

Дисфункция эндотелия и кислородсвязывающие свойства гемоглобина

В.В. ЗИНЧУК

Медицинский университет, Гродно, Беларусь

Endothelial Dysfunction and Oxygen Binding Properties of Hemoglobin

V.V. ZINCHUK

Grodno, Republic of Belarus

2674

Согласно результатам анализа литературы и выполненных исследований, при дисфункции эндотелия нарушается образование различных NO-производных гемоглобина, что влияет не только на высвобождение ими NO в различных участках сосудистого русла, но и на сродство гемоглобина к кислороду, и соответственно оптимальное протекание оксигенации/деоксигенации крови в капиллярах малого/большого круга кровообращения. Формирование дисфункции эндотелия ведет к изменению кислородсвязывающих свойств крови, возникновению гипоксии и усилению проявления дисфункции эндотелия. Обсуждается эффективность дифференцированного применения традиционной лекарственной терапии с учетом коррекции дисфункции эндотелия путем целенаправленного воздействия на кислородсвязывающие свойства крови и систему L-аргинин—NO.

Ключевые слова: дисфункция эндотелия, монооксид азота, гемоглобин, кислород.

According to results of analysis of literature and carried out studies endothelial dysfunction is associated with impaired formation of NO-derivatives of hemoglobin. This affects not only NO release in various parts of vascular bed but also affinity of hemoglobin to oxygen, and therefore optimal course of blood oxygenation/deoxygenation in capillaries of pulmonary and systemic circulation. Formation of endothelial dysfunction leads to changes of oxygen binding properties of blood, origination of hypoxia, and augmentation of manifestations of endothelial dysfunction. Efficacy of differentiated application of traditional drug therapy with consideration of dysfunction of endothelium by means of targeted influence on oxygen binding properties of blood and L-arginine – NO system is discussed.

Key words: endothelial dysfunction; nitric oxide; hemoglobin; oxygen.

Последние два десятилетия характеризуются революционными изменениями наших представлений о роли сосудистой стенки, и, прежде всего, эндотелия, в поддержании гомеостаза. Сосудистый эндотелий является основным источником образования многих физиологически активных веществ. Этот тип клеток представляет собой не только структурный барьер между кровью и окружающими тканями, но и многофункциональную систему, играющую существенную роль в гемодинамике. Эндотелий рассматривают как эндокринно-паракринный орган. Благодаря его уникальному положению между циркулирующими элементами крови и окружающей сосуды тканью (в капиллярах) он выступает в роли интегратора и передатчика сигналов путем синтеза различных сосудосуживающих, сосудорасширяющих и ремоделирующих факторов [1–4]. При заболеваниях сердечно-сосудистой системы одним из наиболее вероятных мест повреждения организма является эндотелий сосудистой стенки [5, 6]. Эндотелий — не просто структурное обрамление сосудов, а функционально активная ткань — с набором разнообразных функций. Его значимость иллюстрируется известной фразой J. Vane «Эндотелий — мазетр сердечно-сосудистой системы» [7].

В клиническую практику прочно внедрился новый термин — «дисфункция эндотелия» (ДЭ). Она играет существенную роль в генезе многих патологических состояний системы кровообращения. В большинстве исследований данный термин используется как синоним дисбаланса эндотелиального синтеза NO, который является сигнальным фактором, участвующим в опосредовании его функций, и основное его количество, образуемого в организме, продуцируется именно в эндотелии [8]. Результаты многочисленных исследований убедительно

свидетельствуют о ведущей роли системы L-аргинин—NO в молекулярных основах функционирования сосудистого эндотелия и дисфункции, значение которой определяется, с одной стороны, участием NO в осуществлении данными клетками своих функций, с другой — возможностью коррекции возникающих нарушений путем воздействия на различные звенья этой системы [3]. В последние годы проблема изучения физиологических эффектов NO приобрела новый аспект, а именно его взаимодействие с различными компонентами крови, в частности, с гемоглобином [9–11]. Дефицит кровотока, нарушение процессов транспорта кислорода в ткани являются важными факторами, определяющими образование NO в организме [12]. Кислородтранспортная функция (КТФ) крови и система L-аргинин—NO через сопряженные механизмы участвуют в развитии ДЭ. В фармакотерапии острой коронарной недостаточности необходимо учитывать направленное воздействие энергообеспечивающих и других противоишемических средств на транспорт кислорода к ишемизированному миокарду за счет влияния на сродство гемоглобина к кислороду (СГК), сдвигов диффузии кислорода через эритроцитарные мембраны, активации внутриклеточного переноса кислорода к местам утилизации и возможности их коррекции через NO-зависимые механизмы [13]. NO может принимать участие в регуляции кислородного обмена, но влияние этого вещества на конформацию гемоглобина (Hb) и эффективность связывания с ним лигандов практически не изучено [14]. Возможно создание новых путей коррекции ДЭ путем целенаправленного воздействия на КТФ крови и систему L-аргинин—NO.

Система L-аргинин—NO эндотелия

Синтез NO осуществляется путем превращения L-аргинина в L-цитруллин в присутствии O₂, кальмодулина, флавиноадениндинуклеотида, тетрагидробиоптеина и других кофакторов, в результате чего один атом из молекулы O₂

© В.В. Зинчук, 2009

© Кардиология, 2009

Kardiologija 2009; 7–8:81–89

связывается с концевым гуанидиновым азотом аргинина (система L-аргинин—NO). Для данной реакции требуется фермент NO-синтаза. Дискутируется роль 3 основных изоформ NO-синтазы: нейрональной (I), синтезируемой в ряде нейронов центральной и периферической нервной системы; индуцибельной (II), образуемой преимущественно макрофагами в ответ на действие ряда патологических факторов и, возможно, принимающей участие в вазоактивных эффектах при эндотоксическом шоке; а также эндотелиальной, или конститутивной, NO-синтазы (III), вырабатываемой эндотелием практически всех сосудов организма, включая лимфатические. Данная изоформа NO-синтазы всегда присутствует в эндотелиальных клетках. Ее активность определяется уровнем Ca^{2+} . В качестве стимуляторов повышения концентрации цитозольного Ca^{2+} в эндотелии, а следовательно и активаторов NO-синтазы выступают физические стимулы (давление сдвига и т.д.), нейротрансмиттеры, гормоны, аутокоиды и факторы свертывания крови, что приводит к увеличению синтеза эндотелиального NO [15]. Снижение синтеза NO может быть вызвано отсутствием исходного субстрата — L-аргинина, кофакторов, сниженной экспрессией фермента и повышением уровня эндогенных ингибиторов фермента (например, асимметрично диметилированных производных аргинина) [16]. Кроме того, снижение антиоксидантной способности организма также может вести к ДЭ, зависимой от NO, так как снижение его эффектов может вызываться усиленной его инактивацией в результате повышенной выработки кислородных радикалов [17].

Общее количество синтезируемого NO в организме, судя по уровню NO_3^- , колеблется от 150 до 1000 мкмоль/сут [18]. Образование NO эндотелием *in situ* или в культуре примерно равно 4 пМ/кг белка/мин, что в перерасчете на общую массу эндотелия 1,5 кг для организма человека составляет 1728 мкмоль/сут [19]. Оценка образования NO в организме (методом вдыхания стабильного изотопа кислорода $^{18}O_2$) показала, что скорость его образования составляет $0,38 \pm 0,06$ мкмоль/кг/ч, а общее суточное количество 600—700 мкмоль [20]. NO количественно и функционально отличается от O_2 . Для удовлетворения основных метаболических потребностей организма необходимы миллимолярные концентрации O_2 и наномолярные — NO. Его основное количество (более 90%), образуемого в организме, приходится на эндотелий. В этих клетках образуется в сотни раз больше NO, чем требуется для регуляции кровотока.

Существует гетерогенность NO-образующей функции эндотелия по ходу сосудистой сети. Результаты иммуногистологических исследований указывают, что экспрессия эндотелиальной NO-синтазы снижается в различных отделах сосудистой системы с уменьшением диаметра, в артериях она наиболее высока, а в венах существенно меньше [21—23]. При значимом артериовенозном градиенте наблюдаемая неоднородность распределения активности эндотелиальной NO-синтазы отражает функциональные особенности каждого эндотелиального компонента. Так, базальный уровень синтеза NO в артериях выше, чем в венах. Содержание NO в артериальной крови у здоровых женщин, судя по величине NO_2^-/NO_3^- , гораздо выше, чем в венозной ($45,1 \pm 17,7$ и $22,5 \pm 8,5$ мкмоль соответственно) [24]. Исследование содержания нитритов у добровольцев в плазме крови, взятой из локтевой артерии и антекубитальной вены, характеризовалось наличием незначительного артериовенозного градиента, но существенно воз-

раставшего в условиях стимуляции эндотелия ацетилхолином [25]. В исследовании с участием добровольцев показано, что содержание NO_2^- и нитрозилгемоглобина в артериальной крови постоянно выше, чем в венозной [26]. Наличие артериовенозного градиента с учетом того, что время одного цикла движения для эритроцита составляет около 27 с, а на участке артерия—вена еще меньше, означает наличие быстрого механизма высвобождения NO [27]. Вдыхание NO существенно повышает уровень нитрозилированного гемоглобина в крови и его артериовенозный градиент [28], что, по мнению этих исследователей, предполагает ведущую роль взаимодействия NO с гемом в его метаболизме кровью. Важно отметить, что в условиях ингибирования NO-синтазы наблюдалось выраженное снижение уровней NO_2^- (более 50%), характеризующееся сравнительно большим артериовенозным градиентом, отражая происхождение из сосудов предплечья NO_2^- , измеряемого в венозных отделах [25]. Артериовенозная разница содержания NO-производных является, по-видимому, следствием различной NO-синтазной активности эндотелия по ходу сосудистой системы (его гетерогенности), и это значимо для СГК.

Следует также учитывать особенность объемного содержания крови в различных отделах сердечно-сосудистой системы. На долю терминальных артериол и капилляров приходится 69% от общей площади сосудистой системы, а венул и вен — 30,5%, а объемы содержащейся в них крови составляют 10 и 75% соответственно [29], следовательно объемы крови, приходящиеся на единицу площади артериол и капилляров, будут наиболее высоки. Большая часть этих клеток и контактирующей с кровью поверхности относятся к эндотелиальным клеткам капилляров. В этой зоне происходит обмен питательных веществ и гормонов, облегчаемый сравнительно большим контактом площади поверхности эндотелия с относительно малым объемом крови (до 5000 см²/мл) [30]. В то же время артерии и вены содержат большое количество крови, но имеют небольшую площадь эндотелиальных клеток (<10 см²/мл). Следовательно, эти клетки микрососудов вносят в циркулирующие факторы плазмы вклад, отражающий функцию эндотелия, намного больший, чем в крупных сосудах. Это предполагает более высокое содержание NO и его производных на микроциркуляторном участке сосудистого русла (в 100 и более раз) и, соответственно, его большую долю, взаимодействующую непосредственно с компонентами крови. Экспрессия эндотелиальной изоформы NO-синтазы снижается с уменьшением диаметра сосудов, кроме того, снижается скорость кровотока и взаимодействие клеток крови с эндотелиальными клетками, что обеспечивает прямое взаимодействие между эритроцитами, вырабатываемыми NO, и микрососудистым эндотелием, и указывает на потенциальную роль эритроцитарной NO-синтазы в капиллярах [31]. Количество NO, образуемое эритроцитами на площадь поперечного сечения сосудов, может колебаться по ходу сосудистой сети, в зависимости от отношения размера сосуда к числу красных клеток крови.

NO и кровь

Основные функции сосудистого NO многообразны и включают, в частности, регуляцию взаимодействия эндотелия с клетками крови [3]. Предполагается, что внутрисосудистая доступность NO управляется, главным образом, равновесием между синтезирующим NO эндотелием и его инактивирующими эритроцитами [32]. NO, вырабатываемый в сосудистом

эндотел
следующ
клеточну
эритроци
непереме
цитов и
гемоглоб
компо
диффузи
цитоскел
особые м
состояни
NO [35].
в эритро
чеством
рассмат
NO. Он
регулиру
а друго
ный ме
активн
мембра
NO чер
тием E
наприм
фактор
являю
конвек
брану
анион
модуль
тетрам
взаим
с акти
матич
Нь с
что м
барье
в усл
а в ус
изме
ние л
[39].
эфф
умен
и ув
лек
про
и/и.
рус
тво.
Fe²⁺
и гл
зан
ме
пр

эндотелии, прежде чем достичь Hb в эритроците, преодолевает следующие барьеры: мембрану эндотелиальных клеток; бесклеточную зону на сосудистом крае мигрирующего «столбика» эритроцитов, создаваемую градиентами скорости кровотока; перемешиваемый слой крови вокруг движущихся эритроцитов и их мембрана [33]. Реакция NO с гемической группой гемоглобина может быть частично ограничена гидрофобным компонентом клеточной мембраны, лимитируя процесс его диффузии в эритроцит [34]. Предполагается существование цитоскелетного барьера для диффузии NO, реализуемого через особые межбелковые бреши (поры) в эритроцитарной мембране, состояние которых регулируется, и соответственно изменяет вход NO [35]. Скорость реакции гемоглобина с NO, находящегося в эритроцитах, в 800 раз меньше, чем с эквивалентным количеством свободного гемоглобина [34]. Мембрана эритроцитов рассматривается как некий специализированный насос для NO. Она имеет два компартмента для гемоглобина и активно регулирует транспорт NO из клетки: один находится внутри, а другой — на мембране. Регулируемый кислородом клеточный механизм сопряжения синтеза и экспорта биологической активности NO, образуемого гемоглобином, действует через мембранный механизм (комплекс AE1—SNO) [36]. Доставку NO через AE1 контролируют сложной сетью равновесий с участием Hb, AE1, pO_2 , уровней NO и присутствия регуляторов, например, CO_2 и 2,3-дифосфоглицерата [37]. Критическими факторами, определяющими скорость его захвата эритроцитами, являются ориентация мембранных молекул и внутриклеточная конвекция гемоглобина. NO переносится через клеточную мембрану посредством специального переносчика белка AE1, или анион-обменника. J. Liao и соавт. [38] предложили механизм модуляции захвата NO эритроцитами, при котором Hb связывает тетрамеры полосы 3 эритроцита в цитоскелете посредством взаимодействия с анкирином и спектрином, создающим (вместе с актином и белком 4.1) белковый скелет мембран. Цитоплазматический N-конец полосы 3 связывается с участком дезокси-Hb с достаточно высоким сродством к 2,3-дифосфоглицерату, что может быть первопричиной разрушения цитоскелетного барьера и изменений проницаемости для NO. Проницаемость NO в условиях оксигенации находится между 4400 и 5100 мкмоль/с, а в условиях дезоксигенации превышает 64 000 мкмоль/с (т.е. изменяется в 10 раз или более), что может иметь большое значение для импорта или экспорта NO в физиологических условиях [39]. У больных с хронической сердечной недостаточностью эффективность переноса O_2 эритроцитами к тканям может уменьшаться вследствие как ухудшения связывания Hb с O_2 и увеличения связывания NO, так и уменьшения числа комплексов II Hb-NO, облегчающих выделение O_2 , что, возможно, происходит из-за изменения конформации гемопорфирина и/или глобина, увеличения концентрации NO в кровеносном русле или появления новой формы Hb с повышенным сродством к NO и более прочной связью между глобином и атомом Fe^{2+} (предположительно, изменения конформации порфирина и глобина могут происходить, в первую очередь, в мембраносвязанном Hb, что вызывает увеличение вязкости плазматической мембраны эритроцита и действие NO, проникающего снаружи, преимущественно на примембранный Hb) [14].

Сродство гемоглобина к кислороду

Молекула гемоглобина состоит из 2 α - и 2 β -полипептидных цепей, каждая из которых связана с гемической группой, содер-

жащей порфириновое кольцо и атом Fe^{2+} , способный обратимо связывать одну молекулу O_2 . В организме СГК в значительной степени определяет диффузию кислорода из альвеолярного воздуха в кровь, а затем на уровне капилляров в ткань [40]. S-образная форма кривой диссоциации оксигемоглобина (КДО; ее положение характеризуется показателем $p50 = pO_2$, соответствующее 50% насыщению гемоглобина кислородом) в обычных условиях обеспечивает процессы транспорта кислорода кровью, облегчая ее максимальную оксигенацию при относительно низких pO_2 и деоксигенацию при относительно высоких pO_2 , улучшая доставку требуемых количеств O_2 в ткани при сравнительно малых величинах кровотока. Увеличение $p50$ на 1 мм рт.ст. повышает артериовенозную разницу pO_2 на 3,2 мм рт.ст., что увеличивает оксигенацию тканей, а сердечный выброс при этой неизменной доставке O_2 снижается на 5,8% на единицу изменения $p50$ [41]. Наблюдается увеличение pO_2 в тканях и потребления O_2 у хомячков после 80% замены объема циркулирующей крови искусственным кровезаменителем, основанным на полимеризованном гемоглобине с более высоким $p50$ (54,2 мм рт.ст.) [42]. Увеличение $p50$ способствует росту потока кислорода в ткани в условиях нормоксии или умеренной гипоксии, в то же время его уменьшение может иметь благоприятное значение, оказывая антиоксидантный эффект в условиях нарушенной утилизации кислорода тканями. Сдвиг КДО вправо при снижении pO_2 в крови можно расценивать как попытку организма компенсировать кислородную недостаточность, но в условиях окислительного стресса, когда нарушена утилизация кислорода тканями и значительная его часть используется в оксигеназных реакциях, ведущих к образованию активных форм кислорода, это приводит к активации процессов свободнорадикального окисления.

Свойство гемоглобина обратимо связывать кислород является частным случаем общей закономерности взаимодействия протеинов с лигандами. СГК определяется в значительной степени аллостерическим взаимодействием между гемоглобином и различными физиологическими модуляторами (H^+ , 2,3-дифосфоглицерат, CO_2 и др.), которые в совокупности на уровне клеточного компартмента крови образуют внутриэритроцитарную систему регуляции ее кислородсвязывающих свойств. Внутриэритроцитарная система регуляции СГК, обладающая относительной автономией, обеспечивает адаптивные изменения кислородсвязывающих свойств крови, в этой системе функцию триггера аллостерической регуляции гликолиза и своеобразного аппарата сравнения соответствия метаболизма функциональному статусу выполняют физиологические модуляторы СГК (pH , pCO_2 , температура, 2,3-дифосфоглицерат) [43]. Механизм кооперативности основан на стереохимической перестройке контактов субъединиц на мобильной аллостерической поверхности в зависимости от степени оксигенации. Аллостерические регуляторы, такие как 2,3-дифосфоглицерат, Cl^- , H^+ , связываясь с молекулой гемоглобина в T-состоянии и облегчая соответственно высвобождение кислорода, проявляют свои эффекты при субэквивалентных количествах (т.е., когда их количество меньше, чем количество гемоглобина). Молекула гемоглобина, взаимодействуя с компонентами внутренней поверхности мембран эритроцитов, прежде всего с белком полосы 3 (анионообменный белок AE1), изменяет сродство к O_2 ; преимущественно связывает его при низких pO_2 и высвобождает при насыщении 2,3-дифосфоглицератом, что позволяет рассматривать данный элемент мембраны как

аллостерический регулятор функции гемоглобина. Представляет интерес изучение взаимодействия гемоглобина с NO, так как он имеет гораздо более высокое сродство к гемической группе дезоксигемоглобина, чем O_2 и CO, что позволяет предполагать его конкурирование с кислородом за соответствующие участки на молекулах частично оксигенированного гемоглобина [44]. Проблема фармакотерапии коронарной недостаточности включает целесообразность комплексного воздействия на основные звенья транспорта кислорода к ишемизированному миокарду, изыскание стимуляторов деоксигенации крови различного механизма действия, что существенно повысило бы лечебный эффект противоишемических средств [13].

NO и гемоглобин

В результате взаимодействия NO и гемоглобина образуются его различные NO-формы: метгемоглобин, нитрозилгемоглобин и S-нитрозогемоглобин, которые играют роль своеобразного аллостерического регулятора функциональной активности гемоглобина на уровне отдельных его тетрамеров. Представления о функциональном взаимодействии NO и Hb при физиологических условиях постоянно меняются: эритроциты первоначально характеризовались исключительно как гасители NO (Hb как ловушка NO), затем как структуры, способные эффективно регулировать биологическую активность NO [33]. S-нитрозогемоглобин играет роль датчика местной оксигенации ткани и переносчика биологической активности NO на местном, органном и системном уровнях, в частности, с помощью кислородного сенсора Hb сопрягает изменения кровотока с изменениями тканевой потребности O_2 , а эритроциты регулируют свою главную функцию — доставку O_2 [45]. Присутствие этих соединений гемоглобина с NO может по-разному влиять на СГК всей крови: метгемоглобин и нитрозогемоглобин его повышают, а нитрозилгемоглобин снижает. р50 нитрозогемоглобина, находящегося вне эритроцита, составляет менее 10 мм рт.ст., в растворе (с 30% нитрозилированием β^{93} -цистеина) — $4,3 \pm 0,27$ мм рт.ст., а для нитрозилгемоглобина — $39,6 \pm 1,5$ мм рт.ст. [46]. Состояние кислородсвязывающих свойств является результатом действия многих факторов, и каждый из них играет определенную роль.

Предполагается участие NO в регуляции функциональных свойств гемоглобина в сосудистом компартменте. При концентрациях NO выше, чем это требуется для обеспечения дилатации кровеносных сосудов, возможно его влияние на кислородсвязывающие свойства крови. Оценивая взаимодействие гемоглобина с NO, последний рассматривают как лиганд, определяющий КТФ крови. NO не просто гомотропный лиганд, способный окислять гемовую группу, нитрозилировать β -цистеин и образовывать стабильный интермедиат α -HbNO, но он также может быть редокс-фактором, положительным гетеротропным или отрицательным гомотропным эффектором [37]. На уровне микроциркуляции это может быть чрезвычайно важным для модифицирования его кислородсвязывающих свойств и в конечном итоге для оксигенации тканей. За один цикл движения эритроцита в сосудистой системе происходят последовательные реакции гемоглобина с NO, модулирующиеся его структурными переходами из R- в T-состояние. На уровне капилляров малого круга кровообращения это может быть дополнительным механизмом, способствующим оксигенации крови, а на уровне микроциркуляции большого круга — оптимизирующим десатурацию крови, и соответ-

ственно доставку кислорода в ткани. В капиллярах легкого осуществляется зависимый от O_2 аллостерический переход гемоглобина (T→R), обусловленный переносом NO-группы с гема на β^{93} -цистеин, соответственно в артериальное русло поступает молекула S-нитрозогемоглобина (O_2)₄. В капиллярах большого круга кровообращения осуществляется обратный переход (R→T) с высвобождением NO и иницированием им дилатации сосудов либо с высвобождением O_2 , последующей оксигенацией тканей и образованием нитрозилгемоглобина, который может влиять и на СГК [10].

Различные по происхождению молекулы NO реагируют с SH-группами белков и, прежде всего, альбуминами с образованием долгоживущих комплексов RSNO, оказывающих сосудорасширяющее действие. Среди этих соединений наиболее значимым является S-нитрозоглутатион. Внутри эритроцита существует равновесие между NO, связанным с тиолами в гемоглобине (S-нитрозогемоглобин), и мембранным белком полосы 3, на которое влияет локальное O_2 , регулируя тем самым расширение сосудов в соответствии с метаболическими потребностями [47]. SH-группа S-нитрозотиола существенно защищает NO от гашения присоединением к гему. Равновесие между ними связано с конформацией белка: образование S-нитрозогемоглобина облегчается в R-структуре, а нитрозилгемоглобин преимущественно образуется в T-структуре. Высвобождению NO из тиолов способствуют дезоксигенация и окисление гема (T-структура, высокоспиновая), что согласуется с термодинамическими особенностями его связывания [48]. Первичным аддуктом гемоглобина и NO, образуемого при вдыхании NO, у нормальных индивидуумов являются нитрозилгемоглобин и в небольшом количестве S-нитрозогемоглобин [49]. Глутатион определяет равновесие S-нитрозо- и нитрозилгемоглобин, что влияет на процессы оксигенации и деоксигенации крови в капиллярах малого и большого круга кровообращения. NO, высвобождаемый из S-нитрозогемоглобина в присутствии глутатиона, не вызывает заметных сосудистых эффектов в изолированном легком в связи с быстрым окислением NO и образованием метгемоглобина [50]. Главным продуктом взаимодействия восстановленного глутатиона с S-нитрозогемоглобином *in vivo*, вероятно, является нитрозилгемоглобин, за счет чего происходят модификация СГК, сдвиг КДО вправо.

Гемоглобин способен выполнять функцию депо NO в микроциркуляторной сосудистой сети. Предполагается существование транспортного и высвобождающего механизма O_2 и NO в плодово-плацентарной циркуляции; O_2 и NO-диффундируют к фетальному гемоглобину и высвобождаются на уровне тканей плода [51]. В циркуляторном сосудистом русле нитрозотиолы, образуемые при опосредуемом NO нитрозировании тиолов, играют важную роль в транспорте, хранении и метаболизме NO [52]. Влияние популяции S-нитрозогемоглобина на доставку NO к тканям может быть весьма значительным, так как механизм его высвобождения из данного соединения гемоглобина чувствителен к дезоксигенации и особо проявляется при значительном изменении pO_2 (в гипоксических областях) [53]. Высвобождение большого количества NO из комплексов Hb-NO может приводить к тому, что эти молекулы, конкурируя с супероксиддисмутазой, взаимодействовали бы с супероксидными анион-радикалами, а, это, в свою очередь, обуславливало бы образование пероксинитритов с последующим высвобождением диоксида азота (NO_2) и OH-, которые

вызывают денатурацию белков и повреждают ненасыщенные жирные кислоты, входящие в состав липидов мембран [54, 55]. Как известно, поступление O_2 в ткани определяется его содержанием в крови и величиной кровотока. Эритроциты, секвестрируя NO в терминальных артериолах и капиллярах, уменьшают его участие в расширении сосудов, и тем самым, казалось бы, противодействуют реализации КТФ крови. Сосудистая сеть может скорее действовать не как ловушка для поглощения NO, а как механизм доставки NO [37].

Значение NO для формирования кислородтранспортной функции крови

Газотранспортную функцию крови рассматривают как обеспечивающую перенос не двух газов, согласно классическим представлениям, а трех, а именно O_2 , CO_2 и NO [9, 11, 27]. Существует цикл связывания этих газов и их высвобождения в различных регионах сосудистой системы. Аллостерические переходы Hb при кровообращении регулируют доставку биологической активности NO, сохраняя сосудистый и кислородный гомеостаз. Биологическая активность NO может экспортироваться из места выработки/доставки NO через циркулирующие эритроциты в периферические ткани, где она действует, что предполагает сохранение биологической активности NO в запасах [33].

Установлено действие NO на структурные и функциональные свойства эритроцитов: инкубация крови со спермин-NONOатом снижает деформируемость эритроцитов и $r50$ (в зависимости от концентрации NO, не влияя на активность перекисного окисления липидов) [56]. При холодовом воздействии в случае введения L-аргинина отмечается наименьший сдвиг КДО влево [57]. Высокие дозы нитроглицерина (источника NO) вызывают увеличение образования нитрозигемоглобина, коррелирующего с ростом $r50$ и соответствующим сдвигом КДО вправо [58]. Продукты метаболизма NO, судя по их химической структуре, влияют на клеточный метаболизм и транспорт, в том числе на синтез и утилизацию АТФ. NO влияет на энергетический метаболизм эритроцитов через рост активности гликолитических ферментов, но без изменения содержания АТФ, отражая сокращение времени круговорота АТФ при максимальных дозах используемых доноров и указывая на стимуляцию процессов, потребляющих этот макроэрг, на уровне эритроцитов [59]. В этом аспекте важно отметить, что эритроциты благодаря способности высвобождать АТФ в ответ на физиологические стимулы (механическая деформация) могут влиять на синтез и высвобождение NO, регулируя тем самым сосудистое сопротивление [60]. Вклад NO в внутриэритроцитарные механизмы регуляции кислородсвязывающих свойств крови, показан в опытах *in vitro*: венозную кровь инкубировали при температуре $37^\circ C$ в анаэробных условиях с донорами NO (нитроглицерином, молсидоминем, нитрозоцистеином и L-аргинином), в крови, смешанной с нитрозоцистеином и подвергавшейся оксигенации, при $r50$ стандартном ниже на $3,9 \pm 0,70$ мм рт.ст. ($p < 0,05$), а $r50$ реальном на $3,4 \pm 0,95$ мм рт.ст. ($p < 0,05$) и соответствующем сдвиге КДО вправо [61]. В ряде опытов показано изменение КТФ крови при введении веществ, изменяющих активность системы L-аргинин—NO. Введение нитроглицерина приводило к увеличению метгемоглобина на 217,1% и $r50$ на 29,2%, а в условиях введения липополисахарида и предварительного повышения СГК эти эффекты донора NO усиливались [46].

Обработка крови различными концентрациями NO либо донорами NO (соль Анжели и др.) повышает СГК, линейно коррелирующее с уровнем метгемоглобина, что предполагает вклад последнего в модификации транспорта кислорода кровью [62]. Приведенные данные предполагают существование механизма формирования кислородсвязывающих свойств крови с участием NO, реализуемого на эритроцитарном уровне.

Влияние NO на модуляцию кислородсвязывающих свойств крови проявляется при его высоких концентрациях в капиллярах вследствие большей активности эндотелиальной изоформы NO-синтазы в артериолах и относительно малого объема крови, приходящейся на единицу площади в данном участке сосудистой системы [12], а также при избыточной продукции NO за счет экспрессии индуцибельной изоформы NO-синтазы или его повышенного образования при введении тех или иных фармакологических препаратов.

Кислородсвязывающие свойства крови и дисфункция эндотелия

Механизмы транспорта кислорода кровью играют важную роль в развитии сосудистой патологии и кислороддефицитных состояний. У больных стабильной стенокардией напряжения СГК снижалось — $r50$ стандартное увеличилось на 9,7% при II функциональном классе (ФК), но было на 14,1% ($p < 0,001$) ниже, чем при I ФК [63]. Вероятно, это связано с некоторым «истощением» компенсаторной реакции организма. Снижение СГК у больных стенокардией I, II ФК следует расценивать как компенсаторную реакцию на гипоксию в тканях, возникшую из-за недостаточности коронарного кровотока. Сдвиг КДО вправо (рис. 1) способствует лучшей деоксигенации крови и, очевидно, оптимизации кислородного режима тканей [64, 65]. После лечения нитросорбидом наблюдали уменьшение $r50$ стандартного и соответственно сдвиг КДО влево, что обусловлено повышением компенсаторных возможностей гемодинамики [63]. Как известно, нитросорбид является эндогенным источником NO в организме. Вероятно, его прием оптимизирует состояние КТФ крови. Предполагается возможным при ДЭ поддержание

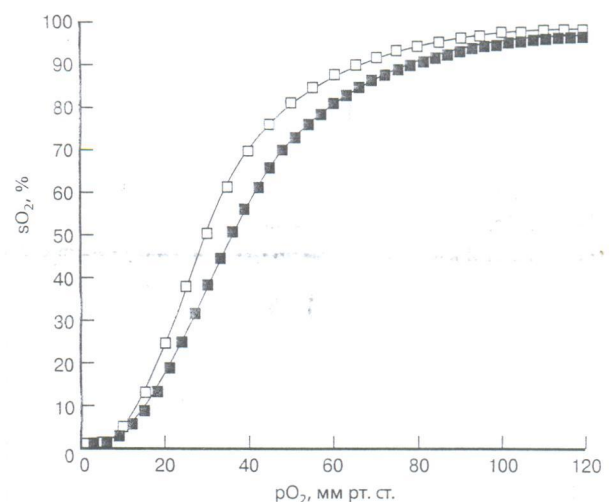


Рис. 1. Кривые диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях pH, pCO_2 и температуры у крови у больных стабильной стенокардией напряжения II ФК до (■) и после лечения нитросорбидом (□). ФК — функциональный класс.

нормальной функции сосудов и путем вдыхания NO, что приводит к образованию различных NO-производных гемоглобина и высвобождению ими NO. При вдыхании воздуха, содержащего 80% NO, уровень нитрозилгемоглобина возрастал в 10 раз до микромолярной области, а SNO-Hb существенно не изменялся [26]. С нарастанием степени тяжести стенокардии (ФК III) p50 уменьшалось, что, вероятно, следует расценивать как критерий неблагоприятного течения заболевания, так как создаются условия для ухудшения оксигенации тканей. При выраженной гипоксии сдвиг КДО влево в определенной степени обеспечивает поддержание прооксидантно-антиоксидантного равновесия, оказывая, возможно, выраженное антиоксидантное действие при значительных нарушениях утилизации кислорода в тканях. NO может влиять на транспорт кислорода кровью не только через опосредованные гемодинамические механизмы, но и путем непосредственного взаимодействия с гемоглобином, образуя различные NO-производные и тем самым изменяя СГК [10].

При стабильной стенокардии напряжения III ФК, протекавшей с артериальной гипертензией (АГ) II стадии, СГК снижается по сравнению с таковым у больных стенокардией I и II ФК; у данных больных выявлена тесная взаимосвязь между параметрами p50 реальное/стандартное и эндотелий-зависимой/эндотелийнезависимой вазодилатацией, уровнем pO_2 и концентрацией нитратов/нитритов [66]. Основным компенсаторным фактором обеспечения миокарда кислородом при возрастающей ДЭ выступают не только адекватное увеличение коронарного кровотока, но и уменьшение СГК, что необходимо учитывать при определении адекватной дифференцированной патогенетической терапии заболевания. Атенолол и аспирин эффективны только у ранее не леченных больных со стабильной стенокардией напряжения ФК I с исходными p50 реальное менее 26,0 мм рт.ст., pO_2 23,9–24,9 мм рт.ст., содержанием нитратов/нитритов в плазме крови не менее 14,0 мкмоль/л и эндотелийзависимой вазодилатацией более 10%. У больных, перенесших инфаркт миокарда, с частыми приступами стенокардии, страдавших ишемической болезнью сердца (ИБС) более 5 лет, с ожирением, нерегулярно получавших лечение амбулаторно при pO_2 23,0–24,9 мм рт.ст., p50 реальное 24,2–26,9 мм рт.ст. и эндотелийзависимой вазодилатации менее 10% показан и молсидомин [66]. Наиболее эффективно нормализуется СГК, восстанавливается функция эндотелия в случаях ИБС продолжительностью менее 1 года, а АГ — менее 5 лет приемом эналаприла, аспирина и молсидомина в сочетании с атенололом, особенно с бетаксололом. Терапия на ранних стадиях заболевания улучшает функцию эндотелия, но становится не столь эффективной по мере увеличения тяжести заболевания, что требует ее своевременного назначения.

По мере нарастания степени тяжести АГ, особенно с присоединением ИБС, происходит уменьшение синтеза NO, определяемое по снижению содержания нитратов/нитритов в плазме крови, нарушение эндотелийзависимой вазодилатации, наиболее выраженные у больных АГ, протекающей с кризами, и у лиц, не принимавших гипотензивную терапию [67]. У больных АГ II стадии увеличиваются p50 и pCO_2 , уменьшается pO_2 . При АГ III стадии уменьшаются p50, pO_2 , pH крови, увеличивается pCO_2 . При АГ III стадии, протекающей в сочетании с ИБС, снижение p50, pO_2 , pH крови, увеличение pCO_2 наиболее выражены. Повышение p50 является компенсаторной реакцией на изменение синтеза NO и возникновение гипоксии.

К существенным факторам терапевтического действия ингибитора ангиотензинпревращающего фермента и лозартана следует отнести снижение коронаросуживающего действия ангиотензина. В этом плане заслуживают внимания данные о возможности влияния эналаприла и лозартана на СГК. Так, лозартан в концентрации 250 нг/мл достоверно повышал СГК (p50 снижалось с $30,19 \pm 0,50$ в контроле до $27,79 \pm 0,72$ мм рт.ст.) [68]. Выявлено, что двухнедельный сочетанный прием эналаприла, атенолола и гипотиазиды способствует увеличению уровня нитратов/нитритов в плазме крови только у больных АГ II стадии, при которой их уровень выше 16,0 мкмоль/л, сохранена функция эндотелия, p50 реальное выше 28,40 мм рт.ст., p50 стандартное выше 27,20 мм рт.ст. [12].

В клинической фармакологии относительно недавно появился новый класс препаратов, которые способны увеличить продукцию NO в организме, одним из которых является небиволол, новый «атипичный» β -адреноблокатор, относящийся к третьему поколению, обладающий выраженными сосудорасширяющими свойствами [69]. Данный препарат способен улучшать функциональное состояние эндотелия сосудов, которые находятся в условиях окислительного стресса, обусловленного гиперлипидемией [70], что связано с его способностью предотвращать расщепление эндотелиальной NO-синтазы и активацию НАД-оксидазы нейтрофилов. Предполагается, что этот препарат вызывает увеличение содержания внутриклеточного Ca^{2+} и потенцирование синтеза NO через нерцепторные механизмы [71]. Имеются сведения о том, что небиволол подобно карведилолу обладает антиоксидантными свойствами [69]. Антиоксидантная активность его как в цельной крови, так и в изолированных нейтрофилах носит дозозависимый характер. Атенолол, метопролол и карведилол в этом отношении значительно менее эффективны [70]. Двухнедельный прием небиволола (у больных АГ II стадии) и сочетанный прием его с эналаприлом и гипотиазидом (у больных АГ III стадии) увеличивает уровень нитратов/нитритов в плазме крови и эндотелийзависимую вазодилатацию, уменьшает проявления гипоксии [46]. Его применение у больных АГ II стадии улучшало кислородное обеспечение, увеличивало pO_2 . Изменения p50 в большей степени зависели от исходного уровня. Так, у больных АГ II стадии p50 реальное не изменилось, а p50 стандартное достоверно уменьшилось (на 6,3%; $p < 0,05$). У больных АГ III стадии под влиянием небиволола p50 реальное увеличилось на 9,2% ($p < 0,05$), p50 стандартное — на 8,3% ($p < 0,05$), т.е. отмечалось нормализующее влияние небиволола на СГК. В опытах *in vitro* небиволол увеличивал p50 при реальных значениях pH и pCO_2 на $4,3 \pm 0,8$ ($p < 0,05$) мм рт.ст. при самой низкой концентрации, а последующее 2- и 3-кратное увеличение концентрации повышало его величину на $7,5 \pm 1,1$ ($p < 0,01$) и $10,6 \pm 0,7$ ($p < 0,01$) мм рт.ст. соответственно, что отражает дозозависимый характер действия. Уровень метгемоглобина и содержание нитратов/нитритов возрастал при росте концентрации препарата [72]. Очевидно, изменения СГК при действии небиволола реализуются также через автономную внутриэритроцитарную систему регуляции кислородсвязывающих свойств крови. NO в этом случае выступает в качестве важного модификатора функциональных свойств гемоглобина.

КТФ крови может влиять на активность системы L-аргинин—NO. Образование NO является кислородзависимым процессом. Кислород — один из субстратов, необходимых для синтеза NO

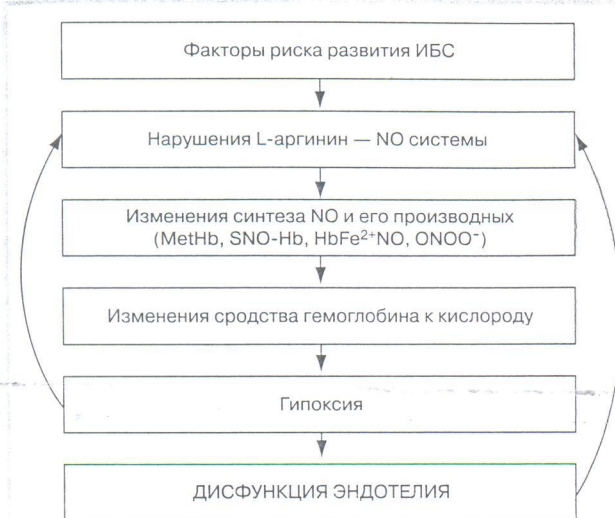


Рис. 2. Участие кислородсвязывающих свойств крови в развитии ДЭ.
ДЭ — дисфункция эндотелия; ИБС — ишемическая болезнь сердца.

и может играть лимитирующую роль для образования NO. Активность NO-синтазы может модифицироваться гипоксией, при pO_2 меньше 30 мм рт.ст. ферментативный синтез NO снижается [73]. Острая гипоксия дозозависимо угнетает активность всех изоформ NO-синтазы, при умеренной гипоксии поступление в клетки Ca^{2+} активирует NO-синтазу и предупреждает дефицит NO, а при длительной и тяжелой гипоксии этот компенсаторный механизм не работает, и дефицит NO обуславливает гипоксическую вазоконстрикцию, что может привести к развитию системной или легочной гипертензии, инфаркту миокарда [74]. Следует учитывать взаимодействие гемоглобина не только с кислородом но особенно с NO, имеющим гораздо более высокое сродство к гемической группе дезоксигемоглобина, чем кислород и углекислый газ, что позволяет предполагать его конкурирование с кислородом за соответствующие участки частично оксигенированного гемоглобина [44]. Дефицит кровотока, нарушение процессов транспорта кислорода в ткани в свою очередь являются важными факторами, определяющими образование NO в организме [12]. SGK, регулируя уровень NO, может вносить вклад в равновесие между ним и кислородом в сосудистой сети. В то же время в формировании данных нарушений может участвовать эндотелий, так как только синтезируемый в достаточном количестве NO поддерживает нормальный кровоток и транспорт кислорода к тканям. При ДЭ нарушается образование различных NO-производных гемоглобина, что влияет не только на высвобождение ими NO в различных участках сосудистого русла, но и на SGK, и, соответственно, оптимальную оксигенацию крови в капиллярах малого круга и ее деоксигенации в капиллярах большого круга кровообращения. Формирование ДЭ, характеризующееся дисбалансом NO-продуцирующей функции и нарушением деградации NO, ведет к изменению кислородсвязывающих свойств крови, возникновению гипоксии и усилению проявления ДЭ, формируя порочный круг (рис. 2). Повышенное в гипоксических тканях высвобождение NO из нитрозоформ снижает региональное сосудистое сопротивление [50], что является примером значення аллостерических свойств гемоглобина, которые улучшают

транспорт O_2 путем приведения в соответствие кровотока региональным потребностям в O_2 .

При гипоксических состояниях различного генеза в организме отмечается дисбаланс между доставкой кислорода и скоростью, эффективностью его использования в клетках. Среди широкого диапазона адаптационных процессов, проявляющихся на молекулярном, клеточном и системном уровнях физиологической организации, изменение структурно-физиологических глобинов могут критическим образом управлять выживанием при специфических условиях среды и физиологических потребностей [65]. Гипоксия индуцирует экспрессию ряда генов, отвечающих за образование фактора роста эндотелия, эритропоэтина, эндотелина, которые в свою очередь обеспечивают усиление процессов васкуляризации, образование эритроцитов, расширение сосудов, и в конечном итоге, направлены на поддержание кислородного гомеостаза. Вероятно, NO может имитировать O_2 как предполагаемый геновый датчик, тем самым ингибируя вызываемые гипоксией изменения экспрессии генов. Существует NO-зависимая регуляция сигнальной трансдукции (активации) гипоксически индуцибельного фактора (HIF-1a), осуществляемая через образование пероксинитрита, который индуцирует освобождение 2-оксоглутарата из митохондрий, регулируя связывание гидроксиглированных пролинов a-субъединиц HIF-1, убиквитинизацию и деградацию этого протеина [75]. Это обеспечивает процессы регуляции ангиогенеза, клеточной адгезии, образование эритропоэтина с последующим выбросом молодых эритроцитов в сосудистое русло с иными кислородсвязывающими свойствами гемоглобина. Анализ приспособительных изменений кислородсвязывающих свойств крови при ДЭ и гипоксиях следует рассматривать именно в аспекте функциональных отношений системы транспорта кислорода и системы L-аргинин—NO [46]. В формировании нарушений КТФ крови при этом может участвовать эндотелий, так как только синтезируемый в адекватном количестве NO поддерживает нормальный кровоток и транспорт кислорода к тканям.

Заключение

Функция эндотелия тесно связана с процессами транспорта кислорода в ткани. Нарушение NO-синтазной функции эндотелия обуславливает в значительной степени потерю контроля над сосудистым тонусом, приводя к снижению адекватного обеспечения кровотоком потребностей тканей в кислороде, что необходимо учитывать в клинической практике при выборе адекватной патогенетической терапии для больных ишемической болезнью сердца. Кислородсвязывающие свойства крови влияют на состояние системы L-аргинин—NO, и в то же время она может определять функциональные свойства гемоглобина путем модификации его сродства к кислороду через внутри-эритроцитарные механизмы регуляции, кислородзависимый характер образования NO, регуляцию сосудистого тонуса, действие пероксинитрита [10, 61]. Их влияние на модуляцию кислородсвязывающих свойств крови может иметь большое значение для процессов газообмена за счет гетерогенности эндотелия по NO-образующей функции и особенностей объемного содержания крови в различных отделах сердечно-сосудистой системы, что также может быть важным в патогенезе дисфункции эндотелия.

Таким образом, при дисфункции эндотелия у больных стенокардией и артериальной гипертензией наблюдаются

существенные нарушения кислородтранспортной функции крови. Оценка функции эндотелия, кислородтранспортной функции крови и их взаимосвязи может быть эффективна для дифференцированного применения традиционной

лекарственной терапии. Возможно создание новых путей коррекции дисфункции эндотелия путем целенаправленного воздействия на кислородсвязывающие свойства крови и систему L-аргинин—NO.

Сведения об авторах:

Зинчук В. В. - д.м.н., проф., зав. кафедрой нормальной физиологии Гродненского государственного медицинского университета, Гродно, Беларусь.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Faller D.V.* Endothelial cell responses to hypoxic stress. *Clin Exper Pharmacol Physiol* 1999;26:74–84.
2. *Мартынов А.И., Аветян Н.Г., Акатова Е.В. и др.* Дисфункция эндотелия у больных гипертонической болезнью. *Кардиология* 2005;10:101–104.
3. *Марков Х.М.* Молекулярные механизмы дисфункции сосудистого эндотелия. *Кардиология* 2005;12:62–72.
4. *Stefano G.B., Fricchione G.L., Esch T.* Relaxation: molecular and physiological significance. *Med Sci Monit* 2006;12:21–31.
5. *Зотова И. В., Затеишиков Д.А., Сидоренко Б.А.* Синтез оксида азота и развитие атеросклероза. *Кардиология* 2002;4:58–67.
6. *Gryglewski R.J.* Pharmacology of vascular endothelium. *FEBS J* 2005;272:2956–2967.
7. *Vane J.B.* The endothelium: maestro of the blood circulation. *Philos Trans R Soc Lond* 1994;343:225–246.
8. *Аронов А.М., Луцанов В.П.* Дифференцированное применение нитратов при ишемической болезни сердца в зависимости от клинической формы и тяжести заболевания. *Кардиология* 2006;1:74–83.
9. *González-Alonso J., Olsen D.B., Saltin B.* Model of erythrocyte oxygen sensing under the conditions of normoxia, hypoxia, hyperoxia, and CO+normoxia during exercise. *Circ Res* 2002;91:1046–1055.
10. *Зинчук В.В.* Участие оксида азота в формировании кислородсвязывающих свойств гемоглобина. *Успехи физиол наук* 2003;2:33–45.
11. *McMahon T.J., Doctor A.* Extrapulmonary effects of inhaled nitric oxide: role of reversible S-nitrosylation of erythrocytic hemoglobin. *Proc Am Thorac Soc* 2006;3:153–160.
12. *Zinchuk V.V., Pronko T.P., Lis M.A.* Blood oxygen transport and endothelial dysfunction in patients with arterial hypertension. *Clin Physiol Nucl Med* 2004;24:205–211.
13. *Гацура С.В., Гацура В.В.* Проблемы регуляции кислородтранспортной функции крови в кардиологии. М: Компания путник 2005;144.
14. *Максимов Г.В., Роденков О.В., Луцанов В.П. и др.* Изучение роли плазматической мембраны эритроцитов в формировании гипоксии у больных с хронической сердечной недостаточностью. *Тер арх* 2005;9:70–73.
15. *Гомазков О.А.* Молекулярные и физиологические аспекты эндотелиальной дисфункции. Роль эндогенных химических регуляторов. *Успехи физиол наук* 2000;31:48–62.
16. *Boger R.H.* The emerging role of asymmetric dimethyl-arginine as a novel cardiovascular risk factor. *Cardiovasc Res* 2003;59:824–833.
17. *Nedeljkovic Z.S., Gokce N., Loscalzo J.* Mechanisms of oxidative stress and vascular dysfunction. *Postgrad Med J* 2003;79:195–200.
18. *Tannenbaum S.* Nitrate and nitrite: origin in humans. *Science* 1994;205:1333–1335.
19. *Kelm M.* Nitric oxide metabolism and breakdown. *Biochimica et Biophysica Acta* 1999;1411:273–289.
20. *Sakinis A., Jungersten L., Wennmalm A.* An 18oxygen inhalation method for determination of total body formation of nitric oxide in humans. *Clin Physiol* 1999;19:504–509.
21. *Addicks K., Bloch W., Feelisch M.* Nitric oxide modulates sympathetic neurotransmission at the prejunctional level. *Microsc Res Tech* 1994;29:161–168.
22. *Kelm V., Rath J.* Endothelial dysfunction in human coronary circulation: relevance of the L-arginine—NO pathway. *Basic Res Cardiol* 2001;96:107–127.
23. *William C.F.* Phenotypic heterogeneity of the endothelium. *Circ Res* 2007;100:158–173.
24. *Cicinelli E., Ignarro L.J., Schonauer L.M. et al.* Different plasma levels of nitric oxide in arterial and venous blood. *Clin Physiol* 1999;19:440–442.
25. *Lauer T., Preik M., Rassaf T. et al.* Plasma nitrite rather than nitrate reflects regional endothelial nitric oxide synthase activity but lacks intrinsic vasodilator action. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:12814–12819.
26. *Cannon R.O., Schechter A.N., Panza J.A. et al.* Effects of inhaled nitric oxide on regional blood flow are consistent with intravascular nitric oxide delivery. *J Clin Invest* 2001;108:279–287.
27. *Gow A.J., Luchsing B.P., Pawloski J.R. et al.* The oxyhemoglobin reaction of nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:9027–9032.
28. *Gladwin M.T., Ognibene F.P., Shelhamer J.H. et al.* Nitric oxide transport on sickle cell hemoglobin: where does it bind? *Free Radic Res* 2001;2:175–180.
29. *Физиология человека.* Под ред. Р. Шмидта, Г. Тевса. Т. 2. М: Мир 1996; 313.
30. *van Hinsbergh V.W.M.* The endothelium: vascular control of haemostasis. *Eur J Obstetr Gynec Reprod Biol* 2001;95:198–201.
31. *Kleingogard P., Keymel S., Kelm M.* New functional aspects of the L-arginine—nitric oxide metabolism within the circulating blood *Thromb Haemost* 2007;98:970–974.
32. *Kleingogard P., Schulz R., Rassaf T. et al.* Red blood cells express a functional endothelial nitric oxide synthase. *Blood* 2006;107:2943–2951.
33. *Sonveaux P., Lobysheva I.I., Feron O., McMahon T.J.* Transport and peripheral bioactivities of nitrogen oxides carried by red blood cell hemoglobin: role in oxygen delivery. *Physiology* 2007;22:97–112.
34. *Liu X., Miller M.J., Joshi M.S. et al.* Diffusion-limited reaction of free nitric oxide with erythrocytes. *J Biol Chem* 1998;273:18709–18713.
35. *Huang K.T., Han T.H., Hyde D.R. et al.* Modulation of nitric oxide bioavailability by erythrocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98:11771–11776.
36. *Pawloski J.R., Hess D.T., Stamler J.S.* Export by red blood cells of nitric oxide bioactivity. *Nature* 2001;409:622–626.
37. *Frehm E.J., Bonaventura J., Gow A.J.* S-Nitrosohemoglobin: an allosteric mediator of NO group function in mammalian vasculature. *Free Radic Biol Med* 2004;37:442–453.
38. *Liao J.C., Hein T.W., Vaughn M.W. et al.* Intravascular flow decreases erythrocyte consumption of nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci* 1999;96:8757–8761.
39. *Huang K.T., Huang Z., Kim-Shapiro D.B.* Nitric oxide red blood cell membrane permeability at high and low oxygen tension. *Nitric Oxide* 2007;16:209–216.
40. *Samaja M.* Blood gas transport at high altitude. *Respiration* 1997;64:422.

41. Samaja M., Crespi T., Guazzi M., Vandegriff K.D. Oxygen transport in blood at high altitude: role of the hemoglobin-oxygen affinity and impact of the phenomena related to hemoglobin allosterism and red cell function. *Eur J Appl Physiol* 2003;90:351–359.
42. Cabrales P., Tsai A.G., Intaglietta M. Increased tissue pO₂ and decreased O₂ delivery and consumption after 80% exchange transfusion with polymerized hemoglobin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004;287:H2825–H2833.
43. Борисюк М.В. Особенности регуляции кислородсвязывающих свойств крови в процессе ее циркуляции. *Успехи физиол наук* 1984;2:3–26.
44. Gladwin M.T., Ognibene F.P., Pannell L.K. et al. Relative role of heme nitrosylation and beta-cysteine 93 nitrosation in the transport and metabolism of nitric oxide by hemoglobin in the human circulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:9943–9948.
45. Stamler J.S., Jia L., Eu J.P. et al. Blood flow regulation by S-nitrosohemoglobin in the physiological oxygen gradient. *Science* 1997;276:2034–2037.
46. Зинчук В.В., Максимович Н.А., Козловский В.И. и др. Дисфункция эндотелия: фундаментальные и клинические аспекты. Под ред. В.В. Зинчука. Гродно 2006;183.
47. Stamler J.S. S-Nitrosothiols in the blood. Roles, amounts, and methods of analysis. *Circ Res* 2004;94:414–417.
48. Eaton W., Henry E.R., Hofrichter J., Mozzarelli A. Is cooperative oxygen binding by hemoglobin really understood? *Nat Struct Biol* 1999;6:353–358.
49. Gladwin M.T., Shelhamer J.H., Ognibene F.P. et al. Nitric oxide donor properties of hydroxyurea in patients with sickle cell disease. *Br J Haematol* 2002;6:436–444.
50. Deem S., Gladwin M.T., Berg J.T. et al. Effects of S-nitrosation of hemoglobin on hypoxic pulmonary vasoconstriction and nitric oxide flux. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:1164–1170.
51. Clementi M.E., Orsini F., Schinina M.E. et al. Effect of nitric oxide on the transport and release of oxygen in fetal blood *Biochem Biophys Res Commun* 2003;302:512–519.
52. Jourdeuil D., Hallen K., Feelisch M., Grisham M.B. Dynamic state of S-nitrosothiols in human plasma and whole blood. *Free Radic Biol Med* 2000;28:409–417.
53. Patel R.P., Hogg N., Spencer N.Y. et al. Biochemical characterization of S-nitrosohemoglobin effects on oxygen binding and transnitrosation. *J Biol Chem* 1999;274:15487–15492.
54. Дубинина Е.Е., Гавровская С.В., Кузьмич Е.В. и др. Окислительная модификация белков и образование битирозина в очищенных белках с использованием системы Фентона. *Биохимия* 2002;3:413–421.
55. McMahon T.J., Stone A.E., Bonaventura J. et al. Functional coupling of oxygen binding and vasoactivity in S-nitrosohemoglobin. *J Biol Chem* 2000;275:16738–16745.
56. Mesquita R., Picarra B., Saldanha C., Martins e Silva. Nitric oxide effects on human erythrocytes structural and functional properties an in vitro study. *Clin Hemorheol Microcirc* 2002;27:137–147.
57. Zinchuk V.V., Dorokhina L.V. Blood oxygen transport in rats under hypothermia combined with modification of the L-arginine-NO pathway. *Nitric Oxide* 2002;6:29–34.
58. Kosaka H., Seyama A. Physiological role of nitric oxide as an enhancer of oxygen transfer from erythrocytes to tissues. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;218:749–752.
59. Maletic S.D., Drsgjavec-Djorovic L.M. et al. Effects of nitric oxide donors on energy metabolism of rat erythrocytes. *J Environment Pathol Toxicol Oncol* 2000;19:383–390.
60. Olearczyk J.J., Stephenson A.H., Lonigro A.J., Sprague R.S. NO inhibits signal transduction pathway for ATP release from erythrocytes via its action on heterotrimeric G protein G_i. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004;287:H748–H754.
61. Stepuro T.L., Zinchuk V.V. Nitric oxide effect on the hemoglobin-oxygen affinity. *J Physiol Pharmacol* 2006;57:29–38.
62. Hrinchenko B.W., Alayash A.I., Wink D.A. et al. Effect of nitric oxide and nitric oxide donors on red blood cell oxygen transport. *Br J Haematol* 2000;110:412–419.
63. Зинчук В.В., Добродей М.А., Лис М.А. Особенности кислородтранспортной функции крови у больных стенокардией в условиях коррекции L-аргинин-NO системы. *Физиология человека* 2008;2:1–3.
64. Hsia C.C.W. Mechanisms of disease: Respiratory function of hemoglobin. *New Engl J Med* 1998;338:239–247.
65. Weber R.E., Fago A. Functional adaptation and its molecular basis in vertebrate hemoglobins, neuroglobins and cytoglobins. *Respir Physiol Neurobiol* 2004;144:141–159.
66. Янковская Л.В., Зинчук В.В., Лис М.А. Кислородтранспортная функция крови и дисфункция эндотелия у больных со стенокардией и артериальной гипертензией. *Кардиология* 2007;4:22–27.
67. Прохько Т.П. Эндотелийзависимая и эндотелийнезависимая вазодилатация у больных артериальной гипертензией в условиях патогенетической терапии. *Мед новости* 2003;2:69–71.
68. Гаура С.В., Зинчук В.В. Влияние эналаприла малеата и лозартана на размеры экспериментального инфаркта миокарда, средство гемоглобина к кислороду и некоторые показатели перекисного окисления липидов. *Эксперимент и клин фармакол* 2004;1:19–21.
69. Cockcroft J. Nebivolol: a review. *Expert Opin Pharmacother* 2004;4:893–899.
70. Mollnau H., Schulz E., Daiber A. et al. Nebivolol prevents vascular NOS III uncoupling in experimental hyperlipidemia and inhibits NADPH oxidase activity in inflammatory cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:4615–621.
71. Ignarro L.J. Experimental evidences of nitric oxide-dependent vasodilatory activity of nebivolol, a third-generation beta-blocker. *Blood Press Suppl* 2004:16.
72. Зинчук В.В., Зинчук Н.В. Влияние небиволола на кислородтранспортную функцию крови. *Эксперимент и клин фармакол* 2007;1:44–47.
73. Kourembanas S., Morita T., Christou H. Hypoxic responses of vascular cells. *Chest* 1998;114:25S–28S.
74. Манухина Е.Б. Защита и повреждение сердечно-сосудистой системы при периодической гипоксии: роль оксида азота. IV Всероссийская с международным участием школа-конференция по физиологии кровообращения: Тез докл. М 2008;58–59.
75. Sumbayev V.V., Yasinska I.M. Mechanisms of hypoxic signal transduction regulated by reactive nitrogen species. *Scand J Immunol* 2007;65:399–406.

Поступила 20.03.08