продемонстрировано, что NO замедляет перекисное окисление липидов (ПОЛ), действуя как сквенджер кислородных радикалов [4]. В настоящее время выдвинута гипотеза о том, что NO участвует в регуляции стрессорных реакций, ограничивая их чрезмерную активацию [4].

Один из защитных эффектов NO при окислительном стрессе связан с его способностью увели-

чивать активность антиоксидантных ферментов и экспрессию кодирующих их генов путем активации редокс-зависимых транскрипционных факторов и сигнальных систем (AP-1, Nrf2/Keap1/ARE) [5, 6]. Однако полученные данные зачастую носят противоречивый характер, и не существует единого мнения о взаимосвязи совокупности про- и антиоксидантных процессов и нитроксидазной системы.

Цель работы: изучить состояние нитроксидазной системы, про- и антиоксидантный статус организма крыс в динамике воздействия высокожировой нагрузкой; установить нитроксидазные механизмы регуляции окислительного стресса.

Материал и методы

Эксперимент выполнен на половозрелых крысах-самцах линии Вистар массой тела $180,5 \pm 10,6$ г. Развитие окислительного стресса у крыс осуществляли воздействием на них высокожировой нагрузкой в течение 180 суток. Известно, что пища, насыщенная жирами и холестерином, провоцирует прооксидантные процессы, реакции окисления липидов, белков, способствует снижению резерва антиоксидантной защиты и развитию окислительного стресса [1]. Высокожировой рацион включал 19 % топленого говяжьего сала и 2 % холестерина от общей массы рациона [7]. Эвтаназию животных проводили через 30, 90 и 180 суток эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом в соответствии с требованиями Евро-

Караман Ю.К. – к.б.н., ст.н.с. лаборатории биомедицинских исследований; e-mail: karaman@inbox.ru
Новгородцева Т.П. – д.б.н., проф., зам. директора, зав. лабораторией биомедицинских исследований;
e-mail: curdeal@mail.ru

Бивалькевич Н.В. – мл.н.с. лаборатории биомедицинских исследований; e-mail: natellaV@inbox.ru

Лобанова Е.Г. – к.м.н., н.с. лаборатории биомедицинских исследований; e-mail: isachenko1@yandex.ru

Янькова В.И. – к.б.н., ученый секретарь, доцент; e-mail: jankova-nch@list.ru

пейской конвенции по защите экспериментальных животных 86/609 [8]. Сформировано 4 группы животных по 10 особей в каждой: контрольная — интактные крысы, находившиеся на стандартном рационе вивария, и опытные группы — животные, содержащиеся на экспериментальном рационе (30 суток — опытная группа 1, 90 суток — опытная группа 2, 180 суток — опытная группа 3).

Материалом исследования явились кровь, взятая утром натошак из шейной вены после декапитации крыс, ткань печени. Определяли интегральный показатель антиоксидантной активности (АОА) в плазме крови по величине торможения перекисного окисления липидов в модельной системе желточных липопroteидов по методу Г.И. Клебанова [9]. Содержание продуктов перекисного окисления липидов крови оценивали по количеству в эритроцитах продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРП) и гидроперекисей липидов в плазме. Концентрацию ТБКРП в эритроцитах крови определяли по методу М.С. Гончаренко [10], основанному на способности тиобарбитуровой кислоты в кислой среде взаимодействовать с низкомолекулярными диальдегидами с образованием окрашенного комплекса, содержание гидроперекисей липидов в плазме крови определяли в гептан-изопропанольных экстрактах [11]. Интенсивность процессов ПОЛ в печени изучали по уровню образования гидроперекисей липидов, диеновых конъюгатов (ДК), ТБКРП. Гидроперекиси липидов обнаруживали спектрофотометрическим методом благодаря их способности окислять Fe^{2+} до Fe^{3+} , ионы которого обнаруживали с помощью реакции с тиоцианатом аммония, ДК определяли в гептановых экстрактах по величине коэффициента молярной экстинкции, ТБКРП — по реакции образования окрашенного триметинового комплекса с ТБКРП (в нашей модификации для ткани печени) [12]. Антиоксидантный статус крови и печени анализировали по количеству восстановленного глутатиона, активности глутатионредуктазы (глутатион: НАФН⁺ — оксидоредуктаза, КФ 1.8.1.7), глутатионпероксидазы (глутатион: перекись водорода — оксидоредуктаза, КФ 1.11.1.9), каталазы (перекись водорода: перекись водорода — оксидоредуктаза, КФ 1.11.1.6). Содержание восстановленного глутатиона определяли по методу Элмана [13], расчет производили по калибровочной кривой. Активность глутатионредуктазы изучали по скорости окисления НАДФН в присутствии окисленного глутатиона [14], глутатионпероксидазы — по изменению поглощения восстановленного глутатиона после инкубации в присутствии перекиси водорода [15], каталазы — по скорости утилизации перекиси водорода в реакционной смеси, в которую вносили эритроциты [12]. Анализировали устойчивость эритроцитов к перекисному гемолизу (УЭПГ) [12]. Суммарный уровень

метаболитов NO в сыворотке крови исследовали колориметрическим методом с использованием реактива Грисса для нитрит-иона и восстановления нитрат-иона кадмиевой пылью, импрегнированной медью [16]. Иммуногистохимическое исследование активности индуцибельной NO-синтазы в печени выполняли на парафиновых срезах с применением стрептавидин-биотинового метода (Millipore, Франция). Демаскировку антигена проводили в цитратном буфере (pH 6,0) под действием микроволнового излучения (СВЧ-печь Samsung, Япония). В качестве первичных антител использовали кроличьи антитела к NO-синтазе. Биотилинированные антитела второго слоя и стрептавидин, меченный пероксидазой, входили в систему визуализации Millipore, HRP (Франция). В качестве хромогена использовали 3,3-диаминобензидина тетрагидрохлорид («Диа-М», Россия). Ядра клеток докрашивали гематоксилином Майера в течение 10–20 мин. Количественную оценку активности NO-синтазы проводили с помощью специализированного программного обеспечения «Видеотест — Мастер Морфология 5,2» (Россия) и выражали в процентах суммарной площади иммуноокрашенных структур.

Статистическую обработку данных проводили с использованием методов описательной статистики и корреляционного анализа. Статистическую значимость различий средних величин определяли по критериям Стьюдента, Вилкоксона, Уайта, Колмогорова — Смирнова.

Результаты и обсуждение

Результаты исследования состояния антиоксидантной системы и активность прооксидантных процессов в крови и печени крыс при воздействии высокожировой нагрузкой представлены в **таблице 1**. У крыс опытной группы 1 (30 суток воздействия высокожировым рационом) выявлено увеличение уровня гидроперекисей липидов (в 4,7 раза, $p < 0,001$) и ТБКРП (на 13,4 %, $p < 0,01$) в крови относительно контрольной группы. Интегральный показатель общей антиоксидантной активности не отличался от значения в контрольной группе. Резко снижалась устойчивость эритроцитов к перекисному гемолизу (в 3,7 раза, $p < 0,001$), на 13,7 % уменьшалась активность каталазы ($p < 0,05$). Наблюдалось угнетение активности ферментов глутатионного звена АОЗ: глутатионредуктазы ($p < 0,01$), глутатионпероксидазы ($p < 0,001$), снижение уровня восстановленного глутатиона ($p < 0,001$) в эритроцитах крови. В печени обнаружено достоверное увеличение уровня диеновых конъюгатов (в 8,7 раза) и ТБКРП (в 1,6 раза) по сравнению с соответствующими показателями в контрольной группе. Ответная реакция системы АОЗ выражалась в снижении активности глутатионредуктазы в 3,5 раза ($p < 0,01$) при падении содержания восстановленного глутатиона на 38 % ($p < 0,01$) в печени. Активность глутатионперок-

сидазы не изменялась. Полученные результаты исследования свидетельствуют об активации процессов липопероксидации, снижении антиоксидантной защиты, что указывает на развитие окислительного стресса.

Усиление процессов свободнорадикального окисления через 30 суток алиментарной нагрузки сопровождалось интенсификацией образования NO на 27 % ($p < 0,05$), повышением активности индуцибельной NO-синтазы в печени (табл. 2). Увеличение образования NO можно расценивать как адекватную стресс-реакцию организма, необходимую для осуществления быстрой антиоксидантной защиты. Известно, что в условиях нормы при кратковременном стрессе идет интенсивный синтез NO, который в качестве вторичного мессенджера активирует редокс-чувствительные факторы транскрипции (Nrf2, AP-1), регулирующие

синтез антиоксидантных ферментов [5, 6]. Однако выявленное угнетение активности редокс-системы глутатиона, необходимой для нейтрализации липоперексидов, на 30 суток формирования алиментарного стресса свидетельствует об окислительно-восстановительном дисбалансе с преобладанием прооксидантных процессов. Также нельзя не учитывать радикальную природу NO, который способен взаимодействовать с супероксид-анионом с образованием пероксинитрита (ONOO^-), что на фоне угнетения механизмов антиоксидантной защиты редокс-системы глутатиона и каталазы детерминирует цитотоксические свойства оксида азота и его интермедиатов с последующим повреждением клеток [2].

Отличительной особенностью про- и антиоксидантных процессов, происходящих в крови и печени крыс через 90 суток воздействия высо-

Таблица 1

Показатели системы «прооксиданты – антиоксиданты»
в крови и печени крыс в условиях высокожировой нагрузки, $M \pm m$

Показатели	Контрольная группа, n = 10	Сроки высокожировой нагрузки		
		30 суток (опытная 1), n = 10	90 суток (опытная 2), n = 10	180 суток (опытная 3), n = 10
Кровь				
АОА, %	22,7 ± 0,6	24,64 ± 2,2	40,8 ± 2,0***	41,6 ± 3,6**
Содержание ТБКРП, нмоль/г гемоглобина	4,6 ± 0,3	5,3 ± 0,3*	8,1 ± 0,2**	9,1 ± 0,2***
Содержание гидроперекисей липидов, усл. ед.	0,66 ± 0,07	3,10 ± 0,10***	0,81 ± 0,12	1,27 ± 0,24*
УЭПГ, %	48,5 ± 7,0	12,9 ± 1,0**	38,3 ± 1,4	32,0 ± 4,7*
Активность каталазы, %	84,83 ± 2,05	73,21 ± 3,24*	80,8 ± 2,23	69,2 ± 4,2*
Содержание глутатиона, мкмоль/г гемоглобина	5,3 ± 0,2	3,5 ± 0,3***	4,1 ± 0,1**	2,0 ± 0,2***
Активность глутатионредуктазы, мкмоль НАДФН/мин/г гемоглобина	75,1 ± 1,5	68,0 ± 1,5**	73,3 ± 1,6	50,1 ± 2,4***
Активность глутатионпероксидазы, мкмоль глутатиона/ч/мг гемоглобина	44,5 ± 0,8	32,5 ± 1,3***	40,1 ± 2,2	21,4 ± 1,2***
Печень				
Содержание ДК, нмоль/мг липидов	1,07 ± 0,17	9,34 ± 0,23**	1,14 ± 0,13	0,63 ± 0,07***
Содержание гидроперекисей липидов, ед. опт. пл./г ткани	0,40 ± 0,05	Не определялось	0,31 ± 0,03	0,28 ± 0,02
Содержание ТБКРП, нмоль/мг белка	2,84 ± 0,65	4,66 ± 0,15**	2,67 ± 0,09	10,8 ± 0,9***
Содержание глутатиона, мкг/мг белка	8,03 ± 0,22	4,96 ± 0,11**	7,30 ± 0,17**	4,10 ± 0,17***
Активность глутатионредуктазы, нмоль НАДФН/мин/мг белка	3,89 ± 0,13	1,12 ± 0,04**	1,55 ± 0,11***	1,01 ± 0,04***
Активность глутатионпероксидазы, нмоль глутатиона /мин/мг белка	0,53 ± 0,07	0,75 ± 0,09	0,12 ± 0,01***	0,12 ± 0,01***

Примечание: здесь и в табл. 2 отличие от величины соответствующего показателя животных контрольной группы достоверно: * – при $p < 0,05$; ** – при $p < 0,01$; *** – при $p < 0,001$.

Таблица 2

Показатели нитроксидагической системы в условиях высокожировой нагрузки, $M \pm m$

Показатель	Контрольная группа, n = 10	Сроки высокожировой нагрузки		
		30 суток (опытная 1), n = 10	90 суток (опытная 2), n = 10	180 суток (опытная 3), n = 10
Содержание метаболитов NO, мкмоль/л	33,0 ± 1,4	42,0 ± 1,2*	38,5 ± 0,3**	23,1 ± 0,7***
Активность NO-синтазы, %	11,2 ± 0,3	15,9 ± 0,1**	13,4 ± 0,3*	3,1 ± 0,1***

жировым рационом (опытная группа 2), стала нормализация некоторых изучаемых параметров (содержание гидроперекисей липидов в крови и печени, ТБКРП и ДК в печени, устойчивость эритроцитов к перекисному гемолизу, активность каталазы) (табл. 1). Наблюдалось повышение общей АОА в 1,8 раза. Состояние редокс-системы глутатиона в клетках крови характеризовалось увеличением уровня восстановленного глутатиона относительно опытной группы 1, повышением активности глутатионредуктазы и глутатионпероксидазы до значений контрольных крыс. В печени сохранялась низкая активность глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы, первоначально выявленная у крыс опытной группы 1.

Полученные данные свидетельствуют о формировании компенсаторного ответа антиоксидантной системы на 90-е сутки алиментарной нагрузки, направленного на утилизацию высокотоксичных продуктов перекисного окисления липидов, снижение интенсивности окислительного стресса. Важную роль в активации антиоксидантных процессов, нормализации внутриклеточного тиол-дисульфидного баланса, повышении устойчивости клеток к мембранодеструкции играет NO [17]. Исследование динамики уровня NO на 90 сутки эксперимента выявило тенденцию к уменьшению его количества в крови, снижение активности индуцибельной NO-синтазы в печени. В то же время показатели нитроксидагической системы оставались выше контрольных значений. Стабилизация повышенной экспрессии NO до 90 суток воздействия высокожировым рационом способствует усилению антиоксидантной защиты организма, формированию компенсаторно-приспособительного ответа клетки.

На 180 сутки алиментарной нагрузки наблюдался срыв компенсаторных процессов в системе «прооксиданты-антиоксиданты». Подтверждением этого служило накопление у крыс опытной группы 3 начальных и конечных продуктов ПОЛ в крови и печени. Установлено снижение активности каталазы и УЭПГ относительно значений контрольной группы на 34 % ($p < 0,05$) и 18 % ($p < 0,05$) соответственно. Состояние редокс-системы глутатиона на 180 сутки эксперимента характеризова-

лось значительным угнетением ферментативной активности глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы, снижением уровня восстановленного глутатиона как в крови, так и в печени. В этих условиях выявленное снижение содержания метаболитов NO у крыс опытной группы 3 стало закономерным следствием угнетения экспрессии NO-синтазы, усиления прооксидантных процессов. Можно предположить, что недостаточность адаптационных возможностей антиоксидантной защиты детерминирована угнетением активности нитроксидагической системы. Это указывает на снижение защитных возможностей организма и срыв компенсаторных процессов в системе «прооксиданты-антиоксиданты».

Для подтверждения высказанных предположений о взаимосвязи между интенсивностью окислительного стресса и синтезом NO был проведен корреляционный анализ изучаемых показателей (табл. 3). Обнаружено, что на 30 сутки развития алиментарного стресса содержание метаболитов NO отрицательно коррелировало с общей АОА и содержанием ТБКРП в сыворотке крови, через 90 суток высокожировой нагрузки выявлены положительные взаимосвязи с АОА, активностью глутатионредуктазы и каталазы. Обнаруженная корреляционная связь между ферментами глутатионного звена, каталазы и уровнем NO в крови доказывает участие этой сигнальной молекулы в индукции образования ферментов АОЗ. Данный механизм обеспечивает физиологическую регуляцию интенсивности окислительного стресса при адаптации к неблагоприятным факторам. На 180 сутки алиментарного стресса установлена только положительная связь между содержанием метаболитов NO в сыворотке крови и устойчивостью мембран эритроцитов к окислительному стрессу (УЭПГ). Выявленные минимальные связи NO с параметрами системы антиоксидантной защиты свидетельствуют о нарушении регуляции окислительно-восстановительных процессов на данном этапе, неконтролируемом течении окислительного стресса.

Заключение

Проведенное исследование позволило выявить особенности про- и антиоксидантного статуса организма крыс в динамике воздействия высоко-

Таблица 3

Корреляционный анализ взаимосвязи содержания метаболитов NO с показателями системы «прооксиданты – антиоксиданты» крыс в условиях высокожировой нагрузки

Показатель	Контрольная группа, n = 10	Сроки высокожировой нагрузки		
		30 суток (опытная 1), n = 10	90 суток (опытная 1), n = 10	180 суток (опытная 1), n = 10
АОА	–0,27	–0,56	0,50	0,04
Содержание ТБКРП	0,04	–0,81	0,02	0,08
Содержание гидроперекисей липидов	0,18	–0,29	–0,39	–0,07
Каталаза	–0,67	0,03	0,57	–0,29
Содержание глутатиона	0,38	0,21	–0,46	0,14
Активность глутатионпероксидазы	–0,30	–0,36	0,01	0,33
Активность глутатионредуктазы	0,10	–0,05	0,51	–0,39
УЭПГ	–0,17	–0,25	0,15	0,58

жировым рационом и установить роль нитроксидагической системы в регуляции окислительного стресса. Кратковременная высокожировая диета (30 суток) провоцировала развитие окислительного стресса, сопровождающегося накоплением продуктов ПОЛ и угнетением активности редокс-системы глутатиона в клетках крови и печени, активацией индуцибельной NO-синтазы, гиперпродукцией NO. Длительное поддержание эффекторного состояния при пролонгировании высокожировой нагрузки до 90 суток характеризовалось появлением компенсаторно-приспособительного ответа со стороны всех исследуемых звеньев антиоксидантной системы. Отмечено увеличение синтеза глутатиона и активация глутатион-зависимых ферментов в крови, сохранение повышенной активности индуцибельной NO-синтазы в печени и синтеза NO. Индукция обозначенных выше реакций антиоксидантной защиты купировала развитие окислительного стресса, минимизировала накопление высокотоксичных липопероксидов в крови и печени. На 180 сутки алиментарной нагрузки наблюдался срыв компенсаторных процессов в антиоксидантной системе, истощение ее адаптационных резервов – наблюдался редокс-дисбаланс со смещением в сторону активации прооксидантных реакций и ингибирования антиоксидантных. Выявленное угнетение активности нитроксидагической системы стало патогенетическим фактором, усиливающим окислительный стресс. Показано, что активация нитроксидагических механизмов коррелирует с повышением антиоксидантного статуса организма,

и, напротив, ингибирование синтеза NO смещает прооксидантно-антиоксидантное равновесие в сторону интенсификации свободнорадикального окисления липидов. Отсюда следует, что состояние нитроксидагической системы и активность генерации NO может являться одним из важных механизмов поддержания оптимального баланса между про- и антиоксидантными процессами, регуляции интенсивности окислительного стресса.

Список литературы

1. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. и др. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. М., 2006. 343 с.
Men'shchikova E.B., Lankin V.Z., Zenkov N.K. et al. Oxidative stress. Prooxidants and antioxidants. M., 2006. 343 p.
2. Crosswhite P., Sun Z. Nitric oxide, oxidative stress and inflammation in pulmonary arterial hypertension // J. Hypertens. 2010. 28. (2). 201–212.
3. Костюк С.В., Смирнова Т.Д., Ефремова Л.В. и др. Увеличение экспрессии iNOS в эндотелиальных клетках человека при длительном культивировании с фрагментами внеклеточной ДНК // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2010. 149. (2). 151–155.
Kostyuk S.V., Smirnova T.D., Efremova L.V. et al. Increased expression of iNOS in human endothelial cells with the length of the tangent cultured with fragments of the extracellular DNA // Byul. eksperiment. biologii i meditsiny. 2010. 149. (2). 151–155.
4. Yap L.P., Garcia J.V., Han D.S., Cadenas E. Role of nitric oxide-mediated glutathionylation in

neuronal function. Potential regulation of energy utilization // *Biochem. J.* 2010. 14. 194–198.

5. Турпаев К.Т. Активные формы кислорода и регуляция экспрессии генов // *Биохимия.* 2002. 67. (3). 339–352.

Turpaev K.T. Reactive oxygen species and regulation of gene expression // *Biokhimiya.* 2002. 67. (3). 339–352.

6. Nguyen T., Sherratt P.J., Pickett C.B. Regulatory mechanisms controlling gene expression mediated by the antioxidant response element // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2003. 43. 233–260.

7. Fan J.G., Zhong L., Xu Z.J. Effect of low-calorie diet on steatohepatitis in rats with obesity and hyperlipidemia // *World J. Gastroenterol.* 2003. 9. (9). 2045–2049.

8. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for experimental and other scientific purposes. Strasburg: Council of Europe, 1986. 51.

9. Клебанов Г.И., Бабенкова И.В., Теселкин Ю.О. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов // *Лаб. дело.* 1988. (5). 59–62.

Klebanov G.I., Babenkova I.V., Teselkin Yu.O. Evaluation of antioxidant activity of blood plasma with yolk lipoproteins // *Lab. delo.* 1988. (5). 59–62.

10. Гончаренко М.С., Латинова А.М. Метод оценки перекисного окисления липидов // *Лаб. дело.* 1985. (1). 60–69.

Goncharenko M.S., Latinova A.M. Method of assessment of lipid peroxidation // *Lab. delo.* 1985. (1). 60–69.

11. Галактионова Л.П., Молчанов А.В., Ельчанинова С.А., Варшавский Б.Я. Состояние перекисного окисления у больных с язвенной болезнью желудка и 12-перстной кишки // *Клин. лаб. диагностика.* 1998. (6). 10–14.

Galaktionova L.P., Molchanov A.V., El'chaninova S.A., Varshawsky B.Ya. Lipid peroxidation in patients with gastric and duodenal ulcer // *Klin. lab. diagnostika.* 1998. (6). 10–14.

12. Новгородцева Т.П., Эндакова Э.А., Янькова В.И. Руководство по методам исследования параметров системы «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» в биологических жидкостях. Владивосток, 2003. 80 с.

Novgorodtseva T.P., Endakova E.A., Yan'kova V.I. Guide to the research methods of the «lipid peroxidation – antioxidant protection» parameters in biological fluids. Vladivostok, 2003. 80 p.

13. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl group // *Arch. Biochem. Biophys.* 1959. 82. 70–77.

14. Ramos-Martines I.L., Torres A.M. Glutathione reductase of mantle tissue from sea mussel medullus 1. Purification and characterization two seasonal enzymatic forms // *Biochem. Physiol.* 1985. 80. (213). 355–360.

15. Mills G.C. The purification and properties of glutathione peroxidase of erythrocytes // *J. Biol. Chem.* 1959. 234. (3). 502–506.

16. Stainton M.P. Simple, efficient reduction column for use in automated determination of nitrate in water // *Anal. Chem.* 1974. 46. (11). 1616.

17. Hildebrandt W., Droge W. Thiol-mediated redox regulation // *Forum Nutr.* 2003. 56. 199–200.

NITROXIDERGIC MECHANISMS OF OXIDATIVE STRESS REGULATION

Yuliya Konstantinovna KARAMAN, Tatyana Pavlovna NOVGORODTSEVA,
Natalia Vladimirovna BIVAL'KEVICH, Elena Grigor'evna LOBANOVA, Vera Innokent'evna YAN'KOVA

Vladivostok Affiliation of the Far East Centre for Physiology and Respiratory Pathology of the SB RAMS –
Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment
690105, Vladivostok, Russkaya str., 73g

The role of nitroxidergic system in the mechanisms of oxidative stress regulation has been revealed in experiments with rats. The development of oxidative stress has been realized through the high caloric load impact on rats during 180 days. It has been shown that the activation of nitroxidergic mechanisms correlates with the increased of antioxidant status and, conversely, the inhibition of nitric oxide synthesis displaces the prooxidant-antioxidant balance towards the intensification of lipids free radical oxidation.

Key words: oxidative stress, nitric oxide, antioxidant system, high caloric load.

Karaman Yu.K. – candidate of biological sciences, senior researcher of the laboratory for biomedical investigation; e-mail: karaman@inbox.ru

Novgorodtseva T.P. – doctor of biological sciences, professor, deputy director, head of the laboratory for biomedical investigation; e-mail: curdeal@mail.ru

Bival'kevich N.V. – junior researcher of the laboratory for biomedical investigation; e-mail: natellaV@inbox.ru

Lobanova E.G. – candidate of medical sciences, researcher of the laboratory for biomedical investigation; e-mail: isachenko1@yandex.ru

Yan'kova V.I. – candidate of biological sciences, scientific secretary, assistant professor; e-mail: jankova-nch@list.ru