

ВПЛИВ N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІНУ НА NO-СИНТАЗНИЙ ШЛЯХ УТВОРЕННЯ ОКСИДУ АЗОТУ ТА ФОСФОЛІПІДНИЙ СКЛАД МЕМБРАН ЕРИТРОЦИТІВ ЩУРІВ ІЗ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВИМ ДІАБЕТОМ

Г. В. КОСЯКОВА, Н. М. ГУЛА

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;
e-mail: ngula@biochem.kiev.ua; kosiakova@biochem.kiev.ua

На моделі стрептозотоциніндукованого діабету у щурів досліджено вплив N-стеароїлетаноламіну (NSE) на NO-синтазний шлях генерації оксиду азоту та фосфоліпідний склад мембран еритроцитів. Показано, що при цукровому діабеті в еритроцитах крові тварин відбувається активація індукбельної ізоформи NO-синтази та значне пригнічення активності конститутивної ізоформи ферменту з відповідним зростанням вмісту стабільних метаболітів NO – нітрит- та нітрат-аніонів. Одночасно суттєві зміни при діабеті відбуваються у фосфоліпідному складі мембран еритроцитів, а саме: зниження вмісту фосфатидилетаноламіну, фосфатидилхоліну, фосфатидилінозитулу, сфінгомієліну; зростання вмісту лізоформ фосфатидилхоліну та фосфатидилетаноламіну; виявлено також збільшення вмісту вільного та естерифікованого холестеролу.

Вперше показано, що введення щурам із цукровим діабетом водної суспензії NSE в дозі 50 мг/кг протягом 10 діб, спричинює інгібування індукбельної ізоформи NO-синтази, що супроводжується відновленням активності конститутивної ізоформи ферменту та нормалізацією вмісту стабільних метаболітів NO, а також сприяє зниженню вмісту лізоформ фосфоліпідів, нормалізації вмісту фосфатидилетаноламіну, фосфатидилхоліну та зростанню рівня фосфатидилінозитулу у складі мембран еритроцитів.

Ключові слова: N-стеароїлетаноламін (NSE), оксид азоту (NO), NO-синтаза, фосфоліпідні мембрани, цукровий діабет.

N-стеароїлетаноламін належить до класу мінорних ліпідів – N-ацилетаноламінів (NAE), представники якого за своєю біологічною дією є ендоканабіноїдами або канабіміметиками. На сьогодні для цієї групи біологічно активних ліпідів, що акумулюються переважно в уражених тканинах та органах, показана ціла низка біологічних ефектів, що сприяють адаптивно-відновним процесам. NAE є мембранотропними агентами і виявляють виражені мембранопротекторну та мембраномодуючу властивості [1]. Механізми дії окремих представників NAE пов'язані з активацією каналного так званого “ванілоїдного” (TRPV1), та ядерних (PPAR-типу) рецепторів. Деякі прояви біологічної активності цих сполук також реалізуються позарецепторно [2, 3]. Останнім часом у літературі з'являється все більше даних, що свідчать про участь універсального біорегулятора – оксиду азоту (NO) в реалізації фармакологічних ефектів NAE. Зокрема, імуномодуюча, протизапальна, гіпотензивна дія представників цього класу ліпідів пов'язана із здатністю їх до регуляції процесів синтезу NO.

Дослідженнями останніх років показано, що оксид азоту бере участь у процесах забезпечення здатності еритроцитів до деформації [4]. Здатність червонокривців змінювати свою форму під час проходження по капілярам є критично важливою для підтримання нормальної мікроциркуляції.

Порушення структурно-функціонального стану мембран еритроцитів спричинює значне зниження здатності їх до деформації, що є складовою ланкою патогенезу судинних ускладнень багатьох захворювань, зокрема цукрового діабету.

Беручи до уваги мембранотропні ефекти NAE, а також здатність їх до модуляції процесів синтезу NO, було доцільним дослідити вплив N-стеароїлетаноламіну на стан системи оксиду азоту та фосфоліпідний склад мембран еритроцитів щурів із стрептозотоциніндукованим діабетом на стадії ускладнень захворювання.

Матеріали і методи

В дослідженні було використано щуринсамці лінії Вістар масою 250–280 г. Індукцію

цукрового діабету здійснювали одноразовим введенням стрептозотоцину фірми «Sigma» (США) (розчин у Na^+ -цитратному буфері, рН 4,5) внутрішньочеревинно, з розрахунку 50 мг/кг маси тіла. Розвиток захворювання контролювали за зростанням у крові тварин рівня глюкози, вміст якої визначали о-толуїдиновим методом із використанням стандартних наборів реактивів для фотометричного визначення глюкози в біологічних рідинах («Філіст Діагностика», Україна). Через 3 місяці після індукції діабету (цей термін, за даними літератури, відповідає стадії судинних ускладнень захворювання), у тварин розвивається ендотеліальна дисфункція, одним із проявів якої є зниження NO-залежної реакції розслаблення гладеньких м'язів судин у відповідь на ацетилхолін [5]). Щурів було поділено на 2 групи: перша – контрольна «Діабет» ($n = 30$); друга група ($n = 34$) отримувала водну суспензію NSE per os з розрахунку 50 мг/кг маси тіла протягом 10 діб. Окремо було виділено групу інтактного контролю ($n = 21$). По закінченню експерименту тварин забивали шляхом декапітації під нембуталовим наркозом. Для досліджень здійснювали забір крові щурів, в якості антикоагулянта використовували 5% розчин цитрату натрію у співвідношенні 4 : 1 (кров : цитрат). Еритроцити відділяли від плазми та інших елементів крові центрифугуванням (600 г протягом 10 хв), з подальшим триразовим відмиванням їх від залишків плазми за зазначених вище умов центрифугування охолодженим фізіологічним розчином (0,15 М NaCl).

У суспензії еритроцитів, яку отримували шляхом розведення фізіологічним розчином до кінцевої концентрації 10^6 клітин у мл суспензії, визначали активність конститутивної (cNOS) та індукцйбельної (iNOS) ізоформ NO-синтази, вміст стабільних метаболітів оксиду азоту – нітрит (NO_2^-) та нітрат (NO_3^-) аніонів.

Вміст нітрит-аніону (NO_2^-) визначали в безбілкових аліквотах суспензії еритроцитів методом Грін з використанням реактиву Гріса [6]. Вміст нітрат-аніону (NO_3^-) визначали за допомогою бруцинового реактиву [7].

Сумарну активність NO-синтаз оцінювали за кількістю утвореного після інкубації нітрит-аніону (NO_2^-), який визначали методом, наведеним у роботі [6]. Інкубаційне середовище, об'ємом 1 мл, містило 50 мМ KH_2PO_4 – NaOH буфер (рН 7,0), 1 мМ MgCl_2 , 2 мМ CaCl_2 , 1 мМ NADPH, 2,2 мМ L-аргініну та 0,2 мл проби, що містила 10 мг білка, час інкубації склав 60 хв. Для визначення активності iNOS до складу інкубаційної суміші замість CaCl_2 для

зв'язування ендogenous Ca^{2+} додавали ЕГТА до кінцевої концентрації 4 мМ. Активність cNOS розраховували як різницю активності сумарної NOS та iNOS.

Для отримання еритроцитарних мембран, клітини гемолізували шляхом додавання охолодженої дистильованої води у співвідношенні 1 : 50 та інкубували суміш при 4 °С протягом 18 год. Після цього проби центрифугували (15 000 г протягом 15 хв) при 4 °С. Одержаний осад мембран еритроцитів тричі промивали 0,15 М розчином NaCl, рН 7,5–7,6 [8]. Далі осад ресуспендували у відповідному об'ємі ізотонічного фізіологічного розчину та екстрагували ліпіди за методом Блая-Дайєра [9]. Розділення фосфоліпідів проводили двовимірною мікротонкошаровою хроматографією за методом [10]. Вміст фосфоліпідів виражали через кількість у них неорганічного фосфору, який визначали за допомогою молібдатного реагенту [11].

Вміст холестеролу визначали методом газорідинної хроматографії на колонці (3% OV-1 на хромосорбі).

Результати виражали на мг білка, який визначали методом Бредфорд. Дані обробляли статистично з використанням критерію Стьюдента.

Результати та обговорення

На рис. 1 представлено результати визначення вмісту глюкози у крові щурів, які свідчать про стійке зростання цього показника у процесі розвитку цукрового діабету. Введення NSE спричинює вірогідне зниження вмісту глюкози у крові щурів із розвинутим цукровим діабетом.

Результати визначення фосфоліпідного складу мембран еритроцитів щурів наведено у табл. 1. Як видно розвиток цукрового діабету зумовлює суттєві зміни у фосфоліпідному складі мембран еритроцитів. Зокрема, виявлено зниження вмісту загального фосфору фосфоліпідів (ЗФ) (табл. 2), внаслідок істотного зменшення вмісту фосфатидилетаноламіну, фосфатидилхоліну, фосфатидилінозитолу та сфінгомієліну. Також встановлено значне зростання вмісту лізоформ фосфатидилхоліну (ЛФХ) та фосфатидилетаноламіну (ЛФЕ). Результати визначення вмісту холестеролу в мембранах еритроцитів щурів (табл. 2) показали вірогідне збільшення рівнів вільного (ХС) та естерифікованого холестеролу, що спричинює зростання співвідношення ХС/ЗФ.

Введення тваринам із розвинутим цукровим діабетом NSE сприяє зниженню вмісту лі-

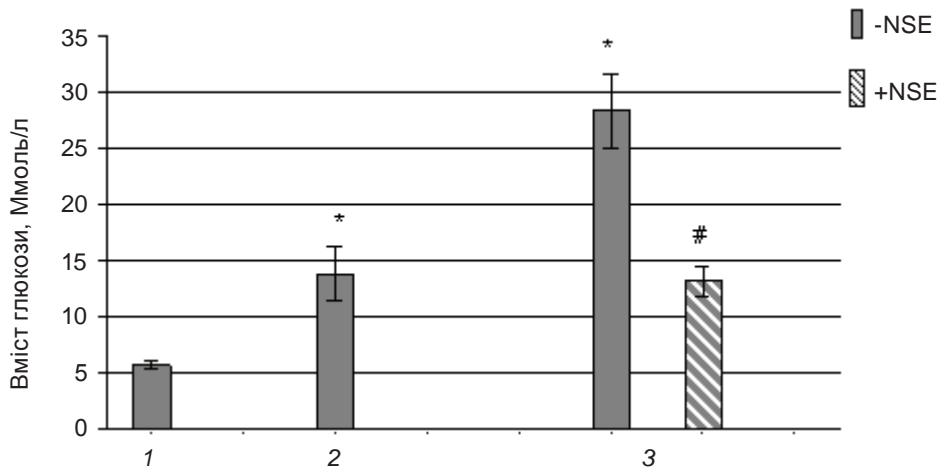


Рис. 1. Вміст глюкози у крові щурів за розвитку цукрового діабету та за дії NSE: 1 – вихідний стан; 2 – через 20 днів після індукції діабету; 3 – через 90 днів після індукції діабету. * Зміни вірогідні ($P < 0,05$) відносно значень у вихідному стані; # зміни вірогідні ($P < 0,05$) відносно значень у групі 3 без NSE

зоформ фосфоліпідів, нормалізації рівня фосфатидилетаноламіну та фосфатидилхоліну, а також зростанню рівня фосфатидилінозиту. За дії NSE відмічено також вірогідне зменшення вмісту вільного холестеролу, що сприяє нормалізації співвідношення ХС/ЗФ.

На рис. 2 наведено результати визначення активності конститутивної та індукційної ізоформ NO-синтаз в еритроцитах щурів. При діабеті нами було виявлено значну активацію індукційної ізоформи ферменту та інгібування його конститутивної ізоформи. Введення NSE призводить до нормалізації активності iNOS та зростання активності cNOS.

У табл. 3 наведено результати дослідження вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту. Як видно з даних таблиці, при цукровому діабеті в еритроцитах щурів значно зростає вміст як нітрит-, так і нітрат-аніонів, тоді як за дії

NSE у крові вірогідно зменшується рівень нітрит-аніону, вміст нітрат-аніону залишається на тому ж рівні.

Відомо, що однією з ланок патогенезу судинних ускладнень за умов абсолютного або відносного дефіциту інсуліну є порушення функціонального стану мембран еритроцитів, яке виявляється у збільшенні їхньої мікров'язкості та значному зниженні здатності еритроцитів до деформації. Такі зміни перешкоджають проходженню еритроцитів через систему мікроциркуляції і можуть бути причиною гіпоксії тканин та мікроангіопатій при цукровому діабеті [12]. У структурних та функціональних порушеннях мембран суттєву роль відіграють мембранні ліпіди. У літературі описано, що значні зміни у разі цієї патології відбуваються у фосфоліпідному складі мембран еритроцитів людини [13].

Таблиця 1. Вплив NSE на фосфоліпідний склад мембран еритроцитів щурів із стрептозотоциніндукованим діабетом ($M \pm m$, мкг P_i /мг білка)

Індивідуальні фосфоліпіди	Контроль	Діабет	Діабет + NSE
Фосфатидилетаноламін	38,32 ± 0,42	20,46 ± 0,14*	36,33 ± 0,89#
Фосфатидилхолін	55,31 ± 2,44	38,36 ± 0,98*	44,28 ± 1,98#
Сфінгомієлін	32,34 ± 0,54	26,62 ± 1,98*	29,87 ± 2,48
Лізофосфатидилетаноламін	9,25 ± 1,42	14,12 ± 2,32*	10,22 ± 1,78#
Лізофосфатидилхолін	8,05 ± 0,14	12,45 ± 0,78*	8,57 ± 0,44#
Фосфатидилінозитол	3,28 ± 0,02	2,32 ± 0,06*	4,56 ± 0,03#

* Дані вірогідні ($P < 0,05$) порівняно з групою “Контроль”; # дані вірогідні ($P < 0,05$) порівняно з групою “Діабет”

Таблиця 2. Вплив NSE на вміст холестеролу та співвідношення ліпідних фракцій мембран еритроцитів щурів із стрептозотоциновим діабетом ($M \pm m$)

Показники	Контроль	Діабет	Діабет+NSE
Загальний фосфор фосфоліпідів, мкг P _i /мг білка (ЗФ)	202,28 ± 4,32	178,12 ± 2,75*	198,89 ± 5,44#
Вільний холестерол, мг/мг білка (ХС)	78,56 ± 2,34	100,8 ± 3,8*	82,2 ± 5,40#
Естерифікований холестерол, мг/мг білка (ЕХС)	5,89 ± 1,40	8,88 ± 0,90*	7,32 ± 1,10
ХС/ЗФ	0,38 ± 0,01	0,56 ± 0,04*	0,41 ± 0,02#

* Дані вірогідні ($P < 0,05$) порівняно з групою “Контроль”; # дані вірогідні ($P < 0,05$) порівняно з групою “Діабет”

Як показали результати наших досліджень, під впливом NSE нормалізується вміст основних фосфоліпідів мембран еритроцитів щурів із цукровим діабетом, знижується кількість лізоформ фосфоліпідів, що може позитивно впливати на мікрров'язкість, плинність еритроцитарних мембран, активність мембранозв'язаних ферментів та здатність еритроцитів до деформації.

Відомо, що значна кількість важливих фізіологічних функцій біологічних мембран, таких як гормональна відповідь, активність мембранозв'язаних ферментів та ін., регулюються, насамперед, процесами, залежними від фізико-хімічних властивостей ліпідного бішару. Хімічна природа N-ацилетаноламінів обу-

мовлює реалізацію деяких біологічних ефектів їх через фізичну взаємодію із ліпідною складовою мембран. Дослідження на ліпосомах показали, що NAE здатні чинити вплив на рідинність та фазовий перехід фосфоліпідів [14]. Роботами в останні роки досліджено модулюючу дію цього класу сполук на активність фосфоліпази A₂ – ферменту, завдяки роботі якого утворюються лізоформи фосфоліпідів [15]. Виявлене в наших дослідженнях істотне зменшення кількості ЛФХ та ЛФЕ (табл. 1) у складі мембран еритроцитів щурів за дії NSE може бути результатом його інгібувальної дії на активність фосфоліпази A₂. Мембраностабілізуючий та мембранопротекторний ефекти N-ацилетаноламінів показано для деяких екс-

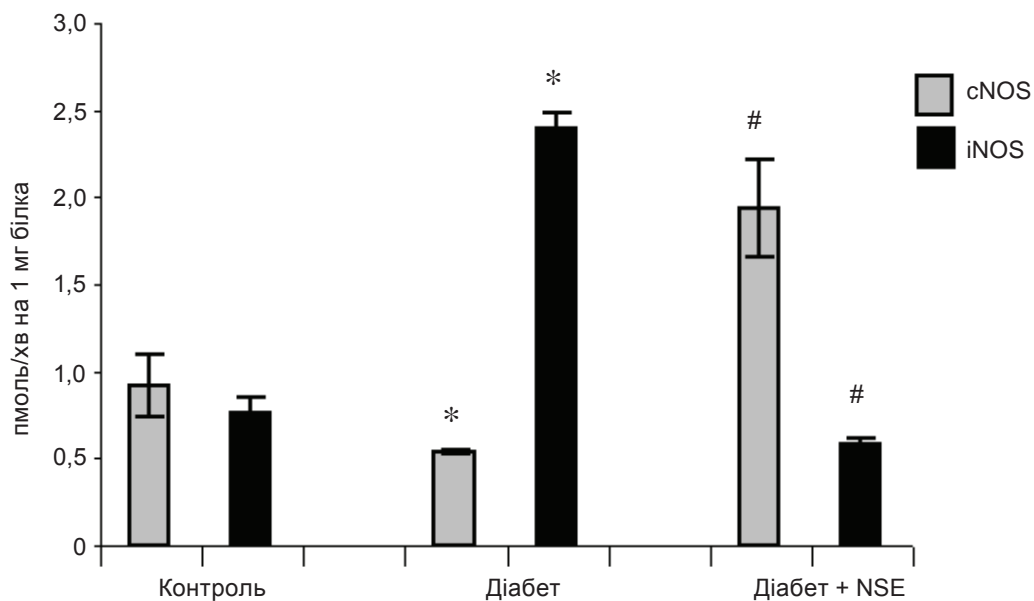


Рис. 2. Активність ізоформ NO-синтази (cNOS та iNOS) в еритроцитах щурів із стрептозоточиніндукованим діабетом за введення NSE ($M \pm m$; $n = 30-34$). * Дані вірогідні ($P < 0,05$) порівняно з групою “Контроль”; # дані вірогідні ($P < 0,05$) порівняно з групою “Діабет”

Таблиця 3. Вплив NSE на вміст стабільних метаболітів оксиду азоту в еритроцитах щурів із стрептозотоциновим діабетом ($M \pm m$, $n = 35$)

Стабільні метаболіти NO	Контроль	Діабет	Діабет + NSE
NO ₂ ⁻ , пмоль/мг білка	14,59 ± 1,92	27,95 ± 2,78*	15,4 ± 1,94 [#]
NO ₃ ⁻ , нмоль/мг білка	3,38 ± 0,52	9,13 ± 1,13*	8,44 ± 1,058*

* Дані вірогідні ($P < 0,05$) порівняно з групою “Контроль”; [#] дані вірогідні ($P < 0,05$) при порівнянні з групою “Діабет”

периментальних патологічних станів, таких як ішемія/реперфузія міокарда, печінки та ін. Ми вважаємо, що основою цих ефектів є антиоксидантна дія NAE та здатність до модифікації ліпідного складу мембран ушкоджених клітин, головним чином, за рахунок перерозподілу ліпідних компонентів [1].

В останній час було встановлено, що одним із важливих регуляторів здатності еритроцитів до деформації є оксид азоту [4]. Ще кілька років тому традиційно вважали, що вплив оксиду азоту на еритроцити крові є екзогенним і обмежується його взаємодією з гемоглобіном, результатом чого є утворення NO-похідних гемоглобіну, які виконують функції транспортування та депонування NO, а також здатні до модуляції кисеньзв'язувальної функції крові [16]. Реакція NO з гемовою групою гемоглобіну частково обмежується гідрофобним компонентом клітинної мембрани, тим самим лімітуючи процес його дифузії до еритроцита. Оксид азоту може також переноситися через клітинну мембрану за допомогою спеціального транспортера – протеїну AE 1 [17].

Відкриття в еритроцитах власного синтезу NO поставило нову низку запитань щодо ролі цього низькомолекулярного регулятора у функціонуванні еритроцитів. Сьогодні доведено, що еритроцити людини містять функціонально активні cNOS та iNOS, а також розчинну гуанілатциклазу та фосфодіестеразу [18]. Крім того, показано наявність в цих клітинах мембранозв'язаної NOS, яка активується інсуліном. Вважають, що NO мімікрує або опосередковує більшість ефектів інсуліну, в тому числі стимуляцію транспортування та окислення глюкози [19]. Висунуто припущення щодо месенджерної ролі оксиду азоту в реалізації ефектів інсуліну [20], проте NO здатний чинити інсуліноподібну дію і без стимуляції інсуліном [21]. Крім того, доведено участь NO в підтриманні здатності еритроцитів до деформації, при цьому загальновідомий гуанілатциклазний шлях реалізації ефектів оксиду азоту лише частково задіяний у механізмі

цього впливу. Вважають, що основою такого ефекту є здатність NO до модуляції іонного транспорту крізь еритроцитарну мембрану, зокрема, було продемонстровано стимулюючу дію донорів оксиду азоту на Na⁺-K⁺-АТФ-азу та Ca²⁺-АТФ-азу активності мембран цих клітин [22]. Отже, як ендогенний (синтезований в еритроцитах), так і екзогенний оксид азоту відіграє важливу роль для підтримання функціонального стану червонокривців.

Результати даної роботи показали, що розвиток цукрового діабету супроводжується дисбалансом у системі синтезу оксиду азоту еритроцитів, який полягає у значному інгібуванні cNOS та активації iNOS, внаслідок чого генерується надмірна кількість оксиду азоту, що бере участь у вільнорадикальних перетвореннях з утворенням низки токсичних сполук, зокрема пероксинітриду (ONOO⁻). З даних літератури відомо, що при діабеті не відбуваються зміни в експресії гена cNOS, однією з причин різкого зниження активності ферменту є його дисоціація під впливом ONOO⁻, який зв'язується з цинктіолатним центром ферменту [23]. Конкуренція за субстрат (L-аргінін) із iNOS, яка має більшу спорідненість до субстрату порівняно з cNOS, тож, імовірно, зумовлює зниження активності ферменту. Крім того, сам оксид азоту, зв'язуючись із гемовою групою cNOS, здатний спричинити інгібування її активності за принципом негативного зворотного зв'язку.

Дослідження механізмів дії N-ацилетаноламінів показало, що деякі ефекти цих сполук реалізуються через взаємодію із системою оксиду азоту. Зокрема, імуномодулююча та нейропротекторна дія анандаміду (N-арахідоноїлетаноламіну) пов'язана з інгібуванням iNOS, а його вазодилаторний ефект – з активацією cNOS [24, 25]. Здатність до інгібування індукцйбельної ізоформи NO-синтази показана також і для довголанцюжкового насиченого NAE – N-пальмітоїлетаноламіну (NPE), який, за останніми літературними даними, є лігандом канабіноїдних рецепторів [26]. Проте

в літературних джерелах майже відсутня інформація щодо N-стеароїлетаноламіну, який відрізняється від свого аналога (NPE) всього на 2 вуглецевих атоми і синтезується разом з ним в організмі в майже однаковій кількості.

Результати нашої роботи показали інгібування активності iNOS та активацію cNOS в еритроцитах щурів із цукровим діабетом у разі введення NSE. Ми вважаємо, що основою одержаного ефекту є інгібуюча дія NSE на активність iNOS, наслідком чого, враховуючи вищенаведені дані літератури, є відновлення активності cNOS.

Для ендоканабіноїдів, до яких належать NAE, зв'язок із системою оксиду азоту реалізується, переважно, через канабіноїдні (CB) рецептори. N-стеароїлетаноламін, як відомо, не активує CB-рецептори. Реалізація його впливу на активність iNOS, вочевидь, відбувається за позарецепторним механізмом. Враховуючи те, що дослідження проводилися на еритроцитах, ми, в даному випадку, виключаємо можливість регуляції активності iNOS на рівні геному. Можливо цей ефект реалізується шляхом безпосереднього зв'язування NSE із ферментом. Але це припущення потребує перевірки і подальших досліджень.

Таким чином, одержані дані дозволяють стверджувати, що при цукровому діабеті у щурів NSE сприяє відновленню фосфоліпідного складу еритроцитарних мембран, зумовлює нормалізацію процесів синтезу NO в еритроцитах крові, що вірогідно, в свою чергу, сприяє відновленню здатності еритроцитів до деформації і покращенню їхнього морфофункціонального стану.

**ВЛИЯНИЕ
N-СТЕАРОИЛЭТАНОЛАМИНА
НА NO-СИНТАЗНЫЙ ПУТЬ
ОБРАЗОВАНИЯ ОКСИДА АЗОТА
И ФОСФОЛИПИДНЫЙ СОСТАВ
МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ КРЫС
СО СТРЕПТОЗОТОЦИНОВЫМ
ДИАБЕТОМ**

Г. В. Косякова, Н. М. Гулая

Институт биохимии им. А. В. Палладина
НАН Украины, Киев;
e-mail: ngula@biochem.kiev.ua;
kosiakova@biochem.kiev.ua

На моделі стрептозотоцининдуцированого діабета у крыс дослідовано впливання N-стеароїлетаноламіна (NSE) на NO-синтазний шлях генерації оксиду азоту і фосфолі-

пидный состав мембран эритроцитов. Показано, что при сахарном диабете в эритроцитах крови животных происходит активация индуцибельной изоформы NO-синтазы и значительное угнетение активности конститутивной изоформы этого фермента, что сопровождается соответствующим увеличением содержания стабильных метаболитов NO - нитрит- и нитрат-анионов. В то же время существенные сдвиги при диабете происходят в фосфолипидном составе эритроцитарных мембран, а именно: снижение содержания фосфатидилэтанолamina, фосфатидилхолина, фосфатидилинозитола, сфингомиелина и увеличение содержания лизоформ фосфатидилхолина, фосфатидилэтанолamina, а также увеличение содержания свободного и эстерифицированного холестерина.

Впервые показано, что введение крысам с сахарным диабетом водной суспензии NSE в дозе 50 мг/кг вызывает ингибирование активности индуцибельной изоформы NO-синтазы, которое сопровождается восстановлением активности конститутивной изоформы фермента и нормализацией содержания стабильных метаболитов NO, а также способствует снижению содержания лизоформ фосфолипидов, нормализации содержания фосфатидилэтанолamina, фосфатидилхолина и повышению уровня фосфатидилинозитола в составе мембран эритроцитов.

Ключевые слова: N-стеароилэтанол-амин (NSE), оксид азота (NO), NO-синтаза, фосфолипиды мембран, сахарный диабет.

**THE N-STEAROYLETHANOLAMINE
EFFECT ON THE NO-SYNTASE WAY
OF NITROGEN OXIDE FORMATION
AND PHOSPHOLIPID COMPOSITION
OF ERYTHROCYTE MEMBRANES
IN RATS WITH STREPTOZOTOCINE
DIABETES**

G. V. Kosiakova, N. M. Gulaya

Palladin Institute of Biochemistry, National
Academy of Science of Ukraine, Kyiv;
e-mail: ngula@biochem.kiev.ua;
kosiakova@biochem.kiev.ua

S u m m a r y

The influence of N-stearoylethanolamine (NSE) on the NO-synthase way of NO generation and phospholipids composition of erythrocyte membranes of rats with streptozotocine-induced diabetes has been studied. It has been shown that

the activation of iNOS activity, cNOS activity inhibition and increase of the stable NO metabolites content takes place in the red blood cells (RBC) of diabetic rats. The alterations were also found in the RBC membrane phospholipid content: a decrease of phosphatidylethanolamine, phosphatidylcholine, phosphatidylinositol, sphingomyelin content and increase of phosphatidylethanolamine, phosphatidylcholine lysoforms level. The NSE suspension administration (50 mg/kg of body weight) to diabetic rats (3 months after the diabetes induction) resulted in iNOS activity inhibition, recovering of cNOS activity and normalization of NO stable metabolites level in RBC. The decrease of phospholipids lysoform levels, normalization of phosphatidylethanolamine, phosphatidylcholine content and increase of phosphatidylinositol level were found after NSE action.

Key words: N-stearoylethanolamine, nitric oxide, NO-synthase, membrane phospholipids, diabetes mellitus.

1. Горідько Т. М., Гула Н. М., Марзітич В. М. та ін. // Укр. біохім. журн. — 2001. — **73**, № 1. — С. 82–87.
2. Stelt M., Di Marzo V. // Eur.J.Biochem. — 2004. — **271**. — P. 1827–1834.
3. Bouaboula M., Hilairat S., Marchand J. et al. // Eur. J. Pharmacol. — 2005. — **517**, N 3. — P. 174–181.
4. Bor-Kucukatay M., Wenby R. B., Meiselman H. J., Baskurt O. K. // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. — 2003. — **284**. — P. H1577–H1584.
5. Bardell A. L., Macleod K. M. // J. Pharm. Experim. Therapeutics. — 2001. — **296**. — P. 252–259.
6. Green L. C., David A. W., Glogowski J. et al. // Anal. Biochem. — 1982. — **126**, N 1. — P. 131–138.
7. Bank N. R., Aynedjian H. S. // Kidney Int. — 1993. — **43**. — P. 1306–1312.
8. Dodge I. I., Mitchel C., Harahan D. I. // Arch. Biochem. Biophys. — 1963. — **100**, N 1. — P. 119–130.
9. Bligh E. C., Dyer W. I. // Can. J. Biochem. Physiol. — 1959. — **37**, N 8. — P. 911–917.
10. Svetashev V. I., Vaskovsky V. E. // J. Chromatogr. — 1972. — **67**. — P. 376–378.
11. Vaskovsky V. E., Kostetsky E. Y., Vasendin I. M. // Ibid. — 1975. — **114**. — P.129–141.
12. Shin S., Ku Y., Babu N., Singh M. // Indian J. Exp. Biol. — 2007. — **45**, N 1. — P. 121–128.
13. Nakano T., Wada Y., Matsumura S. // Clin. Hemorheol. Microcirc. — 2001. — **24**, N 2. — P. 85–92.
14. Ambrosini A., Tanfani F., Bertoli E. et al. // Chem. Phys. Lipids. — 1993. — **65**. — P. 165–169.
15. Zolese G., Wozniak M., Mariani P. et al. // J. Lipid Res. — 2003. — **44**. — P. 742–753.
16. Зинчук В. В. // Усп. физиол. наук. — 2003. — **34**, № 2. — С. 33–45.
17. Vaughn M. W., Huang K. T., Kuo L., Liao J. C. // Nitric Oxide — 2001. — **5**, N 1. — P. 18–31.
18. Kleinbongard P., Schulz R., Rassal T. et al. // Blood. — 2006. — **107**, N 1. — P. 2943–2951.
19. Kahn N. N., Acharya K., Bhattacharya S. et al. // IUBMB Life. — 2000. — **49**. — P. 441–450.
20. Bhattacharya S., Chakraborty P. S., Basu R.S. et al. // Arch. Physiol. Biochem. — 2001. — **109**, N 5. — P. 441–449.
21. Higaki Y., Hirshman M. F., Fujii N., Goodyear L. J. // Diabetes. — 2001. — **50**, N 2. — P. 241–247.
22. De Oliveira E. M., Tavares L. W., Vannuchi Y. B. et al. // Eur. J. Pharmacol. — 1999. — **367**. — P. 307–314.
23. Zou M. N., Cochen R., Ulrich V. // Endothelium. — 2004. — **11**, N 2. — P. 89–97.
24. Stefano G., Sazlet M., Magazine H., Bilfinger T. // J. Cardiovasc. Pharmacol. — 1998. — **31**. — P. 813–820.
25. Bilfinger T., Sazlet M., Fimiani C. et al. // Int. J. Cardiol. — 1998. — **64**, Suppl. 1. — P. S15–S22.
26. Kamlekar R. K., Swamy M. J. // J. Lipid Res. — 2006. — **47**, N 7. — P. 1424–1433.

Отримано 02.11.2007