

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

© Bessmertnyj J.A., Zaichko N.V., Melnik A.V.

УДК: 612.398.192: 628.16. 098: 611.137.83: 661.982: 612.015.64

БІОХІМІЧНІ ЗМІНИ В СТЕГНОВИХ АРТЕРІЯХ ЩУРІВ ЗА ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ, ЇЇ КОМБІНАЦІЇ З ІНГІБУВАННЯМ СИНТЕЗУ ОКСИДУ АЗОТУ ТА КОРЕКЦІЇ ДЕКАМЕВІТОМ

Безсмертний Ю.О.¹, Заїчко Н.В.¹, Мельник А.В.²

¹НДІ реабілітації інвалідів Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова

²Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова

Исследовано влияние гипергомоцистеинемии (ГГЦ) и ее комбинации с введением ингибитора NO-синтазы L-NAME и коррекции декамевитом на биохимические показатели бедренных артерий крыс и оценено связь сосудистых нарушений с состоянием бедренных костей. ГГЦ вызывала снижение содержания вазоактивных молекул H₂S и NO в сыворотке крови и нарушала их синтез цистатионин-γ-лиазой и NO-синтазой в бедренных артериях крыс. В сосудах крыс с ГГЦ повышалась активность НАДФН-оксидазы, снижалась активность тиоредоксинредуктазы, увеличивалось содержание холестерина. Биохимические изменения в бедренных артериях ассоциировались со снижением плотности и относительной массы бедренной кости. ГГЦ-индуцируемые изменения в бедренных артериях ассоциировались с потерей костной массы: между плотностью кости и активностью НАДФН-оксидазы, содержанием холестерина в бедренной артерии существовала обратная корреляционная связь и прямая – с активностью NO-синтазы и цистатионин-γ-лиазы (r=0,47-0,50, p<0,05). Ингибитор NO-синтазы L-NAME усиливал, а декамевит эффективно уменьшал вазо- и остеотоксические эффекты ГГЦ.

Ключевые слова: гипергомоцистеинемия, гидроден сульфид, оксид азота, бедренная артерия, кость, декамевит.

З кожним роком накопичується все більше доказів, що гіпергомоцистеїнемія (ГГЦ) є незалежним фактором ризику остеопорозу та переломів. Механізми остеокрихічної дії високих рівнів ГЦ здебільшого пов'язують з активацією процесів демінералізації кісток, деградації колагену, хімічною модифікацією білків кісткової тканини тощо [14, 16]. Метаболічний стан кісткової тканини та перебіг репаративних процесів значною мірою залежить від її кровопостачання. Однак, роль судинних механізмів в реалізації негативно впливу ГГЦ на стан кісткової тканини остаточно не з'ясована. В процесі обміну сірковмісних амінокислот в тканинах утворюється біологічно-активна молекула гідроден сульфід (H₂S), яка залучена до регуляції судинного тонуусу і є синергістом монооксиду азоту (NO) [4, 20]. Раніше нами було показано, що ГГЦ викликає зниження вмісту H₂S в плазмі крові, що асоціюється зі зменшенням активності H₂S-синтезуючих ферментів (зокрема, цистатионін-γ-ліази) в органах щурів [4]. Не виключено, що зміни судинної продукції H₂S та інших вазоактивних речовин інтегровані в патогенез ГГЦ-індукованих порушень стану кісткової тканини, але інформація по цьому питанню відсутня. Не визначено, чи здатні вітамінні препарати з гіпогомоцистеїнемічною дією коригувати остеотоксичний ефект ГГЦ і якщо так, то через які механізми реалізується протекторна дія.

Метою роботи було вивчення впливу ГГЦ, її поєднання з введенням інгібітору NO-синтази L-NAME та корекції засобом з гіпогомоцистеїнемічною дією декамевітом на біохімічні показники стегнових артерій щурів та встановлення зв'язку судинних порушень зі змінами стану стегнових кісток.

Матеріали та методи дослідження

Експерименти проведені на 60 білих нелінійних щурах-самцях масою 250-270 г. Під час дослідів тварин перебували в стандартних умовах і отримували напівсинтетичну крохмально-казеїнову діету з контролем вмістом всіх макро- та мікронутрієнтів [8]. Модель ГГЦ створювали у 40 тварин (групи 2, 2а, 3, 4) за рахунок інтрагастрального введення тіолактону D,L-гомоцистеїну (Fluka, Німеччина) в дозі 100 мг/кг маси тіла 1 раз на добу. Тваринам 3 групи вводили неселективний інгібітор синтази оксиду азоту L-NAME (метиловий ефір L-N^ω-нітроаргініну) в дозі 30 мг/кг маси 1 раз на добу. Речовини вводили на 1% розчині крохмалю, загальний термін введення становив 28 діб. Контроль (групи 1а, 1) склали 20 щурів, яким вводили еквівалентні об'єми розчину крохмалю.

В діету тварин 4 групи весь термін досліду додавали декамевіт (Декамевіт[®], АТ "Київський вітамінний завод") в дозі 781 мг на 1 кг сухого корму, що забезпечувала надходження 1430 мкг вітаміну В₆, 143 мкг вітаміну В₉, 7,15 мкг вітаміну В₁₂ на 1 кг маси тіла. По-

лівітамінний комплекс декамевіт містить в одній пігулці високі дози вітамінів В₆, В₉, В₁₂ (20,0; 2,0; 0,1 мг відповідно) і проявляє гіпогомостеїнемічний та антиоксидантний ефект [1].

З експерименту частину тварин (групи 1а, 2а) виводили на 14, а решту (групи 1, 2, 3, 4) – на 28 добу шляхом декапітації під легким ефірним наркозом. Досліди виконували згідно міжнародних вимог «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальною та іншою науковою метою» (Strasbourg, 1986), правил гуманного відношення до експериментальних тварин, затверджених комітетом з біоетики ВНМУ ім. М.І.Пирогова.

Після виділення стегнові артерії ретельно промивали холодним 1,15% розчином калію хлориду, видаляли адвентицію, а ендотеліальний та м'язовий шари гомогенізували в середовищі 1,15% калію хлориду (співвідношення 1:4), гомогенат центрифугували при 600 г та 4°C упродовж 30 хвилин, отриманий постандартний супернатант використовували для досліджень. Активність НАДФН-оксидази (КФ 1.6.3.1) вимірювали по падінню поглинання НАДФН при 340 нм [15]. Сумарну активність NO-синтаз (eNOS та iNOS, КФ 1.14.13.39) встановлювали за кількістю утвореного нітрит-аніону (NO₂⁻) після інкубації гомогенату артерій в середовищі, 1 мл якого містив 50 мМ КН₂РO₄-NaOH-буфер (рН 7,0), 1 мМ MgCl₂, 2 мМ CaCl₂, 1 мМ НАДФН, 2,2 мМ L-аргініну. Час інкубації становив 60 хв [3]. Активність цистатіонін-γ-ліази (КФ 4.4.1.1) визначали за кількістю утвореного з цистеїну H₂S за реакцією з N,N-диметилпарафенілєндіаміном [4]. Активність тіоредоксин-дисульфідредуктази (тіоредоксинредуктази, КФ 1.8.1.9) визначали за швидкістю НАДФН-залежного відновлення 5,5'-дітіобіс(2-нітробензоату) [11]. Вміст протеїну в препаратах визначали мікробіуретовим методом [5].

Для визначення вмісту ліпідів наважки стегнової артерії висушували до постійної маси, деліпідували сумішшю хлороформ-метанол. В ліпідному екстракті визначали вміст вільного холестерину та тригліцеридів уніфікованими методами [6].

Вміст малонового діальдегіду визначали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [2], а білкових карбонільних груп - за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразином [10].

Рівень ГЦ в сироватці крові визначали імуноферментним методом за набором «Homocysteine EIA» (Axis-Shield, Англія). Вміст H₂S в сироватці крові визначали спектрофотометричним методом за реакцією з пара-фенілєндіаміном [4]. Суму нітритів та нітратів в сироватці крові визначали за реакцією з реактивом Грісса після відновлення нітратів зависсю цинкового порошку в розчині аміаку.

У тварин виділяли стегнові кістки, ретельно звільняли їх від м'яких тканин та зважували. Визначали відносну масу стегнової кістки (% від маси тіла), її об'єм (мм³) та щільність (мг/мм³), відношення маси кістки до діаметра діафізу стегнової кістки (мг/мм) за середніми

показниками, отриманими при вимірюванні правої та лівої стегнових кісток.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою стандартних статистичних програм "MS Excel XP". Вірогідність відмінностей оцінювали за t-критерієм Стьюдента.

Результати та їх обговорення

Введення тіолактону ГЦ забезпечувало достовірне підвищення вмісту ГЦ в сироватці крові на 138% на 14 добу і на 157% на 28 добу (рис. 1). В умовах інгібування синтезу оксиду азоту приріст вмісту ГЦ в сироватці крові збільшився до 205%. Збагачення раціону тварин декамевітом прискорювало елімінацію ГЦ з сироватки крові і зменшувало виразність ГГЦ.

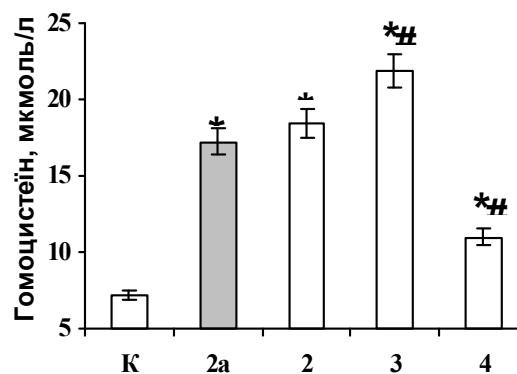


Рис. 1. Вміст ГЦ в сироватці крові при введенні тіолактону ГЦ (100 мг/кг маси) у щурів різних груп: 2а (ГГЦ, стан на 14 добу), 2 (ГГЦ, стан на 28 добу), 3 (ГГЦ+L-NAME, стан на 28 добу), 4 (ГГЦ+декамевіт, стан на 28 добу) та в контролі (К). * - $p < 0,05$ відносно контролю, # - $p < 0,05$ відносно 2 групи.

Розвиток ГГЦ характеризувався прогресуючим зниженням вмісту H₂S та метаболітів NO – нітратів та нітритів в сироватці крові (табл. 1). Зокрема, на 14 добу досліду вміст H₂S і нітратів та нітритів зменшився на 30,0 та 23,9%, а на 28 добу – на 35,4 та 29,5%, відповідно. Накопичення ГЦ в сироватці крові істотно погіршувало здатність периферичних судин до продукції вказаних вазодиліаторів. Так, активність цистатіонін-γ-ліази – ключового ферменту, який забезпечує синтез H₂S в судинах [4], зменшилась на 19,0 та 35,0%, а сумарна активність NO-синтази - на 12,6 та 17,8% за дво- та чотирихтижневої ГГЦ. Введення L-NAME не лише посилювало падіння активності NO-синтази, а й потенціювало депримуєчий вплив високих рівнів ГЦ на активність цистатіонін-γ-ліази. За цих умов достовірно поглиблювався дефіцит H₂S та NO в сироватці крові. Декамевіт ефективно стримував зниження активності ферментів-продуцентів вазоактивних регуляторів і забезпечував підтримку належного рівня H₂S та NO в сироватці крові щурів, яким вводили тіолактон ГЦ.

Таблиця 1
Вміст водороден сульфід, нітратів та нітритів в сироватці крові, активність цистатіонін-γ-ліази та NO-синтази стенової артерії щурів за умов ГГЦ, її поєднання з введенням L-NAME та корекції декамевітом (M±m, n=10)

№ групи	Характеристика групи	Сироватка крові		Стегнова артерія	
		H ₂ S, мкмоль/л	Нітрати та нітрити, мкмоль/л	Цистатіонін-γ-ліаза, нмоль/хв на 1 мг білку	NO-синтаза, пмоль/хв на 1 мг білку
Стан на 14 добу					
1a	Контроль	87,6±4,01	59,8±2,53	0,225±0,014	58,6±1,57
2a	ГГЦ	61,3±2,67*	45,5±3,72*	0,179±0,010*	51,2±2,88*
Стан на 28 добу					
1	Контроль	88,3±2,99	58,7±2,82	0,251±0,016	60,6±1,42
2	ГГЦ	57,0±3,81*	41,4±2,97*	0,163±0,013*	49,8±2,14*
3	ГГЦ + L-NAME	47,3±2,74*	34,3±1,32*#	0,155±0,010*	43,6±1,15*#
4	ГГЦ + декамевіт	78,6±3,66#	51,7±2,25#	0,214±0,012#	54,0±3,84

Примітки: 1. * - p<0,05 – відносно групи контролю;
2. # - p<0,05 – відносно групи 2.

Одним із механізмів токсичного впливу ГГЦ на судини є індукція оксидативного стресу в наслідок аутооксидатії ГЦ в присутності іонів перехідних металів та утворення супероксид-аніону, гідроксильного та тільного радикалів [7]. З'ясувалось, що високі рівні ГЦ стимулюють також і ферментативну продукцію супероксид-аніону за участі НАДФН-оксидази, активність якої в стенових артеріях збільшилась на 42,6 та 78,1% за станом на 14 та 28 добу досліду (табл. 2). Водночас в стенових артеріях реєструвалось зменшення (на 21,4 та 29,6%) активності антиоксидантного

ферменту тіоредоксинредуктази. На цьому тлі істотно зростає вміст продуктів пероксидації білків та ліпідів в стенових артеріях щурів з ГГЦ. Так, вміст карбонільних груп білків збільшився на 127 та 240%, а МДА - на 56,9 та 110 % за двох- та чотирьохтижневої ГГЦ відповідно. При поєднанні ГГЦ з введенням L-NAME всі виявлені порушення поглиблювались. Декамевіт стримував зростання активності НАДФН-оксидази та зниження активності тіоредоксинредуктази, що зменшувало масштабність окисної деструкції білків та ліпідів в судинах.

Таблиця 2
Активність НАДФН-оксидази, тіоредоксинредуктази, вміст продуктів пероксидації білків та ліпідів в стеновій артерії щурів за умов ГГЦ, її поєднання з введенням L-NAME та корекції декамевітом (M±m, n=10)

№ групи	Характеристика групи	НАДФН-оксидаза, нмоль/хв на 1 мг білку	Тіоредоксинредуктаза, нмоль/хв на 1 мг білку	Карбонільні групи, мкмоль/г білку	МДА, мкмоль/г білку
Стан на 14 добу					
1a	Контроль	1,08±0,06	3,83±0,22	0,51±0,037	2,18±0,17
2a	ГГЦ	1,54±0,18*	3,01±0,20*	1,16±0,086*	3,42±0,22*
Стан на 28 добу					
1	Контроль	1,05±0,05	3,71±0,18	0,43±0,031	2,23±0,17
2	ГГЦ	1,87±0,14*	2,61±0,23*	1,46±0,093*	4,69±0,24*
3	ГГЦ + L-NAME	2,06±0,10*	2,29±0,42*	1,70±0,071*	6,31±0,37*#
4	ГГЦ + декамевіт	1,25±0,07*#	3,19±0,15*#	0,69±0,073*#	3,01±0,29*#

Примітки: 1. * - p<0,05 – відносно групи контролю;
2. # - p<0,05 – відносно групи 2.

Збільшення активності НАДФН-оксидази та розлади в системі тіоредоксин / тіоредоксинредуктаза в останні роки розглядають як вагомні патогенетичні чинники ендотеліальної дисфункції та атерогенезу [19, 21]. Результати наших досліджень підтвердили, що ГГЦ-індукований дисбаланс в системі про-/ антиоксиданти асоціювався з прогресуючим накопиченням ліпідів в судинах (табл. 3). За двотижневої і, особливо, за чотирьохтижневої ГГЦ в стінках стенових артерій зростає вміст холестерину на 11,5 та 26,3% та тригліцеридів на 19,4 та 30,1%. За умов інгібування синтезу NO надлишок холестерину та тригліцеридів в стінках стенових артерій щурів з ГГЦ ставав ще більшим – 44,2 та 61,6% відповідно. Збагачення дієти тварин декамевітом практично нівелювало проатерогенний ефект ГГЦ.

Таблиця 3
Вміст вільного холестерину та тригліцеридів в стеновій артерії щурів за умов ГГЦ, її поєднання з введенням L-NAME та корекції декамевітом (M±m, n=10)

№ групи	Характеристика групи	Холестерин, мкмоль/г тканини	Тригліцериди, мкмоль/г тканини
Стан на 14 добу			
1a	Контроль	13,0±0,31	12,9±0,55
2a	ГГЦ	14,5±0,46*	15,4±0,41*
Стан на 28 добу			
1	Контроль	12,9±0,38	13,3±0,50
2	ГГЦ	16,3±0,49*	17,3±0,65*
3	ГГЦ + L-NAME	18,6±0,73*#	21,5±0,74*#
4	ГГЦ + декамевіт	13,2±0,63#	14,9±0,83#

Примітки: 1. * - p<0,05 – відносно групи контролю;
2. # - p<0,05 – відносно групи 2.

Як відомо, стан кісткової тканини та перебіг репаративних процесів значною мірою залежить від її кровопостачання. Цілком очевидно, що ГГЦ-індуковані зміни в периферичних судинах, в тому числі і в стегновій артерії, можуть асоціюватись з порушеннями морфофункціонального стану кісткового апарату. Наші дослідження засвідчили, що розвиток ГГЦ супроводжувався погіршенням біометричних показників стегнових кісток щурів. Так, на 28 добу досліду відносна маса стегнової кістки зменшилась на 10,0%, відношення маси кістки до діафізу – на 12,5%, а її щільність - на 11,6% ($p < 0,05$ відносно контролю). Інгибування синтезу NO прискорювало ГГЦ-індуковану втрату кісткової маси: відносна маса, відношення маси кістки до діафізу та щільність стегнових кісток зменшились на 11,2, 14,8 та 13,3% ($p < 0,05$ відносно контролю). Застосування декамевіту ефективно профілакувало небажані зміни показників стегнових кісток у щурів, яким вводили тіолактон ГЦ.

Вагомість судинних механізмів в патогенезі ГГЦ-індукованих порушень кісткового апарату підтвердив кореляційний аналіз (табл. 4). Між біометричними показниками стегнових кісток та біохімічними маркерами виявлялись достовірні кореляційні зв'язки. Так, щільність кістки обернено корелювала з вмістом ГЦ в сироватці крові, активністю НАДФН-оксидази та вмістом холестерину в стегновій артерії, а прямий зв'язок виявлявся з рівнем H_2S в сироватці крові, активністю NO-синтази та цистатіонін- γ -ліази в стегновій артерії.

Таблиця 4
Кореляційні зв'язки між біометричними показниками стегнових кісток та біохімічними показниками за ГГЦ ($n=20$)

Показники	Гомоцистеїн	Біометричні показники стегнових кісток		
		Відносна маса кістки	Відношення маси кістки до діафізу	Щільність кістки
Гомоцистеїн	1,0	-0,46*	-0,51*	-0,64*
H_2S	-0,59*	0,46*	0,50*	0,59*
Нітрати+нітрити	-0,54*	0,49*	0,29	0,47*
Цистатіонін- γ -ліаза	-0,61*	0,38	0,33	0,47*
NO-синтаза	-0,56*	0,33	0,38	0,50*
НАДФН-оксидаза	0,67*	-0,26	-0,60*	-0,52*
Тіоредоксин-редуктаза	-0,66*	0,34	0,35	0,41
Холестерин	0,50*	-0,34	-0,32	-0,47*
Тригліцериди	0,31	0,16	-0,41	-0,26

Примітка. * - достовірні коефіцієнти кореляції ($r \geq 0,45$, $p < 0,05$).

Таким чином, ГГЦ викликає низку біохімічних порушень в стегнових артеріях щурів – зниження продукції вазодилаторів (H_2S , NO), посилення продукції вазоконстрикторів (супероксид-аніону), що супроводжується оксидативним пошкодженням та проатерогенними змінами в судинах, акселерація яких відбувається в умовах інгибування синтезу NO. Ми вперше показали, що введення L-NAME посилює вазотоксичний ефект ГГЦ не лише через пригнічення судинної продукції NO, а й шляхом потенціювання

депримуючого впливу ГЦ на активність цистатіонін- γ -ліази і, відповідно, порушення синтезу H_2S в стегнових артеріях. Отримані нами дані узгоджуються з результатами інших досліджень, які засвідчили, що введення L-NAME викликає зниження вмісту H_2S в плазмі крові щурів [18]. Гальмування синтезу H_2S може бути одним із чинників, що промотує атеросклеротичні зміни в судинах, адже цьому метаболіту притаманні не лише вазодилатуючі, а й антиоксидантні та цитопротекторні властивості [13]. Зокрема, в культурі гладеньких міоцитів судин H_2S зменшував продукцію супероксид-аніону та пригнічував експресію НАДФН-оксидази [12].

Важливу роль в реалізації остеооксичної дії високих рівнів ГЦ відіграють судинні механізми. Ця теза узгоджується з тим, що інгибування синтезу NO за участі L-NAME виявилось акселератором ГГЦ-індукованої втрати кісткової маси. Показово, що L-NAME потенціює резорбцію кісток, спричинену й іншими чинниками, зокрема глюкокортикоїдами, а також проявляє власний остеодегенеративний ефект [17]. На прикладі декамевіту засвідчено, що вітамінні коректори з гіпогемістемією дією проявляють остеопротекторні властивості, які до певної міри реалізуються через нормалізацію продукції вазоактивних молекул (H_2S , NO) та інших біохімічних процесів в судинах, залучених до кровопостачання кісток.

Отже, нами отримані принципово нові дані щодо молекулярних механізмів токсичного впливу високих рівнів ГЦ на стан кісткової тканини і показана остеопротективна ефективність гіпогемістемічного засобу декамевіту. Встановлення ролі метаболічного патерну у формуванні порушень репаративної регенерації кісток та розробка підходів до їх профілактики є перспективним напрямком подальших досліджень.

Висновки

1. Розвиток експериментальної ГГЦ, індукованої введенням тіолактону ГЦ (100 мг/кг маси тіла інтрагастралью), характеризувався прогресуючими порушеннями синтезу вазодилаторів (H_2S , NO) та проатерогенними змінами в стегнових артеріях щурів. У щурів з ГГЦ реєструвалось зменшення (на 20-35%) вмісту H_2S , нітратів та нітритів в сироватці крові, а також зниження (на 12-35%) активності цистатіонін- γ -ліази, сумарної активності NO-синтази, тіоредоксинредуктази, підвищення (на 42-78%) активності NADPH-оксидази в стегнових артеріях за станом на 14 та 28 добу досліду. В стегнових артеріях щурів з ГГЦ зростав вміст холестерину, тригліцеридів, карбонільних груп білків та МДА.

2. ГГЦ-індуковані зміни в стегнових артеріях асоціювались з втратою кісткової маси: між щільністю кістки та активністю НАДФН-оксидази, вмістом холестерину в стегновій артерії існував обернений кореляційний зв'язок і прямий – з активністю NO-синтази та цистатіонін- γ -ліази ($r=0,47-0,50$, $p < 0,05$).

3. Введення інгібітору NO-синтази L-NAME поглиблювало, а застосування гіпогемістемічного засобу декамевіту ефективно зменшувало вазо- та остеооксичний ефект ГГЦ.

Література

1. Артемчук М.А. Профілактично-лікувальна дія вітамінних та вітамінно-мікроелементних препаратів за гострої та хронічної метіонінової гіпергомоцистеїнемії / М.А. Артемчук // *Biomedical and Biosocial Anthropology*. - 2006. - №7. - С.17-20.
2. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. - М.: Наука, 1972. - 252 с.
3. Гула Н. М. Вплив N-стеароїлетаноламіну на NO-синтазний шлях генерації оксиду азоту в аорті та серці щурів із стрептозотоциніндукованим діабетом / Н. М. Гула, Г. В. Косякова, А. Г. Бердишев // *Укр. біохім. журн.* - 2007. - Т.79, № 5. - С. 153-158.
4. Заїчко Н. В. Визначення вмісту гідроген сульфід у сироватці крові / Н.В. Заїчко, Н. О. Пентюк, Л.О. Пентюк та ін. // *Вісник наукових досліджень*. - 2009. - №1. - С.29-32.
5. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии / Г.А. Кочетов. - М.: Высш. шк., 1980. - 272 с.
6. Лабораторные методы исследования в клинике : Справочное пособие / Под ред. В. В. Меньшикова. - М.: Медицина, 1987. - 368 с.
7. Метаболізм гомоцистеїну та його роль у патології / Пентюк О. О., Луцюк М. Б., Андрушко І. І., Постовітенко К. П. // *Укр. біохім. журн.* - 2003. - Т.75, №1. - С.5-17.
8. Пентюк О.О. Гіпергомоцистеїнемія: моделювання та вплив на стан судинної системи в експерименті / О.О. Пентюк, М. Б. Луцюк, К. П. Постовітенко // *Досягнення біології та медицини*. - 2004. - №1 (3). - С.35-38.
9. Утворення гідроген сульфід у органах щурів / Н.В. Заїчко, Н. О. Пентюк, А. В. Мельник, О.І. Штатко, І.І. Андрушко / *Медична хімія*. - 2009. - Т. 11, № 4. - С. 7-13.
10. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins / R.L. Levine, J.A. Williams, E.R. Stadtman, E. Shacter // *Methods Enzymol.* - 1994. - №233. - P.346-357.
11. Differential thioredoxin reductase activity from human normal hepatic and hepatoma cell lines / H. I. Jung, H. W. Lim, B. C. Kim [et al.] // *Yonsei Medical Journal*. - 2004. - Vol. 45, №2. - P.263-272.
12. Exogenous hydrogen sulfide inhibits superoxide formation, NOX-1 expression and Rac1 activity in human vascular smooth muscle cells / Muzaffar S., Shukla N., Bond M. [et al.] // *J Vasc Res.* - 2008. - Vol. 45, №6. - P.521-528.
13. H₂S ameliorates oxidative and proteolytic stresses and protects the heart against adverse remodeling in chronic heart failure / P. K. Mishra, N. Tyagi, U. Sen [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* - 2010. - Vol. 298, №2. - P.451-456.
14. Hyperhomocysteinemia induces a tissue specific accumulation of homocysteine in bone by collagen binding and adversely affects bone / M. Herrmann, A. Tami, B. Wildemann [et al.] // *Bone*. - 2009. - Vol. 44, №3. - P.467-475.
15. p22phox mRNA expression and NADPH oxidase activity are increased in aortas from hypertensive rats / T. Fukui, N. Ishizaka, S. Rajagopalan [et al.] // *Circ. Res.* - 1997. - Vol. 80, №1. - P.45-51.
16. Saito M. Biochemical markers of bone turnover. New aspect. Bone collagen metabolism: new biological markers for estimation of bone quality / M. Saito // *Clin Calcium*. - 2009. - Vol. 19, №8. - P.1110-1117.
17. Supplementation of L-arginine prevents glucocorticoid-induced reduction of bone growth and bone turnover abnormalities in a growing rat model / P. Pennisi, M.A. D'Alcamo, C. Leonetti [et al.] // *J Bone Miner Metab.* - 2005. - Vol. 23, №2. - P.134-139.
18. The role of hydrogen sulfide generation in the pathogenesis of hypertension in rats induced by inhibition of nitric oxide synthase / G. Zhong, F. Chen, Y. Cheng [et al.] // *J. Hypertens.* - 2003. - Vol. 21, №10. - P.1879-1885.
19. Urso C. Oxidative stress and endothelial dysfunction / C. Urso, G. Caimi // *Minerva Med.* - 2011. - Vol. 102, №1. - P.59-77.
20. Wang R. Hydrogen sulfide: the third gasotransmitter in biology and medicine / R. Wang // *Antioxid Redox Signal.* - 2010. - Vol.12, №9. - 1061-1064.
21. Wu Y. Decreased serum levels of thioredoxin in patients with coronary artery disease plus hyperhomocysteinemia is strongly associated with the disease severity / Y. Wu, L. Yang, L. Zhong // *Atherosclerosis*. - 2010. - Vol. 212, №1. - P. 351-355.

Summary

BIOCHEMICAL CHANGES IN FEMORAL ARTERIES OF RATS AT HYPERHOMOCYSTEINEMIA, ITS COMBINATION WITH NITRIC OXIDE SYNTHESIS INHIBITION AND CORRECTION BY *DECAMEVITUM*

J.A. Bessmertnyi¹, N.V. Zaichko¹, A.V. Melnik²

Keywords: hyperhomocysteinemia, hydrogen sulfide, nitric oxide, femoral arteries, bones, *Decamevitum*.

Influences of hyperhomocysteinemia (HHcy), its combination with administration of nitric oxide synthase inhibitor L-NAME and correction by *Decamevitum* on biochemical indices of femoral arteries of rats were investigated; connection of vascular impairments with femoral bones conditions was estimated. HHcy caused reduction of the contents of vasoactive molecules H₂S and NO in blood serum and perturbed their synthesis by cystathionine-γ-lyase and NO-synthase in the femoral arteries of rats. NADPH-oxidase activity improved, thioredoxin reductase activity decreased and cholesterol levels increased in the vessels of rats with HHcy. Biochemical changes in femoral arteries were associated with the decrease of density and relative weight of the femoral bones: there was the inverse correlation relationship between the bones density, NADPH-oxidase activity and cholesterol content in femoral arteries, as well as the direct correlation relationship between NO-synthase and cystathionine-gamma-lyase activity ($r=0,47-0,50$, $p<0,05$). NO-synthase inhibitor L-NAME enhanced and *Decamevitum* effectively reduced vaso- and osteotoxic effects of HHcy.

¹Research Institute of Invalid Rehabilitation of Vinnitsa National Pirogov Memorial Medical University

²Vinnitsa National Pirogov Memorial Medical University

Матеріал надійшов до редакції 16.09.2011 р.