

A STUDY ON THE LIPID PEROXIDATION STATUS AND THE ANTIOXIDANT SYSTEM IN RATS AT EXPERIMENTAL DIABETIC RETINOPATHY

¹Volodymyr Volodymyrovych Semenko, ¹Valeriy Mykolayovych Serdyuk,
²Ivan Volodymyrovych Savytskyi

¹Dnipropetrovsk Regional Clinical Ophthalmologic Hospital

²Odessa National Medical University

Abstract

Activation of free radical oxidation is one of the key elements of the diabetes mellitus pathogenesis that leads to structural and functional disruption of membranes. Oxidative stress and imbalance between its intensity and the antioxidant system condition, comply with the data obtained from the literature, play an important role in the development of this disease complications. The defect of β -cells of Langerhans islets caused by hyperglycemia enhanced oxidative stress, is also substantially affect the progression of diabetes and its complications.

The aim of this work is to study the status of lipid peroxidation and the antioxidant system at experimental diabetes, as well as to study the effectiveness of arginine corrective action.

Wistar outbreeding white rats were used in the study, with the weight of 180-200 g. Comply with objectives of the work, animals were ranked into 3 groups: group 1– 20 animals that were not subjected to any influence; they served as control; group 2 – 30 animals in which diabetes mellitus was simulated; group 3 – 30 animals were aimed to receive a 7 % arginine solution, against the backdrop of diabetes.

Diabetes was modeled with an intraperitoneal three times delivery of alloxan at a dose of 7.5 ml, with 5 days interval. Delivery of alloxan have been carried out with the animals

free drinking of 5% fructose solution. The experiment lasted 30 days. Scientists witnessed 100% survival of experimental rats while applying this model.

Activation of lipid peroxidation was detected with the alloxan diabetes model, as evidenced by an increase in the MDA and diene conjugates content in blood serum. There is a decrease in the catalase and superoxide dismutase activity at the experimental diabetes. Corrective action of arginine has led to a decrease in lipid peroxidation (LPO) processes and to the antioxidant system activation.

Key words: experimental diabetes mellitus, alloxanic model, oxidization of peroxide of lipids, antioxidant system, diene conjugates, malonic dialdehyde, superoxide dismutase, catalase

УДК. 616.379-008.64:617.735

ДОСЛІДЖЕННЯ СТАНУ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ДІАБЕТИЧНІЙ РЕТИНОПАТІЇ

**Володимир Володимирович Семенко¹, Валерій Миколайович Сердюк²,
Іван Володимирович Савицький³**

¹Лікар КЗ «Дніпропетровська обласна клінічна офтальмологічна лікарня», площа
Соборна 14, м.Дніпро, Україна

²Д.мед.н., директор КЗ «Дніпропетровська обласна клінічна офтальмологічна
лікарня», площа Соборна 14, м.Дніпро, Україна

³Д.мед.н., проф. кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології, Одеський
національний медичний університет, Одеса, Україна.

Резюме

Однією із ключових ланок патогенезу цукрового діабету є активізація процесів вільно радикального окиснення, що призводить до структурного та функціонального порушення мембран. Окислювальний стрес та дисбаланс між його інтенсивністю та станом антиоксидантної системи відіграють, згідно з даними літератури, важливу роль в розвитку ускладнень даного захворювання. Також у прогресуванні ЦД та його

ускладнень важливим компонентом є пошкодження β -клітин острівців Лангерганса, спричинене оксидативним стресом, підсиленим гіперглікемією.

Метою даної роботи є дослідження стану перекисного окислення ліпідів та антиоксидантної системи при експериментальному цуровому діабеті та дослідження ефективності коригуючої дії аргініну.

У дослідженні були використані білі щурі лінії Вістар аутобредного розведення, масою 180-200 г. Відповідно до задач роботи тварини були ранжовані на 3 групи:

1 група – 20 тварин, які не піддавалися ніякому впливу, слугували контролем; 2 група – 30 тварин, у яких моделювали цукровий діабет; 3 група – 30 тварин, які на фоні змодельованого цукрового діабету отримували 7 % розчин аргініну.

Цукровий діабет моделювали триразовим внутрішньоочеревинним, з інтервалом 5 днів, введенням алоксану в дозі 7,5 мл. Введення алоксану здійснювали на тлі вільного пиття тваринами 5% розчину фруктози. Експеримент тривав 30 діб. Використання цієї моделі супроводжувалось 100% виживанням піддослідних щурів.

При алоксановій моделі цукрового діабету виявлено активацію перекисного окислення ліпідів, про що свідчить збільшення вмісту МДА та дієнових кон'югатів в сироватці крові. Виявлено зниження активності каталази та супероксиддисмутази при експериментальному цукровому діабеті. Коригуюча дія аргініну призвела до зменшення процесів ПОЛ та активізації антиоксидантної системи.

Ключові слова: експериментальний цукровий діабет, алоксанова модель, перекисне окислення ліпідів, антиоксидантна система, дієнові кон'югати, малоновий діальдегід, супероксиддисмутаза, каталаза.

Вступ. Активізація процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) є одним із універсальних та неспецифічних патогенетичних механізмів багатьох патологічних станів. ПОЛ – процес постійно протікаючий в організмі, але фізіологічним він є лише при малій кількості перекисів та нормально функціонуючій антиоксидантній системі. Зрив фізіологічного антиоксидантного захисту веде до надмірного збільшення продукції активних форм кисню, що ініціюють значне збільшення вільно радикальних процесів у тканинах. Утворення вільних радикалів та реактивних метаболітів перекисного окислення ліпідів є важливим механізмом розвитку окислювального стресу та пошкодження клітин [1].

Однією із ключових ланок патогенезу цукрового діабету є активізація процесів вільно радикального окиснення, що призводить до структурного та функціонального

порушення мембран [2, 3] Окислювальний стрес та дисбаланс між його інтенсивністю та станом антиоксидантної системи відіграють важливу роль в розвитку ускладнень даного захворювання [4]. Також в прогресуванні ЦД та його ускладнень важливим компонентом є пошкодження β -клітин острівців Лангерганса, спричинене окислативним стресом, підсиленням гіперглікемією [5].

Дані літератури підтверджують пошкоджуючу дію окислативного стресу при ретинопатії недоношених дітей та відносять її до вільнорадикальних захворювань. Зазначається, що ряд окисних реакцій руйнує клітинні мембрани та веретеноподібні клітини [6, 7]. Також патологія супроводжується високими показниками ПОЛ та низькою активністю антиоксидантної системи, що призводить протікання хвороби до термінальних стадій [8].

Доведено, що важливим моментом в патогенезі ретинопатій недоношених є розвиток окислювального стресу, пов'язаного з підвищенням утворенням вільних радикалів, які руйнівні впливають на сітківку ока [9, 10, 11].

Сітківка, яка постійно підлягає впливу світла та кисню є високочутливою до гіпоксичних станів та розвитку окислювального стресу [12].

В зв'язку із вищезазначеним актуальним є дослідження змін малонового діальдегіду та дієнових кон'югатів, які є відповідно первинними та вторинними продуктами ПОЛ разом зі станом антиоксидантної системи, провідну роль в якій займають такі ферменти як супероксиддисмутаза та каталаза [13, 14] при ретинопатії діабетичного генезу. А також пошук нових методів та засобів зменшення ПОЛ та підтримки антиоксидантної системи.

Останнім часом все більше уваги приділяється участі оксиду азоту (NO) в реакціях окислювального стресу та антиоксидантного захисту. Основним шляхом утворення NO є його синтез із L-аргініну з утворенням L-цитруліну під дією NO-синтаз [15].

Одним із захисних ефектів оксиду азоту на організм є його здатність збільшувати активність антиоксидантних ферментів, шляхом експресії кодуєчих їх генів. Крім того, сама молекула NO має антиоксидантні властивості [16, 17].

В ряді експериментів доведено, що екзогенно введений L-аргінін більшою мірою ніж вітаміни E та C позитивно впливає на зниження рівню продуктів перекисного окислення ліпідів та запобігає інактивації каталази при ішемії-реперфузії печінки [18, 19].

З літературних джерел відомо, що введення аргініну безпосередньо перед охолодженням знижує активність ПОЛ крові і тканин при експериментальній гіпотермії [20]. Також є дані, що попереднє введення даної амінокислоти підвищує активність СОД, каталази та ферментів глутатіонової ланки на тлі розвитку емоційно-больового та іммобілізаційного стресу, при токсичному пошкодженні печінки. При цьому спостерігалось зниження рівню МДА, а блокада синтезу азоту навпаки, призводить до активізації процесів вільно радикального окислення, діючи як скавенджер вільних радикалів. Взаємодія оксиду азоту з ліпідними радикалами сприяє перериванню процесу вільнорадикального окислення ліпідів [13, 21]

Таким чином, стимуляція ендотеліальної NO-синтази та продукції нею оксиду азоту за допомогою екзогенного введення аргініну, при патологічних станах обмежує пероксидацію ліпідів та підвищує активність ферментів антиоксидантного захисту [21].

В зв'язку з вищезазначеним актуальним є дослідження коригуючого ефекту аргініну на діабетичну ретинопатію.

Мета роботи: дослідження стану перекисного окислення ліпідів та антиоксидантної системи при експериментальному цуровому діабеті та ефективності коригуючої дії аргініну.

Матеріали та методи

У дослідженні були використані білі щурі лінії Вістар аутобредного розведення, масою 180-200 г. Відповідно до задач роботи тварини були ранжовані на 3 групи:

1 група – 20 тварин, які не піддавалися ніякому впливу, слугували контролем;

2 група – 30 тварин, у яких моделювали цукровий діабет;

3 група – 30 тварин, які на фоні змодельованого цукрового діабету отримували 7 % розчин аргініну.

Цукровий діабет моделювали триразовим внутрішньоочеревинним, з інтервалом 5 днів, введенням алоксану в дозі 7,5 мл.

Введення алоксану здійснювали на фоні вільного пиття тваринами 5% розчину фруктози. Експеримент тривав 30 діб. Використання цієї моделі супроводжувалось 100% виживанням піддослідних щурів.

Тварин виводили з досліду шляхом декапітації під легким ефірним наркозом згідно з «Правилами виконання робіт з використанням експериментальних тварин», затверджених Наказом МОЗ України № 249 від 01.03.2012 та Законом України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (зі змінами від 15.12.2009р та від 16.10.2012р).

У тварин набирали 5 мл крові, в сироватці якої визначали рівень глюкози за допомогою біохімічного напівавтоматичного аналізатора Мікролаб-300 (Нідерланди) ферментативним глюкозооксидазним методом.

Вміст ТБК-активних продуктів (з'єднань, здатних при високій температурі утворювати комплекси з тіобарбітуровою кислотою (ТБК), одним із яких є малоновий діальдегід) визначали спектрофотометричним методом [22]. Метод заснований на реакції між МДА та ТБК, яка при високій температурі (100 ° С) в кислому середовищі (рН 2,5 - 3,5) протікає з утворенням забарвленого триметілового комплексу. Інтенсивність забарвлення вимірювали на спектрофотометрі при довжині хвилі 532 нм. Розрахунок кількості МДА (мкмоль) за формулою: $\text{МДА} = \text{Д} \cdot 16,5 / 0,156$, в якій

Д - екстинція проби, 16,5 - коефіцієнт розведення сироватки крові у пробі, 0,156 - коефіцієнт мікромолярних екстинцій пофарбованого комплексу при 532 нм.

Визначення вмісту дієнових кон'югатів проводили спектрофотометричним методом [22], принцип якого полягає у тому, що для первинних продуктів вільнорадикального окислення (гідроперекисів поліненасичених жирних кислот, що мають у структурі пов'язані дієни) характерне поглинання в ультрафіолетовому спектрі з максимумом при 220 - 230 нм. Коефіцієнт мілімолярної екстинції дієнових кон'югатів - 24,4 ммоль¹ см¹).

Визначення активності каталази здійснювали спектрофотометричним методом по методиці Чеварі С., Андела Т., та Штренера Я. [23].

Визначення активності супероксиддисмутази проводилося спектрофотометричним методом, шляхом здійснення реакції окислення кверцетину, при цьому визначали міру гальмування його окислювальної реакції при рН 10,0 в присутності тетраметилетилендіаміну) [24].

Математично-статистичну обробку результатів дослідження проводили за допомогою описової статистики ($M \pm m$) де М – середнє арифметичне, m – стандартна похибка. Міжгрупові порівняння показників проводили за допомогою критерію Стьюдента [25].

Результати

В результаті раніше проведених нами гістологічних досліджень структур очного яблука виявлено спазм судин та їх зміни у вигляді фіброзу стінок, набряку ендотелію. Також мали місце зменшення кількості пігментних гранул, дистрофічні зміни клітин гангліонарного шару та шару паличок і колбочок, що співпадає з описами пошкодження оболонки очного яблука при діабетичній ретинопатії. Це дозволяє

тракувати дані, отримані при дослідженні крові експериментальних тварин не тільки як зміни при цукровому діабеті, але і при такому його ускладненні, як діабетичні ретинопатії [26].

Результати біохімічного дослідження рівню глікемії у щурів групи з експериментальним цукровим діабетом показали, що концентрація глюкози крові у тварин з ЦД на момент закінчення експерименту дорівнює $8,07 \pm 0,33$ ммоль/л, що достовірно вище, ніж у контролі ($5,11 \pm 0,22$ ммоль/л) (відмінності статистично дуже високо значимі по критерію Стьюдента на рівні $p < 0,0001$). При цьому в групі із застосуванням аргініну рівень глюкози складає $6,09 \pm 0,51$ (відмінності високо значущі на рівні значущості $p = 0,0019$ в порівнянні з результатами експериментальних тварин, у яких моделювання ЦД проводили без корекції). У той же час відсутні статистично значимі відмінності результатів між групами контролю та аргініновою корекцією.

Динаміка біохімічних маркерів окиснювального стресу у тварин з експериментальною алоксановою моделлю цукрового діабету та при її корекції аргініном.

У тварин із експериментальним цукровим діабетом відмічається підвищення рівню показників оксидативного стресу. При цьому дана картина спостерігається і при аналізі дієнових кон'югатів (Табл.1.), які є токсичними метаболітами, що в свою чергу свідчить про підвищення і залучення в патологічний процес при змодельованому цукровому діабеті первинних продуктів ПОЛ [27]. І при аналізі рівня ТБК-активних продуктів (Табл.2.) , які досліджували через рівень малонового діальдегіду – маркера оксидативного стресу та перекисного окиснення ліпідів (його кінцевого продукту) і вторинного продукту ПОЛ [28].

Результати групи з корекцією аргініном свідчать про наявність позитивної динаміки, тобто зниження вищевказаних показників.

В той же час наявність відмінностей між даною групою та контролем є свідченням того, що аргінін позитивно впливає на зниження процесів перекисного окиснення ліпідів, але, в той же час, не досягає показників контрольної групи.

Таблиця 1.

Динаміка вмісту дієнових кон'югатів у тварин з експериментальною алоксановою моделлю цукрового діабету та при її корекції аргініном

Групи тварин Показник (M±m)	Контрольна група (n=20)	Група з моделлю цукрового діабету (n=30)	Група з моделлю цукрового діабету + аргінін (n=30)
	1	2	3
Дієнові кон'югати (мкМ/л)	50,14±1,520	82,48±1,482 P ₁₂ ***	65,34±1,492 P ₁₃ *** P ₂₃ ***

Примітки:

* - статистична значущість відмінностей між відповідними групами на рівні p<0,05

** - статистична значущість відмінностей між відповідними групами на рівні p<0,01

*** - статистична значущість відмінностей між відповідними групами на рівні p<0,001

Таблиця 2.

Динаміка рівню МДА (ТБК активних продуктів) у тварин з експериментальною алоксановою моделлю цукрового діабету та при її корекції аргініном.

Групи тварин Показник (M±m)	Контрольна група (n=20)	Група з моделлю цукрового діабету (n=30)	Група з моделлю цукрового діабету + аргінін (n=30)
	1	2	3
МДА (мкмоль/л)	5,01±0,549	13,14±0,621 P ₁₂ ***	7,82±0,601 P ₁₃ *** P ₂₃ ***

Примітки:

* - статистична значущість відмінностей між відповідними групами на рівні p<0,05

** - статистична значущість відмінностей між відповідними групами на рівні p<0,01

*** - статистична значущість відмінностей між відповідними групами на рівні p<0,001

Динаміка біохімічних маркерів антиоксидантного захисту у тварин з алоксановою моделлю цукрового діабету та при її корекції аргініном.

Спостерігається зниження активності обох ферментів антиоксидантного захисту в групі з моделлю цукрового діабету: каталази (Табл.3) та супероксиддисмутази (Табл. 4.).

В той же час корекція аргініном, хоча і не призводить до нормалізації антиоксидантної системи, але дає позитивні результати. Це виражається в дуже високо

значущому підвищенні їх активності в порівнянні з тваринами, яким не коригували змодельований цукровий діабет.

Таблиця 3.

Динаміка активності каталази у тварин з алоксановою моделлю цукрового діабету та при її корекції аргініном.

Групи тварин	Контрольна група (n=20)	Група з моделлю цукрового діабету (n=30)	Група з моделлю цукрового діабету + аргінін (n=30)
Показник (M±m)	1	2	3
Каталаза (Мккатал/л)	24,19±0,807	16,35±0,742 P ₁₂ ***	20,52±0,785 P ₁₃ *** P ₂₃ ***

Примітки:

* - статистична значущість відмінностей між відповідними групами на рівні p<0,05

** - статистична значущість відмінностей між відповідними групами на рівні p<0,01

*** - статистична значущість відмінностей між відповідними групами на рівні p<0,001

Таблиця 4.

Динаміка активності супероксиддисмутази у тварин з алоксановою моделлю цукрового діабету та при її корекції аргініном.

Групи тварин	Контрольна група (n=20)	Група з моделлю цукрового діабету (n=30)	Група з моделлю цукрового діабету + аргінін (n=30)
Показник (M±m)	1	2	3
Супероксиддисмутаза (У.о./л)	11,21±0,546	5,15±0,235 P ₁₂ ***	8,44±0,505 P ₁₃ *** P ₂₃ ***

Примітки:

* - статистична значущість відмінностей між відповідними групами на рівні p<0,05

** - статистична значущість відмінностей між відповідними групами на рівні p<0,01

*** - статистична значущість відмінностей між відповідними групами на рівні p<0,00

Отримані нами дані узгоджуються з інформацією з літературних джерел про те, що посилення процесів ПОЛ при зниженій активності антиоксидантів, а також порушення функції ендотелію в результаті глікозилування білків є основними патологічними ланками прогресування судинних патологій.

Обговорення результатів

Підвищення рівню глюкози у групі з експериментальним цукровим діабетом свідчить про ефективність вибраної моделі. В той же час виявлена відсутність статистично значущих відмінностей між групою з корекцією експериментального діабету аргініном та контрольною групою, що свідчить про коригуючий ефект даної амінокислоти. Одержані результати підтверджуються інформацією з літературних джерел про те, що введення аргініну значною мірою знижує рівень глікемії та обмежує пошкодження β -клітин підшлункової залози [29, 30].

Вибір алоксанової моделі цукрового діабету для дослідження оксидативного стресу обґрунтований механізмом дії цієї речовини на острівці Лангерганса, що є оптимальним для дослідження процесів перекисного окислення ліпідів та патолофізіологічного обґрунтування вибору препаратів антиоксидантного захисту. Зазначений механізм полягає у генерації в циклічній реакції з гіалуроновою кислотою активних форм кисню, котрі ініціюють руйнування β -клітин, які мають низький рівень антиоксидантного захисту [31]. Результат руйнування зазначених клітин – зменшення синтезу і секреції у кров інсуліну, і, як наслідок, у тварин розвивається гіперглікемія та діабетичний синдром, аналогічний інсулінзалежному цукровому діабету I типу [32, 33]

Отримані у нашому експерименті результати свідчать про підвищення рівню малонового діальдегіду та дієнових кон'югатів на 30-й день експерименту. Спостерігається не лише виникнення, а й прогресування пошкоджуючих процесів ПОЛ при цукровому діабеті. При цьому відбувається підвищення вмісту і первинних і вторинних продуктів перекисного окислення ліпідів.

Водночас спостерігається зниження активності обох ферментів-антиоксидантів.

Вищезазначене свідчить як про результативність використаної моделі ЦД та спричиненої ним діабетичної ретинопатії, так і про її ефективність для апробації нових препаратів коригуючої антиоксидантної терапії.

Для корекції перекисного окислення ліпідів в даному експерименті нами був обраний аргінін. На основі аналізу отриманих результатів ми можемо говорити про його ефективність під час експериментального цукрового діабету.

Зниження вмісту МДА та дієнових кон'югатів одночасно зі значним підвищенням активності супероксиддисмутази та каталази у порівнянні з результатами групи моделювання цукрового діабету без корекції є свідченням того, що дана амінокислота може використовуватися у терапії цукрового діабету та діабетичних ретинопатій не тільки для зменшення ендотеліальних дисфункцій, які є невід'ємною

ланкою у патогенезі вказаних захворювань, а також і для нормалізації балансу про- та антиоксидантної систем.

З літературних джерел відомо, що L-аргінін нейтралізує O_2^- , що продукуються в системі ксантинооксидази, інгібує процес адгезії фагоцитів та їх потенціал, що утворює активні форми кисню. Цим вказана амінокислота проявляє антиоксидантну дію [34]. Тривале введення 2,5% розчину аргініну значно пригнічує продукцію активних форм кисню та ПОЛ, а також підвищує рівень нітритів у сироватці крові у мавп з гіперхолестеринемією [35]. Відомо, що гідрохлорид L-аргініну (120мг/100г маси щура) зменшує ПОЛ в еритроцитарних мембранах при гіпоксії щурів та підвищує при цьому активність супероксиддисмутази та каталази [36]. Вказана амінокислота модулює антиоксидантний та кардіопротекторних ефект на ізольоване серце щурів в експерименті [37].

Механізми антиоксидантної дії L-аргініну *in vitro* та *ex vivo* зумовлені значним підвищенням каталазної активності, зниженням НАДРН-залежної O_2^- -продукуючої активності мембран клітин селезінки та печінки, а також O_2^- -продукуючої активності супролу [38].

Висновки

1. При алоксановій моделі цукрового діабету виявлено активацію перекисного окислення ліпідів, про що свідчить збільшення вмісту МДА та дієнових кон'югатів в сироватці крові.
2. Виявлено зниження активності каталази та супероксиддисмутази в сироватці крові при експериментальному цукровому діабеті, що підтверджує послаблення антиоксидантного захисту в даних умовах.
3. Корируюча дія аргініну призвела до зменшення процесів ПОЛ та активізації антиоксидантної системи.

Список літератури

1. Зенков Н.К. Оксидативный стресс. Биохимический и патофизиологический аспекты / Н.К. Зенков – М.: МАИК "Наука / Интерпериодика", 2001. – 343 с
2. Можейко Л.А. Экспериментальные модели для изучения сахарного диабета / Л.А. Можейко // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2013. – №3. – С.26 – 29.
3. Кубатиев А.А. Перекиси липидов и тромбоз / А.А. Кубатиев, С.В. Андреев // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1979. – № 5 – С. 414 – 17.

4. Камышников В.С. Справочник по клинико-биологической лабораторной диагностике / В.С. Камышников — Минск, 2000. — 219 с.
5. Балаболкин М.И. Роль гликирования белков, окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений при сахарном диабете / М.И. Балаболкин // Сахарный диабет. — 2002. — № 4. — С. 8 – 16.
6. Малышев А.В. Биохимические изменения стекловидного тела при различных видах витреоретинальной патологии / А.В. Малышев // Фундаментальные исследования. — 2013. — № 9. — С. 195 – 201.
7. Николаева Г.В. Формирование ауторегуляции кровотока сетчатки у недоношенных новорожденных / Г.В. Николаева // Российская детская офтальмология. — 2013. — № 1. — С.13 – 16.
8. Скрипец П.П. Прогнозирование и профилактика тяжелых исходов ретинопатии недоношенных: дисс. ... канд. мед.наук: 14.00.08 Скрипец Петр Петрович. — М., 2003. — 114 с.
9. Lee J.W.Future applications of antioxidants in premature infants / J.W. Lee, J.M. Davis // Curr. Opin. Pediatr. — 2011. — № 23 (2). — P. 161 – 166.
10. Mataftsi A. Mediator involved in retinopathy of prematurity and emerging therapeutic targets / A. Mataftsi, S.A. Dimitrakos, G.G. Adams // Early Hum. Dev. — 2011. — № 87(10). — P.683 – 690.
11. Файзуллина А.С. Значение состояния антиоксидантной защиты у детей с ретинопатией недоношенных / А.С. Файзуллина, Г.Х. Зайнутдинова // Точка зрения. Восток - Запад. — 2016. — № 4. — С.59 – 62.
12. Li S.Y. Hypoxia-induced oxidative stress in ischemic retinopathy. Oxidative Medicine and Cellular Longevity / S.Y. Li, Z.J. Fu., A.C. Lo [Электронный ресурс]. — 2012. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3483772/>.
13. Срубиллин Д.В. Роль нитроксидазной системы в регуляции окислительного стресса в печени у крыс с экспериментальным перитонитом / Д.В. Срубиллин, Д.А. Еникеев, В.А. Мышкин // Фундаментальные исследования. — 2014. — № 10-4. — С. 724 – 731.
14. McCord J.M. Superoxide Dismutase an Enzymic Function for Erythrocyte (Hemocytin) / J. M. McCord, I. Fridovich // The Journal of Biological Chemistry. — 1969. — Vol.244. — №22. — P. 6049 – 6055.
15. Реутов В.П. NO-синтазная и нитритредуктазная компоненты цикла оксида азота / В.П. Реутов, Е.Г. Сорокина // Биохимия. — 1998. — Т. 63. — № 7. — С. 1029–1040

16. Beckman J.S. Oxidative chemistry of peroxynitrite / J.S. Beckman, J. Chen, H. Ischiropoulos [et al.] // *Methods Enzymol.* – 1994. – № 233. – P. 229 – 240.
17. Бондаренко О.Н. Биологическая роль оксида азота при сахарном диабете / О.Н. Бондаренко, Г.Р. Галстян, М.Б. Анциферов [и др.] // *Сахарный диабет.* – 2002. – №2. – С. 56 – 63.
18. Товмасян М.С. Антистрессорный эффект внутривенно введенного L-Аргинина при повреждении печени крыс, вызванном ишемией-реперфузией [Электронный ресурс] / М.С. Товмасян // *Вопросы теоретической и клинической медицины.* – 2008. – №2. Режим доступа: www.med-practic.com
19. Rhee J.E. The effects of antioxidants and nitric oxide modulators on hepatic ischemic-reperfusion injury in rats / J.E. Rhee, S .E. Lung, S.D. Shin [et al.] // *J.Korean Med.Sci.* – 2002. –№ 17(4) . – С. 502 – 506.
20. Дорохина Л.В. Прооксидантно-антиоксидантное равновесие у крыс при гипотермии в условиях коррекции L-аргинин-NO системы / Л.В. Дорохина, В.В. Зинчук // *Весці АН РБ. Сер. Біял.нав.* – 2000. – №4. – С.87 – 90.
21. Близнецова Г.Н. Состояние антиоксидантной системы в условиях стимуляции L-аргином продукцией оксида азота при токсическом повреждении печени // *Материалы международной научно-практической конференции «Свободные радикалы, антиоксиданты и здоровье животных».* Воронеж: ВГУ, 2004. – С. 17-21.
22. Габрилян Н.И. Определение средних молекул скрининг-методом. Спектрофотометрическое определение содержания ГПЛ в плазме крови / Н.И. Габрилян, Б.В. Гаврилов, М.Н. Мишкорудная // *Лаб. дело.* – 1983. – № 3. – С. 33 – 36.
23. Чевари С. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте / С. Чевари, Т. Андел, Я. Штрелер // *Лабораторное дело.* – 1991. – №10. – С. 9 – 13.
24. Костюк В.А. Простой и чувствительный метод определения активности СОД, основанный на реакции окисления кверцетина / В.А. Костюк, А.Н. Потапова, Ж.В. Ковалева // *Вопросы медицинской химии.* – 1990. – № 2. – С. 88 – 91.
25. Shaffer J.P. Multiple Hypothesis Testing / J.P. Shaffer // *Annual Review of Psychology.* – 1995. – № 46. – P. 561 – 584.
26. Семенко В.В. Розробка експериментальної алоксанової моделі цукрового діабету/ В.В. Семенко, В.М. Сердюк, И.В. Савицкий // *Международный эндокринологический журнал.* – 2017. – Т.13. – №4. – С.276 – 280.

27. С. Гланц. Медико-биологическая статистика: пер. с англ. / Гланц С. – М.: Практика, 1998. – 459 с.
28. Матвеева И.И. Оксид азота и эндогенная интоксикация у онкологических больных / И.И. Матвеева, Г.Н. Зубрихина, Э.Г. Горожанская [и др.] // Весник РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН. – 2008. – Т.19. – № 14. – С.55 – 61.
29. Méndez J.D. L-arginine and polyamine administration protect cells against alloxan diabetogenic effect in Sprague-Dawley rats / J.D. Méndez, R. De Haro-Hernández // Biomed Pharmacother. – 2005. – № 59. – P. 283 – 289
30. Vasiljevic A. Beneficial effects of L-arginine–nitric oxide-producing pathway in rats treated with alloxan / A. Vasiljevic, B. Buzadzic, A. Korac [et al] // J. Physiol. – 2007. – Vol. 5849 (3). – P. 921 – 933.
31. Мерецький В. М. Порушення ліпідного та вуглеводного обміну і методи їх корекції при експериментальному цукровому діабеті / В. М. Мерецький // Медична хімія. – 2007. – Т.9. – №3. – С.83 – 86.
32. Пальчикова Н. О. Гормонально-біохімічні особливості аллоксанової та стрептозотоцинової моделей експериментально діабету / Н. О. Пальчикова, Н. В. Кузнецова, О. І. Кузьминова [та ін] // Бюлетень СО РАМН. – 2013. – Т.33. – №6. – С.18 – 24.
33. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes / S. Lenzen // Diabetologia. – 2008. – № 51. – P.216 – 226.
34. Naklar G. Oxygen radicals and nitric oxide in rat mesenteric ischemia-reperfusion: modulation by L-arginine and NG-nitro-L-arginine methyl ester / G. Naklar, D.C. Ulukaya, M. Yuksel [et al] // Clin.Exp.Pharmacol. – 1998. – № 25(11). – P. 908 – 912.
35. Dhawan V. Chronic L-arginine supplementation improves endothelial cell vasoactive functions in hepercholesterolemic and atherosclerotic monkeys / V. Dhawan, S.S. Handu, C.K. Nain [et al] // Mol.Cell Biochem. 2005. – № 269(1-2). – P.1 – 11.
36. Mogilintskiaia L.V. Effects of arginine on properties of the erythrocyte membranes in hypoxia / L.V. Mogilintskiaia, A. Fan [et al] // Bull.Exp.Biol.Med. – 1992 – № 113 (5). – P.457 – 498.
37. Vignais P.V. The superoxide-generating NADPH oxidase: structural aspects and activation mechanism / P.V. Vignais // Cell Mol.Life Sci. – 2002. – № 59(9) . – P.1428 – 1459.
38. Товмасын М. С. Изменение уровня и активности антиоксидантных и прооксидантных металлопротеинов тканей крыс под влиянием L-аргинина / М. С.

Товмасян, Г.С.Хачатрян, Р.М.Симонян // Медицинская наука Армении. – 2008. – Т. 48. – № 1. – С. 35 – 46.

References

1. Zenkov N.K. Oksidativnyy stress. Biokhimicheskiy i patofiziologicheskiy aspekty / N.K. Zenkov – M.: MAIK "Nauka / Interperiodika", 2001. – 343 s
2. Mozheyko L.A. Eksperimental'nyye modeli dlya izucheniya sakharnogo diabeta / L.A. Mozheyko // Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta. – 2013. – №3. – S.26 – 29.
3. Kubatiyev A.A Perekisi lipidov i tromboz / A.A. Kubatiyev, S.V. Andreyev // Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny. – 1979. – № 5 – S. 414 – 17.
4. Kamyshnikov V.S. Spravochnik po kliniko-biologicheskoy laboratornoy diagnostike / V.S. Kamyshnikov — Minsk, 2000. — 219 s.
5. Balabolkin M.I. Rol' glikirovaniya belkov, okislitel'nogo stressa v patogeneze sosudistyykh oslozhneniy pri sakharnom diabete / M.I. Balabolkin // Sakharnyy diabet. — 2002. — № 4. — S. 8 – 16.
6. Malyshev A.V. Biokhimicheskiye izmeneniya steklovidnogo tela pri razlichnykh vidakh vitreoretinal'noy patologii / A.V. Malyshev // Fundamental'nyye issledovaniya. – 2013. – № 9. – S. 195 – 201.
7. Nikolayeva G.V. Formirovaniye autoregulyatsii krovotoka setchatki u nedonoshennykh novorozhdennykh / G.V. Nikolayeva // Rossiyskaya detskaya oftal'mologiya. – 2013. – № 1. – S.13 – 16.
8. Skripets P.P. Prognozirovaniye i profilaktika tyazhelykh iskhodov retinopatii nedonoshennykh: diss. ... kand. med.nauk: 14.00.08 Skripets Petr Petrovich. – M., 2003. – 114 s.
9. Lee J.W. Future applications of antioxidants in premature infants / J.W. Lee, J.M. Davis // Curr. Opin. Pediatr. – 2011. – № 23 (2). – P. 161 – 166.
10. Mataftsi A. Mediator involved in retinopathy of prematurity and emerging therapeutic targets / A. Mataftsi, S.A. Dimitrakos, G.G. Adams // Early Hum. Dev. – 2011. – № 87(10). – P.683 – 690.
11. Fayzullina A.S. Znachenkiye sostoyaniya antioksidantnoy zashchity u detey s retinopatiyey nedonoshennykh / A.S. Fayzullina, G.KH. Zaynutdinova // Tochka zreniya. Vostok - Zapad. – 2016. – № 4. – S.59 – 62.

12. Li S.Y. Hypoxia-induced oxidative stress in ischemic retinopathy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* / S.Y. Li, Z.J. Fu., A.C. Lo [Электронный ресурс]. – 2012. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3483772/>.
13. Srubilin D.V. Rol' nitroksidergicheskoy sistemy v regulyatsii okislitel'nogo stressa v pecheni u krysa s eksperimental'nym peritonitom / D.V. Srubilin, D.A. Yenykeyev, V.A. Myshkin // *Fundamental'nyye issledovaniya*. – 2014. – № 10-4. – S. 724 – 731.
14. McCord J.M. Superoxide Dismutase an Enzymic Function for Erythrocyte (Hemocytin) / J. M. McCord, I. Fridovich // *The Journal of Biological Chemistry*. – 1969. – Vol.244. – №22. – P. 6049 – 6055.
15. Reutov V.P. NO-sintaznaya i nitritreduktaznaya komponenty tsikla oksida azota / V.P. Reutov, Ye.G. Sorokina // *Biokhimiya*. – 1998. – T. 63. – № 7. – S. 1029–1040
16. Beckman J.S. Oxidative chemistry of peroxynitrite / J.S. Beckman, J. Chen, H. Ischiropoulos [et al.] // *Methods Enzymol.* – 1994. – № 233. – P. 229 – 240.
17. Bondarenko O.N. Biologicheskaya rol' oksida azota pri sakharnom diabete / O.N. Bondarenko, G.R. Galstyan, M.B. Antsiferov [i dr.] // *Sakharnyy diabet*. – 2002. – №2. – S. 56 – 63.
18. Tovmasyan M.S. Antistressorn'y efekt vnutrivvenno vvedennogo L-Arginina pri povrezhdenii pecheni krysa, vyzvannom ishemiyey-reperfuziyey [Elektronnyy resurs] / M.S. Tovmasyan // *Voprosy teoreticheskoy i klinicheskoy meditsiny*. – 2008. – №2. Rezhim dostupa: www.med-practic.com
19. Rhee J.E. The effects of antioxidants and nitric oxide modulators on hepatic ischemic-reperfusion injury in rats / J.E. Rhee, S .E. Lung, S.D. Shin [et al.] // *J.Korean Med.Sci.* – 2002. –№ 17(4) . – C. 502 – 506.
20. Dorokhina L.V. Prooksidantno-antioksidantnoye ravnovesiye u krysa pri gipotermii v usloviyakh korrektsii L-arginin-NO sistemy / L.V. Dorokhina, V.V. Zinchuk // *Vestsí AN RB. Ser. Bíyal.nav.* – 2000. – №4. – S.87 – 90.
21. Bliznetsova G.N. Sostoyaniye antioksidantnoy sistemy v usloviyakh stimulyatsii L-argininom produktsii oksida azota pri toksicheskom povrezhdenii pecheni // *Materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii «Svobodnyye radikaly, antioksidanty i zdorov'ye zhivotnykh»*. Voronezh: VGU, 2004. – S. 17-21.
22. Gabrilyan N.I. Opredeleniye srednikh molekul skringing-metodom. Spektrofotometricheskoye opredeleniye sodержaniya GPL v plazme krovi / N.I. Gabrilyan, B.V. Gavrilov, M.N. Mishkorudnaya // *Lab. delo*. – 1983. – № 3. – S. 33 – 36.

23. Chevare S. Opredeleniye antioksidantnykh parametrov krovi i ikh diagnosticheskoye znacheniyе v pozhilom vozraste / S. Chevare, T. Andel, YA. Shtrener // *Laboratornoye delo*. – 1991. – №10. – S. 9 – 13.
24. Kostyuk V.A. Prostoy i chuvstvitel'nyy metod opredeleniya aktivnosti SOD, osnovanny na reaktsii okisleniya kvartsetina / V.A. Kostyuk, A.N. Potapova, ZH.V. Kovaleva // *Voprosy meditsinskoй khimii*. – 1990. – № 2. – S. 88 – 91.
25. Shaffer J.P. Multiple Hypothesis Testing / J.P. Shaffer // *Annual Review of Psychology*. – 1995. – № 46. – P. 561 – 584.
26. Semenko V.V. Rozrobka eksperymental'noyi aloksanovoyi modeli tsukrovoho diabetu/ V.V. Semenko, V.M. Serdyuk, Y.V. Savytsky // *Mezhdunarodnyy éndokrynolohychesky zhurnal*. – 2017. – T.13. – №4. – S.276 – 280.
27. S. Glants. Mediko-biologicheskaya statistika: per. s angl. / Glants S. – M.: Praktika, 1998. - 459 s.
28. Matveyeva I.I. Oksid azota i endogennaya intoksikatsiya u onkologicheskikh bol'nykh / I.I. Matveyeva, G.N. Zubrikhina, E.G. Gorozhanskaya [i dr.] // *Vesnik RONTs im. N.N.Blokhina RAMN*. – 2008. – T.19. – № 14. – S.55 – 61.
29. Méndez J.D. L-arginine and polyamine administration protect cells against alloxan diabetogenic effect in Sprague-Dawley rats / J.D. Méndez, R. De Haro-Hernández // *Biomed Pharmacother*. – 2005. – № 59. – P. 283 – 289
30. Vasilijevic A. Beneficial effects of L-arginine–nitric oxide-producing pathway in rats treated with alloxan / A. Vasilijevic, B. Buzadzic, A. Korac [et al] // *J. Physiol*. – 2007. – Vol. 5849 (3). – P. 921 – 933.
31. Merets'kyy V. M. Porushennya lipidnoho ta vuhlevodnoho obminu i metody yikh korektsiyi pry eksperymental'nomu tsukrovomu diabeti / V. M. Merets'kyy // *Medychna khimiya*. – 2007. –T9. – №3. – S.83 – 86.
32. Pal'chykova N. O. Hormonal'no-biokhimichni osoblyvosti alloksanovoyi ta streptozototsynovoyi modeley eksperymental'no diabetu / N. O. Pal'chykova, N. V. Kuznetsova, O. I. Kuz'mynova [ta in] // *Byuleten' SO RAMN*. – 2013. – T.33. – №6. – S.18 – 24.
33. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes / S. Lenzen // *Diabetologia*. – 2008. – № 51. – P.216 – 226.
34. Haklar G. Oxygen radicals and nitric oxide in rat mesenteric ischemia-reperfusion: modulation by L-arginine and NG-nitro-L-arginine methyl ester / G. Haklar, D.C. Ulukaya, M. Yuksel [et al] // *Clin.Exp.Pharmacol*. – 1998. – № 25(11). – P. 908 – 912.

35. Dhawan V. Chronic L-arginine supplementation improves endothelial cell vasoactive functions in hepercholesterolemic and atherosclerotic monkeys / V. Dhawan, S.S. Handu, C.K. Nain [et al] // Mol.Cell Biochem. 2005. – № 269(1-2). – P.1 – 11.

36. Mogilintkaia L.V. Effects of arginine on properties of the erythrocyte membranes in hypoxia / L.V. Mogilintkaia, A. Fan [et al] // Bull.Exp.Biol.Med. – 1992 – № 113 (5). – P.457 – 498.

37. Vignais P.V. The superoxide-generating NADPH oxidase: structural aspects and activation mechanism / P.V. Vignais // Cell Mol.Life Sci. – 2002. – № 59(9) . – P.1428 – 1459.

38. Tovmasyan M. S. Izmeneniye urovnya i aktivnosti antioksidantnykh i prooksidantnykh metalloproteinov tkaney krysa pod vliyaniyem L-arginina / M. S. Tovmasyan , G.S.Khachatryan, R.M.Simonyan // Meditsinskaya nauka Armenii. – 2008. – T. 48. – № 1. – C. 35 – 46.