

АНТИТОКСИЧНІ ЕФЕКТИ N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІНУ В СУСПЕНЗІЇ ТА У СКЛАДІ НАНОКОМПОЗИТНОГО КОМПЛЕКСУ В ОРГАНАХ МИШЕЙ З КАРЦИНОМОЮ ЛЬЮЇС ЗА ВВЕДЕННЯ ДОКСОРУБІЦИНУ

Є. А. ГУДЗЬ¹, Н. М. ГУЛА¹, Т. О. ХМЕЛЬ¹, Т. М. ГОРІДЬКО¹,
Ю. М. БАШТА¹, Р. Р. ПАНЧУК², Р. С. СТОЙКА²,
А. О. РЯБЦЕВА³, О. С. ЗАІЧЕНКО³

¹Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;
e-mail: ngula@biochem.kiev.ua;

²Інститут біології клітини НАН України, Львів;

³Національний університет «Львівська Політехніка», Україна

На моделі гострої інтоксикації доксорубіцином в умовах розвитку карциноми Льюїс у мишей-самиць у тканині серця, нирок та печінки і плазмі крові показані антиоксидантні ефекти N-стеароїлетаноламіну (NSE) у складі нанокмпозитного комплексу та в суспензії. Встановлено, що суспензія NSE знижує рівень сечовини в плазмі крові тварин-пухлиноносіїв, підвищення якого було виявлено внаслідок введення доксорубіцину. За введення нанокмпозитного комплексу кількість цього метаболіту залишається на рівні інтактних тварин. У плазмі крові мишей-пухлиноносіїв суспензія NSE та композит знижують активність аспаратамінотрансферази, основного маркера некрозу тканини серця, зростання якої було спричинено розвитком пухлини. Доксорубіцин підвищує активність аланінамінотрансферази, маркера ураження печінки; введення NSE у складі композиту запобігає зростанню активності ензиму в крові тварин-пухлиноносіїв. N-стеароїлетаноламін, як у складі нанокмпозитного комплексу, так і в суспензії, сприяє відновленню балансу активності ензимів антиоксидантного захисту тканин серця, нирок і печінки мишей-пухлиноносіїв, які отримували доксорубіцин.

Ключові слова: N-стеароїлетаноламін, доксорубіцин, серце, нирки, печінка, нанокмпозити, системи транспортування препаратів.

Одним із принципів недоліків сучасної хіміотерапії злоякісних новоутворень є невисока селективність протипухлинних препаратів та побічні ефекти їх дії на організм пацієнтів. Застосування функціональних наноносіїв може подолати ці проблеми за рахунок зниження ефективної концентрації ліків та їх направленої доставки до клітин-мішеней. Як правило, такі новітні лікарські форми продовжують тривалість дії препаратів та збільшують їх біологічну доступність, а також знижують побічні ефекти хіміотерапії [1].

Доксорубіцин – антибіотик антрациклінового ряду, який на сьогодні є одним із найефективніших протипухлинних препаратів, що застосовується у клініці для лікування найрізноманітніших форм раку, зокрема раку молочної залози, лімфом, сарком м'яких тканин [2], але його застосування обмежене, в першу чергу, через високу кардіотоксичність [3].

У літературі описано, що одним із механізмів кардіотоксичної дії доксорубіцину

є підвищення експресії індукцйбельної NO-синтази в міокарді [4], що, в свою чергу, спричиняє гіперпродукцію NO. Вступаючи в реакцію із супероксидним аніоном кисню, NO утворює пероксинітрит – потужний окисник, що здатний окислювати та нітрозілювати протеїни, окислювати ліпіди [5]. Доксорубіцин зумовлює оксидативний стрес у пухлині і умовно нормальних тканинах, порушуючи функцію мітохондріального дихального ланцюга, що призводить до індукції апоптозу і загибелі клітин [6–8].

Доксорубіцин здатен знижувати в серці рівень високоенергетичних субстратів, зокрема аденозинтрифосфату та креатинфосфату. До того ж тривале застосування антибіотика має вираженіший ефект, ніж одноразове застосування еквівалентної дози препарату [9].

За лікування доксорубіцином також виявлено симптоми його нефротоксичності. Пошкодження судин та структури нирки є основним механізмом, за яким відбувається розвиток ниркової недостатності. Клінічними показниками нефротоксичності є зростання рівня се-

човини та креатиніну в сироватці крові [10], яке відбувається внаслідок зменшення рівня клубочкової фільтрації в нирках [11].

У зв'язку з високою токсичністю протипухлинних препаратів дуже важливим є пошук сполук, які мали б зменшувати побічні ефекти хіміотерапії.

Нашу увагу привернули природні ендоканабіноїди. Численними дослідженнями показано, що в умовах розвитку неоплазми в організмі ендоканабіноїди відіграють анти-токсичну, антиоксидантну, мембранопротекторну роль у неуразених пухлиною тканинах. Агоністи канабіноїдних рецепторів першого типу (CB1) гальмують проліферацію злویкісних клітин, ангиогенез та процес метастазування [12]. Дані літератури свідчать про участь рецепторів другого типу (CB2) в опосередкуванні антипухлинних ефектів в організмі [13–16].

Раніше нами було показано, що N-стеароїлетаноламін гальмує ріст і метастазування карциноми Льюїс у мишей, а також знімає або частково зменшує токсичні прояви, які були спричинені застосуванням цисплатини як хіміотерапевтичного агента [17].

Попередніми дослідженнями було показано, що кон'югація доксорубіцину з полімерними олігоелектролітами, синтезованими в лабораторії доц. О. С. Заїченка (Національний університет «Львівська політехніка»), істотно посилює його цитотоксичний ефект щодо злویкісних клітин порівняно з нативним препаратом [18, 19]. Однак іммобілізація доксорубіцину на нанорозмірному носії лише знижувала його ефективну концентрацію і ніяк не впливала на токсичність цієї сполуки. Було зроблено припущення, що додаткова іммобілізація N-ацилетаноламінів на молекулі наноконструкції буде знижувати токсичність доксорубіцину по відношенню до нормальних клітин організму, в той самий час додатково пригнічуючи ріст пухлинних клітин.

Метою роботи було вивчити ефекти наноконструктивних систем доксорубіцину, N-ацилетаноламінів і суспензії NSE на тканини серця, печінки, нирок та плазму крові мишей-пухлиноносіїв, а також дослідити механізми, що опосередковують антитоксичні ефекти N-стеароїлетаноламіну.

Матеріали і методи

Досліди проводили на мишах-самицях з масою тіла 210–240 г, яким у праву задню лапу було перещеплено карциному Льюїс.

Тварин відповідно до умов експерименту було поділено на групи: «Інтактні» – гру-

па інтактних мишей-самиць ($n = 7$). «Пухлина» – група тварин з карциною ($n = 6$). «Пухлина + NSE» – група тварин із карциною, яка отримувала суспензію NSE *per os* в дозі 250 мг/кг двічі на день протягом 7 діб ($n = 7$). «Доксорубіцин» – група тварин із карциною, яким робили три ін'єкції доксорубіцину внутрішньочеревино в дозі 4 мг/кг з інтервалом введення через добу ($n = 8$). «Доксорубіцин + NSE» – група тварин із карциною, яка отримувала суспензію NSE *per os* в дозі 250 мг/кг двічі на день протягом 7 діб та доксорубіцин внутрішньочеревино в концентрації 4 мг/кг трьома ін'єкціями з інтервалом введення через добу ($n = 8$). Композит – «NSE + DoxK» – група тварин із карциною, яка отримувала іммобілізовані на олігопероксиді (полівінілпіролідон) NSE та доксорубіцин ($n = 7$).

Тканини серця, нирок та печінки гомогенізували у фізіологічному розчині в співвідношенні: 9 вагових частин розчину і одна вагова частина тканини за масою, внаслідок чого отримували 10%-й гомогенат.

Визначення вмісту протеїну проводили за методом Лоурі [20]. Активність каталази [1.11.1.6] визначали за швидкістю розпаду пероксиду водню за методом Королюк [21], активність супероксиддисмутази (СОД) [1.15.1.1] в гомогенатах тканини і плазмі крові визначали за методом [22]. Принцип визначення ґрунтується на відновленні нітросинього тетразолію супероксидними радикалами, які утворюються в реакції між феназинметасульфатом і NADH. Утворення нітроформазау, продукту відновлення нітротетразолію, блокується СОД. Отже, за кількістю нітроформазау в пробі можна оцінити активність СОД. Активність глутатіонпероксидази (ГП) [1.11.1.9] визначали за накопиченням у середовищі інкубації окисленого глутатіону [23]. У плазмі крові піддослідних тварин досліджували активність аспартатамінотрансферази і аланінамінотрансферази, рівень сечовини та креатиніну за допомогою наборів реактивів ТОВ «Філісіт - Діагностика» Україна [24].

Статистичну обробку результатів здійснювали методом Стюдента. На діаграмах зазначали стандартну похибку.

Результати та обговорення

Критерієм нефротоксичності препаратів є рівень сечовини та креатиніну в плазмі крові. Перевірка цих показників під час хіміотерапії – обов'язкова ланка схеми лікування, яка необхідна для контролю перебігу метаболічних процесів та функціонування нирок хворих.

Показник рівня сечовини в плазмі крові використовують для оцінки клубочкової фільтрації. Водночас потрібно враховувати той факт, що рівень сечовини може підвищуватися за рахунок катаболізму протеїнів. На рис. 1 показано, що розвиток пухлини призводить до зростання рівня сечовини в плазмі крові. За введення доксорубіцину рівень сечовини плазми крові мишей-пухлиноносіїв також є підвищеним. Введення суспензії NSE на фоні доксорубіцину, а також введення композиту запобігає підвищенню рівня сечовини.

Одержані дані про зменшення рівня сечовини в плазмі крові мишей свідчать про здатність NSE як у вигляді суспензії, так і у складі композиту, знімати прояви нефротоксичності в умовах нашого експерименту.

Введення доксорубіцину спричинює підвищення рівня креатиніну в плазмі крові мишей-пухлиноносіїв (рис. 2). Введення суспензії NSE і композиту не знімає вищезазначеного ефекту доксорубіцину. Рівень креатиніну залишається підвищеним.

Відомо, що аспаратамінотрансфераза та аланінамінотрансфераза є внутрішньоклітинними ензимами. Зростання активності цих ензимів відбувається при патологіях, перебіг яких пов'язаний з некрозом клітин. Підвищення активності аспаратамінотрансферази в плазмі крові є клінічним маркером інфаркту міокарда, а рівень активності аланінамінотрансферази характеризує ступінь ушкодження печінки

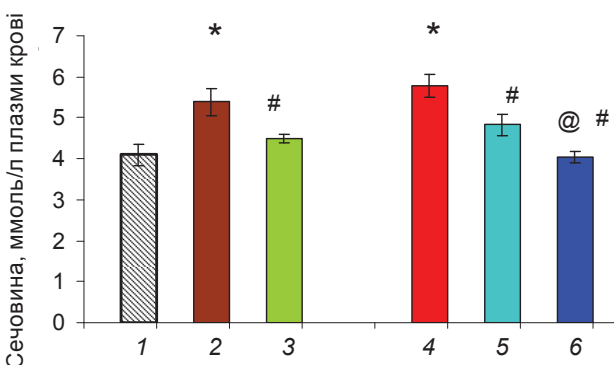


Рис. 1. Вміст сечовини в плазмі крові мишей (ммоль/л плазми): 1 – Інтактні; 2 – Пухлина; 3 – Пухлина+NSE; 4 – Доксорубіцин; 5 – Доксорубіцин+NSE; 6 – NSE+DoxK. Тут і на рис. 2–9: * зміни вірогідні відносно групи «Інтактні» ($P < 0,05$); # зміни вірогідні відносно групи «Пухлина» ($P < 0,05$); @ зміни вірогідні відносно групи «Доксорубіцин» ($P < 0,05$)

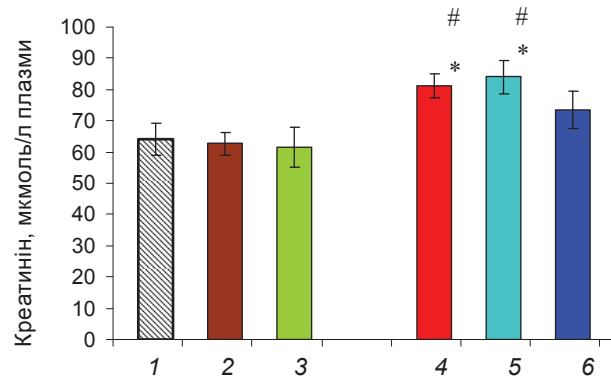


Рис. 2. Вміст креатиніну в плазмі крові мишей (мкмоль/л плазми): 1 – Інтактні; 2 – Пухлина; 3 – Пухлина+NSE; 4 – Доксорубіцин; 5 – Доксорубіцин+NSE; 6 – NSE+DoxK

за деяких патологічних станів, що пов'язані з деструкцією клітин печінки [25].

Деструкція клітин під дією доксорубіцину відбувається за рахунок зростання експресії індукцибельної NO-синтази міокарда, що, в свою чергу, призводить до підвищення оксидативного та нітрозативного стресу. Активні форми кисню та азоту призводять до нітрування протеїнів та окислення ліпідів, що в кінцевому разі спричинює загибель клітини шляхом некрозу [26].

На рис. 3. показано, що розвиток пухлини спричинює зростання активності аспаратамінотрансферази. Введення доксорубіцину не змінює активності ензиму в крові пухлиноносіїв. У разі введення суспензії NSE на фоні доксорубіцину активність аспаратамінотрансферази дещо знижується. Виразніший ефект спостерігається за дії композиту.

Одержані дані свідчать на користь того, що введення NSE як у вигляді суспензії, так і у складі композиту сприяє зниженню активності аспаратамінотрансферази. Такий ефект відображає часткове зняття токсичних проявів доксорубіцину в тканині серця.

На рис. 4. показано, що застосування доксорубіцину підвищує активність аланінамінотрансферази в плазмі крові. Пероральне введення суспензії NSE не знімає ефектів, спричинених доксорубіцином. Введення доксорубіцину у складі композиту попереджає зростання активності аланінамінотрансферази у плазмі крові.

Запобігання зростання активності аланінамінотрансферази виявлено лише за застосування композиту, що свідчить про його

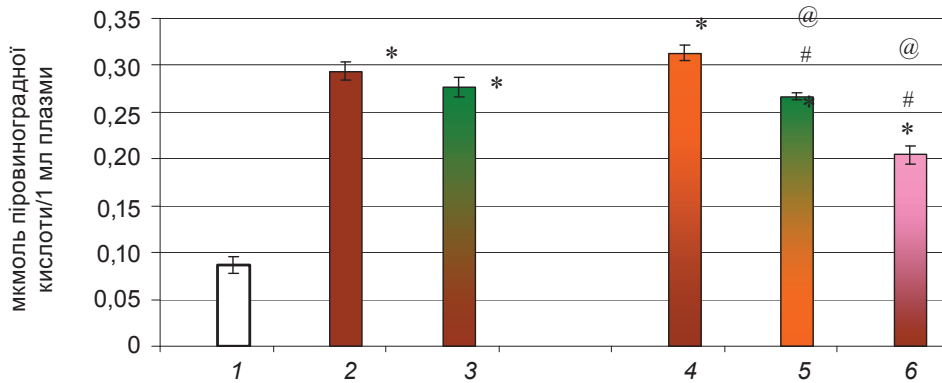


Рис. 3. Активність аспаратамінотрансферази в плазмі крові мишей: 1 – Інтактні; 2 – Пухлина; 3 – Пухлина+NSE; 4 – Доксорубіцин; 5 – Доксорубіцин+NSE; 6 – NSE+DoxK

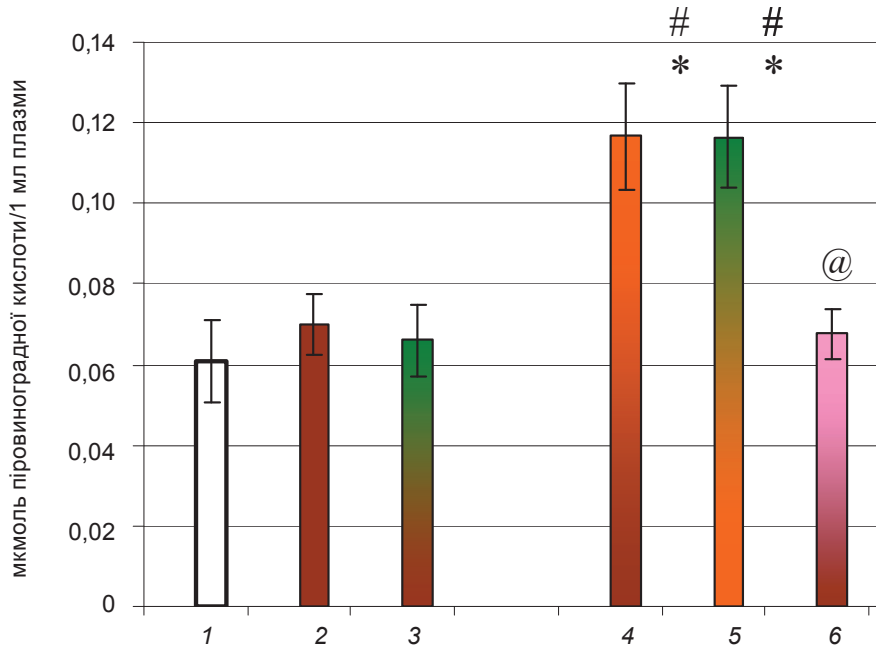


Рис. 4. Активність аланінамінотрансферази в плазмі крові мишей: 1 – Інтактні; 2 – Пухлина; 3 – Пухлина+NSE; 4 – Доксорубіцин; 5 – Доксорубіцин+NSE; 6 – NSE+DoxK

виражений антитоксичний ефект у тканині печінки.

Із даних літератури відомо, що розвиток онкологічного процесу призводить до розбалансування активності ензимів антиоксидантного захисту тканин безпосередньо не уражених пухлиною, зокрема до зменшення активності супероксиддисмутази [27].

Наші результати, представлені на рис. 5, добре узгоджуються з даними літератури. Розвиток пухлини супроводжується зменшенням у тканині серця активності супероксиддисмутази. Доксорубіцин сам і в комплексі із

суспензією NSE не змінює активність ензиму, а введення NSE у складі композиту сприяє відновленню активності супероксиддисмутази до рівня його в інтактних тварин.

Під час дослідження активності глутатіонпероксидази та каталази в тканині серця мишей з карциномою Льюїс вірогідні зміни не зафіксовано.

Таким чином, в наших експериментах встановлено, що застосування композиту сприяє нормалізації активності супероксиддисмутази в тканині серця. Раніше було показано, що введення суспензії NSE зменшує

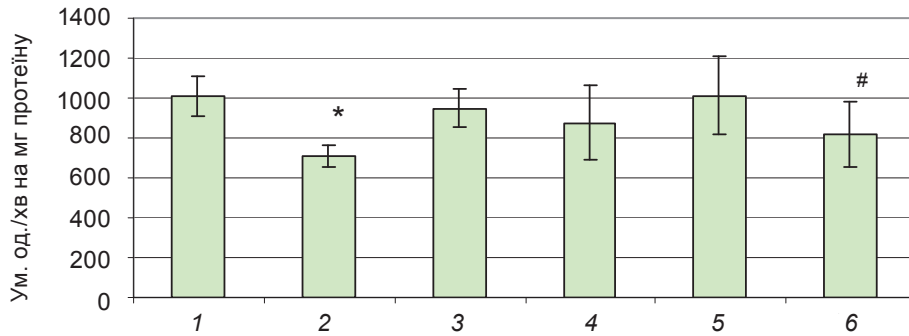


Рис. 5 Активність супероксиддисмутази в тканині серця мишей: 1 – Інтактні; 2 – Пухлина; 3 – Пухлина+NSE; 4 – Доксорубіцин; 5 – Доксорубіцин+NSE; 6 – NSE+DoxK

активність індукцибельної NO-синтази аорти та серця щурів [28]. Одержаний нами ефект може бути реалізований за рахунок модуляції композитом активності індукцибельної NO-синтази, що, в свою чергу, приводить до зменшення продукції активних форм кисню та азоту, які здатні впливати на активність ензимів антиоксидантного захисту.

Дослідження активності глутатіонпероксидази (рис. 6) у тканині нирок мишей-пухлиноносіїв показали, що в умовах розвитку карциноми спостерігається вірогідне збільшення активності цього ензиму порівняно з групою інтактних тварин. Пероральне введення суспензії N-стеароїлетаноламіну та композиту не знімає ефектів, спричинених розвитком пухлини.

При визначенні активності каталази тканини нирок мишей з карциномою Льюїс було показано, що розвиток пухлини також призводить до зростання активності цього ензиму. Введення суспензії N-стеароїлетаноламіну та композиту не спричиняє вірогідних змін щодо активності цього ензиму.

Цікаво, що найбільшою мірою як і у разі вивчення ензимів антиоксидантного захисту серця, змінювалась активність супероксиддисмутази, хоча спрямованість цих змін у різних органах була різною, що вказує на органоспецифічні ефекти препаратів. Результати, представлені на рис. 7, демонструють, що пухлинний ріст призводить до зростання активності супероксиддисмутази в тканині нирок мишей-пухлиноносіїв. Введення доксорубіцину не спричиняє істотних змін активності супероксиддисмутази. Введення суспензії N-стеароїлетаноламіну не призводить до змін активності цього ензиму, які були зумовлені розвитком пухлини. Застосування композиту приводить до нормалізації активності супероксиддисмутази.

Найвираженіші зміни активності ензимів антиоксидантного захисту спричиненні розвитком пухлини, було виявлено в печінці. Цікаво, що саме в цьому органі активність глутатіонпероксидази і супероксиддисмутази залежать від дії NSE та доксорубіцину. Дослідження активності глутатіонпероксидази

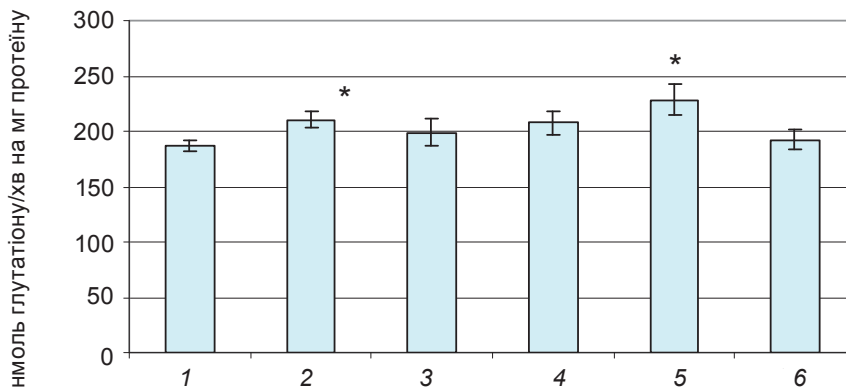


Рис. 6. Активність глутатіонпероксидази в тканині нирок мишей: 1 – Інтактні; 2 – Пухлина; 3 – Пухлина+NSE; 4 – Доксорубіцин; 5 – Доксорубіцин+NSE; 6 – NSE+DoxK

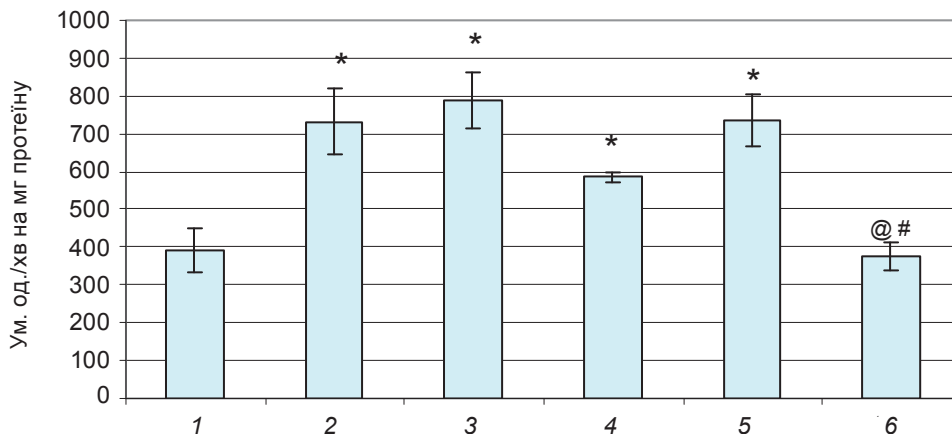


Рис. 7. Активність супероксиддисмутази в тканині нирок мишей: 1 – Інтактні; 2 – Пухлина; 3 – Пухлина+NSE; 4 – Доксорубіцин; 5 – Доксорубіцин+NSE; 6 – NSE+DoxK

в тканині печінки, представлені на рис. 8, показали, що розвиток пухлини призводить до зменшення активності вищезазначеного ензиму. Введення доксорубіцину посилює зміни активності ензиму, спричинені розвитком пухлини. Застосування композиту, але не суспензії NSE, запобігає падінню активності глутатіонпероксидази в тканині печінки.

Дані, представлені на рис. 9, демонструють зростання активності супероксиддисмутази в тканині печінки мишей-пухлиноносіїв. Отже, розвиток онкологічного процесу спричинює активацію одного з основних ензимів антиоксидантного захисту в усіх досліджуваних органах. Введення доксорубіцину не впливає на активність супероксиддисмутази тканини печінки. Введення NSE як без доксорубіцину, так і на фоні застосування доксорубіцину

нормалізує активність супероксиддисмутази в умовах усіх застосованих нами способів його введення.

Суспензія NSE знижує рівень сечовини в плазмі крові пухлиноносіїв, зростання якого було виявлено як наслідок введення доксорубіцину. У плазмі крові мишей-пухлиноносіїв суспензія NSE та композит знижує активність аспаратамінотрансферази – основного маркера пошкодження тканини серця, зростання якої спричинено розвитком пухлини. Доксорубіцин підвищує активність аланінамінотрансферази – маркера ураження печінки в крові пухлиноносіїв, а введення композиту запобігає зростанню активності ензиму. N-стеароїлетаноламін здебільшого сприяє нормалізації активності ензимів анти-

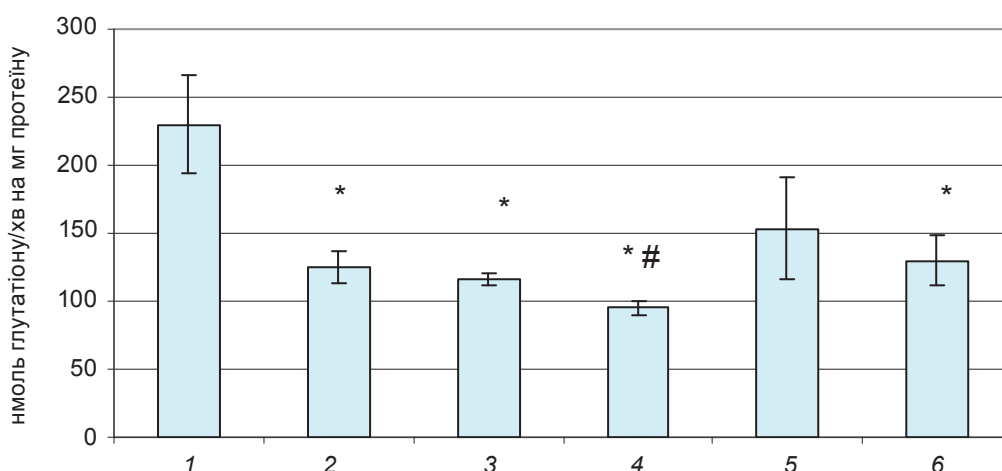


Рис. 8. Активність глутатіонпероксидази в тканині печінки мишей: 1 – Інтактні; 2 – Пухлина; 3 – Пухлина+NSE; 4 – Доксорубіцин; 5 – Доксорубіцин+NSE; 6 – NSE+DoxK

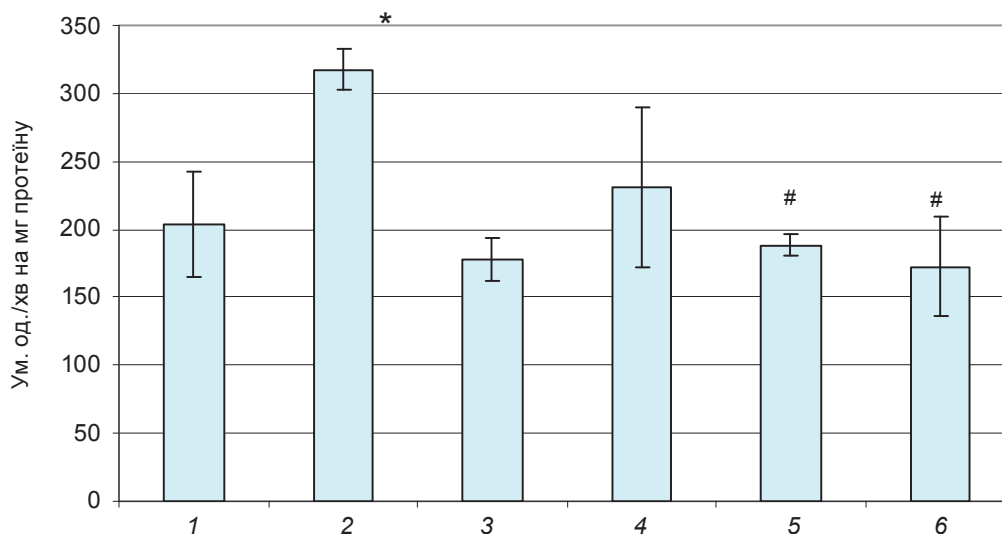


Рис. 9. Активність супероксиддисмутази в тканині печінки мишей: 1 – Інтактні; 2 – Пухлина; 3 – Пухлина+NSE; 4 – Доксорубіцин; 5 – Доксорубіцин+NSE; 6 – NSE+DoxK

оксидантного захисту тканин серця, нирок та печінки мишей – пухлиноносіїв, що отримували доксорубіцин.

АНТИТОКСИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ N-СТЕАРОИЛЭТАНОЛАМИНА В СОСТАВЕ СУСПЕНЗИИ И НАНОКОМПЗИТНОГО КОМПЛЕКСА В ОРГАНАХ МЫШЕЙ С КАРЦИНОМОЙ ЛЬЮИС В УСЛОВИЯХ ВВЕДЕНИЯ ДОКСОРУБИЦИНА

Е. А. Гудзь¹, Н. М. Гуляя¹, Т. А. Хмель¹,
Т. Н. Горидько¹, Ю. Н. Башта¹,
Р. Р. Панчук², Р. С. Стойка²,
А. А. Рябцева³, А. С. Заиченко³

¹Институт биохимии им. А. В. Палладина
НАН Украины, Киев;
e-mail: ngula@biochem.kiev.ua;

²Институт биологии клетки НАН Украины, Львов;

³Национальный университет «Львовская
Политехника», Украина

На модели острой интоксикации доксорубицином в условиях развития карциномы Льюис у мышей-самок в ткани сердца, почек, печени и плазме крови показаны антиоксидантные эффекты N-стеароилэтанолamina

(NSE) в составе нанокмпозитного комплекса и в суспензии. Суспензия NSE снижает уровень мочевины в плазме крови опухоленосителей, рост которого был обнаружен в результате введения доксорубицина. При введении нанокмпозитного комплекса концентрация этого метаболита остается на уровне его у интактных животных. В плазме крови мышей-опухолелносителей суспензия NSE и кмпозит снижают активность аспаратаминотрансферазы, основного маркера повреждения ткани сердца, рост активности которой был вызван развитием опухоли. Доксорубицин повышает активность аланинаминотрансферазы, маркера поражения печени, в крови опухоленосителей, введение NSE в составе кмпозита предотвращает рост активности энзима. N-стеароилэтанолaмин как в составе нанокмпозитного комплекса, так и в составе суспензии способствует восстановлению баланса активности энзимов антиоксидантной защиты тканей сердца, почек и печени мышей-опухолелносителей, которые получали доксорубицин.

Ключевые слова: N-стеароилэтанолaмин, доксорубицин, сердце, почки, печень, нанокмпозиты, системы транспорта препаратов.

**ANTITOXICAL EFFECTS
OF N-STEAROYLETHANOLAMINE
IN SUSPENSION AND
IN NANOCOMPOSITE COMPLEX
IN THE ORGANS OF MICE WITH
THE LEWIS CARCINOMA UNDER
DOXORUBICIN ADMINISTRATION**

*I. A. Goudz¹, N. M. Gula¹, T. O. Khmel¹,
T. M. Goridko¹, Y. M. Bashta¹,
R. R. Panchuk², R. S. Stoika²,
A. A. Ryabtseva³, O. S. Zaichenko³*

¹Palladin Institute of Biochemistry, National
Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: ngula@biochem.kiev.ua;

²Institute of Cell Biology, National Academy
of Sciences of Ukraine, Lviv;

³National University Lviv Politekhnik, Ukraine

S u m m a r y

The antioxidant effects of N-stearoylethanolamine (NSE) in the nanocomplex composition and in suspension are shown on the model of intoxication by doxorubicin in conditions of development of the Lewis carcinoma in the heart, kidneys and liver tissue and in the blood plasma of female mice. The NSE suspension reduces the level of urea in the blood plasma of mice with the Lewis carcinoma, which growth was revealed as a result of introduction of doxorubicin. Under introduction of nanocomplex the amount of urea remains at the level of that in the intact mice. In the blood plasma of mice with the Lewis carcinoma the NSE suspension and nanocomplex reduce activity of aspartate aminotransferase, the basic marker of necrosis of the heart tissue, growth of which was caused by the tumour development. Doxorubicinum increases activity of alanine aminotransferase, the marker of the liver lesion; introduction of NSE in the nanocomplex composition prevents the growth of the enzyme activity. N-stearoylethanolamine, both in the nanocomplex and in suspension, modulates activity of enzymes of antioxidative protection of the heart, kidney and liver tissue of mice with the Lewis carcinoma.

Key words: N-stearoylethanolamine, doxorubicin, heart, kidney, liver, delivery of medications systems.

1. Dutta R. C. // *Curr. Pharm. Des.* – 2007. – **13**, N 7. – P. 761–769.
2. Young R. C., Ozols R. F., Myers C. E. // *N. Engl. J. Med.* – 1981. – **305**. – P. 139–153.

3. Takemura G., Fujiwara H. // *Prog. Cardiovasc. Dis.* – 2007. – **49**, N 2. – P. 330–352.
4. Mukhopadhyay P., Rajesh M., Batakai S. et al. // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* – 2009. – **296**, N 5. – H.1466–H.1483.
5. Pacher P., Beckman J. S., Liaudet L. // *Physiol. Rev.* – 2007. – **87**, N 1. – P. 315–424.
6. Bai P., Mabley J. G., Liaudet L. et al. // *Oncol. Rep.* – 2004. – **11**, N 2. – P. 505–508.
7. Myers C. E., McGuire W. P., Liss R. H. et al. // *Science.* – 1977. – **197**. – P. 165–167.
8. Tokarska-Schlattner M., Zaugg M., Zuppinger C. et al. // *J. Mol. Cell Cardiol.* – 2006. – **41**, N 3. – P. 389–405.
9. Nicolay K., Aue W. P., Seelig J. et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1987 – **929**, N 1. – P. 5–13.
10. Kintzel P. E. // *Drug. Saf.* – 2001. – **24**, N 1. – P. 19–38.
11. Reinhold S. W., Reichle A., Leiminger S. et al. // *M.C. Res. Notes.* – 2011. – **4**, N 2. – P. 4–24.
12. Casanova M. L., Blazquez C., Martinez-Palacio J. et al. // *J. Clin. Invest.* – 2003. – **111**, N 1. – P. 43–50.
13. Vignot S., Besse B., de la Motte Rouge T. et al. // *Bull Cancer.* – 2006. – **93**, N 2. – P. 163–170.
14. Flygare J., Gustafsson K., Kimby E. et al. // *FEBS Lett.* – 2005. – **579**, N 30. – P. 6885–6889.
15. Sarnataro D., Grimaldi C., Pisanti S. et al. // *Ibid.* – N 28. – P. 6343–6349.
16. Nithipatikom K., Endsley M. P., Isbell M.A. et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2005. – **332**, N 4. – P. 1028–1033.
17. Гула Н. М., Хмель Т. О., Клімашевський В. М. *и др.* // *Укр. біохім. журн.* – 2006. – **78**, № 1. – С. 135–142.
18. Zaichenko A., Mitina N., Shevchuk O. et al. // *Pure Appl. Chem.* – 2008. – **80**, N 11. – P. 2309–2326.
19. Zaichenko O., Stoika R., R. Mitina R. et al. // *Біотехнологія.* – 2008. – **1**, N 1. – С. 86–99.
20. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L. et al. // *J. Biol. Chem.* – 1951. – **193**, N 1. – P. 265–275.
21. Королюк М. Л., Иванова Л. И., Майорова И. Г. *и др.* // *Лаб. дело.* – 1988. – № 1. – С. 16–18.
22. Чвари С., Андел Т., Штрэнгер Я. // *Там же.* – 1991. – № 10. – С. 9–13.
23. Перселегина И. А. // *Там же.* – 1989. – № 11. – С. 20–23.
24. Тиц Н. А. // *Энциклопедия клинических лабораторных тестов.* – 1997 – С. 277–178.
25. Анисимов А. А. / *Медицинская энзимология.* – Горький, 1978. – 150 с.

26. *Pacher P., Beckman J. S., Liaudet L.* // *Physiol. Rev.* – 2007. – **87**, N 1. – P. 315–424.
27. *Tu H. L., Xiao J. X., Sun H. B. et al.* // *J. South. Med. Univ.* – 2011. – **31**, N 9. – P. 1518–1520.
28. *Гула Н. М., Косякова Г. В., Бердишев А. Г.* // *Укр. біохім. журн.* – 2007. – **79**, № 5 – С. 153–157.

Отримано 26.01.2012