

ДИНАМИКА ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ НИТРАТНОЙ НАГРУЗКИ

¹И. В. Савицкий, ²Т. В. Горбач, ¹И. В. Мясковская, ³П. Е. Григорьев,
¹Е. Ю. Якушкин, ¹А. А. Слюсарь

Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина¹
Харьковский национальный медицинский университет, Харьков, Украина²
Физико-технический институт, ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», Симферополь³

Резюме

Цель данного исследования – исследование следующего ряда маркеров выбора: малонового диальдегида, каталазы, супероксиддисмутазы, асимметричного диметиларгинина, L-аргинина, нитрозотиолов, суммы эндогенных нитратов и нитритов.

Результаты: 1. Хроническая нитратная интоксикация приводит к развитию окислительного стресса, о чем свидетельствуют резкое повышение уровне малонового диальдегида при недостаточной активации супероксиддисмутазы и каталазы, которые являются ферментами антиоксидантной защиты.

2. Значительно снижена продукция оксида азота, о чем свидетельствует уменьшение содержания нитрозотиолов и суммы нитратов и нитритов. В группе с применением L-аргинина отмечается субкомпенсация уровня нитрозотиолов и суммы эндогенных нитратов и нитритов. Снижение уровня отмечается, но менее выражено.

3. Отмечается увеличение уровня асимметричного диметиларгинина, что является следствием влияния окислительного стресса и еще одним фактором, подтверждающим возникновение эндотелиальной дисфункции на фоне хронической нитратной нагрузки.

4. Выявлена взаимосвязь между уровнями АДМА, индуцибельной NO-синтазы и L-аргинина.

5. Подтверждается ранее выявленное нами защитное воздействие L-аргинина на сосуды при хроническом нитратном воздействии.

Ключевые слова: эндотелиальная дисфункция, нитратная нагрузка, L-аргинин.

DYNAMICS ENDOTHELIAL DYSFUNCTION NITRATE UNDER THE INFLUENCE OF LOAD

¹I. V. Savitskiy, ²T. B. Gorbach, ¹I. V. Miastkovskaja, ³P. E. Grigoriev,
¹E. Yu. Yakushkin, ¹A. A. Sliusar

Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine¹
Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine²
V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol³

Summary

The purpose of this research was to study the next series of markers of choice: malondialdehyde, catalase, superoxide dismutase, asymmetric dimethylarginine, L-arginine, nitrosothiols, the complex of endogenous nitrates and nitrites.

Results: 1. The chronic nitrate intoxication leads to the development of oxidative stress, as evidenced by a sharp increase in the level of malondialdehyde in case of insufficient activation of superoxide dismutase and catalase, which are antioxidant enzymes.

2. Greatly reduced production of nitric oxide, as demonstrated by decrease in amount nitrosothiols and nitrates and nitrites. In the group using L-arginine levels observed endogenous subcompensation of nitrosothiols, nitrates and nitrites. The decrease was noted, but less expressed.

3. The increase levels of asymmetric dimethylarginine were noted, which is a result of oxidative stress and is another factor confirming the endothelial dysfunction in chronic nitrate load.

4. The correlation between the levels of ADMA, inducible NO-cintazy and L-arginine was revealed.

5. The earlier determined protective effect of L-arginine on blood vessels in chronic nitrate exposure was confirmed.

Key words: endothelial dysfunction, nitrate load, L-arginine.

Введение. Данная работа является изложением результатов второго этапа в цикле работ по изучению влияния нитратной нагрузки на эндотелий сосудов. Как отмечалось ранее, медико-экологическая проблема нитратов приводит к неуклонному росту целого ряда патологий, в том числе и заболеваемости сердечно-сосудистой системы [1, 2, 3, 4, 5]. Показано, что нитраты преобразуют гемоглобин в метгемоглобин [1]. Результатом воздействия нитритной интоксикации на организм

является метгемоглобинемия и, как следствие, состояние гемической гипоксии [4,6]. Токсическое воздействие на организм оказывают пероксинитриты и нитрозамины, продукты преобразования нитратов [7,8]

Эндотелиальная дисфункция рассматривается как одно из важных патологических звеньев патологии сердечно-сосудистых заболеваний [9, 10]. В последнее время увеличилось количество заболеваний сердечно-сосудистой системы, связанных с нарушением эндотелия сосудов с неясной этиологией (болезнь Рейно, облитерирующий эндоартериит) и не до конца изученным механизмом, которые в настоящее время в клинике лечатся патогенетично и симптоматически, но это не решает проблему. Теории о роли нитратной интоксикации в механизме возникновения данных заболеваний ранее не были рассмотрены в полной мере.

В литературных источниках нами было выявлено большое количество противоречивых данных и отсутствие единого взгляда на механизм влияния нитратной нагрузки при активном задействовании биохимической трансформации нитратов в организме.

В связи с вышеизложенным, общей целью цикла наших работ является исследование нитратной нагрузки на эндотелиальную дисфункцию, как пускового механизма негативного воздействия нитратной интоксикации на организм.

На первом этапе эксперимента нами было показано, что хроническая нитратная нагрузка приводит к эндотелиальной дисфункции. Об этом свидетельствует повышение уровня фактора Виллебранда во всех экспериментальных группах. Нитратная нагрузка привела к гемической гипоксии. Об этом в нашем эксперименте свидетельствует увеличение уровня 2,3-дифосфоглицерата. В группах с введением в рацион L-аргинина гипоксия также наблюдалась, но была выражена в меньшей степени.

Выявлено, что введение в рацион L-аргинина вызывает субкомпенсацию нитрата натрия при анализе всех маркеров. Роль экзогенного аргинина – использование для синтеза NO в связи с известным фактом образования диметиларгинина эндогенно в условиях гипоксии и активации перекисного окисления липидов. На основании изменения уровня интерлейкина 1 β и индуцибельной NO-синтазы можно говорить о включении процесса воспаления на фоне хронической нитратной интоксикации

Цель данного исследования (второго этапа эксперимента) – исследование следующего ряда маркеров выбора: малонового диальдегида, каталалы, супероксиддисмутазы, ассиметрического диметиларгинина, L-аргинина, нитрозатиолов, суммы эндогенных нитратов и нитритов, для более полного/информативного изучения влияния нитратной интоксикации на сосудистую систему, механизмов биохимического преобразования нитратов и вызываемых ими патологических процессов. Также о наличии или отсутствии положительного влияния L-аргинина в данных условиях.

Материалы и методы

Исследования были выполнены на 20 половозрелых белых крысах-самках линии Вистар, массой 140-180 г. Контролем служили животные, находившиеся на стандартном лабораторном пищевом рационе. Вторым этапом эксперимента – после выведения животных из эксперимента.

Маркеры выбора на втором этапе определялись в следующих группах экспериментальных животных, показания которых на первом этапе были наиболее перспективны.

1 группа – с нитратной нагрузкой (0,03% раствор нитрата натрия в свободной питьевой форме вместо воды) [11,12];

2 группа получала аналогичную нитратную нагрузку на фоне L-аргинина. В связи с тем, что L-аргинин оказывает положительное влияние при многих ССЗ [10, 13, 14], при его введении на фоне нитратной нагрузки была поставлена задача выявить наличие или отсутствие его положительного влияния в данных условиях.

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью однофакторного дисперсионного анализа и последующего применения апостериорного критерия Шеффе для выявления значимости различий между показателями в выборках попарно – для каждого показателя между разными группами животных.

Результаты

Нами получены следующие результаты по маркерам выбора.

1. Малоновый диальдегид – маркер оксидативного стресса и перекисного окисления липидов (его конечный продукт) [15]. Определение МДА крови проводилось методом флуориметрии. [16].

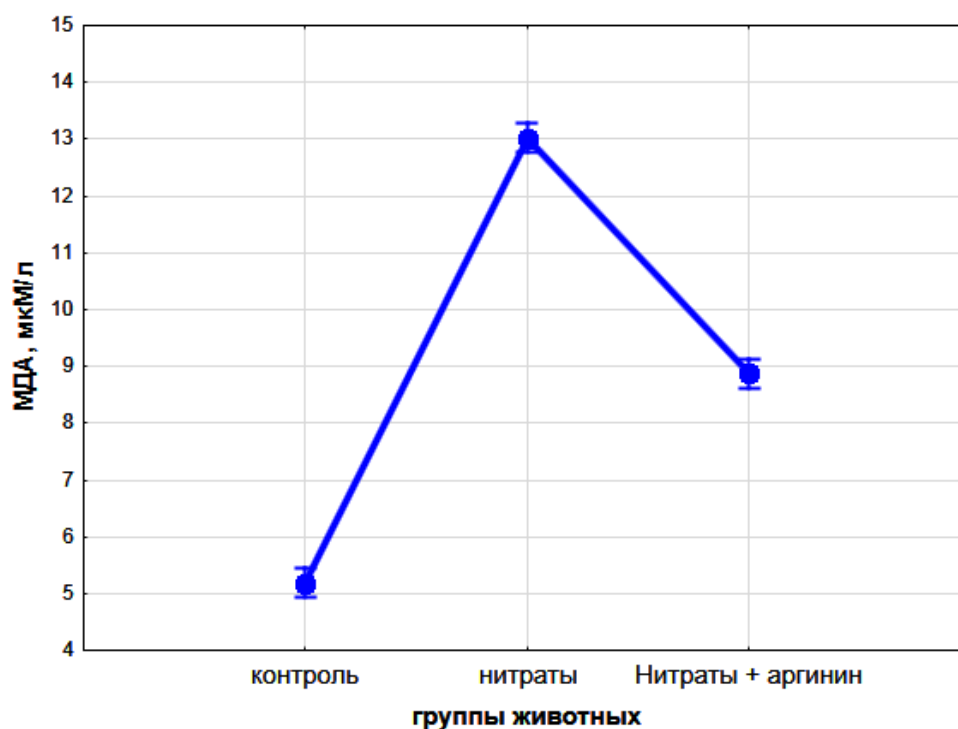


Рис. 1. Значения МДА в контрольной и экспериментальных группах. Отмечены средние и стандартные ошибки

По однофакторному дисперсионному анализу (рис. 1) установлены высоко значимые статистически различия между значениями признака в группах ($p < 10^{-3}$). По критерию Шеффе также попарные различия между всеми выборками высоко значимы ($p < 10^{-3}$).

Полученные данные свидетельствуют о том, что при длительном введении нитратов развивается окислительный стресс (ОС): резко увеличивается уровень малонового диальдегида при недостаточной активации ферментов антиоксидантной защиты (супероксиддисмутазы и каталазы). Развитие окислительного стресса приводит к увеличению супероксид-аниона, оксид азота с супероксидом пероксинитрит, который, как известно, повреждает эндотелий.

В группе с применением экзогенного L-аргинина, повышение выражено, но менее значительно, чем в группе, которая получала только нитритную нагрузку.

2. Супероксиддисмутаза – фермент антиоксидантной защиты, катализирующий дисмутацию радикалов O_2 и препятствующий превращению супероксидного анион-радикала в гидроксильный радикал, обладающий высокой токсичностью; служит акцептором свободных кислородных радикалов, тормозящим перекисное окисление липидов и белков. [17].

Определение активности СОД основывалось на реакции окисления кверцетина. [18]

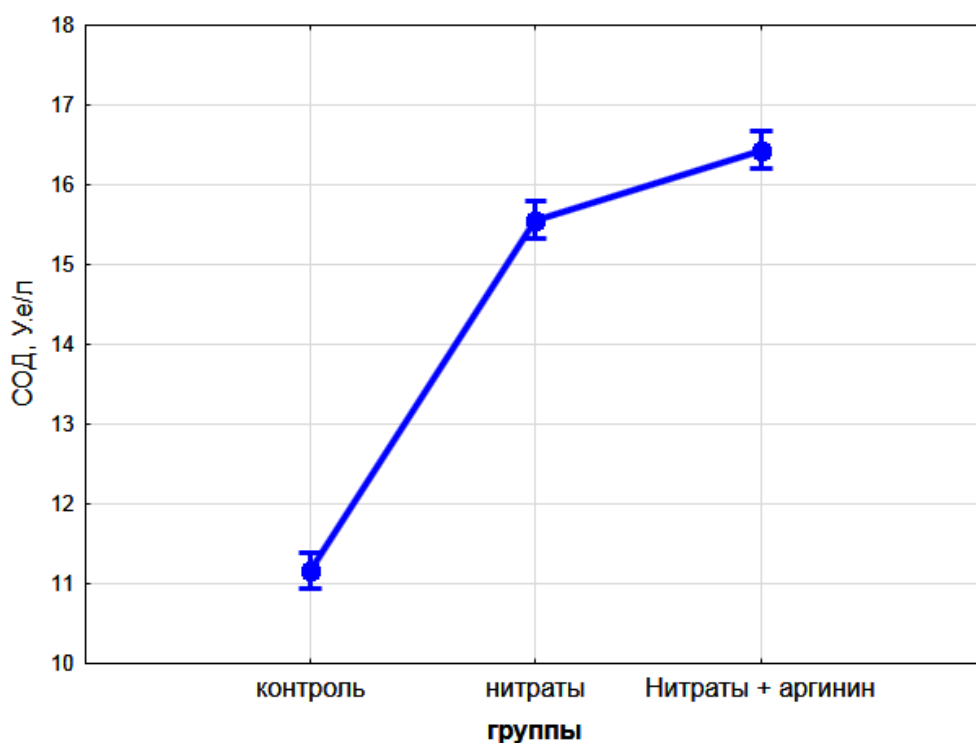


Рис. 2. Значения СОД в контрольной и экспериментальных группах. Отмечены средние и стандартные ошибки

Отмечается существенное различие между группами эксперимента и группой контроля ($p < 10^{-3}$), что свидетельствует о подтверждении окислительного стресса, т.к. СОД – фермент активизирующийся при данном патологическом процессе. Различие между экспериментальными

группами (с и без применения L-аргинина) не существенны и статистически не значимы. Потому можно судить об отсутствии повышения активизации СОД на фоне приема L-аргинина.

3. Каталаза- фермент антиоксидантной защиты. Является катализатором распада обрезающегося пероксида водорода на воду и молекулярный кислород [19]. [20].

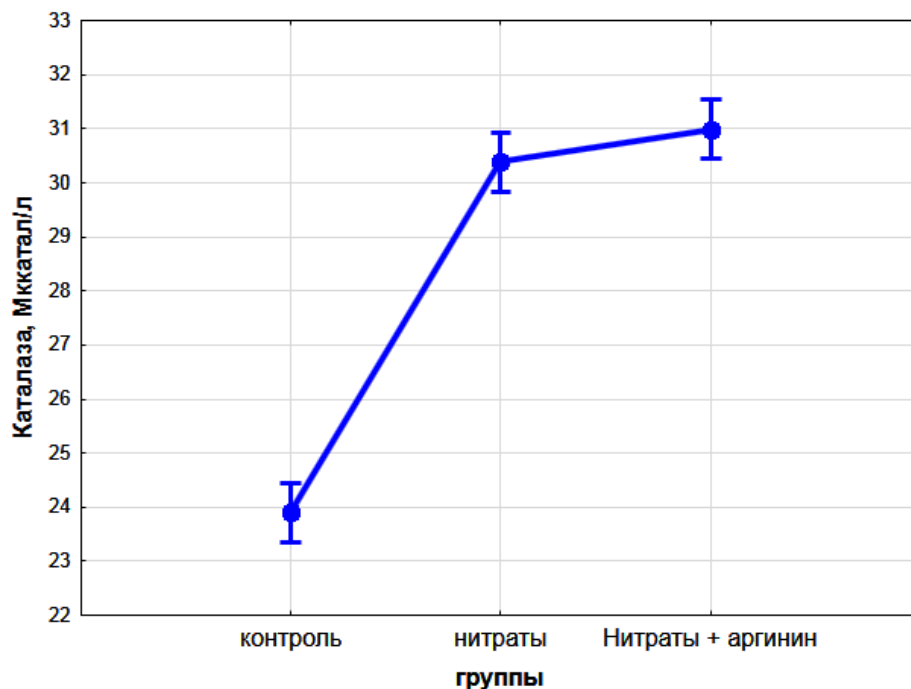


Рис. 3. Значения каталазы в контрольной и экспериментальных группах. Отмечены средние и стандартные ошибки

Результаты сходны с данными о СОД. Активизацию процессов антиоксидантной защиты вызывает окислительный стресс. Наблюдается увеличение активности каталазы в группах эксперимента, в сравнении с группой контроля ($p < 10^{-3}$). В то время, как введение экзогенного L-аргинина практически не влияет на изменение уровня данного фермента.

1. Асимметрический диметиларгинин – ингибитор NO –синтазы, вызывает нарушение синтеза оксида азота, является маркером дисфункции эндотелия [21]. Концентрацию определяли с помощью жидкостного хроматографа LC 5000 (фирма INGOS, Чехия), длина волны 340 нм, в изократическом режиме. Для твердофазной экстракции (очистка и концентрирование) применяли картриджи Absolut Nexus (фирма Variun) [22].

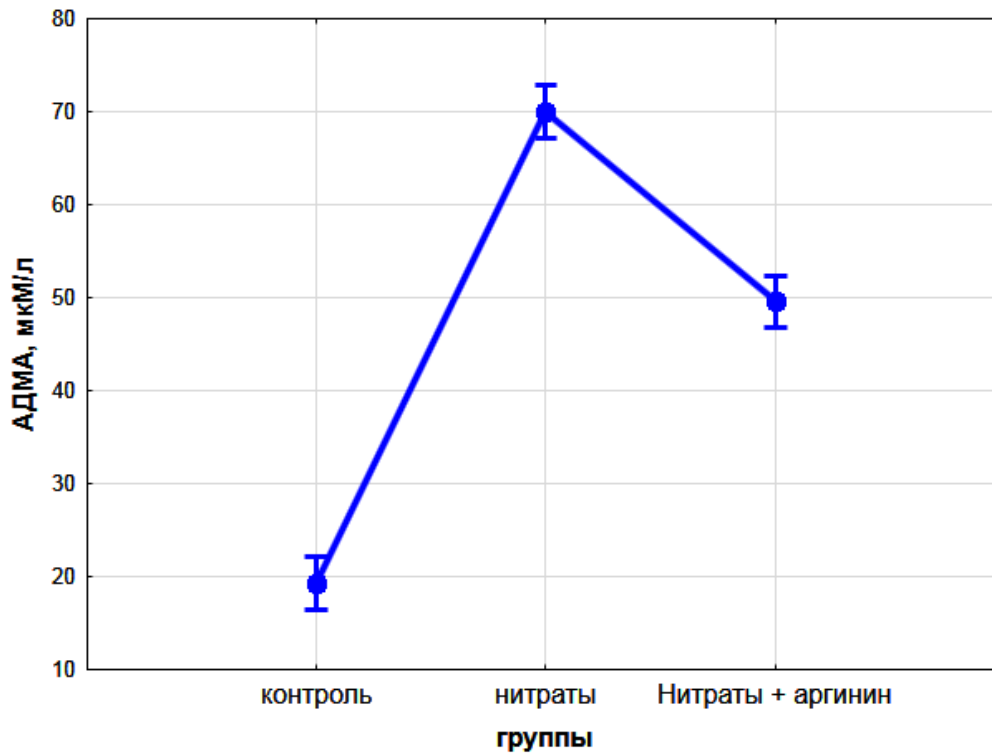


Рис. 4. Значения АДМА в контрольной и экспериментальных группах. Отмечены средние и стандартные ошибки

В данном случае различия между всеми группами попарно являются статистически значимыми ($p < 10^{-3}$).

При оксидативном стрессе увеличивается продукция асимметрического диметиларгинина. Значительное повышение АДМА в нашем эксперименте является еще одним подтверждением возникновения эндотелиальной дисфункции (на ряду с данными по Фактору Виллебранда на первом этапе).

АДМА – ингибитор NO-синтазы, что перекликается с результатами первого этапа эксперимента, где значительное повышение iNO-синтазы отмечалось на фоне снижения эндотелиальной NO –синтазы почти к нулю. Но стойкое повышение iNO-синтазы отмечалось на первом этапе во всех группах эксперимента и при высоком уровне АДМА. Можем предполагать о положительной роли воспалительного процесса (подтвержденного на первом этапе увеличением интерлейкина 1β , маркера воспаления) в данном эксперименте: воспаление является наиболее значимым пусковым фактором активизации индуцибельной NO-синтазы, повышение которой отмечается и при высоком уровне АДМА.

Содержание АДМА в группе с применением L-аргинина несколько снижено в сравнении с результатами группы, в которых он не применялся. Различия статистически значимы. Это подтверждает литературные данные о конкурентном взаимодействии АДМА и L-аргинина[23]. Данный вопрос требует дальнейшего прояснения.

5. L-аргинин – субстрат для синтеза оксида азота. Синтез NO происходит в организме из L-аргинина с помощью ферментов NO синтаз. [7,24]. Определяли с помощью скоростной хроматографии.

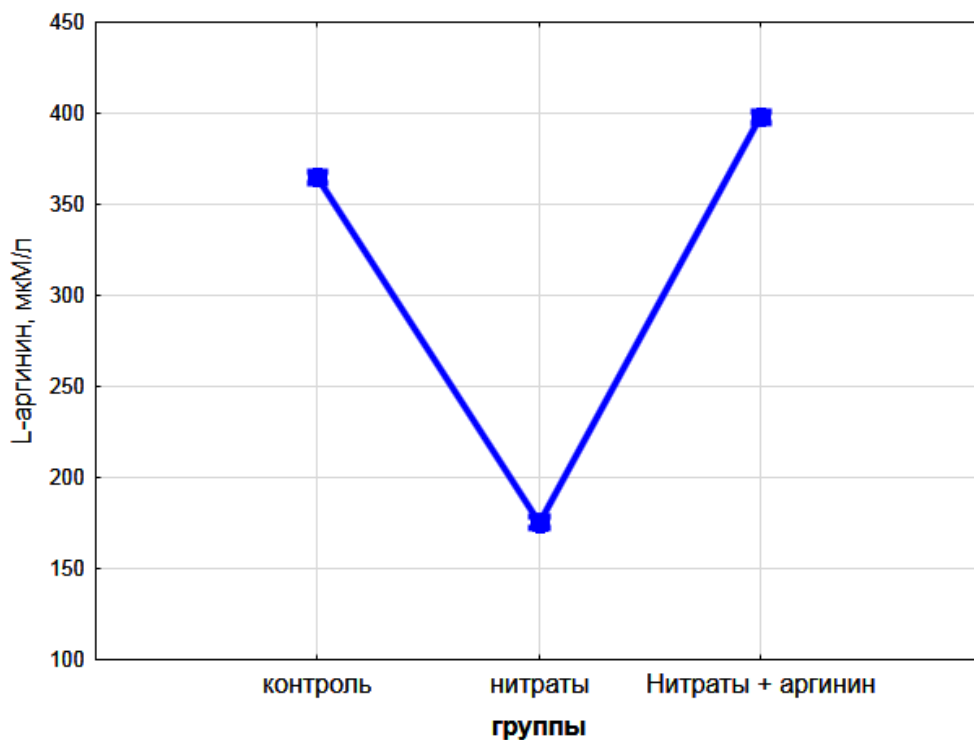


Рис. 5. Значения L-аргинина в контрольной и экспериментальных группах. Отмечены средние и стандартные ошибки

Различия между всеми группами попарно являются статистически значимыми ($p < 10^{-3}$). Содержание аргинина при его экзогенном поступлении (экспериментальная группа, что получала L-аргинин на фоне хронической нитратной интоксикации) приближается к контрольному, повышается продукция оксида азота (о чем свидетельствует уровень нитрозотиолов).

Полученные нами данные подтверждают информацию, полученную из литературных источников, о том, что детоксикация пероксинитрита (путем реакции с тиолами) и введение аргинина увеличивают образование NO. Глутаргин (аргинин+ глутамат) снижают интенсивность перекисного окисления липидов, вступая в реакцию с супероксиданион-радикалом [25].

Снижение оксидативного стресса приводит к уменьшению продукции супероксид-радикалов и, соответственно, пероксинитритов, что подтверждает выявленную на первом этапе защитную и субкомпенсирующую функцию L-аргинина на эндотелий сосудов при нитратной нагрузке.

6. Нитрозатиолы и сумма нитратов и нитритов. Определение их уровня дает возможность сделать заключение о степени продукции оксида азота [7]. Нитрозатиолы определяли спектрофлюориметрическим методом. [26]

Различия между всеми группами попарно являются статистически значимыми ($p < 10^{-3}$).

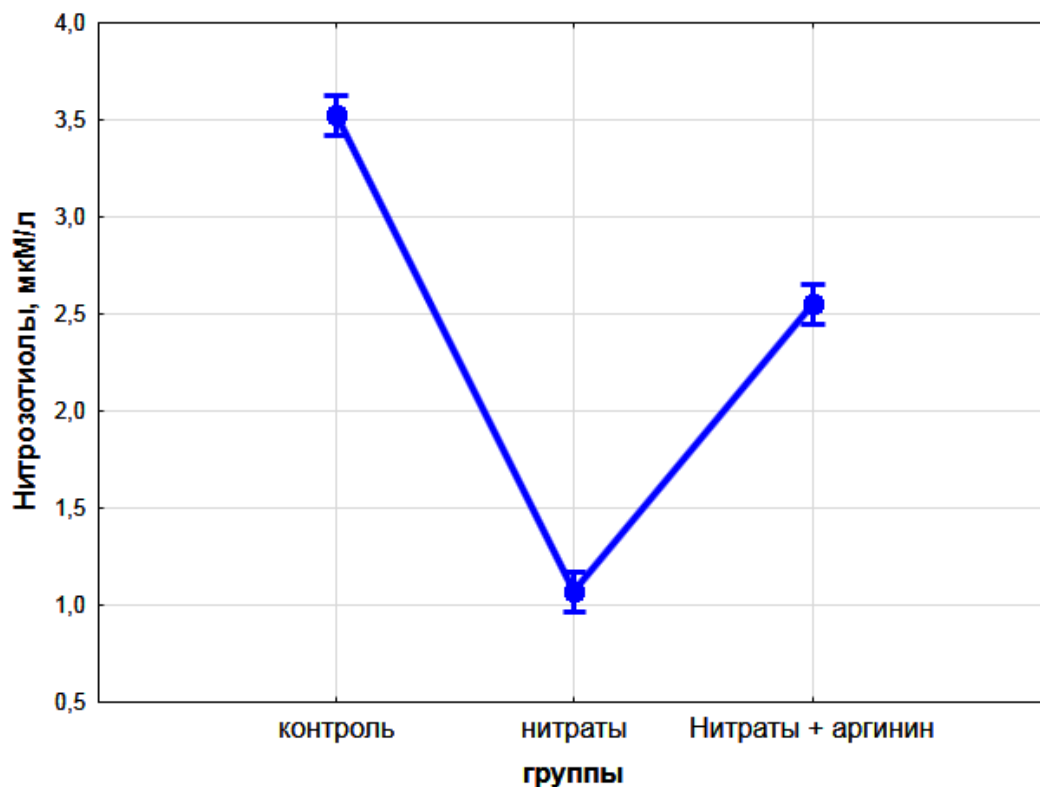


Рис. 6. Значения нитрозотиолов в контрольной и экспериментальных группах. Отмечены средние и стандартные ошибки.

Полученные данные свидетельствуют о снижении продукции оксида азота.

Отмечается субкомпенсация в группе с применением L-аргинина.

7. Нитраты+нитриты определяли при набора реактивов total NO производства RDS (Be). Различия между всеми группами попарно являются статистически значимыми ($p < 10^{-3}$).

Значительно снижается продукция оксида азота, о чем свидетельствует уменьшение содержания нитрозотиолов и суммы нитратов и нитритов. Как известно, оксид азота играет важную роль в обеспечении нормальной функции эндотелия [27]. Отмечается менее выраженное снижение данных маркеров в группах с применением L-аргинина.

Выводы

1. Хроническая нитратная интоксикация приводит к развитию окислительного стресса, о чем свидетельствуют резкое повышение уровне малонового диальдегида при недостаточной активации супероксиддисмутазы и каталазы, которые являются ферментами антиоксидантной защиты.

2. Значительно снижена продукция оксида азота, о чем свидетельствует уменьшение содержания нитрозотиолов и суммы нитратов и нитритов. В группе с применением L-аргинина отмечается субкомпенсация уровня нитрозотиолов и суммы эндогенных нитратов и нитритов. Снижение уровня отмечается, но менее выражено.

3. Отмечается увеличение уровня асимметричного диметиларгинина, что является следствием влияния окислительного стресса и еще одним фактором, подтверждающим возникновение эндотелиальной дисфункции на фоне хронической нитратной нагрузки.

4. Выявлена взаимосвязь между уровнями АДМА, индуцибельной NO-синтазы и L-аргинина.

5. Подтверждается ранее выявленное нами защитное воздействие L-аргинина на сосуды при хроническом нитратном воздействии.

Литература

1. Чиж В.Г., Бондаренко Ю.Г. Водно-нітратна метгемоглобінемія: напрями вирішення проблеми // СЕС. Профілактична медицина.-2013.- № 1.-С.54-56.

2. Гоженко, А.И. Методика определения нитрит-нитратной экологической нагрузки на организм человека / А.И. Гоженко, И.Г. Славина, С.Г. Катюжинская и др. // Медицина труда и промышленная экология. 2001. - № 3. - С.38-39.

3. Гоженко, А.И. Причины и механизмы интоксикации нитратами и нитритами / А.И. Гоженко, В.С. Доренский и др. // Медицина труда и промышленная экология. 1996. - № 4. - С. 15-20.

4. Пікуль К.В. Стан здоров'я школярів, які мешкають в умовах нітратного навантаження організму // Педіатрія, акушерство та гінекологія.-2004.-№2.-С. 39-43.

5. Цыганенко О.И. Метаболизм нитратов в организме человека и животных при их поступлении с питьевой водой и пищей / О.И. Цыганенко, М.В. Набока // Гигиена и санитария.-1989. - № 4. - С. 55-59.

6. Славина Н.Г. Влияние фенольных пигментов винограда на течение нитритной интоксикации: (эксперим. исслед.): дис. ... канд. биол. наук: 14.03.08 / Н.Г. Славина ; Укр. НИИ медицины транспорта МЗ Украины. - О. : [б. и.], 1996. - 218 с. - Библиогр.: с. 198-218.

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

8. Жусупова Г.К. Метгемоглобинемия у лиц пожилого возраста / Г.К. Жусупова, Л.Е. Свиридова, Б.А. Айнабекова // Клиническая геронтология.-1996. - № 1.-С. 27-30.

9. Небиеридзе Д.В. Дисфункция эндотелия: клиническое значение и ее коррекция при артериальной гипертензии // Трудный пациент (журнал для врачей).-2005.-Т.3.- №3.- С.7-12.

10. Гіріна О. М., Сірик В. О. Ендотеліальна дисфункція як провідний чинник формування, розвитку та прогресування артеріальної гіпертензії // Сімейна медицина.-2006.-№4.- С.73-74.

11. Савицький І.В. Роль L-аргинина в корекції ендотеліальної дисфункції./ І.В. Савицький, В.І. Величко, С.Г. Котюжинська, А.А. Свирский Тези доповідей «Сучасні аспекти медицини і фармації Півдня України», Одеса-2013.- С.102-103.

12. Савицький І.В, ./ В.М.Запорожан, А.І.Гоженко. NO-залежні механізми стимуляції репродуктивної системи савців./ В.М.Запорожан, А.І.Гоженко, Одесса-2011,С.1-122.

13. Л. Ф. Коноплева, Л. В. Кушнир. Оценка эффективности применения L-аргинина при легочной артериальной гипертензии различного генеза [Текст] // Український медичний часопис: науково-практичний загальномедичний журнал. - 2013. - N1.- С. 115-119.
14. Курята О.В., Сіренко О.Ю. Вплив L-аргініну аспартату на ендотеліальну функцію судин у пацієнтів з артеріальною гіпертензією в поєднанні з ревматоїдним артритом// Укр. мед. часопис : науково-практичний загальномедичний журнал. 2014.-№ 5 (103) - С.-64-66.
15. Матвеева И.И., Зубрихина Г.Н., Горожанская Э.Г., Добровольская М.М. Оксид азота и эндогенная интоксикация у онкологических больных// Вестник РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН.-2008.- т.19.-№14.-С.55-61.
16. Федорова Т.К., Коршунова Т.С., Ларская Э.Т. Реакция с ТБК для определения МДА крови методом флюориметрии// Лабораторное дело-1983.-N3.-С. 25-28.
17. Вольхина В.Е., Шафрановская Е.В. Супероксиддисмутазы: структура и свойства// Вестник ВГМУ. – 2009.- том8.-№4.-С.1-18.
18. Костюк В.А., Потапова А.Н., Ковалева Ж.В. Простой и чувствительный метод определения активности СОД, основанный на реакции окисления кверцетина// Вопросы медицинской химии. -1990.-N2. –С. 88-91
19. Рязанцева Л.Т. Ферменты-антиоксиданты: структурно-функциональные свойства и роль в регулировании метаболических процессов// Вестник Воронежского государственного технического университета. – 2011. – Т. 7, № 2. – С. 126-129.
20. Чевари С., Андел Т., Штренаер Я. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте// Лабораторное дело-1991-N10 –с. 9-13
21. Богомоллова И.К., Михно В.А. Изучение асимметричного диметиларгинина, как маркера дисфункции эндотелия при сахарном диабете 1-го типа у детей. // Сибирский медицинский журнал. – 2011. - № 3. Выпуск 2. – С. 136 – 139.
22. Tarlink T. Determination of arginine, asymmetric dimethylarginine and symmetric dimethylarginine in human plasma and other biological samples by high –performance liquid chromatography// Anal. Biochem-2002-v.303.-h. 31 -137.
23. Лутай М.І., Бугаєнко В.В., Моїсеєнко О.І., Муштенко Л.О., Слободський В.А.Значення L-аргініну в лікуванні хворих із серцево-судинною патологією// Український кардіологічний журнал.- 2011.-№4.-С.96-107.
24. А. В. Бабушкина . L-аргинин с точки зрения доказательной медицины // Український медичний часопис- 2009. - № 6. - С. 43-48.
- 25.Бабак О.Я., Фролова В.М., Харченко Н.В. Глутаргин –фармакологическое действие и клиническое применение/ Харьков –Луганск, изд-во Элтон-2, 2005, 455 с.
26. Goldman R., Vlessis A., Trunkey D. Nitrosothoil quantification in human plasma// Analytical Biochemistry-1998 –N 259.-С. 98-103

27. Мазур, Н. А. Роль нитратов в лечении кардиологических больных в соответствии с принципами доказательной медицины и рекомендации по их практическому применению / Кардиология : Ежемес. науч.-практ. Журнал-. 2005.-Т.45.- N 8.- С.92-96.

References:

1.Chizh V.G., Bondarenko Yu. Water-nitratna metgemoglobinemiya: eg virishennya problemi // EUFOR. Profilaktichna meditsina.-2013.- № 1.-p.54-56.

2. Gozhenko, A.I. Method of determination of nitrite-nitrate environmental burden on the human / AI Gozhenko, I.G. Slavin, S.G. Katyuzhinskaya etc. // Occupational Medicine and Industrial Ecology. 2001. - № 3. - P.38-39.

3.Gozhenko, A.I. The causes and mechanisms of toxic nitrates and nitrites / A.I. Gozhenko, B.C. Dorensky etc. // Occupational Medicine and Industrial Ecology. 1996. - № 4. - P. 15-20.

4. Pikul K.V. Stan Zdorov'ya shkol'yariv, SSMSC meshkayut in the minds nitratnogo navantazhennya organizmu // Pediatriya, obstetrics is the ginekologiya.-2004.-№2.-С. 39-43.

5. Tsyganenko O.I. Metabolism of nitrate in humans and animals when they arrive with drinking water and food / O.I. Tsyganenko, M.V. Naboka // Health and sanitariya.-1989. - № 4. - P. 55-59.

6. Slavina N.G. Effect of phenolic pigments grapes for nitrite intoxication: (Issled experimental.): Dis. ... Cand. biol. Sciences: 14.03.08 / N.G. Slavin; Ukrain. Medicine Research Institute of Transport Ministry of Ukraine. - O.: [b. and], 1996. -. 218. - Bibliogr. : p. 198-218.

7. Reutov V.P., Sorokina E.G., Ohotin V.E. Kositsyn N.S. Cyclic conversion of nitric oxide in the body of mammals. M. : Nauka, 1997. 156 p.

8. Zhusupova G.K. Methemoglobinemia in the elderly / G.K. Zhusupova, L.E. Sviridov, B.A. Ainabekova // Clinical gerontologiya.-1996. - № 1.-P. 27-30.

9. D.V. Nebieridze Endothelial dysfunction: clinical significance and its correction at arterial hypertension // Difficult Patient (journal for doctors) .- 2005.-V.3.- №3.- P.7-12.

10. Girina O.M., Siryk V.O. Endotelialna disfunktsiya yak providny chinnik formuvannya, rozvitku that progresuvannya arterialnoi gipertenzii // Simeyna meditsina.-2006.-N4.- P.73-74.

11. Savitsky I.V. The role of L-arginine in the correction of endothelial dysfunction. / I.V. Savitsky, V.I. Velichko, S.G. Kotyuzhinska, A.A. Svirsky Tezi dopovidey "Suchasni aspects of medicine i farmatsii Pivdnya Ukraine", Odessa, 2013.- P.102-103.

12. Savitsky I.V./ V.M.Zaporozhan, A.I.Gozhenko. NO-zalezni mehanizmi stimulyatsii reprodukivnoyi Sistemi savtsiv. / V.M.Zaporozhan, A.I.Gozhenko, Odessa 2011, P.1-122.

13. L.F. Konoplev, L.V. Kushnir. Evaluating the effectiveness of L-arginine in pulmonary arterial hypertension of various origins [Text] // Ukrainsky medichny chasopis Naukova-practicality zagalnomedichny magazine. - 2013. - N1.- pp 115-119.

14. Kuryata O.V. Sirenko O.J. Vpliv L-aspartate on argininu endotelialnu funktsiyu sudin in patsientiv s arterialnoyu gipertenziyu in poednanni s revmatoïdnim arthritis // Ukr. honey. chasopis Naukova-practicality zagalnomedichny magazine. 2014. 5-number (103) - C-64-66.
15. Matveeva I.I., Zubrihina G.N. Gorozhanskaya E.G., Dobrovol'skaya M.M. Nitric oxide and endogenous intoxication in cancer patients // Bulletin of the RCRC. Blokhin RAMN.-2008-V.19.-№14.-P.55-61.
16. T.K. Fedorova, Korshunova T.S., T.E. Larskaya The reaction with TBA to determine the MDA blood by fluorometry // Laboratory business-1983.-N3.-C. 25-28.
17. Volyhina V.E. Shafranovsky E.V. Superoxide dismutase: structure and properties of VSMU // Herald. - 2009.- tom8.-№4.-P.1-18.
18. Kostiuk V.A., Potapov A.N., Kovalev J.V. A simple and sensitive method for determining the activity of SOD, based nai oxidation of quercetin // Problems of medical chemistry. -1990.-N2. -FROM. 88-91
19. Ryazantsev L.T. Antioxidant enzymes: structural and functional properties and role in the regulation of metabolic processes // Herald of the Voronezh State Technical University. - 2011. - V. 7, number 2. - P. 126-129.
20. Chevare S., T. Andel, Shtrener J. Determination of antioxidant blood parameters and their diagnostic value in the elderly // Laboratory case of the 1991-N10 c. 9-13
21. Bogomolov I.K. Mikhno V.A. Learning to asymmetric dimethylarginine, as a marker of endothelial dysfunction in type 1 diabetes in children. // Siberian Journal of Medicine. - 2011. - № 3. Issue 2. - P. 136 - 139.
22. Tarlink T. Determination of arginine, asymmetric dimethylarginine and symmetric dimethylarginine in human plasma and other biological samples by high -performance liquid chromatography // Anal. Biochem-2002-v.303.-h. 31 -137
23. Lutai M.I., Bugaenko V.V. Moiseenko O.I., Mushtenko L.O., Slobodsky V.A. Znachennya L-argininu v likuvanni ailing iz Sertsevy-suddinnoyu patologiyu // Ukrainsky kardiologichny zhurnal.- 2011.- №4.-P.96-107.
24. A.V. Babushkin. L-arginine in terms of evidence-based medicine // Ukrainsky medichny chasopis- 2009. - № 6. - P. 43-48.
25. Babak O.J., V.M. Frolov, N.V. Harchenko Glutargin -farmakologicheskoe action and clinical application / Kharkiv -Lugansk, publ Elton-2, 2005, 455 p.
26. Goldman R., Vlessis A., Trunkey D. Nitrosothoil quantification in human plasma // Analytical Biochemistry-1998 -N 259.-P. 98-103
27. Masur N.A. nitrate role in the treatment of cardiac patients in accordance with the principles of evidence-based medicine and recommendations for their practical application / Cardiology: a monthly. scientific-practical. Journal-. 2005-N 8.- V.45.- P.92-96.