

ВПЛИВ ІНГІБІТОРІВ ПОЛІ(ADP-РИБОЗО)ПОЛІМЕРАЗИ НА ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В ЛЕЙКОЦИТАХ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

М. М. ГУЗИК¹, К. О. ДЯКУН¹, Л. В. ЯНИЦЬКА², Т. М. КУЧМЕРОВСЬКА¹

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

²Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця, Київ, Україна;

Досліджено вплив специфічних інгібіторів полі(ADP-рибозо)полімерази-1 (PARP-1), зокрема нікотинамід та 1,5-ізохіноліндіолу на лейкоцити крові щурів за цукрового діабету (ЦД). Із використанням флуоресцентного зонда 2',7'-дихлородигідрофлуоресцеїн діацетату оцінено продукування активних форм кисню в лейкоцитах. Встановлено, що розвиток ЦД, індукованого стрептозотоцином, супроводжується інтенсифікацією окислювального стресу та значним зниженням життєздатності лейкоцитів порівняно з контрольною групою тварин. Введення інгібіторів PARP-1 запобігало розвитку окислювального стресу в лейкоцитах та підвищувало їх життєздатність. Виявлено зниження активності супероксиддисмутази в сироватці крові за ЦД. Досліджувані інгібітори PARP-1 не впливали на активність супероксиддисмутази та на рівень глюкози в крові. Одержані дані свідчать про інтенсифікацію окислювального стресу в лейкоцитах тварин з ЦД і здатність нікотинамід та 1,5-ізохіноліндіолу запобігати його розвитку.

Ключові слова: нікотинамід, 1,5-ізохіноліндіол, полі(ADP-рибозо)полімераза-1, лейкоцити крові, активні форми кисню, життєздатність клітин, експериментальний цукровий діабет.

Цукровий діабет (ЦД) є багатofакторним метаболічним захворюванням із характерною для нього гіперглікемією, яка виникає внаслідок дефіциту інсуліну або через інсулінорезистентність, що нерідко призводить до інвалідизації і навіть смерті [1]. Це захворювання супроводжується численними ускладненнями та становить на даний час одну з найважливіших медико-соціальних проблем, яка потребує науково обґрунтованого вирішення, оскільки його поширеність з кожним роком зростає і швидко «молодіє» [2]. Так, кількість хворих на ЦД в Україні постійно зростає у зв'язку із забрудненням навколишнього середовища, недостатнім фізичним навантаженням, курінням і становить понад 1 млн. осіб. Цукровий діабет називають «епідемією XXI століття», моральний та соціальний тягар якого обумовлений, передусім, розвитком ускладнень (мікро- та макроангіопатій, нефропатій, ретинопатій, нейропатій тощо), які істотно знижують тривалість та якість життя хворих [3]. Діабет 1 типу характеризується прогресуючою автоімунною деструкцією β-клітин підшлункової залози, у разі чого може виникати дефіцит інсуліну. Це призво-

дить до метаболічних та функціональних порушень основних ланок вуглеводного, ліпідного та протеїнового обміну [4]. Спостерігається гіперглікемія та інтенсифікація утворення активних форм кисню (АФО), зокрема: супероксидного аніону, гідроксильних радикалів, генерування яких переважно здійснюється через систему NADPH-оксидази у багатьох клітинах, а також оксиду азоту, пероксинітриду тощо. Ці реакційно активні молекули діють на β-клітини підшлункової залози і можуть зумовлювати їхню апоптичну загибель [5]. У свою чергу, інтенсифікація окислювального стресу при діабеті 1 і 2 типів спричинює модифікацію протеїнів, активацію сигнальних шляхів, активацію запальних процесів, що сприяє розвитку загибелі клітин у багатьох тканинах живих організмів і є характерним для обох його типів. Тобто, пошкодження різних типів клітин та їхня загибель значною мірою залежить від надмірного утворення АФО, що призводить до розвитку окислювального стресу в клітинах [6]. Слід зазначити, що ДНК, ліпіди і протеїни клітин є основними мішенями для АФО, оскільки виникає дисбаланс між утворенням та знешкоджен-

ням вільних радикалів. Відомо, що діабет супроводжується змінами ендоплазматичного ретикулума [7], які вважають одним із ключових чинників, що призводять як до втрати β -клітин підшлункової залози так і до розвитку інсулінорезистентності [8].

Як уже згадувалося, високий рівень глюкози крові спричиняє виникнення запальних процесів, на що в першу чергу реагують клітини крові, зокрема лейкоцити [9]. Лейкоцити відіграють важливу роль у розвитку процесу запалення, їх прилипання до стінок артерій є початком розвитку атеросклерозу [10]. На даний час вважають, що окислювальний стрес та запалення відіграють значну роль не тільки в патогенезі судинних захворювань, але й в патогенезі цукрового діабету обох типів.

Лейкоцити досить неоднорідна за складом сукупність клітин, які відрізняються один від одного за своїм походженням, морфологією, цитохімічними та функціональними властивостями. Зміни в їх перерозподілі можуть бути обумовлені захворюваннями системи крові та реакцією кровотворного апарату на розвиток різноманітних патологічних станів [11].

Так, встановлено, що гіперглікемія спричинює зниження активності імунної системи, через це пацієнти, хворі на діабет, є групою ризику по відношенню до інфекцій, причому цей ризик посилюється через серцево-судинні ускладнення [12].

Однак на сьогодні механізми, які лежать в основі функціональних порушень та загибелі різних клітин організму за ЦД остаточно нез'ясовані. Тому, пошук сполук із цитопротекторними властивостями для захисту організму від пошкоджуючої дії вільних радикалів є однією із важливих проблем у лікуванні ЦД.

Серед препаратів широкого спектра дії, нами для досліджень був вибраний нікотинамід (NAm), який може специфічно інгібувати ключовий ензим процесів рибозилування протеїнів – полі(ADP-рибозо)полімерази-1 (PARP-1; 2.4.2.30) [13]. Цей ензим відіграє істотну роль у підтриманні функціональної цілісності геному в разі різних уражень, у тому числі і через АФО. Дію NAm порівнювали із структурно відмінним інгібітором цього ензиму – 1,5-ізохіноліндіолом (ISO).

У зв'язку з цим, надзвичайно актуально проведення досліджень, які дали б змогу оцінити наявність функціональних змін за ЦД у лейкоцитах крові. Такі дослідження не тільки дозволять з'ясувати деякі патогенетичні механізми, які лежать в основі розвитку та перебігу ЦД, але й сприятимуть

цілеспрямованому пошуку препаратів для корекції цього захворювання.

Метою роботи було з'ясувати чи існує зв'язок між процесами полі-ADP-рибозилування протеїнів та окислювальним стресом у лейкоцитах крові за різного ступеню їх життєздатності та визначити чи впливають інгібітори полі(ADP-рибозо)полімерази (NAm та ISO) на функціонування лейкоцитів.

Матеріали і методи

Дослідження проводили на інтактних щурах-самцях лінії Вістар з масою тіла 230–250 г, при вільному доступі тварин до їжі та води. Тварини були розділені на чотири групи по 15 щурів у кожній. Щурам контрольної групи внутрішньочеревинно вводили 0,5 мл 0,1 М цитратного буфера, рН 4,5. У щурів 2, 3, 4 груп індукували експериментальний цукровий діабет одноразовим внутрішньочеревинним введенням стрептозотоцину (СТЗ, Sigma, США) у дозі 60 мг/кг, який розводили у 0,1 М цитратному буфері, рН 4,5. Діабетичним щурам 3 та 4 груп після шести тижнів розвитку діабету вводили внутрішньочеревинно нікотинамід (100 мг/кг) та 1,5-ізохіноліндіол (3 мг/кг) протягом 14 діб. Під час роботи враховували «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах» (Україна, 2001). Кров у тварин брали вранці після голодування (12 год) із ретробульбарного венозного синусу ока, під легким ефірним наркозом. Рівень глюкози крові визначали за допомогою глюкометра Precision Xtra Plus (MediSense UK Ltd., Oxon, Велика Британія). У дослідженнях використовували щурів із рівнем глюкози крові вище 19 ммоль/л. Лейкоцити отримували в день експерименту з периферичної крові піддослідних тварин шляхом лізису еритроцитів. Периферичну венозну кров у кількості 1 мл поміщали у пробірки, які містили гепарин із розрахунку 50 од. на 1 мл крові. Гепаринізовану кров змішували з холодним лізуючим розчином (0,15 моль/л NH_4Cl , 1 ммоль/л KHCO_3 , 0,1 ммоль/л ЕДТА, рН 7,2–7,4) у співвідношенні 1 : 20, ретельно струшували та інкубували 10 хв при 37 °С. Зразки еритроцитів, після закінчення часу лізису, центрифугували (400g, 5 хв) для осадження лейкоцитів. Відбирали супернатант, після чого осад двічі промивали фізіологічним розчином при центрифугуванні (400 g, 5 хв). Промитий осад ресуспендували до кінцевої концентрації – $5 \cdot 10^6$ кл/мл.

Наразі для оцінки оксидативного стресу в клітинах переважно використовуються стандартні методи вимірювання, які базують-

ся на здатності АФО окислювати субстрати з утворенням кольорових або флуоресцентних продуктів. Більш сучасним є метод протокової цитометрії, який дозволяє провести якісний та кількісний аналіз біологічних та фізичних властивостей клітин і субклітинних структур за кількома параметрами одночасно [14]. Тому в наших дослідженнях продукцію АФО, перерозподіл між різними популяціями лейкоцитів та їхню життєздатність оцінювали на протоковому цитометрі COULTER EPICS XL (Beckman Coulter, США), що оснащено аргонним лазером ($\lambda_{\text{збудж.}} = 488 \text{ нм}$).

Оцінку перерозподілу між різними популяціями лейкоцитів проводили з використанням двох параметрів протокового цитометра: розмір (за величиною прямого світлорозсіювання FS) та гранулярністю (за бічним світлорозсіюванням SS). Продукцію АФО в лейкоцитах крові вимірювали використовуючи 2',7'-дихлородигідрофлуоресцеїн діацетат (25 мкмоль/л), який після окислення перетворювався у флуоресціюючий 2',7'-дихлорфлуоресцеїн. Інтенсивність випромінювання зразків реєстрували за каналом FL1 (515–535 нм). Життєздатність клітин оцінювали за каналом FL3 (620–630 нм), використовуючи ядерний флуоресцентний зонд

пропідій йодид (10 мкг/мл), що проникає лише у мертві клітини та ті, у яких пошкоджена цитоплазматична мембрана [15]. Було проаналізовано більше 20 тис. подій з кожного зразка. Обробку результатів проводили за допомогою програми FCS Express V3. Це дало змогу одержати графічне зображення результатів (рис. 1).

Активність супероксиддисмутази (СОД, 1.15.1.11) визначали у сироватці крові піддослідних груп тварин згідно з методом, який ґрунтується на відновленні блідожовтого барвника нітросинього тетразолію до темно-фіолетового формагану [16].

Статистичну обробку одержаних результатів здійснювали за комп'ютерною програмою STATISTICA 10 із використанням непараметричного U-критерію Манна-Уїтні.

Результати та обговорення

Оскільки порушення метаболізму глюкози, що призводить до її надлишку у крові (гіперглікемії), є свідченням розвитку ЦД і «запускає» каскад патологічних процесів, доцільно було оцінити рівень глюкози крові у піддослідних тварин. Спочатку щурів всіх чотирьох груп (контроль, діабет, діабет + NAm та діабет + ISO) зважували, а потім визнача-

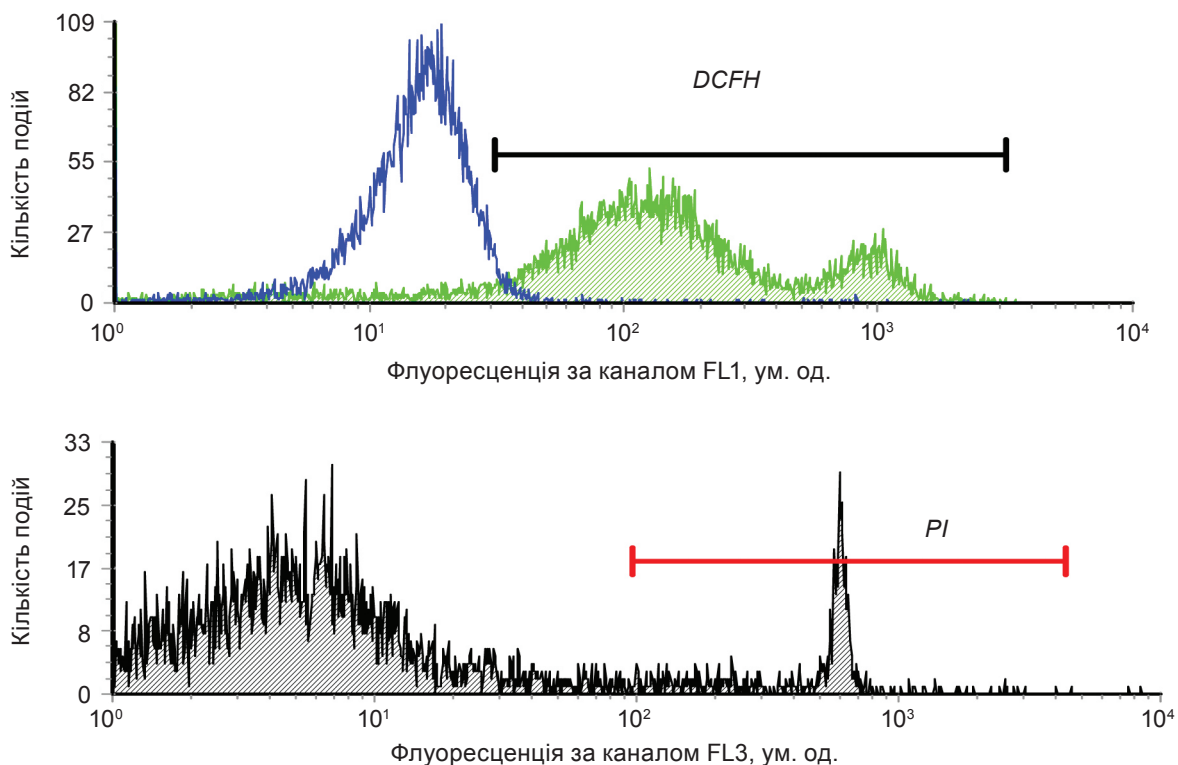


Рис. 1. Гістограма інтенсивності флуоресценції 2',7'-дихлорфлуоресцеїн діацетату (DCFH) та пропідій йодиду (PI) в препаратах лейкоцитів крові щурів

ли рівень глюкози крові у кожній групі. Маса тіла тварин та рівень глюкози крові на початку проведення експериментів були практично однакові у всіх чотирьох групах, тоді як після восьми тижнів розвитку діабету маса тіла діабетичних щурів зменшилась на 25%, а рівень глюкози крові підвищився у 3,5 раза у порівнянні з контрольними тваринами (рис. 2, 3 відповідно). Хронічне введення діабетичним щурам інгібіторів PARP-1 (NAm та ISO) не призводило до зростання маси тіла тварин, яка була знижена за діабету, та практично не впливало на рівень глюкози крові.

На тлі гіперглікемії важливо було оцінити чи впливає цей стан на життєздатність лейкоцитів крові. Як видно з представлених даних (рис. 4), ЦД призводить до значного зниження кількості живих клітин у крові тварин у порівнянні з контрольною групою. Можна припустити, що, принаймні частково, їх загибель зумовлена активацією апоптозу, оскільки згідно з даними літератури, лейкоцити гинуть внаслідок індукції цього процесу [17]. Той факт, що активація процесів полі-ADP-рибозилування залучена до патогенезу багатьох захворювань, зокрема ішемії, артритів, серцево-судинних дисфункцій, асоційованих із діабетом, інсультів, різних форм запалення тощо [18–20], використання інгібіторів PARP-1 може бути корисним для їх лікування. Вибрані нами інгібітори PARP-1 при їх двотижневому застосуванні запобігали загибелі клітин крові (рис. 4), причому ISO мав більш виражений ефект на життєздатність клітин у порівнянні з NAm.

В умовах експериментальної моделі ЦД, як виявлено нами, не тільки життєздатність

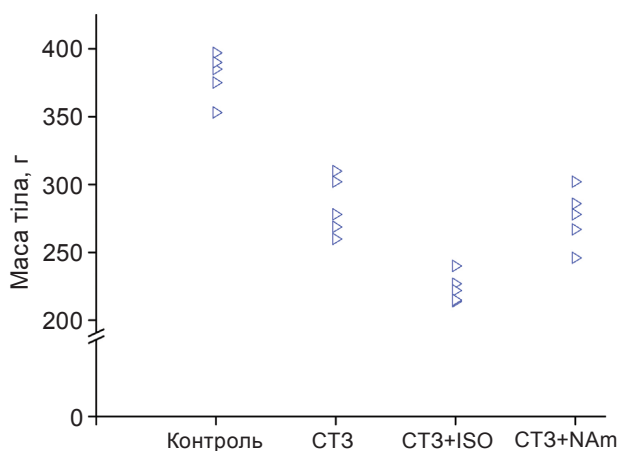


Рис. 2. Маса тіла у групах піддослідних тварин, n = 5

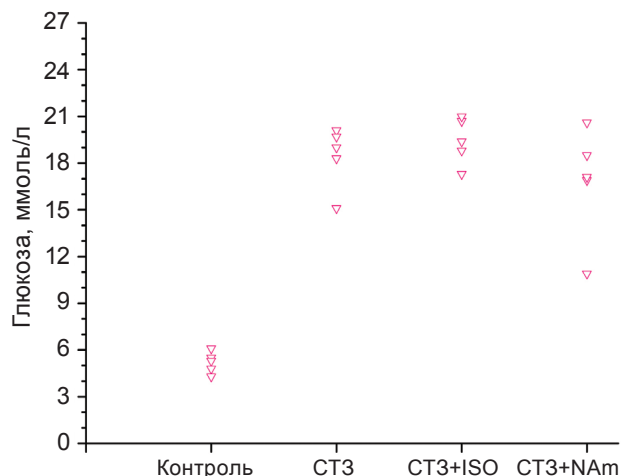


Рис. 3. Вміст глюкози в крові піддослідних тварин, n = 5

лейкоцитів крові знижується, але і відбуваються суттєві зміни у перерозподілі між двома основними типами лейкоцитів. Показано, що кількість гранулоцитів у крові за ЦД збільшується (рис. 5), і, можливо, це обумовлено інтенсифікацією запальних процесів в організмі тварин. Після хронічного введення щурам NAm спостерігали лише часткове відновлення рівноваги між кількістю гранулоцитів та агранулоцитів, у той час як застосування ISO сприяло відновленню цього параметра до рівня контролю.

Оскільки гіперглікемія «запускає» розвиток цілого каскаду патологічних процесів, то очікуваним було те, що в організмі тварин баланс між прооксидантами та компонентами системи антиоксидантного захисту (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза, вітаміни С та Е тощо) також буде зазнавати суттєвих змін. Крім того, відомо, що розвиток будь-якого патологічного процесу порушує цей баланс за рахунок посиленого утворення вільних радикалів або шляхом зниження рівня доступних антиоксидантів або ж за рахунок того та іншого. Наприклад, за цукрового діабету, який супроводжується ускладненнями, зокрема ішемічною хворобою серця, інфарктом міокарда, нефропатією тощо, підвищується рівень окислювального стресу, спричинений про- та антиоксидантним дисбалансом [21, 22].

Також було виявлено, що базальний рівень продукування АФО у лейкоцитах крові діабетичних щурів значно вищий у порівнянні з контрольною групою (рис. 6). При цьому, введення нікотинаміду та 1,5-ізохіноліндіолу при-

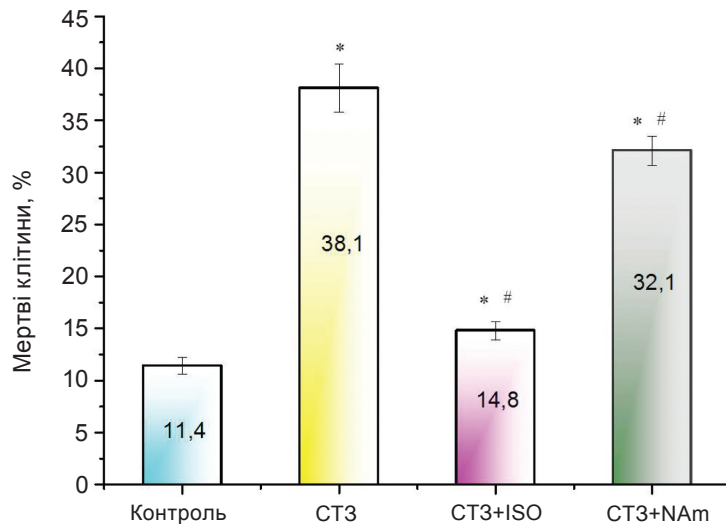


Рис. 4. Життєздатність лейкоцитів крові за цукрового діабету, * $P < 0,05$ порівняно з контролем; # $P < 0,05$ порівняно з групою СТ3

зводило до часткового зменшення рівня АФО в лейкоцитах. У той же час, незважаючи на те, що базальний рівень АФО у лейкоцитах крові за введення NAm був вищим, у порівнянні з групою якій вводили ISO, NAm має більш виражену антиоксидантну дію, свідченням чого є продукування АФО окремими типами лейкоцитів (рис. 7). Це можна пояснити тим, що у разі хронічного введення досліджуваних інгібіторів діабетичним щурам рівень продукування АФО в агранулоцитах практично не змінювався у порівнянні з діабетичною групою, тоді як введення NAm супроводжувалося зниженням рівня продукції АФО у грануло-

цитах крові. Виявилось неочікуваним те, що введення ISO прискорювало розвиток окислювального стресу, про що свідчить зростання рівня АФО в гранулоцитах. Проте, оскільки їх кількість в периферичній крові за введення ISO діабетичним щурам була значно меншою, ніж у випадку з NAm (рис. 5), невідповідність між результатами може бути обумовлена саме різницею у співвідношенні лейкоцитів крові (рис. 6, 7).

Під час оцінки стану антиоксидантної системи захисту за цукрового діабету, на тлі інтенсифікації окислювального стресу в лейкоцитах виявлено, що активність СОД (одного із основних ензимів цієї системи) у сироватці крові діабетичних щурів у незначній мірі знижувалася у порівнянні з показниками сироватки крові контрольної групи. Введення досліджуваних інгібіторів PARP-1 не вирівнювало активність СОД до контролю, більше того, ISO знижував її ще більше, в той час як NAm не впливав на активність ензиму у порівнянні з групою щурів із діабетом (рис. 8). Не зважаючи на те, що NAm пригнічував надактивацію процесу полі-ADP-рибозилування ядерних протеїнів та проявляв антиоксидантну активність при діабетичній енцефалопатії [23], у лейкоцитах крові він її не виявляв.

Встановлений нами коригуючий вплив NAm на життєздатність лейкоцитів крові може також реалізуватися шляхом підтримання клітинного пулу NAD^+ . Позитивний ефект NAm на життєздатність лейкоцитів може також реалізуватись і через його безпосередній

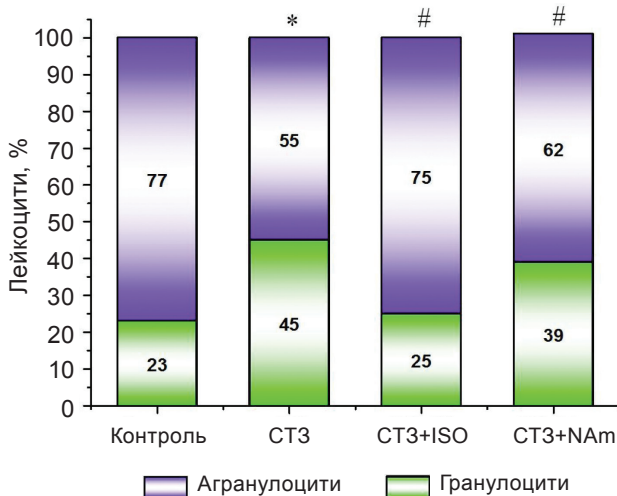


Рис. 5. Перерозподіл лейкоцитів крові у групах піддослідних тварин, * $P < 0,05$ порівняно з контролем; # $P < 0,05$ порівняно з групою СТ3

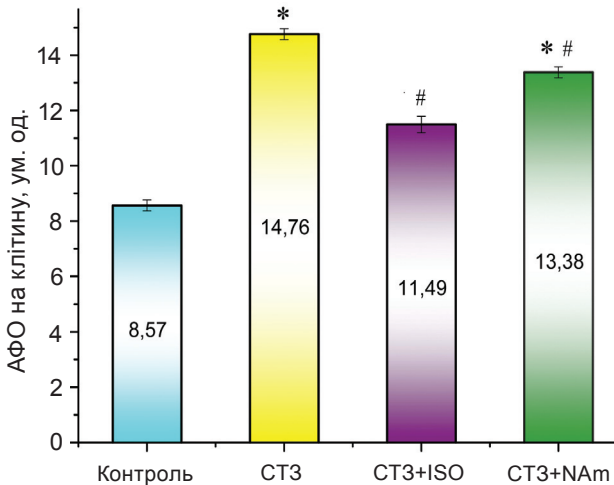


Рис. 6. Вплив NAm та ISO на рівень АФО у лейкоцитах крові діабетичних щурів, * $P < 0,05$ порівняно з контролем; # $P < 0,05$ порівняно з групою СТЗ

вплив на експресію гену стресорного протеїну р53, суттєво гальмуючи її або ж запобігаючи NAD^+ -залежному деацетилюванню р53, що зумовлено sig2a [24].

Можна припустити, що здатність NAm та його біологічно активних сполук впливати на розвиток окислювального стресу за ЦД, здійснюється як шляхом їх впливу на перебіг процесів, що відбуваються на поверхні зовнішньої мембрани клітин, так і на процеси, які протікають у цитозолі та ядрі клітин. Той

факт, що NAm запобігає деградації PARP-1 та сприяє репарації ДНК шляхом прямого інгібування каспази 3, як показано для нейрональних клітин, свідчить на користь того, що його цитопротекторна дія на клітини крові щурів може також реалізуватися і таким шляхом [25].

Роль ISO як інгібітора PARP-1 вже доведена [26, 27], однак, не виключено що він може впливати і на інші метаболічні шляхи, тим самим призводячи до сумарного позитивного ефекту на лейкоцити. Відомо, що ангіогенез залучений до патогенезу захворювань, для яких розвиток запалення є основним у прогресуванні хвороби, зокрема діабету, за якого має місце співіснування порушень у судинах та надмірний ангіогенез у різних органах [28]. Наразі з'явилися нові дані, що вказують на специфічний інгібітор PARP-1, ISO володіє здатністю запобігати інтенсифікації ангіогенезу при деяких типах ретинопатій, а також у разі пухлинного метастазування [29].

Надактивація синтази оксиду азоту (NOS-2) відіграє патогенетичну роль у розвитку процесів запалення та канцерогенезу [30, 31]. Було виявлено, що за умов *in vitro* в макрофагах миші ISO здатен інгібувати акумулювання нітриту в середовищі інкубації та індуктибельну NOS-2 [32]. Однак з'ясування механізму інгібувальної дії ISO потребує подальших досліджень, оскільки реалізація його дії цим шляхом *in vitro* не узгоджується з даними за його хронічного введення. Цілком

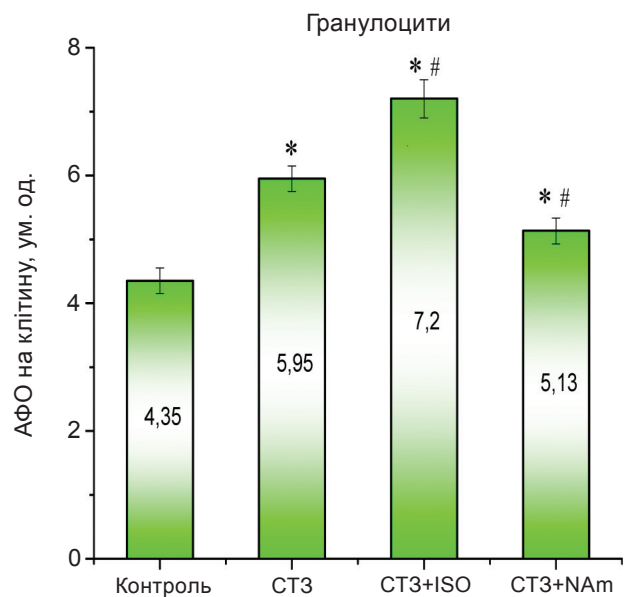
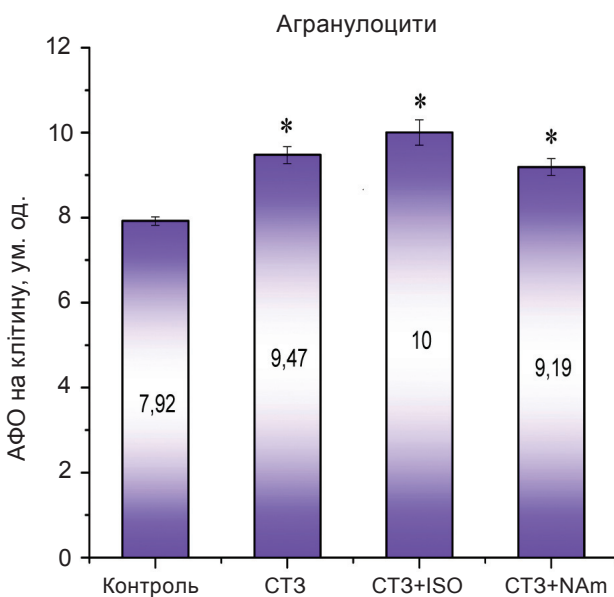


Рис. 7. Рівень АФО у гранулоцитах та агранулоцитах крові діабетичних щурів за впливу на них NAm та ISO, * $P < 0,05$ порівняно з контролем; # $P < 0,05$ порівняно з групою СТЗ

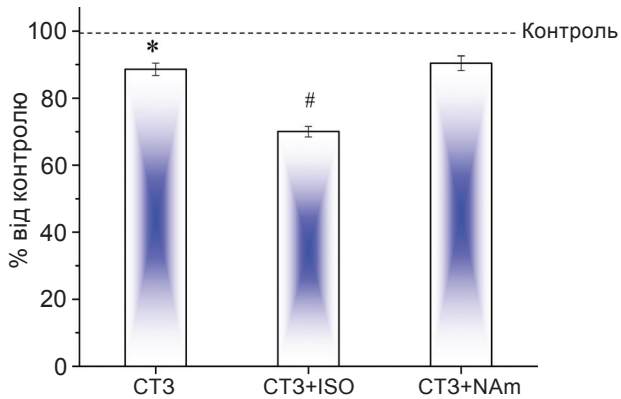


Рис. 8. Активність СОД у сироватці крові піддослідних груп щурів, * $P < 0,05$ порівняно з контролем; # $P < 0,05$ порівняно з групою СТЗ

імовірно, що в умовах наших досліджень ISO буде реалізувати свою дію не лише як інгібітор PARP-1, але й через залучення інших механізмів. Не зважаючи на те, що ці результати не дають остаточної відповіді щодо конкретного механізму зростання окислювального стресу в лейкоцитах, проте одним із механізмів його активації може бути активація протеїнкінази С підвищеними концентраціями глюкози, що продемонстровано деякими авторами [33].

Вплив інгібіторів полі(ADP-рибозо)-полімерази на досліджувані процеси виявився різним. Діючи позитивно на життєздатність лейкоцитів крові та рівень АФО, вони не впливали на активність СОД, що, з огляду на специфічний ефект на інгібування активності PARP-1, може свідчити про неспецифічність їх дії на лейкоцити крові у вибраних нами дозах.

Таким чином, було показано, що структурно відмінні, але специфічні інгібітори PARP-1 (нікотинамід та 1,5-ізохіноліндіол) не змінюють масу тіла та вміст глюкози в крові діабетичних щурів. Проте ці сполуки впливають на рівень АФО у лейкоцитах та проявляють цитопротекторну дію, причому NAм більш ефективний. Цей ефект залежить не тільки від впливу NAм і ISO на PARP-залежні процеси, що залучені до механізму загибелі клітин, але також може реалізуватися і за рахунок інших опосередкованих механізмів, в яких вони беруть участь.

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ ПОЛИ(ADP-РИБОЗО)ПОЛИМЕРАЗЫ НА НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ЛЕЙКОЦИТАХ КРОВИ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

М. М. Гузик¹, К. О. Дякун¹, Л. В. Яницкая², Т. М. Кучмеровская¹

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

²Национальный медицинский университет им. А. А. Богомольца, Киев, Украина;

Исследовано влияние специфических ингибиторов поли(ADP-рибозо)полимеразы-1 (PARP-1), в частности никотинамида и 1,5-изохинолиндиола, на лейкоциты крови крыс при сахарном диабете (СД). С использованием флуоресцентного зонда 2',7'-дихлородигидрофлуоресцеин диацетата оценено продуцирование активных форм кислорода в лейкоцитах. Установлено, что развитие СД, индуцированного стрептозотоцином, сопровождается интенсификацией окислительного стресса и значительным снижением жизнеспособности лейкоцитов крови по сравнению с контрольной группой животных. Введение ингибиторов PARP-1 предотвращало развитие окислительного стресса в лейкоцитах и повышало их жизнеспособность. Выявлено снижение активности супероксиддисмутазы в сыворотке крови при СД. Исследуемые ингибиторы PARP-1 не влияли на активность супероксиддисмутазы и на уровень глюкозы в крови. Полученные данные свидетельствуют об интенсификации окислительного стресса в лейкоцитах животных с СД и способность никотинамида и 1,5-изохинолиндиола предотвращать его развитие.

Ключевые слова: никотинамид, 1,5-изохинолиндиол, поли(ADP-рибозо)полимераза-1, лейкоциты крови, активные формы

кислорода, жизнеспособность клеток, экспериментальный сахарный диабет.

INFLUENCE OF POLY(ADP-RIBOSE) POLYMERASE INHIBITORS ON SOME PARAMETERS OF OXIDATIVE STRESS IN BLOOD LEUKOCYTES OF RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES

*M. M. Guzyk¹, K. O. Dyakun¹,
L. V. Yanitska², T. M. Kuchmerovska¹*

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

²O. O. Bogomolets' National Medical University, Kyiv, Ukraine;

The study was undertaken to investigate the influence of specific inhibitors of poly(ADP-ribose)polymerase-1 (PARP-1), in particular nicotinamide and 1,5-isoquinolinediol on white blood cells of rats with diabetes. Using the fluorescent probe 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate ROS production in leukocytes was assessed. It was found that the development of streptozotocin-induced diabetes was accompanied by an intensification of oxidative stress and a significant decrease in viability of blood leukocytes as compared to control animals. Administration of PARP-1 inhibitors prevented the development of oxidative stress in leukocytes and increased their viability. It was shown a reduction of superoxide dismutase activity in serum in diabetes. Investigated PARP-1 inhibitors had no effect on the activity of superoxide dismutase and glucose levels in the blood. The findings suggest the intensification of oxidative stress in leukocytes of diabetic animals and the ability of nicotinamide and 1,5-isoquinolinediol to prevent its development depending on the features of their structure.

Key words: nicotinamide, 1,5-isoquinolinediol, poly(ADP-ribose)polymerase-1, leukocytes, reactive oxygen species, viability of cells, experimental diabetes.

1. *Hossain P., Kowar B., El Nahas M.* // *N. Engl. J. Med.* – 2007. – **356**. – P. 213–215.
2. *Sicree R. A., Shaw J. E., Zimmet P. Z.* // *Diabetes. Res. Clin. Pract.* – 2010. – **87**, N 1. – P. 4–14.
3. *Brownlee M.* // *Diabetes.* – 2005. – **54**. – P. 1615–1625.
4. *Gillespie K. M.* // *Can. Med. Assoc. J.* – 2006. – **175**, N 2. – P. 165–170.
5. *Gehrmann W., Elsner M., Lenzen S.* // *Diabetes Obes. Metab.* – 2010. – **2**. – P. 149–158.
6. *Maiese K., Morhan S. D., Chong Z. Z.* // *Curr. Neurovasc. Res.* – 2007. – **4**. – P. 63–71.
7. *Lin J. H., Walter P., Yen T. S. B.* // *Mech. Disease.* – 2008. – **3**. – P. 399–425.
8. *Eizirik D. L., Cardozo A. K., Cnop M.* // *Endocr. Rev.* – 2008. – **29**, N 1. – P. 42–61.
9. *Shurtz-Swirski R., Sela S., Shapiro G. et al.* // *Diabetes Care.* – 2001. – **24**. – P. 104–110.
10. *Rosenberg D. E., Jabbour S. A., Goldstein B. J.* // *Diabetes Obes. Metab.* – 2005. – **7**. – P. 642–653.
11. *Molteni R., Fabbri M., Bender J. R., Pardi R.* // *Curr. Opin. Cell Biol.* – 2006. – **18**. – P. 491–498.
12. *Bertoni A. G., Saydah S., Brancati F. L.* // *Diabetes Care.* – 2001. – **24**. – P. 1044–1049.
13. *Diefenbach J, Burkle A.* // *Cell Mol. Life Sci.* – 2005. – **62**. – P. 721–730.
14. *Bass A., Parce J., Dechatelet L. et al.* // *J. Immunol.* – 1983. – **130**. – P. 1910–1917.
15. *Coder D. M.* // *Curr. Protoc. Cytom.* – 1997. – Suppl. 15. – P. 9.2.1–9.2.2.
16. *Ewing J. F., Janero D. R.* // *Anal. Biochem.* – 1995. – **232**. – P. 243–248.
17. *Otton R., Soriano F. G., Verlengia R., Curi R.* // *J. Endocrinol.* – 2004. – **182**. – P. 145–156.
18. *Cuzzocrea S.* // *Pharmacol. Res.* – 2005. – **52**. – P. 72–82.
19. *Evgenov O. V., Liaudet L.* // *Curr. Vasc. Pharmacol.* – 2005. – **3**. – P. 293–299.
20. *Virag L.* // *Curr. Vasc. Pharmacol.* – 2005. – **3**. – P. 209–214.
21. *Merzouk S., Hichami A., Sari A. et al.* // *Physiol. Biophys.* – 2004. – **23**. – P. 387–399.
22. *Bonnefont-Rousselot D., Bastard J. P., Jaudon M. C.* // *Diabet. Metab.* – 2000. – N 3. – P. 163–176.
23. *Kuchmerovska T., Shymanskyi I., Donchenko G. et al.* // *J. Diabetes Complications.* – 2004. – **18**, N 4. – P. 198–204.
24. *Luo J., Nikolaev A. Y., Imai S. et al.* // *Cell.* – 2001. – **107**. – P. 137–148.
25. *Chong Z. Z., Lin S. H., Li F., Maiese K.* // *Curr. Neurovasc. Res.* – 2005. – **2**. – P. 271–285.
26. *Southan G. J., Szabo C.* // *Curr. Med. Chem.* – 2003. – **10**. – P. 321–340.
27. *Li F., Drel V. R., Szabo C. et al.* // *Diabetes.* – 2005. – **54**. – P. 1514–1522.
28. *Martin A., Komada M., Sane D.* // *Med. Res. Rev.* – 2003. – **23**, N 2. – P. 117–145.
29. *Rajesh M., Mukhopadhyay P., Godlewski G. et al.* // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2006. – **350**, N 4. – P. 1056–1062.

30. *Dedon P. C., Tannenbaum S. R.* // Arch. Biochem. Biophys. – 2004. – **423**. – P. 12–22.
31. *Korhonen R., Lahti A., Kankaanranta H., Moilanen E.* // Curr. Drug Targets Inflamm. Allergy – 2005. – **4**. – P. 471–479.
32. *Olszanecki R., Gebaska A., Jawien J. et al.* // J. Physiol. Pharmacol. – 2006. – **57**, N 1. – P. 109–117.
33. *Young L.H., Ikeda Y., Lefer A. M.* // Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol. – 2001. – **23**. – P. 107–114.

Отримано 23.05.2012