

УДК 615.152.21:616.153.915-39

ПАТОГЕНЕЗ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА, ИНДУЦИРОВАННОГО ЛИПОПОЛИСАХАРИДОМ

А.Н. Глебов

Кафедра нормальной физиологии

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Проводится анализ литературных и собственных данных о механизме развития окислительного стресса, индуцированного липополисахаридом. Предполагается участие кислородсвязывающих свойств крови и L-аргинин-NO системы в вызываемом данным эндотоксином повреждении тканей, что может быть использовано для коррекции этих патологических состояний.

Ключевые слова: окислительный стресс, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, оксид азота.

Literature and our own data about the mechanism of lipopolysaccharide-induced oxidative stress are analyzed. We suggest the involvement of oxygen-binding blood properties and L-arginine-NO system in tissue injury caused by this endotoxin. These data may be used for searching the ways for correction of such pathologic states.

Key words: oxidative stress, lipid peroxidation, antioxidant system, nitric oxide.

Эндотоксиновый шок, индуцируемый липополисахаридом (ЛПС) – компонентом мембраны грамотрицательных бактерий, является следствием системного воспалительного ответа, обусловленного чрезмерной продукцией медиаторов воспаления [14]. Коммерческие липополисахариды, такие как пирогенал, продигозан, пиромен и другие, – эндотоксины грамотрицательных бактерий. Они имеют сложную структуру, их компонентами являются липоид А и полисахарид, который включает О-специфическую цепь и олигосахаридный остов. Активация защитных механизмов при действии ЛПС в основном связана с полисахаридом, в то время как токсические эффекты обусловлены липоидом А [6]. Эндотоксин грамотрицательных бактерий действует как мощная сигнальная молекула, участвующая в развитии сепсиса [15]. Он индуцирует опосредуемый рецепторами каскад сигналов, ведущий к активации ядерного фактора κ В (ЯФкВ), транскрипции и высвобождению моноцитами и макрофагами цитокинов и других медиаторов воспаления. Их чрезмерная выработка вызывает синдром септического шока [46]. Механизм повреждения тканей при сепсисе, вероятно, связан с широко распространённым повреждением сосудистого эндотелия и микротромбозом, что, в свою очередь, сокращает доставку кислорода и субстратов в ткани, активируя анаэробный метаболизм. Увеличивается скорость гликолиза и нарушается клиренс лактата и пирувата печенью и почками. Воспалительные медиаторы – производные арахидоновой кислоты (простагландины и лейкотриены), вызывают местное расширение или сужение различных отделов сосудистого русла, что приводит к патологическому изменению кровотока. В

дальнейшем при декомпенсации механизмов регуляции и контроля, нарушении гомеостаза наступают функциональная недостаточность жизненно важных органов. Возникший регуляторный дисбаланс вызывает шок, проявляющийся гипотензией и сосудистым коллапсом, недостаточностью функции сердца, почек, лёгких, печени, ЦНС, нарушением системы гемостаза.

Пусковым моментом связанного с ЛПС каскада передачи сигналов, ведущим к активации ЯФкВ и последующей транскрипции провоспалительных генов, является распознавание молекул ЛПС специфическими клетками иммунной системы [27]. Опосредуемый рецепторами сигнальный каскад, индуцируемый ЛПС в моноцитах, ведёт к активации ЯФкВ, контролирующего восприимчивость клеток к стрессу. Данный фактор активирует транскрипцию провоспалительных цитокинов [14]. ЛПС связывается с белком, именуемым как липополисахаридсвязывающий белок, который, взаимодействуя со своими рецепторами, активирует различные популяции клеток. За последнее десятилетие было выявлено множество рецепторов эндотоксина: 2-интегрины CD_{11}/CD_{18} , рецепторы-гасители макрофагов для ацетилированных липопротеидов низкой плотности, L-селектин и CD_{14} . Исследования мышей с дефицитом CD_{14} выявили их высокую резистентность к шоку, индуцируемому грамотрицательными бактериями или ЛПС. Однако при очень высоких концентрациях ЛПС активация ЯФкВ и транскрипция генов цитокинов опосредованы путём, независимым от CD_{14} [16]. Участие CD_{14} предполагалось также в процессах активации клеток с вовлечением других продуктов микробных патогенов, в том числе липоарабиноманнанов,

пептидогликанов и липопротеидов внешней мембраны.

Фактор транскрипции ЯФкВ опосредует вызываемое ЛПС высвобождение ряда воспалительных медиаторов и цитокинов. α -Фактор некроза опухолей (α -ФНО) стимулирует лейкоциты и эндотелиальные клетки сосудов к высвобождению других цитокинов, к экспрессии молекул адгезии клеточной поверхности и к ускорению метаболического превращения арахидоновой кислоты. Однако нерегулируемое высвобождение α -ФНО в кровь ведёт к циркуляторной дисфункции, вызывает повышение проницаемости эндотелия и воспаление различных органов.

Активные формы кислорода (АФК) образуются при нормальном клеточном метаболизме. К ним относятся радикалы O_2^* , OH^* , RO_2^* и RO^* и некоторые нерадикалы, являющиеся сильными окислителями или легко превращающиеся в радикалы. Главным источником кислородных радикалов является дыхательная цепь митохондрий. АФК могут легко реагировать с макромолекулами (липиды, белки и ДНК), вызывая их повреждение. Непрерывное окислительное повреждение ведет к цитотоксичности и последующему развитию различных патологических состояний. Аэробные организмы выработали систему ферментативных и неферментативных механизмов защиты против повреждения АФК. В клетках существует тонкое равновесие между выработкой свободных радикалов и механизмами антиоксидантной защиты, т.е. прооксидантно-антиоксидантное равновесие [4]. Когда выработка АФК превышает возможности клеточных антиоксидантов, возникает окислительный стресс. Хотя радикалы кислорода обычно считают токсичными побочными продуктами митохондриального дыхания, известны и их полезные функции для организма. Недавно была признана роль H_2O_2 как внутриклеточного мессенджера, влияющего на клеточные процессы, включая фосфорилирование белков, транскрипцию и апоптоз [40]. H_2O_2 может проникать через клеточные мембраны, а внутри клеток реагировать с Fe^{2+} или Cu^{2+} по реакции Фентона, образуя гидроксильный радикал.

АФК участвуют в механизме токсичности ЛПС, в частности, в активации ЯФкВ [37]. В его регуляции участвуют каскады фосфорилирования и дефосфорилирования, а также факторы редокс-статуса клетки. Участие АФК в передаче сигналов, ведущих к активации ЯФкВ, подтверждает то, что большинство активирующих ЯФкВ агентов вызывают образование радикалов; прямая обработка окислителями, такими как H_2O_2 , активирует его в некоторых клетках даже в отсутствие всякого фи-

зиологического стимула [29]; активация ЯФкВ может блокироваться воздействием на систему митохондриального транспорта электронов [18]. α -ФНО (сильный активатор ЯФкВ) индуцирует образование O_2^* в митохондриях. Высвобождаемый при воспалении OH^* активирует нейтрофилы и макрофаги, тем самым заставляя их высвобождать O_2^* вследствие активации мембранной НАДФ*Н-оксидазы, что является частью защитного механизма против вторгающихся микробных патогенов [20].

Известно, что больные сепсисом имеют высокие концентрации маркеров окислительного повреждения и низкое содержание антиоксидантов в плазме, в том числе, аскорбината. На различных моделях с животными было доказано, что антиоксиданты полезны для снижения тяжести окислительного стресса, вызываемого эндотоксином в различных тканях. Введение эндотоксина морским свинкам, лишённым способности эндогенно синтезировать витамины С и Е, усиливает окислительное повреждение белков печени, а при добавлении витамина С (одного или в сочетании с витамином Е) уровень аскорбината в печени увеличивается и полностью предотвращается её повреждение [13]. В сердце морских свинок эндотоксин полностью снижает уровень аскорбината даже у животных с добавками витамина С, а витамин Е защищает от активации перекисного окисления липидов (ПОЛ).

У крыс, получавших ЛПС, предварительное введение природного, водорастворимого антиоксиданта апоцинина (специфический ингибитор НАДФ*Н-оксидазы) предотвращает подъём уровней маркеров окислительного повреждения в сердце и увеличивает выживание [44]. Низкие дозы N-ацетилцистеина, предшественника глутатиона, также защищают лёгкие крыс от опосредуемого эндотоксином окислительного стресса и снижают смертность, хотя его высокие дозы смертность увеличивают [28]. Кроме того, было показано, что N-ацетилцистеин снижает выработку свободных радикалов *in vitro* в макрофагах мышей, обработанных летальной дозой эндотоксина. Витамин Е, β -каротин и N-ацетилцистеин, кофермент Q_{10} и кверцетин [7] защищают мозг крыс от вызываемого ЛПС окислительного стресса. Мелатонин полностью предотвращает активацию ПОЛ в инкубированных с ЛПС гомогенатах тканей печени и лёгких и, частично, в мозгу [42]. Мелатонин также предотвращает циркуляторную недостаточность у крыс с эндотоксемией и улучшает выживание у мышей, получавших летальные дозы ЛПС [44]. Предварительное введение флавоноидного антиоксиданта кверцетина ингибирует высвобождение α -

ФНО макрофагами, обработанными ЛПС [47]. Эти результаты показывают, что антиоксидантные факторы могут быть полезными для профилактики вызываемого эндотоксином окислительного повреждения, и поэтому имеют большое значение для создания средств коррекции таких состояний.

Фактор транскрипции ЯФкВ регулирует высвобождение ряда цитокинов и иных медиаторов воспаления, которые в отсутствие контроля способны вызывать септический шок. К внутриклеточным событиям, ведущим к его активации, относятся фосфорилирование и протеолитические реакции; они, видимо, контролируются редокс-состоянием клеток [36]. Он активируется прооксидантным состоянием клеток и потенциально ингибируется антиоксидантами.

Различные по структуре антиоксиданты угнетают активацию ЯФкВ в ответ на большинство индуцирующих факторов как *in vivo*, так и *in vitro* [19]. Чрезмерная экспрессия эндогенных факторов антиоксидантной защиты угнетает активацию ЯФкВ, а α -ФНО его активирует и снижает уровни внутриклеточных тиолов. Однако N-ацетилцистеин (антиоксидант) предотвращает вызываемое α -ФНО снижение уровней внутриклеточных тиолов и блокирует его активацию в клетках [43]. Он и восстановленный глутатион защищают от токсичности ЛПС и ингибируют рост уровней α -ФНО у мышей, получавших ЛПС [31], что предполагает ключевую роль внутриклеточных тиолов в контроле активности ЯФкВ. Системная обработка эндотоксином вызывает окислительный стресс в лёгких крыс и активацию ЯФкВ, а N-ацетилцистеин может ингибировать эту активацию *in vivo* [8]. N-ацетилцистеин прямо реагирует с АФК, а также восполняет внутриклеточный цистеин, необходимый для выработки восстановленного глутатиона – главного внутриклеточного тиола и гасителя свободных радикалов, имеющегося у всех эукариотных форм жизни.

• Ингибировать активацию ЯФкВ *in vitro* могут и другие антиоксиданты, в том числе, производные витамина Е, тиольные антиоксиданты (дитиокарбаматы), α -липоевая кислота, фенольные антиоксиданты, селен (интегральный компонент глутатион-пероксидазы), гасители свободных радикалов – диметилсульфоксид и S-аллилцистеин [14]. Антиоксидантные ферменты также ингибируют активацию ЯФкВ и посредством этого угнетают выработку NO в стимулированных ЛПС макрофагах [10].

У трансгенных мышей с чрезмерной экспрессией человеческой внеклеточной и внутриклеточной глутатион-пероксидазы после введения боль-

шой дозы ЛПС обнаруживают сниженную чувствительность к эндотоксиновому шоку, невыраженную гипотензию и повышенную выживаемость [22]. Мыши с нехваткой глутатион-пероксидазы имеют повышенные уровни окисленного глутатиона – маркера окислительного повреждения и токсичности для клеток печени на галактозамин-эндотоксиновой модели острой печёночной недостаточности [32]. Интересно, что эндотоксин и α -ФНО повышают содержание Mn-SOD в эндотелиальных клетках. Рост уровней Mn-SOD может вносить вклад в защитное действие эндотоксина против токсичности O_2 для этих клеток и демонстрирует их способность создавать антиоксидантную защиту в ответ на индуктор окислительного повреждения. Исследования с трансгенными мышами не дают окончательного вывода о возможном полезном действии антиоксидантов при септическом шоке [14].

У больных сепсисом с полиорганной недостаточностью выявлено значимое снижение уровня витамина С, хотя между тяжестью дисфункции органов и уровнями токоферола тесная связь не всегда наблюдалась [39]. Другие авторы установили, что у больных сепсисом по сравнению со здоровым контролем снижены концентрации не только витамина С, но также ретиналя (витамина А), витамина Е, каротина и ликопена и повышены уровни ТБК-реактивных продуктов в плазме, что отражает активацию ПОЛ. Такое снижение факторов антиоксидантной защиты при сепсисе указывает на возможные пути коррекции этой патологии путём использования антиоксидантов. Известно, что витамины С и Е синергически действуют как *in vitro*, так и *in vivo* [13]. Витамин Е защищает от избыточной активности ПОЛ, путём выработки токоферольных радикалов, которые реагируют с витамином С и последующей регенерацией витамина Е.

В плазме крови больных сепсисом выявлены повышенные концентрации NO_3^-/NO_2^- -стабильных продуктов NO (оксида азота) [23]. После введения эндотоксина или провоспалительных цитокинов происходит заметное снижение тонуса сосудов, что свидетельствует об участии NO в регуляции сердечно-сосудистых изменений при септическом шоке [26, 17]. В биологических системах NO синтезируется из L-аргинина различными изоферментами NOS (NO-синтазы) [30]. Две из них экспрессируются конститутивно (эNOS (эндотелиальная NOS), или NOS типа III – в эндотелиальных клетках, а нNOS (нейрональная NOS), или NOS типа I – в нейронах), а экспрессия третьей (иNOS (индуцибельная NOS), или NOS типа II) индуцируется в

различных клетках продуктами грамотрицательных (эндотоксин) и грамположительных бактерий. *eNOS* и *iNOS* кратковременно активируются в ответ на подъём внутриклеточных уровней Ca^{2+} и участвуют в регуляции физиологических функций, тогда как *iNOS* экспрессируется и непрерывно активна во время воспаления, участвует в защите организма от патогенов. *iNOS* имеет тенденцию продуцировать намного большие концентрации NO в клетках, обеспечивая противовоспалительную роль, угнетает бактериальную инфекцию, вызывает резистентность к вирусам и усиливает рекрутирование лейкоцитов.

NO, вырабатываемый *eNOS*, является важным регулятором тканевого кровотока и играет существенную роль в функционировании сердечно-сосудистой системы, поддерживая сосуды расширенными, защищая интиму от адгезии тромбоцитов и лейкоцитов, предотвращая пролиферацию гладких мышц. При септическом шоке высвобождение NO повышено в связи с эффектами циркулирующих пептидов, адгезией нейтрофилов к эндотелию и активацией *iNOS* в эндотелии и тканях воспалительными медиаторами, такими как α -ФНО и цитокины [48]. NO вызывает вазодилатацию и в то же время усиливает митохондриальную выработку АФК, которые окисляют мембранные фосфолипиды, что может изменять текучесть мембран и вести к потере целостности клеток. При реакции этих радикалов (NO и O_2^*) образуется пероксинитрит – мощный окислитель, способный нитровать белки, нарушая тем самым активность различных митохондриальных ферментов, что ведёт к снижению уровней энергии и недостаточности органов. Массивное высвобождение NO при эндотоксемии вносит вклад в изменение функционирования сердечно-сосудистой системы, в том числе, гипотензии и снижении периферического сопротивления [24].

Эндотоксин усиливает образование NO за счёт активации конститутивной и индуцибельной изоформ NOS. Мыши с дефицитом *iNOS* более устойчивы к вызываемым эндотоксином повреждениям [9]. Это предполагает важную роль *iNOS* в септическом шоке. NO является ингибитором экспрессии фермента *iNOS* по принципу отрицательной обратной связи [10]. Эффект NO на активацию ЯФкВ не вполне ясен. С одной стороны, показано, что NO ингибирует его активацию, стабилизируя ингибиторную субъединицу ЯФкВ или предотвращая его связывание с ДНК [25]; с другой стороны, он активирует ЯФкВ в одноядерных клетках людей путём усиления активности тирозинфосфатаз, предположительно, за счёт нитрозирования внут-

риклеточного сигнального белка p21^{ras} [11]. Анализируя эти противоречивые данные, следует учитывать физиологическую концентрацию NO в тканях, видимо, находящуюся в зависимости от типа ткани и условий среды [12]. Connelly L. et al. [11] показали, что NO осуществляет двухфазную регуляцию активности ЯФкВ в зависимости от его местной концентрации.

Ингибирование NOS пытались применять как метод коррекции вызываемых эндотоксином гипотензии и нарушения функции сердца на животных моделях [14]. Использовали, в частности, производные предшественника NO L-аргинина. На мышной модели сепсиса было показано, что N^G -метил-L-аргинин способен в ряде случаев [23] снижать смертность. Kilbourn R. G. et al. [34] выявил гипотензию, вызываемую введением α -ФНО у анестезированных собак. Напротив, другие авторы сообщали, что N^G -метил-L-аргинин не оказывает полезного действия при вызываемом α -ФНО угнетении сердечной деятельности [21], а N^G -амино-L-аргинин даже повышает смертность собак с инъекцией эндотоксина, несмотря на повышенное сосудистое сопротивление [35]. Предполагается, что при эндотоксиновом шоке может быть полезным избирательное ингибирование *iNOS*, а не ингибирование как конститутивной, так и индуцибельной NOS [33]. Другой избирательный ингибитор – *iNOS* сульфат S-метилизотиомочевина – оказывает полезное действие и увеличивает выживаемость мышей, получавших ЛПС [41]. Выявлено ингибирование эндотоксином высвобождения NO конститутивной *eNOS*; в то же время введение NO снижало повреждающее действие ЛПС на микроциркуляцию в печени в начале эндотоксемии [45].

Результаты исследований на животных показывают высокую вариабельность данных, очевидно, в связи с различиями доз ингибиторов и моделей септического шока [38]. Поскольку у NO выявлены и про- и противовоспалительные эффекты [11], вероятно, что его роль в усилении или угнетении воспалительного ответа определяется стадией, на которой вводятся ингибиторы NOS и достигаемой местной концентрацией NO. Эти результаты требуют дальнейшей оценки механизмов коррекции L-аргинин-NO системы при окислительном стрессе.

По нашим данным, окислительный стресс сопровождается существенными однонаправленными, хотя и не однозначными по степени выраженности изменениями кислородтранспортной функции (КТФ) крови, коррелирующими с активностью процессов ПОЛ [1]. Происходит повышение содержания диеновых конъюгатов и оснований Шиф-

фа, а также снижение активности каталазы и содержания α -токоферола в условиях активации процессов свободнорадикального окисления липидов в плазме и эритроцитах, отмечается значительное ухудшение кислородсвязывающих свойств крови [2]. Развитие окислительного стресса у кроликов характеризовалось развитием гипоксии, которая была еще более выражена при ингибировании NO-синтазы метиловым эфиром N^G -нитро-L-аргинина. С учётом реальных значений pH, pCO_2 и температуры тела через 120 и 240 мин. после введения ЛПС реальное $p50$ возрастало на 4,6% и 9,6% ($p < 0,05$), после введения ингибитора NO-синтазы при окислительном стрессе $p50_{реал}$ увеличивалось на 23,9% ($p < 0,05$) и 42,1 % ($p < 0,05$) на 120 и 240 мин., что отражает более выраженный сдвиг реальных кривых диссоциации оксигемоглобина вправо [49]. L-аргинин и ингибитор NO-синтазы (N^G -нитро-L-аргинин) при лихорадке, индуцированной введением ЛПС, увеличивает $p50_{станд}$ с $33,7 \pm 1,1$ до $37,1 \pm 1,3$ мм рт. ст., что, в частности, обусловлено различными эффектами NO-производных гемоглобина на СГК [5]. На уровне микроциркуляции это может быть чрезвычайно важным для модифицирования его кислородсвязывающих свойств и, в конечном итоге, для оптимальной оксигенации тканей [50].

Гемоглобин, изменяя свое сродство к кислороду, может регулировать поток кислорода в ткани в соответствии с их потребностью в нём и тем самым предупреждать избыточное его использование для свободнорадикального окисления, что позволяет рассматривать сродство гемоглобина к кислороду как один из факторов, участвующих в поддержании прооксидантно-антиоксидантного равновесия организма [4, 3]. Возможно ослабление прооксидантного потенциала модифицированным гемоглобином и, в частности, за счёт образования его NO-производных.

За последнее десятилетие были достигнуты значительные успехи в выяснении участия NO в генезе окислительного стресса. Детальное понимание вклада L-аргинин-NO системы, роли и взаимодействия отдельных её эффекторов и модификаторов в каскаде активации будет решающим для разработки мероприятий по лечению септического шока. При использовании ингибиторов медиаторов септического шока важно помнить, что многие из патогенетических механизмов этого состояния представляют собой многосторонний компенсаторный ответ организма на ЛПС. Понимание конкретных механизмов, регулирующих воспаление, позволит более эффективно влиять на патогенетические механизмы повреждения тканей без

существенного нарушения защиты организма. Имеющиеся данные предполагают участие кислородсвязывающих свойств крови и NO в вызываемом ЛПС повреждении тканей, что может быть использовано для коррекции этих патологических состояний. Изучение механизмов вклада кислородтранспортной функции крови и L-аргинин-NO системы в генезе окислительного стресса требуют дальнейшего исследования.

Данная работа выполнена частично благодаря финансовой поддержке Фонда фундаментальных исследований РБ (№ Б03-019).

Литература

1. Глебов А.Н. Особенности измененных механизмов транспорта кислорода крови и их роль в адаптивных реакциях при окислительном стрессе / А.Н. Глебов, В.В. Зинчук // Тез. докл. X съезда бел. общ. физиол. – Мн.- 2001. – С. 37-38.
2. Глебов А.Н. Кислородтранспортная функция крови и прооксидантно-антиоксидантное состояние организма при окислительном стрессе / А.Н. Глебов, В.В. Зинчук // Весці НАН РБ /сер. Мед-біял. нав. - 2002. - № 2. - С. 71-74.
3. Глебов А.Н. Окислительный стресс и L-аргинин-NO система / А.Н. Глебов, В.В. Зинчук // Журн. Гродн. мед. ун-та. - 2004. - № 2. - С. 27-31.
4. Зинчук В.В. Роль кислородсвязывающих свойств крови в поддержании прооксидантно-антиоксидантного равновесия организма / В.В. Зинчук, М.В. Борисюк // Усп. физиол. наук. - 1999а. - Т.30, № 3. – С.38-48.
5. Зинчук В.В. Изменение сродства гемоглобина к кислороду и параметров прооксидантно-антиоксидантного равновесия при введении ЛПС в условиях коррекции L-аргинин-NO-пути / В.В. Зинчук, М.В. Борисюк // Бюл. эксл. биол. и мед. - 1999б. - Т.127, № 6. - С.616-619.
6. Маслаков Д.А. Современные представления о биологическом действии препаратов полисахаридной природы / Д.А. Маслаков, К.А. Эйсмонт, Н.Е. Максимович // Мед. новости. – 2000. - № 5. - С. 19-22.
7. Abd El-Gawad H.M. Quercetin, coenzyme Q_{10} , and L-canavanine as protective agents against lipid peroxidation and nitric oxide generation in endotoxin-induced shock in rat brain / H.M. Abd El-Gawad, A.E. Khalifa // Pharmacol. Res. – 2001. – Vol. 43. – P. 257-263.
8. Activation of NF- κ B in rat lungs by treatment with endotoxin: modulation by treatment with N-acetylcysteine / T.S. Blackwell, E.P. Holden, T.R. Blackwell et al. // J. Immunol. - 1996. - Vol. 157. - P. 1630-1637.
9. Altered immune responses in mice lacking inducible nitric oxide synthase / X.Q. Wei, I.G. Charles, A. Smith et al. // Nature. – 1995. – Vol. 375. – P. 408-411.
10. Antioxidant enzymes suppress nitric oxide production through the inhibition of NF- κ B activation: role of H_2O_2 and nitric oxide in inducible nitric oxide synthase expression in macrophages / Y.J. Han, Y.G. Know, H.T. Chung et al. // Nitric oxide. – 2001. – Vol. 5. – P. 504-513.
11. Biphasic regulation of NF- κ B activity underlies the pro- and anti-inflammatory actions of nitric oxide / L. Connelly, M. Palacios-Callender, C. Ameixa et al. // J. Immunol. – 2001. – Vol. 166. – P. 3873-3881.
12. Brown G.C. Nitric oxide regulates mitochondrial respiration and cell functions by inhibiting cytochrome oxidase / G.C. Brown // FEBS Lett. – 1995b. – Vol. 369. – P. 136-139.
13. Cadenas S. Endotoxin increases oxidative injury to proteins in guinea pig liver: protection by dietary vitamin C / S. Cadenas, C. Rojas, G. Barja // Pharmacol. Toxicol. – 1998. – Vol. 82. – P. 11-18.
14. Cadenas S. Fighting the stranger – antioxidant protection against endotoxin toxicity / S. Cadenas, A.M. Cadenas // Toxicology. - 2002. - Vol. 180. - P.45-63.

15. Castillo J.R. Brain natriuretic peptide: a potential marker for mortality in septic shock / J.R. Castillo, A. Zagler, R. Carrillo-Jimenez, C.H. Hennekens // *Int. J. Infect. Dis.* – 2004. – Vol. 8, № 5. P. 271-274.
16. CD₁₄-dependent signaling pathways in murine macrophages from normal and CD₁₄ knockout mice stimulated with lipopolysaccharide or taxol / P.Y. Perera, S.N. Vogel, G.R. Detore et al. // *J. Immunol.* – 1997. – Vol. 158. – P. 4422-4429.
17. Cyclooxygenase-2 inhibition improves vascular endothelial dysfunction in a rat model of endotoxic shock: role of iNOS and oxidative stress / A. Virdis, R. Colucci, M. Fornai et al. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2005. – Vol. 312, № 3. – P. 945-953.
18. Depletion of the mitochondrial electron transport abrogates the cytotoxic and gene-inductive effects of TNF / K. Schulze-Osthoff, R. Beyaert, V. Vandevorode et al. // *EMBO J.* – 1993. – Vol. 12. – P. 3095-3104.
19. Dithiocarbamates act as potent inhibitors of nuclear factor- κ B activation in intact cells / R. Schreck, B. Meier, M. Mannel et al. // *J. Exp. Med.* – 1992b. – Vol. 175. – P. 1181-1194.
20. Effect of hyperbaric oxygen on endotoxin-induced lung injury in rats / W.C. Perna, C.P. Wu, S.J. Chu et al. // *Shock.* – 2004. – Vol. 21, № 4. – P. 370-375.
21. Effects of L-NMMA and fluid loading on TNF-induced cardiovascular dysfunction in dogs / Z.M.N. Quezado, W. Karzai, R.L. Danner et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1998. – Vol. 157. – P. 1397-1405.
22. Endotoxemia in transgenic mice overexpressing human glutathione peroxidases / O. Mirochnitchenko, O. Prokopenko, U. Palmnikar et al. // *Circ. Res.* – 2000. – Vol. 87. – P. 289-295.
23. Evans T. Evidence of increased nitric oxide production in patients with the sepsis syndrome / T. Evans, A. Carpenter, H. Kinderman, J. Cohen // *Circ. Shock.* – 1993. – Vol. 41. – P. 77-81.
24. Inhibition of endothelium-dependent vasodilation by *Escherichia coli* endotoxemia / J.L. Parker, P.R. Myers, Q. Zhong et al. // *Shock.* – 1994. – Vol. 2. – P. 251-258.
25. Inhibition of NF- κ B DNA binding by nitric oxide / J.R. Matthews, C.H. Botting, M. Panico et al. // *Nucleic. Acid. Res.* – 1996. – Vol. 24. – P. 2236-2242.
26. Li H. Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease / H. Li, U. Forstermann // *J. Pathol.* – 2000. – Vol. 190. – P. 244-254.
27. Lipopolysaccharide suppresses albumin expression by activating NF- κ B in rat hepatocytes / X. Wang, W. Li, J. Lu et al. // *J. Surg. Res.* – 2004. – Vol. 122, № 2. – P. 274-279.
28. Low-dose N-acetylcysteine protects rats against endotoxin-mediated oxidative stress, but high-dose increases mortality / R.C. Sprong, A.M. Winkelhuyzen-Janssen, C.J. Aarsman et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1998. – Vol. 157. – P. 1283-1293.
29. Meyer M. H₂O₂ and antioxidants have opposite effects on activation of NF- κ B and AP-1 in intact cells: AP-1 as secondary antioxidant-responsive factor / M. Meyer, R. Schreck, P.A. Baeuerle // *EMBO J.* – 1993. – Vol. 12. – P. 2005-2015.
30. Moncada S. The L-arginine-nitric oxide pathway / S. Moncada, E.A. Higgs // *New Engl. J. Med.* – 1993. – Vol. 329, № 27. – P. 2002-2012.
31. N-Acetylcysteine and glutathione as inhibitors of tumor necrosis factor production / P. Peristeris, B.D. Clark, S. Gatti et al. // *Cell Immunol.* – 1992. – Vol. 140. – P. 390-399.
32. N-Acetylcysteine reduces respiratory burst but augments neutrophil phagocytosis in intensive care unit patients / A.R. Heller, G. Groth, S.C. Heller et al. // *Crit. Care Med.* – 2001. – Vol. 29. – P. 272-276.
33. Nava E. Inhibition of nitric oxide synthesis in septic shock: how much is beneficial? / E. Nava, R.M. Ralmer, S. Moncada // *Lancet.* – 1991. – Vol. 338. – P. 8782-8783.
34. N^G-methyl-L-arginine inhibits tumor necrosis factor-induced hypotension: implications for the involvement of nitric oxide / R.G. Kilbourn, S.S. Gross, A. Jubran et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1990. – Vol. 87. – P. 3629-3632.
35. N-omega-amino-L-arginine, an inhibitor of nitric oxide synthase, raises vascular resistance but increases mortality rates in awake canines challenged with endotoxin / J.P. Cobb, C. Natanson, W.D. Hoffman et al. // *J. Exp. Med.* – 1992. – Vol. 176. – P. 1175-1182.
36. Overexpression of CuZn-SOD prevents lipopolysaccharide-induced endothelial dysfunction / S.P. Didion, D.A. Kinzenbaw, P.E. Fegan et al. // *Stroke.* – 2004. – Vol. 35, № 8. – P. 1963-1967.
37. Pawate S. Redox regulation of glial inflammatory response to lipopolysaccharide and interferon- γ / S. Pawate, Q. Shen, F. Fan, N.R. Bhat // *J. Neurosci. Res.* – 2004. – Vol. 77, № 4. – P. 540-551.
38. Petros A. Effect of nitric oxide synthase inhibitors on hypotension in patients with septic shock / A. Petros, D. Bennett, P. Vallance // *Lancet.* – 1991. – Vol. 338. – P. 1557-1558.
39. Plasma concentrations of cytokines, their soluble receptors, and antioxidant vitamins can predict the development of multiple organ failure in patients at risk / E. Borelli, P. Roux-Lombard, G.E. Grau et al. // *Crit. Care Med.* – 1996. – Vol. 24. – P. 392-397.
40. Rhee S.G. Redox signaling: hydrogen peroxide as intracellular messenger / S.G. Rhee // *Exp. Mol. Med.* – 1999. – Vol. 31. – P. 53-59.
41. Scabo C. Beneficial effects and improved survival in rodent models of septic shock with S-methylisothiourea sulfate, a potent and selective inhibitor of inducible nitric oxide synthase / C. Scabo, G.J. Southan, C. Thiemermann // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1994. – Vol. 91. – P. 12472-12476.
42. Sewerynek E. Melatonin reduced both basal and bacterial lipopolysaccharide-induced lipid peroxidation in vitro / E. Sewerynek, D. Melchiorri, L. Chen, R.J. Reiter // *Free Rad. Biol. Med.* – 1995. – Vol. 19. – P. 903-909.
43. Staal F.G. Intracellular thiols regulate activation of nuclear factor- κ B and transcription of human immunodeficiency virus / F.G. Staal, M. Roederer, L.A. Herzenberg // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1990. – Vol. 87. – P. 9943-9947.
44. The effect of natural antioxidants, NAO and apocynin, on oxidative stress in the rat heart following LPS challenge / V. Ben-Shaul, L. Lomnitski, A. Nyska et al. // *Toxicol. Lett.* – 2001. – Vol. 123. – P. 1-10.
45. The nitric oxide donor sodium nitroprusside protects against hepatic microcirculatory dysfunction in early endotoxemia / Y. Gundersen, S.O. Corso, R. Leiderer et al. // *Intens. Care Med.* – 1998. – Vol. 24. – P. 1257-1263.
46. The role of vasopressin in vasodilatory septic shock / M.D. Obrisch, D.J. Bestul, R. Jung et al. // *Pharmacotherapy.* – 2004. – Vol. 24, № 8. – P. 1050-1063.
47. Wadsworth T. Effects of Ginkgo biloba extract (Egb 761) and quercetin on lipopolysaccharide-induced signaling pathways involved in the release of tumor necrosis factor- α / T. Wadsworth, T.I. McDonald, D.R. Koop // *Biochem. Pharmacol.* – 2001. – Vol. 62. – P. 963-974.
48. Wu F. Nitric oxide attenuates but superoxide enhances iNOS expression in endotoxin- and IFN- γ -stimulated skeletal muscle endothelial cells / F. Wu, G. Cepinskas, J.X. Wilson, K. Tyml // *Microcirculation.* – 2001. – Vol. 8, № 6. – P. 415-425.
49. Zinchuk V.V. Body prooxidant-antioxidant state under the oxidative stress combined with a modification of L-arginine-NO pathway / V.V. Zinchuk, A.N. Glebov // *International conference «Reactive oxygen and nitrogen species, antioxidants and human health».* – Smolensk, 2003. – P. 34.
50. Zinchuk V.V. Blood oxygen transport and endothelial dysfunction in patients with arterial hypertension / V.V. Zinchuk, T.P. Pronko, M.A. Lis // *Clinical Physiology Nuclear Medicine.* – 2004. – Vol. 24. – P. 205-211.