

УДК 577.115:613.81+615.27

**ПРОТЕКТОРНИЙ ВПЛИВ N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІНУ  
ЗА ГОСТРОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ У ЩУРІВ**

*Н. М. ГУЛА, Т. М. ГОРІДЬКО, Н. А. СТОГНІЙ,  
В. М. КЛІМАШЕВСЬКИЙ, О. Ф. МЕГЕДЬ, Г. В. КОСЯКОВА,  
С. А. ШОВКУН, Н. Л. КІНДРУК, А. Г. БЕРДИШЕВ*

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

*На моделі гострої інтоксикації етанолом (2,5 г/кг) у щурів вивчали вплив N-стеароїлетанол-аміну на систему оксиду азоту, стан процесів пероксидного окислення ліпідів, активність ензимів антиоксидантного захисту, склад фосфоліпідів та жирних кислот.*

*Результати проведених досліджень свідчать, що гостра інтоксикація етанолом спричинює у тканині печінки щурів порушення окислювального гомеостазу, яке супроводжується вірогідним накопиченням продуктів, що реагують із тіобарбітуровою кислотою, підвищенням активності каталази і глутатіонпероксидази, зміною складу загальних, а також індивідуальних жирних кислот фосфоліпідів. Вміст насичених жирних кислот (пальмітинова, стеаринова) підвищується, а ненасичених (пальмітолеїнова, олеїнова, ліноленова) зменшується. Виявлено зміни вмісту оксиду азоту в мозку, плазмі та еритроцитах. За цих умов N-стеароїлетаноламін (NSE) у дозі 50 мг/кг маси тіла проявляє виражені антиоксидантні та гепатопротекторні властивості. Так, попереднє введення його щурам вірогідно гальмує накопичення ТБК-активних продуктів, сприяє одночасному зростанню активності ензимів антиоксидантного захисту, корегує вміст як загальних, так і індивідуальних жирних кислот у складі фосфоліпідів та вміст оксиду азоту в патологічно змінених тканинах. Одержані дані свідчать, що NSE в умовах проведеного експерименту забезпечує захист структурної цілісності та функціональної здатності мембран клітин.*

*Ключові слова: N-стеароїлетаноламін, пероксидне окислення ліпідів, ензими антиоксидантного захисту, оксид азоту, фосфоліпіди, жирні кислоти, холестерол, етанол.*

**Н**а сьогодні в Україні та багатьох країнах світу надзвичайно актуальною є проблема зростаючого поширення алкоголізму серед населення. Незаперечним є факт, що розвиток толерантності та залежності від алкоголю тісно пов'язаний з опіоїдною та канабіноїдною системами [1–3]. Лабораторні та клінічні дослідження показали, що агоністи опіоїдних та канабіноїдних рецепторів здатні підвищувати рівень споживання алкоголю, тоді як їхні антагоністи (специфічні та неспецифічні, наприклад, налоксон, налтрексон, рімонабант та ін.), навпаки, знижують потребу в останньому [3–5]. Показано, що довготривала дія етанолу призводить до розвитку компенсаторних змін у структурі мембран, які полягають у зменшенні ступеня ненасиченості ліпідів мембран та збільшенні вмісту холестеролу [6]. Вважають, що такі зміни є реакцією організму на розріджуючу дію етанолу та лежать в основі механізмів розвитку толерантності клітин до його токсичного впливу за хронічного споживання.

Показано, що довготривале надходження етанолу впливає на канабіноїдну систему. Зокрема, виявлено зміни рівня ендоканабіноїдів та їхніх рецепторів в мозку лабораторних тварин та людини, а також у культурі нейрональних клітин. Знайдено зменшення вмісту анандаміду (ANA) та 2 – арахідоноїлгліцеролу (2-AG) в середньому мозку, в той самий час у гранулярних нейронах мозочка та культурі клітин нейробластоми людини лінії SK-N-SH їхня кількість, навпаки, значно зростає [2, 7, 8]. Ці дані підтверджують залучення ендоканабіноїдів до розвитку нейроадаптивних змін та активацію системи винагороди (reward system) в мозку тварин під впливом алкоголю. У разі хронічного впливу етанолу в різних відділах мозку щурів також спостерігається порушення функцій та значно зменшується експресія СВ1 рецепторів [3]. Вважають, що такі зміни обумовлені рівнем ендоканабіноїдів у структурах мозку.

Гостра інтоксикація етанолом спричинює зменшення рівня ендоканабіноїдів (анандамі-

ду, 2-арахідоноілгліцеролу) та деяких N-ацил-етаноламінів (NPE, NSE, NOE) в тих відділах мозку піддослідних тварин, які відповідають за стресоміційний стан, харчування, рухливість, а також безпосередньо пов'язані із розвитком алкогольної залежності [9–11]. Таке зменшення вмісту N-ацилетаноламінів не є наслідком підвищення їхньої деградації амідогідролазою жирних кислот (ФААН), а можливо пов'язане з низьким рівнем рецепторів, які активуються цими лігандами та дією алкоголю на глутаматергічну систему [10, 11]. При цьому, падіння вмісту ANA та NPE корелює із блокуванням глутаматних рецепторів, зменшенням виходу глутамату та входом кальцію у клітини. Одержані ефекти пов'язують із початком нейроадаптивних змін та поведінкових реакцій, а також розглядають, як один із механізмів розвитку толерантності та залежності, коли споживання алкоголю стає регулярним [10, 11].

Також слід зазначити, що N-пальмітоїлетаноламін під час попереднього протягом тривалого часу, так і одноразового введення в організм здатен зменшувати рівень алкоголю у крові та його токсичний вплив у мишей і людини майже на 30% порівняно з контролем. Такі ефекти можуть бути прямим наслідком гальмування адсорбції алкоголю під дією NPE і, можливо, складовою захисного механізму дії N-пальмітоїлетаноламіну [12]. Крім того, проведені дослідження біологічних ефектів N-ацилетаноламінів показали, що ця група біологічно активних сполук, модулюючи ліпідний склад клітинних мембран, сприяє зниженню активності пероксидних процесів [12, 13].

Беручи до уваги зазначені вище властивості N-ацилетаноламінів, метою роботи було виявлення можливості корегування за допомогою N-стеароїлетаноламіну наслідків токсичного впливу етанолу на печінку та мозок піддослідних тварин.

### Матеріали і методи

Для досліджень використовували безродних щурів масою тіла 200–280 г. Піддослідних тварин утримували у стандартних клітках, воду та збалансований гранульований раціон тварини отримували *ad libitum*. Експерименти проводили відповідно до правил етичної комісії Інституту біохімії НАНУ.

Тварин поділили на групи: 1 – контрольні щури ( $n = 4$ ); 2 – щури, яким з метою спричинення в них гострого алкогольного отруєння одноразово внутрішньочеревинно вводили 25%-й розчин етанолу з розрахунку

2,5 г/кг маси тіла ( $n = 6$ ); 3 – щури, які протягом 3 днів отримували водну суспензію NSE в дозі 50 мг/кг маси тіла до гострого отруєння етанолом, яке проводили як і у 2-й групі тварин ( $n = 6$ ). Контрольним тваринам замість етанолу вводили однаковий за об'ємом фізіологічний розчин.

Через годину після введення зазначених вище розчинів всіх тварин декапітували під нембуталовим наркозом (50 мг/кг маси тіла). Для досліджень використовували кров, печінку та мозок тварин.

Вміст  $\text{NO}_2^-$  визначали спектрофотометрично методом Green L. C. за допомогою реактиву Гріса [14] на спектрофотометрі СФ-46. Кількість  $\text{NO}_3^-$  визначали спектрофотометричним методом [15] за допомогою бруцинового реактиву.

Сумарну активність NO-синтаз: конститутивної (сNOS) та індукційної (іNOS) [КФ 1.14.13.39] визначали як описано [16] за кількістю утвореного після інкубації нітрит-аніону ( $\text{NO}_2^-$ ), що визначався за методом Грін [14]. Склад інкубаційної суміші, об'ємом 1 мл, містив 50 мМ  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (pH = 7,0), 1 мМ  $\text{MgCl}_2$ , 2 мМ  $\text{CaCl}_2$ , 1 мМ NADPH, 2,2 мМ L-аргініну та 0,2 мл проби. Для визначення активності іNOS до складу інкубаційної суміші замість  $\text{CaCl}_2$  для зв'язування ендogenous  $\text{Ca}^{2+}$  додавали EGTA до кінцевої концентрації 4 мМ. Активність сNOS розраховували як різницю активності сумарної NOS та іNOS.

Визначення інтенсивності процесів пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) проводили за накопиченням ТБК-активних продуктів (МДА), як описано в роботах [17, 18].

Активність супероксиддисмутази (СОД) [КФ 1.15.1.1] в гомогенатах печінки щурів визначали за ступенем зниження відновлення нітросинього тетразолію у присутності NADH та феназинметасульфату методом [19], активність каталази [КФ 1.11.1.6] – за швидкістю розпаду пероксиду водню [20], активність глутатіонпероксидази [КФ 1.11.1.9] – за накопиченням окисленого глутатіону [21].

Екстракцію ліпідів проводили методом Bligh і Dyer [22]. Одержані екстракти очищали від неліпідних домішок методом Кейтса [23]. Вміст загальних ліпідів у тканині печінки визначали шляхом зважування сухого залишку їх після видалення розчинника на роторному випарювачі. Розділення фосфоліпідів проводили двовимірною тонкошаровою хроматографією за методом Svetashev і Vaskovsky [24]. Фосфоліпідні класи ідентифікували як описано нами раніше [25]. Вміст фосфоліпідів у

ліпідних екстрактах виражали кількістю в них неорганічного фосфору [26].

Кількісний аналіз метилових ефірів жирних кислот проводили за допомогою газорідинної хроматографії на хроматографі Carlo Erba (Італія) з полум'яноіонізаційним детектором. Скляну колонку (довжина 2,5 м, внутрішній діаметр 3 мм), заповнювали 10%-ою фазою Sp 2300 (Silar 5CP) на Chromosorb W/HP при 140–250 °C (2 °C/хв).

Кількісне визначення холестеролу проводили на хроматографі Chrom-5 (Чехія) з дуальною системою на колонці з нержавіючої сталі довжиною 0,5 м, заповненою Chimalite W (80–100 mesh) та просиченою 1,5%-ою рідкою фазою OV-1 (Shimadzu, Japan) при температурі інжектора 250 °C та детектора 270 °C і запрограмованій температурі 180–250 °C (10 °C/хв).

Статистичний аналіз проводили з використанням *t*-критерію Стьюдента, вірогідними вважали дані при  $P < 0,05$ .

### Результати та обговорення

В табл. 1 наведено дані щодо впливу NSE на вміст ТБК-активних продуктів та активність ензимів антиоксидантного захисту в печінці щурів за розвитку гострої алкогольної інтоксикації.

Видно, що в щурів розвиток інтоксикації, спричиненої одноразовим введенням етанолу, супроводжується активацією ПОЛ і виражається у зростанні рівня ТБК-активних продуктів майже на 30% відносно такого у контрольних тварин (табл. 1).

Утворення продуктів ПОЛ у тканинах значною мірою залежить від активності ензимів антиоксидантної системи, основною функцією яких є підтримання на стабільному рівні відповідних концентрацій активних форм кисню, необхідних для пероксидного окислення ліпідів та низки інших біохімічних процесів у клітині. За даними табл. 1 видно, що активність каталази та глутатіонпероксидази у тканині печінки щурів за алкогольної інтоксикації зростає відповідно на 49 та 19,83% відносно таких показників у контрольних тварин. Активність супероксиддисмутази за даних умов не змінюється.

Беручи до уваги особливості метаболізму етанолу, ми припускаємо, що виявлена активація процесів пероксидного окислення ліпідів у тканинах печінки щурів може бути пов'язана як із метаболічними ефектами самого етанолу, так і з токсичною дією його основного метаболіту – ацетальдегіду. Ключовими ензимами антиоксидантного захисту вважають супероксиддисмутази та каталазу. Пероксид водню є інгібітором СОД. Послідовність та злагодженість у роботі цих двох ензимів забезпечують стаціонарний рівень концентрації вільних радикалів. У разі екзогенного введення етилового спирту каталаза виконує не тільки антиоксидантну функцію, але й бере участь в його метаболізмі. Так, в пероксисомах каталаза використовує ендогенний пероксид для окислення етанолу до ацетальдегіду. Причому, швидкість окислення значною мірою залежить від швидкості генерації  $H_2O_2$ . Тому виявлене

Таблиця 1. Вміст ТБК-активних продуктів та активність ензимів антиоксидантного захисту у тканині печінки щурів за гострої алкогольної інтоксикації та у разі введення їм *N*-стеароїлетанол-аміну ( $M \pm m$ ;  $n = 5-6$ )

Показники	Вміст досліджуваних сполук та активність ензимів		
	Контроль	За алкогольної інтоксикації	У разі введення NSE на фоні алкогольної інтоксикації
ТБК-активні продукти, нмоль МДА/г тканини	36,00 ± 1,24	46,79 ± 2,85*	36,84 ± 3,60#
Супероксиддисмутаза, ум. од/хв на 1 мг протеїну	26,17 ± 4,13	33,15 ± 3,58	28,85 ± 1,91
Каталаза, мкмоль/хв на 1 мг протеїну	6,61 ± 0,20	9,88 ± 0,45*	9,69 ± 0,91*
Глутатіонпероксидаза, нмоль/хв на 1 мг протеїну	10,84 ± 0,21	12,99 ± 0,60*	14,53 ± 0,27*#

\* $P < 0,05$  по відношенню до контрольних тварин; # $P < 0,05$  по відношенню до тварин з гострою алкогольною інтоксикацією

в експерименті зростання рівня їхньої активності на тлі незмінної активності СОД може бути пов'язано, головним чином, із стимулюванням каталазного шляху окислення етилового спирту, а також із незначним активуванням антиокисного захисного механізму. У захисті клітин від оксидативного стресу також суттєву роль відіграє глутатіонзалежна антиоксидантна ензимна система, яка нейтралізує пероксиди ліпідів і підтримує у відновленому стані SH-групи протеїнів, забезпечуючи цим їхню функціональну активність. Глутатіонпероксидаза (ГП) – один із основних ензимів цієї системи, що каталізує відновлення пероксиду водню та інших органічних гідрпероксидів до води та гідросполук з одночасним окисленням відновленого глутатіону. Продукти окислення ненасичених жирних кислот можуть активувати глутатіонзалежні ензими. Тому встановлене нами вірогідне зростання активності цього ензиму може бути обумовлене, на нашу думку, зростанням рівня ліпопероксидів.

Отже, за гострої інтоксикації етанолом у тканині печінки щурів було знайдено порушення окислювального гомеостазу, яке супроводжується накопиченням продуктів пероксидного окислення ліпідів та недостатньою ефективністю функціонування ензимів антиоксидантного захисту.

Попереднє введення NSE щурам вірогідно гальмує накопичення ТБК-активних продуктів, сприяє зростанню активності ГП, але не змінює підвищеного, внаслідок дії етанолу, рівня активності каталази (табл. 1). Відомо, що тривала активація ГП залежить від високого рівня вмісту внутрішньоклітинного відновленого глутатіону, а сам ензим здатен не тільки нейтралізувати пероксид водню, але і запобігати накопиченню вторинних продуктів ПОЛ. Тому підвищення активності ГП та зменшення рівня ТБК-активних продуктів є свідченням посилення процесів елімінації

токсичних продуктів, відновлення проантиоксидантної рівноваги, збереження необхідного рівня SH-вмісних сполук та поліненасичених жирних кислот під впливом NSE.

Отже, як було встановлено в наших дослідженнях раніше на моделях різних патологічних станів [13], так і за гострого отруєння етиловим спиртом, N-стеароїлетаноламін виявляє виражені антиоксидантні та гепатопротекторні властивості. Показано, що він активує розвиток адаптивно-компенсаторних механізмів за рахунок впливу на активність ензимів антиоксидантного захисту та гальмує надмірне утворення продуктів ПОЛ у патологічно змінених тканинах, таким чином забезпечуючи захист структурно-функціональної цілісності мембран клітин.

Відомо, що істотне підвищення продуктів ПОЛ спричинюється також і надпродукцією оксиду азоту (NO). За сучасними уявленнями NO відіграє роль універсального регулятора багатьох фізіологічних процесів в організмі.

З даних, які наведено в табл. 2, видно, що у стані гострої алкогольної інтоксикації в мозку тварин відбувається зниження вмісту  $\text{NO}_2^-$  відносно рівня його у контрольних тварин. У разі введення NSE рівень нітрит-аніону залишається вірогідно вище, ніж у тварин з алкогольною інтоксикацією. Таким чином, NSE сприяє збереженню пулів нітрит-аніону в мозку щурів за алкогольної інтоксикації, в той же час вміст нітрат-аніону ( $\text{NO}_3^-$ ) при цьому не змінюється.

Виявлені зміни вмісту нітрит-аніонів корелюють із даними щодо зниження активності NO-синтази. Як видно з табл. 3, за алкогольної інтоксикації в мозку щурів значно знижується активність як cNOS, так і iNOS ізоформи NO-синтази. Попереднє введення NSE щурам зменшує вплив етанолу на активність iNOS та не впливає на активність cNOS.

Таблиця 2. Вміст стабільних метаболітів оксиду азоту у мозку щурів за гострої алкогольної інтоксикації та у разі введення їм N-стеароїлетаноламіну ( $M \pm m$ ;  $n = 4-6$ )

Показники	Вміст досліджуваних сполук		
	Контроль	За алкогольної інтоксикації	У разі введення NSE на фоні алкогольної інтоксикації
Вміст $\text{NO}_2^-$ (пмоль/мг протеїну)	207,33 ± 30,61	38,10 ± 7,45*	81,40 ± 8,19*#
Вміст $\text{NO}_3^-$ (нмоль/мг протеїну)	36,12 ± 7,16	27,35 ± 4,62	30,05 ± 2,68

\*  $P < 0,05$  по відношенню до контрольних тварин; #  $P < 0,05$  по відношенню до тварин з гострою алкогольною інтоксикацією

Таблиця 3. Активність конститутивної (cNOS) та індукційної (iNOS) NO-синтази у мозку щурів за гострої алкогольної інтоксикації та у разі введення їм N-стеароїлетаноламіну ( $M \pm m$ ;  $n = 4-6$ )

Показники	Активність NO-синтази		
	Контроль	За алкогольної інтоксикації	У разі введення NSE на фоні алкогольної інтоксикації
Активність cNOS (пмоль $\text{NO}_2^-$ /хв на 1 мг протеїну)	$77,99 \pm 17,75$	$30,39 \pm 5,12^*$	$21,00 \pm 2,43^*$
Активність iNOS (пмоль $\text{NO}_2^-$ /хв на 1 мг протеїну)	$35,21 \pm 12,75$	Нижче чутливості методу	$11,66 \pm 2,35^*$

\*  $P < 0,05$  по відношенню до контрольних тварин

Одержані результати узгоджуються із даними літератури [27], стосовно інгібування синтезу NO в мозку тварин за гострої інтоксикації етанолом. Показано, що етанол впливає не тільки на процеси формування пам'яті та навчання, але також інгібує активність NO-синтази у мозочку. Залежно від дози у  $\text{C}_6$ -гліальних клітинах етанол інгібує активність індукційної синтази NO. Вважають, що такий ефект алкоголю на NOS відіграє суттєву роль у патогенезі алкогольного ушкодження мозку.

З табл. 4 видно, що у плазмі крові щурів у стані гострого алкогольного отруєння вміст  $\text{NO}_2^-$  не змінюється, а в еритроцитах — зменшується у 4 рази. У разі попереднього введення щурам NSE вміст  $\text{NO}_2^-$  в еритроцитах крові залишається вірогідно вищим, ніж у щурів з алкогольним отруєнням.

Гостре отруєння етиловим спиртом призводить до різкого підвищення вмісту нітрат-

аніону у плазмі крові піддослідних тварин (табл. 4). За введення NSE рівень  $\text{NO}_3^-$  залишається таким самим, як і за гострого отруєння алкоголем.

Відомо, що стан окисних процесів в організмі та механізми регуляції ліпідної рівноваги знаходяться в тісному зв'язку і в разі активації пероксидного окислення ліпідів виникають зміни функціональної активності як ліпідних, так і протеїнових компонентів мембран. У першу чергу в процес вільнорадикального окислення залучаються фосфоліпіди, до складу яких в положенні sn-2 входять поліненасичені жирні кислоти, що, певним чином, і обумовлює мікрів'язкість та плинність мембран [28].

За нашими даними короточасна дія алкоголю не спричинює змін вмісту загальних ліпідів, а також загальних та індивідуальних фосфоліпідів, не змінює величини співвідношення плазмалогенної та діацильної форм

Таблиця 4. Вміст стабільних метаболітів оксиду азоту в плазмі та еритроцитах щурів за гострої алкогольної інтоксикації та у разі введення їм N-стеароїлетаноламіну ( $M \pm m$ ;  $n = 4-6$ )

Показники	Вміст досліджуваних сполук		
	Контроль	За алкогольної інтоксикації	У разі введення NSE на фоні алкогольної інтоксикації
<i>Плазма</i>			
Вміст $\text{NO}_2^-$ (пмоль/мг протеїну)	$23,68 \pm 4,77$	$24,98 \pm 1,28$	$66,09 \pm 20,59$
Вміст $\text{NO}_3^-$ (нмоль/мг протеїну)	$6,77 \pm 1,07$	$12,15 \pm 2,43^*$	$15,14 \pm 2,10^*$
<i>Еритроцити</i>			
Вміст $\text{NO}_2^-$ (пмоль/мг протеїну)	$44,71 \pm 9,76$	$11,70 \pm 1,67^*$	$21,35 \pm 3,29^\#$
Вміст $\text{NO}_3^-$ (нмоль/мг протеїну)	$1,74 \pm 0,38$	$1,41 \pm 0,15$	$3,82 \pm 0,37^*$

\*  $P < 0,05$  по відношенню до контрольних тварин, #  $P < 0,05$  по відношенню до тварин з гострою алкогольною інтоксикацією

Таблиця 5. Вміст загальних ліпідів, неорганічного фосфору загальних та індивідуальних фосфоліпідів, плазмалогенної та діацильної форм основних фосфоліпідів у тканині печінки шурів за гострої алкогольної інтоксикації та у разі введення їм *N*-стеароїлетаноламіну ( $M \pm m$ ;  $n = 5-6$ )

Показники	Вміст досліджуваних сполук		
	Контроль	За алкогольної інтоксикації	У разі введення NSE на фоні алкогольної інтоксикації
Загальні ліпіди, мг/г тканини	43,80 ± 2,22	47,50 ± 2,74	51,45 ± 2,87
	мкг P <sub>i</sub> /мг ліпідів		
Загальні фосфоліпіди	1,19 ± 0,08	1,26 ± 0,12	1,36 ± 0,04
Фосфатидилхолін	1,83 ± 0,08	2,17 ± 0,22	2,56 ± 0,11 * 0,2 < P <sub>3-2</sub> < 0,5
Фосфатидилетаноламін	1,02 ± 0,09	1,06 ± 0,12	1,12 ± 0,14
Дифосфатидилгліцерол	0,41 ± 0,05	0,42 ± 0,02	0,23 ± 0,04#,*
Сфінгомієлін	0,28 ± 0,04	0,25 ± 0,02	0,37 ± 0,03#
Фосфатидилінозитол		0,36 ± 0,02	
	0,46 ± 0,05	0,2 < P <sub>2-1</sub> < 0,5	0,55 ± 0,03#
Фосфатидилсерин	0,17 ± 0,01	0,21 ± 0,03	0,21 ± 0,02
Лізофосфатидилхолін	0,08 ± 0,04	0,09 ± 0,03	0,040 ± 0,012
	% від загальної кількості діацильної та плазмалогенної форм фосфоліпідів		
Фосфатидилхолін діацил	87,31 ± 2,20	85,82 ± 1,14	83,10 ± 2,55
Фосфатидилхолін плазмалоген	14,58 ± 1,58	14,17 ± 1,14	16,89 ± 2,55
Фосфатидилетаноламін діацил	83,84 ± 2,93	81,02 ± 3,05	76,87 ± 2,51
Фосфатидилетаноламін плазмалоген	16,16 ± 2,93	15,97 ± 0,69	23,13 ± 2,51#

\*  $P < 0,05$  по відношенню до контрольних тварин; #  $P < 0,05$  по відношенню до тварин з гострою алкогольною інтоксикацією

таких основних фосфоліпідів, як фосфатидилетаноламін та фосфатидилхолін, що можливо пов'язано із розвитком адаптивних процесів в організмі (табл. 5).

У той же час, введення NSE тваринам спричинює значні зміни вмісту таких індивідуальних фосфоліпідів, як фосфатидилхолін (PC), вміст якого зростає на 46% по відношенню до контрольних тварин, дифосфатидилгліцерол (DPG), рівень якого зменшується на 56% по відношенню до такого у тварин з алкогольною інтоксикацією, сфінгомієлін (SM) та фосфатидилінозитол (PI) (вміст їх зростає відповідно на 32% та 53% відносно таких показників у тварин з алкогольною інтоксикацією).

Відомо, що фосфоліпіди відіграють важливу роль у клітинному метаболізмі, процесах детоксикації тощо. Зокрема показано, що PC бере участь у процесах передачі клітинних сигналів, здатності нормалізувати структурну цілісність та функціональну здатність стану мембран гепатоцитів [29]. Крім того, під час

хронічної алкогольної інтоксикації PC як сам, так і в комплексі з вітаміном E здатен запобігати розвитку оксидативного стресу, утворенню IL-10, IFN- $\gamma$ , підвищувати рівень відновленого глутатіону та активність ензимів антиоксидантного захисту, гальмувати утворення ТБК-активних продуктів, змінювати активність трансаміназ (АЛТ і АСТ) [30]. У дослідях на щурах та бабуїнах показано, що ацетальдегід стимулює утворення колагену в печінці, спричинюючи фіброз, а PC, який утворюється в ході метаболізму S-аденозилметіоніну, значно уповільнює активність цього процесу [31, 32]. Крім того, PC, а особливо поліненасичений PC, сприяє зниженню активності цитохром P-450 2E1, гальмуючи розвиток оксидативного стресу. DPG у комплексі із цитохромом c каталізує вільнорадикальне окислення мембранних ліпідів і, тим самим, сприяє активації низки реакцій, що зумовлюють загибель клітин. Є дані щодо тісного зв'язку між дефіцитом DPG (зміною його ацильного ланцюга та/або його

окисленням) із розвитком мітохондріальної дисфункції під час розвитку різних патологічних станів [33]. SM разом із холестеролом складають основу специфічних мембранних доменів (рафтів або кавеол) і надають мембрані жорсткості, а також відіграють певну роль у механізмах передачі клітинного сигналу. Крім того, встановлено, що SM через активацію ендотеліальної NO-синтази бере участь в регуляції синтезу NO [34]. Водночас є дані щодо зменшення рівня сфінгомієліну та утворення кераміду під впливом NO та пероксиду водню. Показано, що керамід здатен спричиняти порушення як трансмембранного потенціалу, так і  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостазу в мітохондріях, призводячи до збільшення генерації  $\text{H}_2\text{O}_2$  та активації оксидативного стресу. За даними літератури, активність нейтральної сфінгомієлінази залежить від пулу відновленого глутатіону. Встановлено, що значна експресія мітохондріальної ГП гальмує утворення кераміду, здатного стимулювати диференціацію, інгібувати проліферацію та спричинювати апоптоз. Також вважають, що зменшення кількості фосфатидилсерину та PI може зумовлювати порушення базальної активності аденілатциклази (АдЦ), сприяти роз'єднанню комплексу АдЦ на окремі компоненти, призводячи до порушень функціонування Са-мобілізуючої поліфосфоінозитидної системи.

Відомо, що DPG і PI є потужними протекторами від розріджуючої дії етанолу на мембрани клітин [35, 36]. Тому, вірогідно, що за умов гострої алкогольної інтоксикації NSE, модулюючи вміст PC, DPG, SM та PI, чинить протекторну дію від токсичного впливу етанолу.

Одержані дані щодо змін вмісту цих фосфоліпідів під впливом NSE добре узгоджуються із зниженням вмісту продуктів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою та активністю ензимів антиоксидантного захисту (табл. 1) і є свідченням його захисного впливу на структуру та функціональну активність клітинних мембран.

Змін вмісту холестеролу та складу загальних жирних кислот і жирних кислот ефірів холестеролу у тканині печінки щурів під впливом одноразового введення етанолу не виявлено, але мають місце певні зміни вмісту жирних кислот у складі фосфоліпідів. Так, вміст деяких насичених жирних кислот підвищується (наприклад, пальмітинової, стеаринової), а ненасичених зменшується на 24% за рахунок зміни деяких індивідуальних жирних кислот (наприклад, пальмітолеїнової, олеїнової, ліноленої та інших) (табл. 6 та 7). Існу-

ють експериментальні докази щодо зв'язку між розвитком толерантності клітин до токсичного впливу етанолу та підвищенням рівня насичених жирних кислот у складі фосфоліпідів мембран. Waring A. J. et al. показали [37], що у разі хронічної інтоксикації етанолом найзначніші зміни відбуваються у складі DPG мітохондрій, а саме, падіння вмісту лінолевої кислоти та зростання олеїнової, стеаринової та пальмітинової кислот. Оскільки DPG знаходиться в тісному зв'язку з електрон-транспортуючим комплексом мітохондрій, то зміни в його ацильному ланцюзі, на думку вищезазначених авторів, можуть відповідати за порушення функціонування мітохондрій внаслідок токсичного впливу як етанолу, так і його метаболітів. Показано, що пальмітинова кислота сприяє посиленню продукції оксидантів через блокування комплексу III дихального ланцюга мітохондрій. Крім того, відомо, що саме ненасичені жирні кислоти є субстратом реакцій пероксидного окислення ліпідів. Тому встановлені вірогідні зниження вмісту пальмітолеїнової, олеїнової, ліноленої, докозагексаєнової жирних кислот свідчать про активацію ПОЛ у тканині печінки щурів із гострою алкогольною інтоксикацією, що добре узгоджується з одержаними даними відносно накопичення ТБК-активних продуктів (табл. 1).

Попереднє введення NSE щурам сприяє нормалізації вмісту насичених та ненасичених жирних кислот фосфоліпідів за рахунок відновлення або зростання рівня окремих жирних кислот (табл. 6, 7) і може бути необхідним, в першу чергу, для підтримки фізичних властивостей мембран, таких як проникність, рідинність та ін.

В умовах нашого експерименту одноразове введення алкоголю не впливає на загальну кількість як насичених, так і ненасичених вільних жирних кислот, але, як видно з табл. 8, вміст окремих жирних кислот змінюється: пальмітолеїнової та ліноленої кислот зростає, а докозагексаєнової – зменшується. Попереднє введення щурам NSE сприяє нормалізації вмісту докозапентаєнової та докозагексаєнової кислот. При цьому вміст арахідонової кислоти виявляє тенденцію до зменшення. Відомо, що жирні кислоти  $\omega$ -3 та  $\omega$ -6 ряду є лігандами/модуляторами ядерних рецепторів і здатні контролювати різні гени сигнальної трансдукції у процесах запалення і метаболізму ліпідів [38]. Окрім того, поліненасичені жирні кислоти  $\omega$ -3 ряду здатні пригнічувати запальний процес завдяки інгібуванню циклооксигеназного шляху метаболізму арахідонової кислоти. Тому вияв-

Таблиця 6. Вміст жирних кислот фосфоліпідів (% від загальної кількості жирних кислот) у тканині печінки шурів за умов гострої алкогольної інтоксикації та у разі введення їм *N*-стеароїлетанол-аміну ( $M \pm m$ ;  $n = 4$ )

Показники	Вміст жирних кислот		
	Контроль	За алкогольної інтоксикації	У разі введення NSE на фоні алкогольної інтоксикації
C <sub>16:0</sub>	18,56 ± 0,05	22,93 ± 1,57*	16,55 ± 0,40* <sup>#</sup>
C <sub>16:1ω9</sub>	0,92 ± 0,07	0,70 ± 0,06*	1,32 ± 0,13* <sup>#</sup>
C <sub>17:0</sub>	1,30 ± 0,12	1,04 ± 0,02	1,58 ± 0,10 <sup>#</sup>
		0,2 < P <sub>2-1</sub> < 0,5	0,2 < P <sub>3-1</sub> < 0,5
iC <sub>18:0</sub>	0,66 ± 0,09	0,52 ± 0,01	0,71 ± 0,05 <sup>#</sup>
C <sub>18:0</sub>	19,47 ± 0,30	27,42 ± 3,15*	17,44 ± 0,52* <sup>#</sup>
C <sub>18:1 ω9</sub>	10,06 ± 1,00	7,11 ± 0,35*	12,35 ± 0,20 <sup>#</sup>
			0,2 < P <sub>3-1</sub> < 0,5
C <sub>18:2 ω6</sub>	15,21 ± 0,53	14,87 ± 0,82	14,96 ± 0,39
C <sub>18:3 ω6</sub>	0,29 ± 0,05	0,11 ± 0,04*	0,004 ± 0,004* <sup>#</sup>
			n = 2
C <sub>21:0</sub>	1,30 ± 0,13	0,85 ± 0,12*	1,52 ± 0,18 <sup>#</sup>
C <sub>20:4 ω6</sub>	18,17 ± 1,12	15,98 ± 1,48	18,40 ± 0,32
C <sub>22:0</sub>	1,11 ± 0,08	0,77 ± 0,12*	1,31 ± 0,02* <sup>#</sup>
C <sub>22:4 ω6</sub>	0,67 ± 0,10	0,44 ± 0,15	1,21 ± 0,05* <sup>#</sup>
C <sub>22:5 ω6</sub>	2,15 ± 0,25	1,44 ± 0,29	3,71 ± 0,47* <sup>#</sup>
		t* = 1,829	
C <sub>22:6 ω3</sub>	2,33 ± 0,44	1,47 ± 0,40	4,61 ± 1,80 * <sup>#</sup>

Тут і в табл. 8: \*  $P < 0,05$  по відношенню до контрольних тварин; #  $P < 0,05$  по відношенню до тварин з гострою алкогольною інтоксикацією. C<sub>12:0</sub> – лауринова; C<sub>16:0</sub> – пальмітинова; C<sub>16:1ω9</sub> – пальмітолеїнова; C<sub>17:0</sub> – маргарина; C<sub>18:0</sub> – стеаринова; iC<sub>18:0</sub> – ізостеаринова; C<sub>18:1ω9</sub> – олеїнова; C<sub>18:2ω6</sub> – лінолева; C<sub>18:3ω6</sub> – лінолена; C<sub>21:0</sub> – генеїкозана; C<sub>20:4ω6</sub> – арахідонова; C<sub>22:0</sub> – бегенова; C<sub>22:4ω6</sub> – докозатетраєнова; C<sub>22:5ω6</sub> – докозапентаєнова; C<sub>22:6ω3</sub> – докозагексаєнова

Таблиця 7. Рівень насиченості жирних кислот фосфоліпідів (% від загальної кількості жирних кислот) у тканині печінки шурів за умов гострої алкогольної інтоксикації та у разі введення їм *N*-стеароїлетанол-аміну ( $M \pm m$ ;  $n = 4$ )

Жирні кислоти	Рівень насиченості		
	Контроль	За алкогольної інтоксикації	У разі введення NSE на фоні алкогольної інтоксикації
Насичені, Σ	44,73 ± 0,46	55,45 ± 4,21*	41,02 ± 0,35* <sup>#</sup>
Ненасичені, Σ	54,38 ± 0,70	44,45 ± 4,21*	59,12 ± 0,36* <sup>#</sup>
Насичені/ненасичені	0,81 ± 0,02	1,31 ± 0,21 (0,2 < P <sub>2-1</sub> < 0,5)	0,68 ± 0,01* <sup>#</sup>
Моноєнові, Σ	12,33 ± 0,87	7,52 ± 2,47 (0,2 < P <sub>2-1</sub> < 0,5)	14,26 ± 0,22
Диєнові, Σ	15,46 ± 0,56	15,05 ± 0,90	15,32 ± 0,36
Полієнові, Σ	24,52 ± 1,59	19,93 ± 2,35 (0,2 < P <sub>2-1</sub> < 0,5)	28,91 ± 0,53* <sup>#</sup>

\*  $P < 0,05$  по відношенню до контрольних тварин; #  $P < 0,05$  по відношенню до тварин з гострою алкогольною інтоксикацією



Таблиця 8. Вміст індивідуальних вільних жирних кислот (% від загальної кількості жирних кислот) у тканині печінки шурів за гострої алкогольної інтоксикації та у разі введення їм N-стеароїлетанол-аміну ( $M \pm m$ ;  $n = 4$ )

Жирні кислоти	Вміст жирних кислот		
	Контроль	За алкогольної інтоксикації	У разі введення NSE на фоні алкогольної інтоксикації
C <sub>12:0</sub>	0,72 ± 0,05	0,74 ± 0,20	0,94 ± 0,12
C <sub>16:0</sub>	29,64 ± 0,67	27,72 ± 3,10	29,71 ± 1,40
C <sub>16:1ω9</sub>	1,61 ± 0,05	2,58 ± 0,33*	2,34 ± 0,24*
C <sub>18:0</sub>	4,56 ± 0,28	4,90 ± 0,66	4,29 ± 0,11
C <sub>18:1ω9</sub>	19,31 ± 1,14	19,06 ± 1,04	21,75 ± 0,76 0,2 < P <sub>3-1</sub> < 0,5 0,2 < P <sub>3-2</sub> < 0,5
C <sub>18:2 ω6</sub>	27,57 ± 0,75	25,75 ± 1,41	27,32 ± 1,003
C <sub>18:3 ω6</sub>	0,07 ± 0,03	0,25 ± 0,05*	0,16 ± 0,06
C <sub>20:4ω6</sub>	6,24 ± 0,56	6,61 ± 0,83	4,47 ± 0,53 0,2 < P <sub>3-1</sub> < 0,5 0,2 < P <sub>3-2</sub> < 0,5
C <sub>22:5 ω6</sub>	0,50 ± 0,09	0,86 ± 0,15 0,2 < P <sub>2-1</sub> < 0,5	0,49 ± 0,05 0,2 < P <sub>3-2</sub> < 0,5
C <sub>22:6 ω3</sub>	0,19 ± 0,015	0,05 ± 0,02*	0,25 ± 0,004*#

лений нами корегуючий вплив NSE на вміст окремих вільних жирних кислот печінки шурів за гострого отруєння етанолом може частково бути доказом його протизапальної дії.

Таким чином, результати проведених досліджень свідчать, що під час гострої інтоксикації етанолом у тканині печінки шурів відбувається порушення окислювального гомеостазу, яке супроводжується накопиченням продуктів пероксидного окислення ліпідів та недостатньою ефективністю функціонування ензимів антиоксидантного захисту, змінюється склад як загальних, так і індивідуальних жирних кислот фосфоліпідів. Відбуваються зміни вмісту оксиду азоту в мозку, плазмі та еритроцитах. За цих умов N-стеароїлетаноламін виявляє виражені антиоксидантні та гепатопротекторні властивості. За рахунок впливу на активність ензимів антиоксидантного захисту, гальмування надмірного утворення продуктів ПОЛ, корегування вмісту як загальних, так і індивідуальних жирних кислот у складі фосфоліпідів, та вмісту NO в патологічно змінених тканинах він активує розвиток адаптивно-компенсаторних механізмів, забезпечуючи захист структурно-функціональної цілісності мембран клітин.

#### ПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ N-СТЕАРОИЛЭТАНОЛАМИНА ПРИ ОСТРОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У КРЫС

*Н. М. Гулая, Т. Н. Горидько,  
Н. А. Стогний, В. М. Климашевский,  
Е. Ф. Мегедь, Г. В. Косякова,  
С. А. Шовкун, Н. Л. Киндрук,  
А. Г. Бердышев*

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

На модели острой интоксикации этанолом (2,5 г/кг) у крыс изучали влияние N-стеароилэтанол-аміна на систему оксида азота, состояние процессов пероксидного окисления липидов, активность энзимов антиоксидантной защиты, состав фосфолипидов и жирных кислот. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что острая интоксикация этанолом вызывает в ткани печени крыс нарушение окислительного гомеостазу, сопровождающееся достоверным накоплением продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, повышением активности каталазы и

глутатионпероксидазы, изменением состава общих, а также и индивидуальных жирных кислот фосфолипидов. Содержание насыщенных жирных кислот (пальмитиновая, стеариновая) повышается, а ненасыщенных (пальмитолеиновая, олеиновая, линоленовая) уменьшается. Выявлены изменения содержания оксида азота в мозгу, плазме и эритроцитах. В этих условиях N-стеароилэтаноламин (NSE) в дозе 50 мг/кг проявляет выраженные антиоксидантные и гепатопротекторные свойства. Так, предварительное введение его крысам достоверно тормозит накопление ТБК-активных продуктов, способствует одновременному повышению активности энзимов антиоксидантной защиты, корректирует содержание как общих, так и индивидуальных жирных кислот в составе фосфолипидов и содержание оксида азота в патологически измененных тканях. Полученные данные свидетельствуют о том, что NSE в условиях проведенного эксперимента обеспечивает защиту структурной целостности и функциональной способности мембран клеток.

**Ключевые слова:** N-стеароилэтаноламин, пероксидное окисление липидов, энзимы антиоксидантной защиты, оксид азота, фосфолипиды, жирные кислоты, холестерол, этанол.

**PROTECTIVE EFFECT  
OF N-STEAROYLETHANOLAMINE  
UNDER ACUTE ALCOHOL  
INTOXICATION IN RATS**

*N. M. Gula, T. M. Goridko, N. A. Stogniy,  
V. M. Klymashevsky, O. F. Meged,  
G. V. Kosyakova, S. A. Shovkun,  
N. L. Kindruk, A. G. Berdyshev*

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

**S u m m a r y**

The influence of N-stearoylethanolamine on the nitric oxide system, the state of lipid peroxidation, antioxidant enzyme activity, content of phospholipids and fatty acids were studied under the acute ethanol intoxication (2.5 g/kg) in rats.

The results of investigations show that acute ethanol intoxication caused abnormalities of the oxidative homeostasis accompanied by the accumulation of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). High catalase and glutathione peroxidase activity was also shown. The altered content

of total and individual fatty acids of phospholipids in the rat liver tissue was found. The content of saturated fatty acids (palmitic, stearic) increased and amount of unsaturated (palmitoleic, oleic, linolenic) acids decreased under acute ethanol intoxication. The changes of nitric oxide content was found in the brain, plasma and red blood cells. N-stearoylethanolamine (NSE) in a dose of 50 mg/kg of body weight shows the pronounced antioxidative and hepatoprotective properties under these conditions. It was found that the preliminary NSE administration to rats inhibited accumulation of TBARS and caused a simultaneous increase of antioxidant enzyme activity. The NSE administration modulated also the content of total and individual fatty acids of phospholipids and the amount of nitric oxide in pathologically altered tissues. These results suggested that NSE protected the structural integrity and functional ability of cell membranes under the acute ethanol intoxication.

**Key words:** N-stearoylethanolamine, lipid peroxidation, antioxidative enzymes, nitric oxide, phospholipids, fatty acids, cholesterol, ethanol.

1. Hungund B. L., Basarajappa B. S. // Alcohol Alcohol. — 2000. — **35**, N 2. — P. 126–133.
2. Basarajappa B. S., Basalingappa L. H. // Ibid. — 2005. — **40**, N 1. — P. 15–24.
3. Manzanares J., Ortiz S., Oliva J. et al. // Ibid. — P. 25–34.
4. Arnone M., Maruani J., Chaperon F. et al. // Psychopharmacology. — 1997. — **132**. — P. 104–106.
5. Rubio M., Fernandez-Ruiz J., Rosario de Miguel et al. // Neuropharmacology. — 2008. — **54**. — P. 976–988.
6. Сторожок С. А., Панченко Л. Ф., Филиппович Ю. Д., Глушков В. С. // Вопр. мед. химии. — 2001. — № 2. — С. 198–208.
7. Basarajappa B. S., Hungund B. L. // J. Neurochem. — 1999. — **72**. — P. 522–528.
8. Di Marzo V., Berrendero F., Bisongo T. et al. // Ibid. — 2000. — **74**. — P. 1627–1635.
9. Rubio M., McHugh D., Fernandez-Ruiz J. et al. // Neurosci. Lett. — 2007. — **421**. — P. 270–274.
10. Ferrer B., Bermudez-Silva F. J., Bilbao A. et al. // Biochem. J. — 2007. — **404**. — P. 97–104.
11. Rubio M., Rosario de Miguel, Fernandez-Ruiz J. et al. // Drug and Alcohol. Dependence. — 2009. — **99**. — P. 354–358.
12. Schmid H. H. O., Schmid P. C., Natarajan V. // Prog. Lipid Res. — 1990. — **29**. — P. 1–43.
13. Горідько Т. М. Дія насичених N-ацилетаноламінів на ліпіди тканин печінки та серця

- щурів за умов ішемічного ушкодження. Автореф. дис. на здобуття наукового ступеня канд. біол. наук. — К. 2002. — 18 с.
14. *Green L. C., David A. W., Glogowski J. et al.* // *Anal. Biochem.* — 1982. — **126**, N 1. — P. 131–138.
  15. *Bank N. R., Aunedjian H. S.* // *Kidney Int.* — 1993. — **43**. — P. 1306–1312.
  16. *Selter M., Knowles R. G., Monceda S.* // *FEBS Lett.* — 1991. — **291**. — P. 145–149.
  17. *Владимиров Ю. А., Арчаков А. И.* Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. — М.: Наука, 1972. — 252 с.
  18. *Мельничук С. Д., Кузьменко А. И., Маргитич В. М. и др.* // *Укр. біохім. журн.* — 1998. — **70**, № 1. — С. 87–94.
  19. *Чевари С., Андял Т., Штрэнгер Я.* // *Лаб. дело.* — 1991. — № 10. — С. 9–13.
  20. *Королук М. А., Иванова И. Г., Майорова И. Г., Токарев В. Е.* // *Там само.* — 1988. — № 1. — С. 16–18.
  21. *Переслегина И. А.* // *Там само.* — 1989. — № 11. — С. 20–23.
  22. *Bligh E. G., Dyer W. I.* // *Can. J. Biochem. Physiol.* — 1959. — **37**, N 8. — P. 911–917.
  23. *Кейтс М.* Техника липидологии. — М.: Мир, 1975. — 322 с.
  24. *Svetashev V. I., Vaskovsky V. E.* // *J. Chromatogr.* — 1972. — **67**. — P. 376–378.
  25. *Горідько Т. М., Маргитич В. М., Клімашевський В. М. та ін.* // *Укр. біохім. журн.* — 1996. — **68**, № 2. — С. 99–102.
  26. *Vaskovsky V. E., Kostetsky E. Y., Vasendin I. M.* // *J. Chromatogr.* — 1975. — **114**. — P. 129–141.
  27. *Jang M. H., Shin M. C., Kim E., Kim C.-J.* // *Toxicology Letters.* — 2002. — **133**. — P. 255–262.
  28. *Сторожок С. А.* // *Вопр. мед. химии.* — 1983. — № 6. — С. 31–35.
  29. *Lieber Ch. S., Robin S. I., Li J. et al.* // *Gastroenterology.* — 1994. — **106**. — P. 152–159.
  30. *Das S. K., Gupta G., Rao D. N. et al.* // *Indian. J. Exp. Biol.* — 2007. — **45**, N 8. — P. 683–688.
  31. *Pawlicka E., Bankowski E., Soholewski E.* // *Arch. Toxicol.* — 1991. — **65**. — P. 678–680.
  32. *Lieber C. S., Robins S. J., DeCarli L. M. et al.* // *Gastroenterology.* — 1994. — **106**. — P. 152–159.
  33. *Chicco A. J., Sparagna J. C.* // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* — 2007. — **292**. — P. 33–C44.
  34. *Levade T., Augé N., Veldman R. J. et al.* // *Circ. Res.* — 2001. — **89**, N 11. — P. 957–968.
  35. *Taraschi T. F., Ellinson J. S., Wu A. et al.* // *Proc. Natl. Acad. Sci.* — 1986. — **83**. — P. 9398–9402.
  36. *Ellinson J. S., Taraschi T. F., Wu A. et al.* // *Ibid.* — 1988. — **85**. — P. 3353–3357.
  37. *Warning A. J., Rottenberg H., Ohnishi T., Rubin E.* // *Ibid.* — 1981. — **78**, N 4. — P. 2582–2586.
  38. *Schmitz G., Ecker J.* // *Progress in Lipid Research.* — 2008. — **47**. — P. 147–155.

Отримано 17.11.2009