

УДК 577.152.199+615.849.19

Активность нитрергической системы и поглощение D-глюкозы в отделах головного мозга крыс, подвергнутых облучению полупроводниковым лазером и красным световым диодом при клостридиальном сепсисе

О. А. Мовсесян, Н. Х. Алчуджян, Н. О. Мовсесян,
И. С. Акопян, А. Г. Геворкян, Р. Л. Айрапетян,
Г. А. Геворкян

Институт биохимии им. Г.Х. Бунятыана НАН РА
0014, Ереван, ул. П.Севака, 5/1

Ключевые слова: *Clostridium perfringens*, D-глюкоза, красный световой диод, мозг, полупроводниковый лазер, синтаза оксида азота

Сепсис – системная воспалительная реакция на инфекционную инвазию, является одной из ключевых клинических проблем. Согласно статистическим данным США и Европейского Союза, распространенность гнойно-септических заболеваний (ежегодно от 500 – 700 тыс. случаев) и осложнений стабильно увеличивается с каждым годом, при этом примерно у 40% больных с сепсисом развивается картина септического шока (СШ) и уровень летальности от сепсиса весьма высок – 28-50% [10]. Одна из причин – изменение спектра преобладающих возбудителей инфекционных заболеваний, вызывающих неконтролируемый воспалительный ответ, в возникновении и развитии которого все большее значение приобретают грамположительные микроорганизмы [6]. В их числе спорообразующий анаэроб *Clostridium perfringens*, на долю которого приходится 90% всех случаев газовой гангрены, развитие которой при гнойно-септических заболеваниях при отсутствии своевременного и адекватного лечения чревато летальным исходом в 80-90% случаев [2].

Повышенная концентрация циркулирующих нитрит/нитратов, коррелирующая с гиперпродукцией оксида азота (NO), по-видимому, играет центральную роль в патофизиологии сепсиса, вызывая сильную гипотензию, васкулярную гипореактивность к вазоконстрикторам, что в конечном итоге приводит к полиорганной недостаточности при септическом шоке [32]. Участие высокоактивных соединений азота в капиллярной дисфункции и повреждении тканей показано при

этиологически полимикробном (смешанном) сепсисе [33]. NO является ключевым медиатором при активировании гипоталамо-гипофизарной оси, и его перепродукцией обусловлены низкие концентрации адренокортикотропина и вазопрессина, которые вызывают прогрессирование воспаления при сепсисе [25]. Повреждающее действие NO при сепсисе и септическом шоке обусловлено его взаимодействием с активными формами кислорода с образованием мощного оксиданта пероксинитрита (OONO^- , ПН), оказывающего деструктивное воздействие на мембраны клеток, белки, ДНК [31].

В органах и тканях NO синтезируется из аминокислоты L-аргинина разными изоформами NO синтазы (NOS), из которых наиболее изучены "конститутивные" Ca^{2+} -кальмодулин (CaM)-зависимые NOS (cNOS) (нейрональная и эндотелиальная, pNOS и eNOS соответственно), участвующие в регуляции центральной и вегетативной нервной системы, сердечно-сосудистой и прочих систем организма, и Ca^{2+} - CaM -независимая "индуцибельная" NOS (iNOS), эффектор врожденного иммунного и воспалительного ответа, осуществляющий антипатогенную и противоопухолевую защиту [8]. Отличия в регуляции и функциях изоформ NOS проявляются при их вовлечении в патогенез широкого спектра заболеваний, включая инфекционные, и являются основой избирательной фармакокоррекции [16].

ЦНС один из первых органов, поражаемых сепсисом, однако процессы, лежащие в основе дисфункции, не ясны, хотя и предполагается нарушение гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), распад аминокислот, ишемия мозга, вызванные тотальным снижением мозгового кровотока [1]. При экспериментальном сепсисе, индуцированном инъекциями эндотоксина — липополисахарида, структурного компонента клеточной стенки грамотрицательных бактерий, в сосудах и различных регионах мозга наблюдается выраженная экспрессия iNOS [18, 29]. Другие авторы отмечают, что при эндотоксин-индуцированном шоке в коре, гиппокампе и ряде других отделов головного мозга значительно возрастает число pNOS иммунопозитивных клеток [34]. В то же время ЭПР-спектроскопический анализ *in vivo* с использованием новой нетоксической спин-ловушки (1-гидрокси-3-карбокси-пирролидин) не выявил изменений в образовании активных форм кислорода и азота в мозге [22]. Остаются невыясненными патогенетические механизмы *S. perfringens*-индуцированного нейробиологического дефицита с нарушением ГЭБ и развитием цереброваскулярного отека и/или билатерально симметрической энцефаломалиции в селективно уязвимых регионах мозга [17]. Сообщалось, что эписилон-токсин *S. perfringens* действует на глутаматергическую систему и повышает высвобождение глутамата, оказывающего в больших количествах разрушительное действие, как это наблюдается в гиппокампе [27]. В то же время NO продуцируется iNOS в активированных (инфекцией, токсикозом и пр.) астроцитах и

микроглии и может вызывать гибель нейронов, особо чувствительных к высоким концентрациям NO, которые вызывают эксайтотоксичность, стимулируя выброс глутамата [28]. В этой связи представляет интерес исследование продукции NO изоформами NOS в мозге при кластридиальном сепсисе, а также возможностей воздействия на эту систему. Рост количества аллергических реакций на традиционные лекарственные препараты и случаев развития толерантности делает актуальным исследование возможностей нефармакологических способов воздействия. Последние работы свидетельствуют о влиянии низкоинтенсивного красного оптического излучения на уровень NO в органах и тканях [4, 23].

Представленная работа посвящена сравнительному изучению влияния этих разновидностей электромагнитного излучения на активность нитригической системы и процессов захвата D-глюкозы в регионах мозга при кластридиальном сепсисе.

Материал и методы

Эксперименты проводили на молодых беспородных самцах белых крыс массой 100-150 г, содержащихся в виварии в естественных условиях освещения и свободного доступа воды и пищи. Модель кластридиального сепсиса получали однократной внутрибрюшинной инъекцией 0,25 мл взвеси клеток клинического штамма грамположительной анаэробной спорообразующей бактерии *C. perfringens* (в дозе ЛД₅₀, 10⁶ клеток/мл). Животные были разделены на группы (n=5/группу): 1 – здоровые крысы (контроль); 2 – крысы, инфицированные *C. perfringens*; 3 – крысы, инфицированные *C. perfringens* и подвергнутые облучению полупроводниковым лазером (энергия 600 мДж); 4 – крысы, инфицированные *C. perfringens* и подвергнутые облучению полупроводниковым лазером (энергия 900 мДж); 5 – крысы, инфицированные *C. perfringens* и подвергнутые облучению красным световым диодом (энергия 900 мДж).

Процедура облучения. Однократное облучение проводили полупроводниковым лазером (ППЛ), работающем в непрерывном режиме (длина волны 654 нм) и/или красным светодиодом (КСД). На изолированное и фиксированное животное направлялся пучок с энергией излучения 600 и/или 900 мДж ППЛ и 900 мДж КСД, мощностью 1,5 мВт и длительностью экспозиции 10 мин.

Выделение структур мозга. Через 24 ч после облучения животных декапитировали, извлекали мозг и на льду выделяли кору больших полушарий, гиппокамп, стриатум (полосатое тело) и гипоталамус. Структуры мозга гомогенизировали в течение 2 мин в 10 объемах 20 мМ HEPES буфера (pH 7,4), содержащего 2мМ дитиотреитола и 3 мМ

$MgCl_2 \cdot 6H_2O$. В гомогенатах определяли активность изоформ NOS и связывание D-глюкозы.

Определение активности изоформ NOS. Активность NOS определяли по продукции активных форм азота (NO и его стабильных интермедиатов, окислов азота (NO_2^- , NO_3^- , N_2O_4 , N_2O_3), нитрозотиолов, нитрозаминов) при долговременной инкубации (24 ч, $37^\circ C$) гомогенатов исследуемых структур мозга в 20 mM HEPES буфере pH 7,4, содержащем 2 mM дитиотреитол, 3 mM $MgCl_2 \cdot 6H_2O$. В инкубационную смесь в зависимости от условий опыта вводили 1,15 mM EDTA или 1,73 mM $CaCl_2$. Общая активность NOS определялась инкубированием проб в присутствии 1,73 mM $CaCl_2$, активность iNOS – инкубированием проб в присутствии 1,15 mM EDTA. Активность cNOS вычислялась по разности между общей активностью NOS и таковой iNOS. В параллельных экспериментах пробы инкубировали в присутствии 5,25 mM L-аргинина (субстрат NOS) и кофакторов NOS: 0,126 mM NADPH, 20,07 мкМ (6R)-5,6,7,8-тетрагидро-L-биоптерин дигидрохлорида, 6,08 мкМ FAD, 5,53 мкМ FMN. Активность NOS выражали в нмоль (NO_2^-) mg^{-1} белка $\cdot 24 ч^{-1}$.

Концентрация белка определялась по методу Лоури [24].

Определение активных форм азота. Содержание активных форм азота в супернатантах депротеинизированных проб (осаждение белков осуществляли 0,5 N NaOH и 10% $ZnSO_4$) определяли реакцией диазотирования (с использованием реактива Грисса-Илосвая) спектрофотометрически при длине волны 546 нм [26].

Радиометрическое определение связывания D-глюкозы. Для изучения процессов спонтанного захвата D-глюкозы в исследуемых образцах гомогенаты (200 мкл) нагружали мкКи $^{14}C[U]$ -глюкозы (удельная радиоактивность 260 мкКи/ммоль) инкубированием в 250 мкл 20 mM HEPES буфере pH 7,4, содержащем 2 mM дитиотреитол, 3 mM $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, в течение 30 мин при $37^\circ C$. Белки в пробах осаждались трехкратным объемом 30% ТХУ, и свободные лиганды отделяли от связанных фильтрованием через нитроцеллюлозные фильтры (диаметр пор=0,65 мкм, "Millipore", USA) с двукратной промывкой 96% этанолом. После высушивания фильтры помещали в сцинтилляционные флаконы, растворяли в 0,5 мл диметилсульфоксида и выдерживали в течение 24 ч при комнатной температуре, затем вводили 10 мл сцинтиллятора Брея (2,6-дифенилоксазол и 1,4-ди-(5-фенил-2-оксазолил)бензола, растворенные в пропорции 10:1 в сцинтилляционном толуоле). Специфическое связывание лиганда определялось разностью между общим уровнем радиоактивности и после инкубации образцов с ^{14}C -D-глюкозой. Радиоактивность определяли методом жидкой сцинтилляционной спектроскопии на спектрометре SL-4221 (Roche Bioelectro-nique Kontron, Франция) с эффективностью счёта 70% (по ^{14}C).

Поглощение глюкозы пересчитывалось в нмоль ^{14}C -D-глюкозы·мг⁻¹ белка.

Статистическая обработка результатов. Достоверность различий средних значений параметров по группам оценивали по *t*-критерию Стьюдента. Различия между выборками считали достоверными при $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Долговременная инкубация гомогенатов структур головного мозга в соответствующей инкубационной смеси (см. Материал и методы) позволяет выявить синтез NO *in vitro*, который полностью блокируется при введении в состав реакционной среды 5 мМ N^ω-монометил-L-аргинина, неселективного ингибитора изоформ NOS, что подтверждает факт ферментативной продукции NO (данные не указаны).

У здоровых крыс в коре, стриатуме, гиппокампе и гипоталамусе представлены cNOS и iNOS изоформы (рис. 1). Это подтверждает их конститутивное функционирование в ЦНС, а также роль iNOS в гомеостазе клеток и тканей, что согласуется с результатами новейших исследований [13, 14]. В то же время их активность распределена неравномерно: в коре и гипоталамусе активность cNOS ниже, чем в стриатуме и гиппокампе примерно в 1,8 и 1,4 раза соответственно. Ранее сообщалось о наличии в этих регионах мозга нейронов с высоким содержанием NOS [7].

Значение pNOS/NO в ЦНС в нормальных условиях связано с его участием в межнейронной связи в качестве нейромедиатора, в процессах синаптической пластичности и депрессии; eNOS/NO регулирует церебральный кровоток [30].

Во всех исследуемых регионах мозга в норме доминирует cNOS, активность которой значительно превосходит iNOS. Введение в среду долговременного инкубирования L-аргинина и кофакторов NOS (см. Материал и методы) значительно активирует iNOS и cNOS в гомогенатах структур мозга, сокращая разницу между ними. Отметим, что включение L-аргинина и кофакторов NOS в реакционную смесь помогает точнее оценить тотальную активность NOS, поскольку они влияют на каталитическую активность и стабилизацию конформации фермента, тогда как при истощении их пула или субнасыщающих концентрациях (аргинина, тетрагидробиоптерина) все изоформы NOS могут, окисляя NADPH, продуцировать такие агрессивные продукты, как H_2O_2 , O_2^- и нитроксильный радикал $\text{NO}^\cdot$, оказывая повреждающее действие на ткани [19].

Через 48 ч после инфицирования *C. perfringens* в структурах мозга резко возрастает активность iNOS в ряду кора, стриатум, гипоталамус, гиппокамп (9,9; 9,2; 9,0 и 7,7 раза соответственно) с одно-

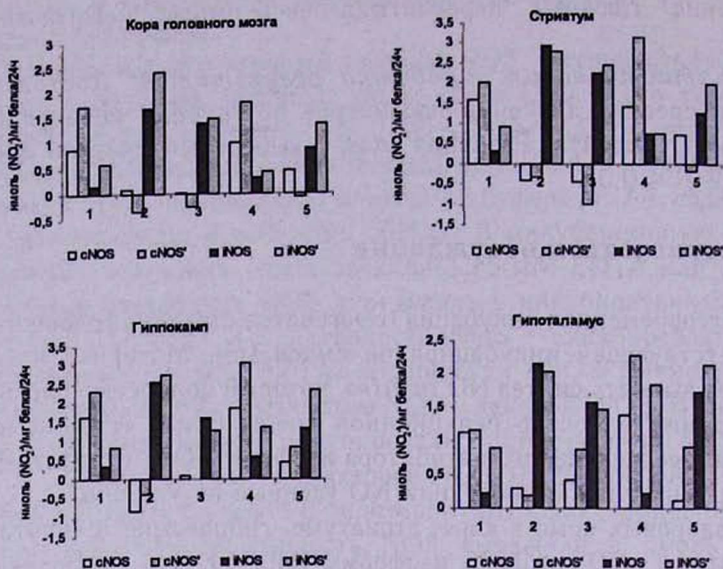


Рис. 1. Региональные сдвиги в активности изоформ NOS в мозге крыс, инфицированных *C. perfringens* и подвергнутых облучению полупроводниковым лазером и/или красным световым диодом.

cNOS' и iNOS' – активность, определяемая в присутствии L-аргинина и кофакторов NOS (см. Материал и методы). Здесь и на рис. 2: 1 – здоровые крысы (контроль); 2 – крысы, инфицированные *C. perfringens*; 3 – крысы, инфицированные *C. perfringens* и подвергнутые облучению полупроводниковым лазером (энергия 600 мДж); 4 – крысы, инфицированные *C. perfringens* и подвергнутые облучению полупроводниковым лазером (энергия 900 мДж); 5 – крысы, инфицированные *C. perfringens* и подвергнутые облучению красным световым диодом (энергия 900 мДж)

временным снижением cNOS в коре и гипоталамусе (9,04 и 3,65 раза соответственно) и полным нивелированием ее в гиппокампе и стриатуме. Интересно, что инъекции в гиппокамп эндотоксина также вызывают резкое снижение cNOS и временную индукцию iNOS, сопровождающиеся нейровоспалительными процессами и нейродегенерацией [9]. При экспериментальном сепсисе активность iNOS в мозге крыс возрастает более чем в 4 раза в течение 24 ч и ее селективное ингибирование восстанавливает нарушенную гемодинамику, но не нейрологическую дисфункцию [21]. По всей видимости, для предотвращения нейродефицита необходимо восстановление функциональной активности кальций-зависимых изоформ NOS. При инфекции L-аргинин и кофакторы NOS не стимулируют и даже снижают активность iNOS в стриатуме и гипоталамусе, степень активирования ее в коре и гиппокампе также снижается; они полностью подавляют cNOS коры головного мозга и понижают ее в гипоталамусе, хотя и отчасти препятствуют падению продукции NO в гиппокампе и стриатуме. Все это свиде-

тельствует о метаболических пертурбациях, связанных с уровнем и биодоступностью L-аргинина и кофакторов NOS, искаженных инфекционным процессом.

NO-зависимое стимулирование транспорта глюкозы обнаружено во многих органах и тканях, в том числе и в мозге [15, 20]. Процесс интоксикации организма при сепсисе сопровождается нарушением энергетического обмена и энергообеспечения тканей мозга, а индукция iNOS эндотоксином повышает интенсивность переноса глюкозы в них [11]. Согласно полученным данным, при кластридиальном сепсисе, несмотря на возрастание продукции NO во всех структурах мозга, захват D-глюкозы несколько снижается в коре и стриатуме (1,09 и 1,23 раза, соответственно), хотя и возрастает в гипоталамусе и особенно гиппокампе (1,4 и 2,0 раза, соответственно) по сравнению с контролем (рис. 2).

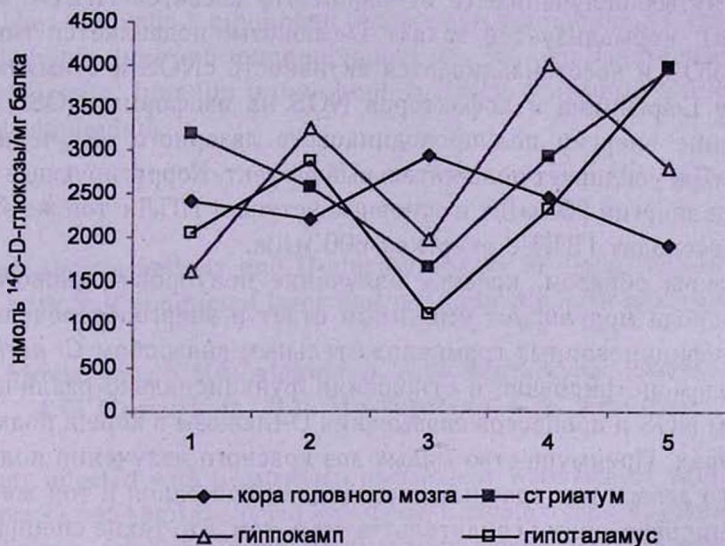


Рис. 2. Региональные сдвиги в поглощении D-глюкозы в мозге крыс, инфицированных *C. perfringens* и облученных полупроводниковым лазером и/или красным световым диодом

Возможно, в коре и стриатуме в связи с инфекцией интенсифицируются процессы образования активных форм кислорода, и их взаимодействие с NO (с образованием ПН) удаляет его, снижая поглощение глюкозы, в то время как в гипоталамусе и гиппокампе эти процессы менее выражены. Кроме того, высокие концентрации глюкозы могут ингибировать активность изоформ NOS и подавлять их синтез *de novo* [12], и это по-разному проявляется в структурах мозга.

При эндотоксин-индуцированном стрессе положительное влияние

кратковременного одноразового облучения низкоинтенсивным гелий-неоновым лазером недавно продемонстрировано в отношении макрофагов [5]. Сообщалось, что небольшие дозы лазерного облучения вызывают активирование супероксиддисмутазы, снижающей уровень активных форм кислорода, а повышение дозы через сутки после облучения вызывает ингибирование супероксиддисмутазы и накопление ПН, который действует, как антагонист NO, способствуя спазму сосудов и окислительному повреждению тканей [3]. Исходя из вышесказанного, нами исследовалось одноразовое воздействие разных типов электромагнитного излучения при клостридиальном сепсисе: полупроводникового лазера и красного светодиода (см. Материал и методы). Облучение инфицированных крыс уже через 24 ч оказывало модулирующее влияние на исследуемые параметры (рис. 1, 2). Особенно важно, что во всех исследуемых регионах мозга инфицированных крыс, подвергнутых облучению (в основном это касается ППЛ с энергией 900 мДж), нормализуется захват D-глюкозы, подавляется гиперактивация iNOS и восстанавливается активность cNOS и стимулирующее влияние L-аргинина и кофакторов NOS на изоформы NOS. Причем повышение энергии полупроводникового лазерного облучения с 600 до 900 мДж усиливает положительный эффект. Корректирующее влияние КСД при энергии 900 мДж в основном уступает ППЛ с той же энергией, но превосходит ППЛ с энергией 600 мДж.

Таким образом, красное излучение полупроводникового лазера и светодиода модулирует иммунный ответ и энергообеспечение мозга крыс, инфицированных грамположительным анаэробом *S. perfringens*, что продемонстрировано в отношении функционально различающихся изоформ NOS и процессов связывания D-глюкозы в коре и подкорковых структурах. Преимущество малых доз красного излучения полупроводникового лазера над красным светодиодом при одной и той же энергии и времени экспозиции свидетельствует о том, что такие специфические свойства лазерного излучения, как когерентность, поляризуемость и высокая степень монохроматичности, по-видимому, играют роль при формировании клеточных ответов.

Поступила 12.01.09

Կիսահաղորդչային լազերի ու կարմիր լուսադիոդի ճառագայթման ազդեցությունը առնետների գլխուղեղի կառուցվածքների միտրերգիկ համակարգի ակտիվության ու D-գլյուկոզի կլանման վրա կոստրիդիալ սեպսիսի ժամանակ

**Հ. Ա. Մովսեսյան, Ն. Խ. Ալչուջյան, Ն. Հ. Մովսեսյան,
Ի.Ս.Հակոբյան, Ա. Գ. Գևորգյան, Հ. Լ. Հայրապետյան,
Գ. Ա. Գևորգյան**

Կիսահաղորդչային լազերի և/կամ կարմիր լուսադիոդի *Clostridium perfringens*-ով վարակված առնետների ճառագայթումը ընտրողական ազդեցություն է ցուցաբերում գլխուղեղի կառուցվածքներում D-գլյուկոզի կլանման և կալցիում-կախյալ ու կալցիում-նչկախյալ ազոտի օքսիդի սինթազի իզոմերի ակտիվության վրա՝ կախված ճառագայթման էներգիայից և տեսակից: Պարզվել է գլխուղեղի միտրերգիկ համակարգի և էներգետիկ մյութափոխանակության կարգավորման մեջ կիսահաղորդչային լազերի առավելությունը՝ կարմիր լուսադիոդի համեմատությամբ կոստրիդիալ սեպսիսի ժամանակ:

Nitroergic system activity and D-glucose uptake in brain regions of rats treated with half-conducted laser and red light diode in clostridial sepsis

**H.A. Movsesyan, N Kh. Alchujyan, N.H. Movsesyan, I.S.Hakobyan,
A.G. Guevorkian, H.L. Hayrapetyan, G.A. Kevorkian**

Rats infected with *Clostridium perfringens* were treated with half-conducted laser ($\lambda=654$ nm) and/or red light diode. Irradiation caused regional changes in the activity of calcium-dependent and calcium-independent NO-generating enzymatic system and D-glucose uptake of brain, and these parameters were selectively regulated depending on energy and type of radiation. We have stated the preference of half-conducted laser irradiation upon that of red-light diode in the modulation of brain nitroergic system and energy metabolism at clostridial sepsis.

Литература

1. Винтер В., Чеслик Е., Саблоцкий А. Сепсис и полиорганная недостаточность – патофизиология и актуальные концепции лечения. Анестезиол. реаниматол., 2007, т. 5, с. 67-70.
2. Гостищев В.К. Инфекции в хирургии. М., 2007.

3. Клебанов Г.И., Полтанов Е.А., Чичук Т.В., Осипов А.Н., Владимиров Ю.А. Изменение активности супероксиддисмутазы и содержания пероксинитрита в перитонеальных макрофагах, подвергнутых облучению He-Ne лазером. Биохимия, 2005, т. 70, 12, с. 1623–1630.
4. Клебанов Г.И., Шураева Н.Ю., Чичук Т.В., Сидорина Н.Г. Роль оксида азота, цитокинов и активности супероксиддисмутазы в заживлении экспериментальных ран у крыс. Лазерная медицина, 2005, т. 9, 1, с. 23–31.
5. Новоселова Е.Г., Глушкова О.В., Хренов М.О., Черенков Д.А., Лукин С.М., Новоселова Т.В. Протекторный эффект низкоинтенсивного лазерного облучения при остром токсическом стрессе. Биофизика, 2007, т. 52, 1, с. 137–140.
6. Руднов В.А. Сепсис: современный взгляд на проблему. Екатеринбург, 2004.
7. Сосунов А.А. Оксид азота как межклеточный посредник. Соросовский образовательный журнал, 2000, 12, с. 27–37.
8. Alderton W.K., Cooper C.E., Knowles R.G. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. Biochem. J., 2001, v. 357, 3, p. 593–615.
9. Ambrosini A., Louin G., Croci N., Plotkine M., Jafarian-Therani M. Characterization of a rat model to study acute neuroinflammation on histopathological, biochemical and functional outcomes. J. Neurosci. Methods, 2005, v. 144, 2, p. 183–191.
10. Angus D.C., Wax R.S. Epidemiology of sepsis: an update. Crit. Care Med., 2001, v. 29, p. 109–116.
11. Bedard S., Marcotte B., Marette A. Cytokines modulate glucose transport in skeletal muscle by inducing the expression of iNOS. Biochem. J., 1997, v. 325, 2, p. 487–493.
12. Brovkovich V., Dobrucki L.W., Brovkovich S., Dobrucki I., Do Nascimento C.A., Malinski T.J. The role of NO in altered sensitivity of vascular preparations to drugs in diabetic animals. Physiol. Pharmacol., 1999, v. 50, 4, p. 575–581.
13. Buskila Y., Abu-Ghanem Y., Levi Y., Moran A., Grauer E., Amitai Y. Enhanced astrocytic nitric oxide production and neuronal modification in the neocortex of a NOS2 mutant mouse. PLoS one, 2007, v. 2, 9, p. 843–855.
14. Campese V.M., Sindhu R.K., Ye S., Bai Y., Vaziri N.D., Jabbari B. Regional expression of NO synthase, NAD(P)H oxidase and superoxide dismutase in the rat brain. Brain Res., 2007, v. 1134, 1, p. 27–32.
15. Ciudad P., Almeida A., Bolanos J.P. Inhibition of mitochondrial respiration by nitric oxide rapidly stimulates cytoprotective GLUT3-mediated glucose uptake through 5'AMP-activated protein kinase. Biochem. J., 2004, v. 384, Part 3, p. 629–636.
16. Esh T., Stefano G.B., Fricchione G.L., Benson H. Stress-related diseases – a potential role for nitric oxide. Med. Sci. Monit., 2002, v. 8, 6, p. 103–118.
17. Finnie J.W. Neurological disorders produced by Clostridium perfringens type D epsilon toxin. Anaerobe, 2004, v. 10, 2, p. 145–150.
18. Gibbons H.M., Dragunow M. Microglia induce neural cell death via a proximity-dependent mechanism involving nitric oxide. Brain Res., 2006, v. 1084, 1, p. 1–15.
19. Gorren A.C.F., Mayer B. The versatile and complex enzymology of nitric oxide synthase (review). Curr. Drug Metab., 2002, v. 3, p. 135–157.
20. Guan X., Stoll B., Lu X., Tappenden K.A., Halst J.J. – GLP-2 mediated up-regulation of intestinal blood flow and glucose uptake is nitric oxide-dependent in TPN-fed piglets. Gastroenterology, 2003, v. 125, 1, p. 136–147.
21. Kadoi Y., Goto F. Selective inducible nitric oxide inhibition can restore hemodynamics, but does not improve neurological dysfunction in experimentally-induced septic shock in rats. Anesth. Analg., 2004, v. 99, p. 212–220.
22. Kozlov A.V., Szalay L., Umar F., Fink B., Kropik K., Nohl H., Redl H., Bahrami S. Epr analysis reveals three tissues responding to endotoxin by increased formation of reactive oxygen and nitrogen species. Free Radic Biol. Med., 2003, v. 34, 12, p. 1555–1562.
23. Lindgard A., Hulten L.M., Svensson L., Soussi B. Irradiation at 634 nm releases nitric oxide from human monocytes. Lasers Med. Sci., 2007, v. 22, 1, p. 30–36.
24. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 1951, v. 193, p. 265–275.

25. *Maxime V., Siami S., Annane D.* Metabolism modulators in sepsis: the abnormal pituitary response. *Crit. Care Med.*, 2007, v. 35 (9 Suppl), p. S596-601.
26. *Miranda K.M., Espey M.G., Wink D.A.* A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide*, 2001, v. 5, p. 62-71.
27. *Miyamoto O., Minami J., Toyosima T., Nakamura T., Masada T.* Neurotoxicity of *Clostridium perfringens* epsilon-toxin for the rat hippocampus via the glutamatergic system. *Infect. Immun.*, 1998 v. 66, 6, p. 2501-2508.
28. *Parathath S. R., Gravanis I., Tsirka S. E.* Nitric oxide synthase isoforms undertake unique roles during excitotoxicity. *Stroke*, 2007, v. 38, 6, p. 1938-1945.
29. *Semmler A., Okulla T., Sastre M., Dumitrescu-Ozimek L., Heneka M.T.* Systemic inflammation induces apoptosis with variable vulnerability of different brain regions. *J. Chem. Neuroanat.*, 2005, v. 30, 2-3, p. 144-157.
30. *Shimizu E., Tang Y.P., Rampon C., Tsien J.Z.* NMDA receptor-dependent synaptic reinforcement as a crucial process for memory consolidation. *Science*, 2000, v. 290, 5494, p. 1170-1174.
31. *Szabo C.* The pathophysiological role of peroxynitrite in shock, inflammation, and ischemia-reperfusion injury. *Shock*, 1996, v. 6, p. 79-88.
32. *Vincent J.L., Zhang H., Szabo C., Freiser J.H.* Effects of nitric oxide in septic shock. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2000, v. 161, p. 1781-1785.
33. *Wu L., Gokden N., Mayeux P. R.* Evidence for the Role of Reactive Nitrogen Species in Polymicrobial Sepsis-Induced Renal Peritubular Capillary Dysfunction and Tubular Injury. *J. Am. Soc. Nephrol.*, June 1 2007, v. 18, 6, p. 1807 - 1815.
34. *Zhou J.H., Chen D.F., Du S.H., Li H., Li Y.W., Deng R.D., Zhang S.X.* Effect of Niupo Zhibao Pellet on expression of neuronal nitric oxide synthase in brain of endotoxin-induced shock rats. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao.*, 2005, v. 3, 2, p. 115-118.