

**КИСЛОРОДТРАНСПОРТНАЯ ФУНКЦИЯ КРОВИ КРЫС
ПРИ ВВЕДЕНИИ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА
В УСЛОВИЯХ КОРРЕКЦИИ L-АРГИНИН-NO СИСТЕМЫ**

© А. Н. Глебов, В. В. Зинчук

Кафедра нормальной физиологии Гродненского медицинского университета,
Беларусь, 230015, Гродно, ул. Горького, 80, e-mail: zinchuk@grsmu.by

Целью данной работы было изучение параметров кислородтранспортной функции крови крыс при введении липополисахарида в условиях различной коррекции L-аргинин-NO системы. Окислительный стресс у крыс моделировали внутривенным введением липополисахарида от *Escherichia coli* в дозе 5.0 мг/кг. Коррекция L-аргинин-NO системы выполнялась внутривенной инъекцией L-аргинина, метилового эфира N^G-нитро-L-аргинина, селективного ингибитора NO-синтазы L-лизина-N^G-ацетамида. Наименьшие нарушения кислородтранспортной функции крови при введении липополисахарида отмечались в условиях направленной селективной коррекции L-аргинин-NO системы. L-аргинин и неселективный блокатор метиловый эфир N^G-нитро-L-аргинин столь выраженного защитного эффекта не оказывали. Выявленные особенности эффекта коррекции L-аргинин-NO системы на кислородтранспортную функцию крови, прежде всего при введении L-лизина-N^G-ацетамида, и отсутствие его при использовании других средств предполагает, что избыточная продукция NO за счет активации индуцибельной изоформы NO-синтазы может влиять на средство гемоглобина к кислороду при действии липополисахарида.

Ключевые слова: кислород, кровь, липополисахарид, окись азота.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 91. № 9. С. 1052—1059. 2005

A. N. Glebov, V. V. Zinchuk. BLOOD OXYGEN TRANSPORT IN RATS DURING LIPOPOLYSACCHARIDE ADMINISTRATION COMBINED WITH MODIFICATION OF L-ARGININE-NO SYSTEM. Grodno State Medical University, 230015, Grodno, 80 Gorky St., Belorussia.

Lipopolysaccharide from *Escherichia coli* was intravenously administered to rats (5.0 mg/kg). L-arginine-NO system was modified by intravenous injection of L-arginine, N^G-nitro-L-arginine methyl ester or L-lysine-N^G-acetamidine (nitric oxide synthase (NOS) substrate, nonselective NOS inhibitor, and selective inducible NOS inhibitor, respectively.) Lipopolysaccharide-induced disorders of blood oxygen transport were the least during the selective inducible NOS inhibition. The protective effects of L-arginine and N^G-nitro-L-arginine methyl ester were less prominent. Such features of NOS modification effect on the blood oxygen transport suggest that activation of inducible NOS may change the hemoglobin-oxygen affinity during the lipopolysaccharide treatment.

Key words: oxygen, blood, lipopolysaccharide, nitric oxide.

RUSSIAN PHYSIOLOGICAL JOURNAL. V. 91. N 9. P. 1052—1059. 2005

Системная воспалительная реакция является одной из форм ответа макроорганизма на бактериальную инфекцию, наиболее мощным ее индуктором является липополисахарид грамотрицательных бактерий [4]. Этот эндотоксин усиливает

высвобождение NO и активность фермента индуцибельной NO-синтазы (в целом повышается активность L-аргинин-NO системы) [5]. При септическом шоке высвобождение NO увеличено в связи с эффектами циркулирующих пептидов, адгезией нейтрофилов к эндотелию и активацией NO-синтазы в тканях воспалительными медиаторами и цитокинами [15]. Массивное высвобождение NO при эндотоксемии вносит вклад в развитие дисфункции различных органов.

NO является важным регулятором тонуса сосудов, агрегации тромбоцитов, адгезии лейкоцитов, пролиферации интимы и гладких мышц [10]. Предполагается участие гемоглобина в регуляции физиологической активности NO в сосудистом компартменте [6]. Известны три основные NO-производные формы гемоглобина: метгемоглобин, нитрозилгемоглобин, нитрозогемоглобин. В молекуле нитрозилгемоглобина NO связан с Fe^{2+} -участками на геме, а нитрозогемоглобин является результатом взаимодействия NO с цистеином (93) на β -глобиновой цепи [14]. Присутствие различных соединений гемоглобина с NO может по-разному влиять на сродство гемоглобина к кислороду всей крови: метгемоглобин и нитрозогемоглобин его повышают, а нитрозилгемоглобин снижает. Их влияние на модуляцию кислородсвязывающих свойств крови может иметь важное значение для процессов газообмена и оксигенации тканей [3]. В то же время известно, что липополисахарид оказывает влияние на кислородсвязывающие функции крови через NO-зависимые механизмы [2]. Целью данной работы было изучение параметров кислородтранспортной функции крови крыс при введении липополисахарида в условиях дифференцированной коррекции L-аргинин-NO системы.

МЕТОДИКА

Исследования были проведены на лабораторных крысах-самцах ($n = 87$) массой 190—230 г, содержащихся в условиях вивария при температуре 20 °С. Окислительный стресс моделировали внутривенным введением липополисахарида (Sigma, США) от *Escherichia coli* в дозе 5.0 мг/кг. Коррекция L-аргинин-NO системы выполнялась внутривенной инъекцией L-аргинина в дозе 300 мг/кг за 10 мин до введения липополисахарида, метилового эфира N^G -нитро-L-аргинина (Sigma, США) в дозе 20 мг/кг, селективного ингибитора NO-синтазы L-лизина- N^G -ацетамидина (Sigma, США) в дозе 2 мг/кг через 45 мин после липополисахарида. В условиях адекватной аналгезии (внутривенно гексенал 30 мг/кг) осуществляли забор проб крови из правого предсердия через 180 мин после введения липополисахарида. Выполненные манипуляции на животных осуществляли в соответствии с рекомендациями, подготовленными Европейской комиссией по защите используемых в экспериментах животных.

Сродство гемоглобина к крови оценивали по показателю $p50$ (pO_2 , соответствующее 50 %-ному насыщению гемоглобина кислородом), который измерялся модифицированным методом «смешивания» [12] при температуре 37 °С, $pH = 7.4$ и $pCO_2 = 40$ мм рт. ст. ($p50_{\text{станд}}$). Затем рассчитывался $p50$ при реальных pH , pCO_2 и температуре ($p50_{\text{реал}}$) по формулам Severinghaus J. W. [11]. Положение кривой диссоциации оксигемоглобина рассчитывали по полученным значениям $p50$, используя уравнение Хилла. Значения pO_2 , pCO_2 и pH в исследуемых пробах крови измеряли при температуре 37 °С на микрогазоанализаторе ABL-330 фирмы «Radiometer». Реальный избыток буферных оснований, концентрацию общей углекислоты, бикарбоната, стандартный бикарбонат в плазме рассчитывали по номограммам Siggaard—Andersen. Содержание нитратов/нитритов в плазме крови определяли по методу Грисса [13]. Количество гемоглобина и метгемоглобина определяли спектрофотометрическим методом. Полученные данные статистически обрабатывали общепринятым методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изменения основных показателей кислотно-основного состояния крови у крыс после введения в кровоток липополисахарида (при окислительном стрессе) в условиях коррекции L-аргинин-NO системы представлены в табл. 1. Введение ли-

Т а б л и ц а 1

Основные показатели кислотно-основного состояния крови у крыс при введении
липополисахарида в условиях коррекции L-аргинин-NO системы ($M \pm m$)

Показатель	Контроль	ЛПС	L-NAME	ЛПС + L-NAME	L-аргинин
<i>n</i>	10	9	6	10	8
pH венозной крови, ед.	7.285±0.009	7.163±0.013*	7.293±0.014#	7.158±0.008*	7.297±0.008#
Напряжение углекислого газа, мм рт. ст.	50.0±0.91	51.9±1.08	50.4±0.94	50.1±1.61	49.1±1.26
Концентрация бикарбоната, мМ/л	23.43±0.34	18.41±0.52*	23.58±0.49#	17.32±0.55*	23.49±0.36#
Концентрация общей углекислоты, мМ/л	24.71±0.51	19.92±0.23*	25.22±0.54#	18.52±0.63*	25.14±0.77#
Реальный избыток буферных оснований, мМ/л	-3.12±0.17	-9.91±0.30*	-2.81±0.36#	-11.04±0.42*#	-2.92±0.30#
Стандартный бикарбонат, мМ/л	17.71±0.55	15.25±0.43*	18.03±0.47#	12.99±0.29*#	19.42±0.35*#

Таблица 1 (продолжение)

Показатель	L-аргинин + ЛПС	L-аргинин + ЛПС + L-NAME	L-NIL	ЛПС + L-NIL	L-аргинин + ЛПС + L-NIL
<i>n</i>	9	9	8	9	9
pH венозной крови, ед.	7.184±0.012*	7.189±0.009*	7.281±0.013#	7.211±0.008*#	7.209±0.011*#
Напряжение углекислого газа, мм рт. ст.	52.9±1.31	52.3±1.10	51.6±1.04	51.4±0.77	49.8±0.83
Концентрация бикарбоната, мМ/л	19.35±0.59*	19.24±0.38*	23.51±0.61#	20.04±0.37*#	19.22±0.42*
Концентрация общей углекислоты, мМ/л	20.82±0.48*	20.68±0.60*	25.11±0.39#	21.52±0.46*#	20.49±0.33*
Реальный избыток буферных оснований, мМ/л	-8.83±0.51*	-9.10±0.44*	-3.08±0.27#	-7.64±0.47*#	-8.35±0.37*#
Стандартный бикарбонат, мМ/л	15.72±0.39*	15.18±0.38*	19.35±0.45*#	16.99±0.38#	13.54±0.47*#

Примечание (здесь и в табл. 2). ЛПС — липополисахарид, L-NAME — метиловый эфир N^G-нитро-L-аргинин, L-NIL — L-лизин-N^G-ацетамидин. * $p < 0.05$ по отношению к контрольной группе, # по отношению к группе, получавшей липополисахарид.

Таблица 2

Кислородтранспортная функция крови у крыс при введении липополисахарида в условиях коррекции L-аргинин-NO системы ($M \pm m$)

Показатель	Контроль	ЛПС	L-NAME	ЛПС + L-NAME	L-аргинин
<i>n</i>	10	9	6	10	8
Гемоглобин, г/л	108.10±2.11	112.21±2.17	107.43±1.12	108.60±1.86	109.34±1.27
Метгемоглобин, %	0.71±0.05	2.70±0.27*	0.34±0.06*#	1.30±0.17*#	1.76±0.20*#
Напряжение кислорода, мм рт. ст.	27.9±0.72	21.5±0.87*	27.4±0.67#	21.4±0.76*	26.3±1.04#
p50 _{реаль} , мм рт. ст.	38.0±0.44	47.2±0.37*	37.1±0.43#	46.2±0.67*	35.3±0.74*#
p50 _{станд} , мм рт. ст.	32.8±0.72	38.3±0.91*	32.3±0.92#	38.0±0.96*	31.4±0.87#

Таблица 2 (продолжение)

Показатель	L-аргинин + ЛПС	L-аргинин + ЛПС + L-NAME	L-NIL	ЛПС + L-NIL	L-аргинин + ЛПС + L-NIL
<i>n</i>	9	9	8	9	9
Гемоглобин, г/л	111.52±1.51	111.14±1.42	107.67±1.30	109.20±1.65	109.41±2.10
Метгемоглобин, %	2.22±0.19*	1.36±0.19*#	0.24±0.11*#	1.12±0.15*#	1.43±0.11*#
Напряжение кислорода, мм рт. ст.	22.3±0.78*	22.6±0.68*	28.6±0.94#	24.7±0.63*#	24.9±0.68*#
p50 _{реаль} , мм рт. ст.	47.4±0.56*	46.9±0.80*	39.3±0.65#	42.2±0.49*#	41.7±0.61*#
p50 _{станд} , мм рт. ст.	39.5±0.97*	38.6±1.08*	33.2±0.93#	35.0±0.74*#	34.8±0.81#

полисахарида приводило к снижению pH на 0.122 ± 0.011 ед. ($p < 0.001$). При этом отмечалось снижение в плазме концентрации бикарбоната на 21.4 % ($p < 0.001$), концентрации общей углекислоты на 19.4 % ($p < 0.001$), реального избытка буферных оснований на 217.6 % ($p < 0.001$), стандартного бикарбоната на 13.9 % ($p < 0.01$). Полученные данные свидетельствуют о развитии выраженных признаков метаболического ацидоза. В условиях окислительного стресса метиловый эфир N^G-нитро-L-аргинина, L-аргинин и их совместное использование существенно не влияли на характер изменения кислотно-основного состояния. Инъекция L-лизина-N^G-ацетамида снижала значение pH на 0.074 ± 0.008 ед. ($p < 0.001$) в сравнении с контролем, но оно было выше на 0.048 ± 0.010 ед. ($p < 0.01$), чем у животных, получавших липополисахарид. Дополнительная коррекция L-аргинин-NO системы путем введения L-аргинина и L-лизина-N^G-ацетамида не усиливала этот эффект.

Характер изменения показателей кислородтранспортной функции крови (табл. 2) при окислительном стрессе отражает развитие гипоксии. Введение липополисахарида приводило к снижению pO_2 на 6.4 ± 0.75 ($p < 0.001$) мм рт. ст. Введение веществ, изменяющих состояние L-аргинин-NO системы, существенно не влияло на кислородный гомеостаз организма. Однако ингибирование синтеза NO с помощью селективного блокатора L-лизина-N^G-ацетамида характеризовалось менее выраженными признаками гипоксии. Значение pO_2 уменьшилось на 11.5 % ($p < 0.01$) по сравнению с контрольной группой животных. В то же время оно было выше на 14.9 % ($p < 0.01$) в сравнении с группой крыс, получавших липополисахарид.

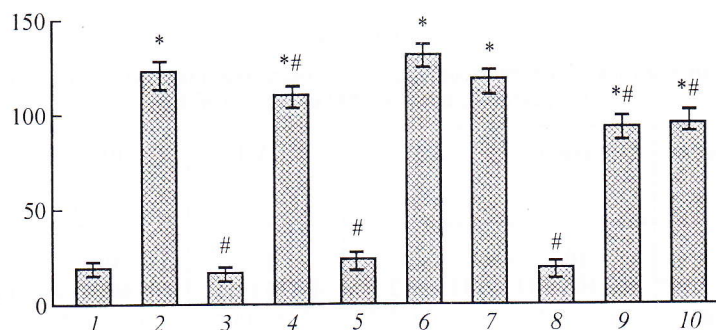


Рис. 1. Изменения концентрации нитратов/нитритов в плазме крови у крыс при введении липополисахарида в условиях коррекции L-аргинин-NO системы.

По оси ординат — концентрация нитратов/нитритов, мкМ/л; по оси абсцисс — опытные группы: 1 — контроль, 2 — липополисахарид, 3 — метиловый эфир N^G-нитро-L-аргинина, 4 — липополисахарид + метиловый эфир N^G-нитро-L-аргинина, 5 — L-аргинин, 6 — L-аргинин + липополисахарид, 7 — L-аргинин + липополисахарид + метиловый эфир N^G-нитро-L-аргинина, 8 — L-лизин-N^G-ацетамидин, 9 — липополисахарид + L-лизин-N^G-ацетамидин, 10 — L-аргинин + липополисахарид + L-лизин-N^G-ацетамидин. * $p < 0.05$ по отношению к контрольной группе, # $p < 0.05$ по отношению к группе, получавшей липополисахарид.

Концентрация гемоглобина во всех группах практически не изменялась. Однако содержание метгемоглобина имело отличия. Его прирост у крыс, получавших липополисахарид, составил 280.3 % ($p < 0.001$). При инъекции метилового эфира N^G-нитро-L-аргинина в условиях окислительного стресса отмечалось увеличение концентрации метгемоглобина на 83.1 % ($p < 0.01$) в сравнении с контрольной группой животных, но в то же время она была ниже, чем у животных, получавших липополисахарид, на 51.9 % ($p < 0.001$). Введение L-аргинина в комбинации с липополисахаридом повышало содержание метгемоглобина на 212.7 % ($p < 0.001$) в сравнении с контролем, а при комбинированном введении с метиловым эфиром N^G-нитро-L-аргинина его прирост был 91.6 % ($p < 0.01$), но на 49.6 % ($p < 0.001$) меньше, чем при введении липополисахарида. При окислительном стрессе введение L-лизина-N^G-ацетамидина, как и в комбинации с L-аргинином, вызывало уменьшение содержания метгемоглобина на 58.5 ($p < 0.001$) и 47.0 % ($p < 0.001$) соответственно в сравнении с группой животных, получавших липополисахарид.

Содержание нитратов/нитритов отражает NO-образующую активность организма. В условиях окислительного стресса отмечался рост их уровня в плазме крови на 103.0 ± 2.45 мкМ/л ($p < 0.001$) (рис. 1). При введении неселективного ингибитора NO-синтазы концентрация нитратов/нитритов уменьшилась на 12.99 ± 4.12 мкМ/л ($p < 0.05$). Однако наиболее значимое снижение их концентрации в плазме крови выявлено при введении L-лизина-N^G-ацетамидина, она составила 92.76 ± 3.41 мкМ/л, что было на 29.49 ± 3.61 мкМ/л ($p < 0.001$) меньше, чем у крыс, получавших только липополисахарид. Комбинированная инъекция L-аргинина и L-лизина-N^G-ацетамидина существенно не изменяла содержание нитратов/нитритов в плазме крови.

Показатель $p50_{\text{станд}}$ возрастал с 32.8 ± 0.72 до 38.3 ± 0.91 ($p < 0.001$) мм рт. ст. через 180 мин после введения липополисахарида. С учетом реальных величин pH, pCO_2 и температуры $p50_{\text{реал}}$ имел значение 47.2 ± 0.37 ($p < 0.001$) мм рт. ст., что вызывало сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина вправо в сравнении с контролем. Коррекция окислительного стресса путем введения метилового эфира N^G-нитро-L-аргинина, L-аргинина и их комбинации существенно не влияла на данный характер изменения сродства гемоглобина к кислороду. Введение L-лизина-N^G-ацетамидина снижало $p50_{\text{станд}}$ на 8.6 % ($p < 0.02$), хотя в сравнении с конт-

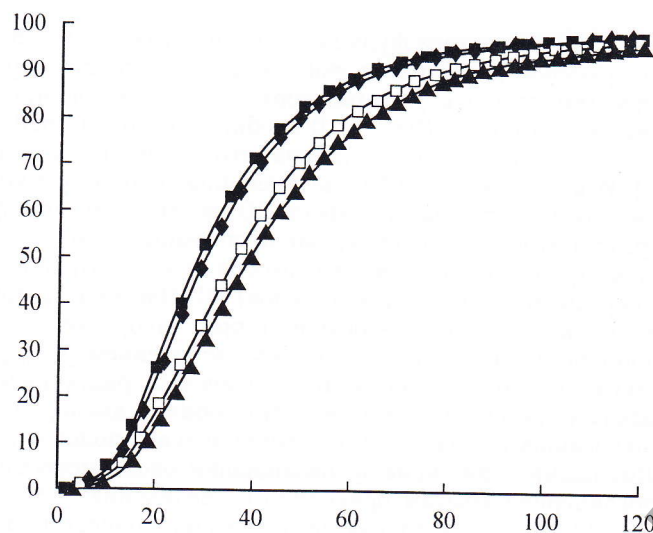


Рис. 2. Кривые диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях pH, $p\text{CO}_2$ и температуры у крыс при введении липополисахарида в условиях коррекции L-аргинин-NO системы. Контроль (■), липополисахарид (▲), липополисахарид + L-лизин- N^G -ацетамидин (□), L-аргинин + липополисахарид + L-лизин- N^G -ацетамидин (◆). По оси ординат — насыщение гемоглобина кислородом, %; по оси абсцисс — напряжение кислорода в крови, мм рт. ст.

ролем он был выше на 6.7 % ($p < 0.05$); $p50_{\text{реал}}$ также уменьшался на 10.6 % ($p < 0.001$) в сравнении с группой животных, получавших липополисахарид. При этом инъекция L-аргинина не оказывала существенного влияния на характер изменения сродства гемоглобина к кислороду как в стандартных, так и в реальных условиях. Положение соответствующих кривых диссоциации оксигемоглобина приведено на рис. 2, а именно их сдвиг вправо, выраженный в большей степени в группе крыс, получавших только липополисахарид.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Выявленные особенности эффекта коррекции L-аргинин-NO системы на кислородтранспортную функцию крови, прежде всего при введении L-лизина- N^G -ацетамидина, отражают сложный механизм участия NO в развитии окислительного стресса. Ингибирование NO-синтазы пытались применять для коррекции нарушений, вызываемых эндотоксином. Предполагается, что при эндотоксическом шоке может быть полезным избирательное ингибирование индуцибельной изоформы NO-синтазы, а не конститутивной [5]. Исследования на животных показывают высокую вариабельность результатов, очевидно, в связи с различиями доз ингибиторов и моделей септического шока. Вероятно, что роль NO в усилении или угнетении воспалительного ответа определяется стадией, на которой вводятся ингибиторы NO-синтазы, и его местной концентрацией. Эти результаты требуют дальнейшей оценки механизмов участия L-аргинин-NO системы в генезе окислительного стресса.

Особый интерес представляет эффект NO на кислородсвязывающие свойства гемоглобина. Оценивая взаимодействие гемоглобина с NO, последний рассматривают как лиганд, определяющий его кислородсвязывающие свойства [7]. Предложена теория сосудистого «сохранения» и транспорта NO нитрозогемоглобином, так как NO в сосудистой сети быстро реагирует с гемом, чему способствует его высокая концентрация в сосудах [14]. Нитрозилгемоглобин играет роль своеобраз-

ного аллостерического регулятора функциональной активности гембелка на уровне отдельных тетрамеров [1]. Следует учитывать возможность образования различных NO-форм гемоглобина. Для раствора нитрозогемоглобина с 30 %-ным нитрозилированием цистеина (93) в β -глобиновой цепи $p50$ равен 4.3 ± 0.27 мм рт. ст., а для нитрозилгемоглобина его величина составляет 39.6 ± 1.5 мм рт. ст. [8]. Известно влияние NO на различные параметры кислородтранспортной функции крови. Установлен эффект NO на структурные и функциональные свойства эритроцитов: инкубация крови на спермин-NONO-атом снижает деформируемость эритроцитов и $p50$ (в зависимости от концентрации NO, не влияя на активность перекисного окисления липидов) [9]. Введение L-аргинина и ингибитора NO-синтазы (NG -нитро-L-аргинина) при лихорадке, индуцированной введением липополисахарида, сопровождалось увеличением $p50_{\text{станд}}$ с 33.7 ± 1.1 до 37.1 ± 1.3 мм рт. ст., что, в частности, обусловлено различными эффектами NO-производных гемоглобина на сродство гемоглобина к кислороду [2]. В опытах у животных, получавших L-аргинин и подвергавшихся холодовому воздействию, отмечается наименьший сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина влево [16]. Введение нитроглицерина крысам приводило к увеличению метгемоглобина на 217.1 % и $p50$ на 29.2 %, а в условиях введения липополисахарида и предварительного повышения сродства гемоглобина к кислороду эти эффекты донора NO усиливались [3]. Влияние нитрозогемоглобина и нитрозилгемоглобина на модуляцию кислородсвязывающих свойств крови проявляется при высоких концентрациях NO 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 [17].

Таким образом, результаты выполненных нами исследований свидетельствуют о том, что L-аргинин-NO система участвует в формировании кислородтранспортной функции крови. Избыточная продукция NO за счет активации индуцибельной изоформы NO-синтазы через образование различных NO-соединений с гемоглобином, регуляцию сосудистого тонуса, действие пероксинитрита может модифицировать сродство гемоглобина к кислороду, что имеет важное значение для процессов газообмена.

Работа выполнена при поддержке Фонда фундаментальных исследований РБ (Б03-019).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Артюхов В. Г., Калаева Е. А., Путинцева О. В. Динамика оксигенации нативного и УФ-модифицированного гемоглобина человека в присутствии оксида азота. Физиология человека. 30 (2) : 110—116. 2004.
- [2] Зинчук В. В., Борисюк М. В. Эффект ингибирования NO-синтазы на кислородтранспортную функцию крови при лихорадке у кроликов. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 83 (4) : 111—116. 1997.
- [3] Зинчук В. В. Участие оксида азота в формировании кислородсвязывающих свойств гемоглобина. Успехи физиологических наук. 34 (2) : 33—45. 2003.
- [4] Сидоренко С. В. Роль микробного фактора в этиологии и патогенезе сепсиса. Инфекция и антимикробная терапия. 3 (3) : 76—83. 2001.
- [5] Cadenas S., Cadenas A. M. Fighting the stranger — antioxidant protection against endotoxin toxicity. Toxicology. 180 : 45—63. 2002.
- [6] Gladwin M. T., Lancaster J. R., Freeman B. A., Schechter A. N. Nitric oxide's reactions with hemoglobin: a view through the SNO-storm. Nat. Med. 9 (5) : 496—500. 2003.
- [7] Kim-Shapiro D. B. Hemoglobin-nitric oxide cooperativity: is NO the third respiratory ligand? Free. Radic. Biol. Med. 36 (4) : 402—412. 2004.
- [8] Kosaka H., Seiyama A. Physiological role of nitric oxide as an enhancer of oxygen transfer from erythrocytes to tissues. Biochem. Biophys. Res. Commun. 218 (3) : 749—752. 1996.

- [9] Mesquita R., Picarra B., Saldanha C., Martins e Silva J. Nitric oxide effects on human erythrocytes structural and functional properties — an in vitro study. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 27 (2) : 137—147. 2002.
- [10] Moncada S., Higgs E. A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *New Engl. J. Med.* 329 (27) : 2000—2012. 1993.
- [11] Severinghaus J. W. Blood gas calculator. *J. Appl. Physiol.* 21 (5) : 1108—1116. 1966.
- [12] Scheid P., Meyer M. Mixing technique for study of oxygen-hemoglobin equilibrium: a critical evaluation. *J. Appl. Physiol.* 45 (5) : 616—622. 1978.
- [13] Schulz K., Kerber S., Kelm M. Reevaluation of the Griess method for determining $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ in aqueous and protein-containing samples. *Nitric Oxide.* 3 (3) : 225—234. 1999.
- [14] Stamler J. S. S-Nitrosothiols in the blood. Roles, amounts, and methods of analysis. *Circ. Rec.* (94) : 414—417. 2004.
- [15] Wu F., Cepinskas G., Wilson J. X., Tymk K. Nitric oxide attenuates but superoxide enhances iNOS expression in endotoxin- and IFN γ -stimulated skeletal muscle endothelial cells. *Microcirculation.* 8 (6) : 415—425. 2001.
- [16] Zinchuk V. V., Dorokhina L. V. Blood oxygen transport in rats under hypothermia combined with modification of the L-arginine-NO pathway. *Nitric Oxide.* 6 (1) : 29—34. 2002.
- [17] Zinchuk V. V., Pronko T. P., Lis M. A. Blood oxygen transport and endothelial dysfunction in patients with arterial hypertension. *Clinical Physiol. Nuclear Medicine.* 24 : 205—211. 2004.

Поступила 9 II 2005
После доработки 4 V 2005