РОССИЙСКИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ им. И.М. СЕЧЕНОВА 2022, том 108, № 8, с. 933–939

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

РОЛЬ NO-СИНТАЗЫ В ИНФАРКТ-ЛИМИТИРУЮЩЕМ ЭФФЕКТЕ НОРМОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

© 2022 г. Л. Н. Маслов[1], Н. В. Нарыжная[1], А. С. Семенцов[1], И. А. Деркачев[1, *], С. В. Гусакова[1], Akpay Sarybaev[2, 3]

[1]*Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, Россия*

[2]*Department of Mountain and Sleep Medicine and Pulmonary Hypertension, National Center of Cardiology and Internal Medicine, Bishkek, Kyrgyzstan*

[3]*Kyrgyz-Indian Mountain Biomedical Research Center, Bishkek, Kyrgyzstan*

**E-mail: vanya.derkachev@mail.ru*

Поступила в редакцию 25.05.2022 г.
После доработки 12.07.2022 г.
Принята к публикации 19.07.2022 г.

Исследование было выполнено на крысах-самцах линии Вистар. Животные были случайным образом разделены на группы нормоксического контроля и группы, подвергшиеся кратковременной нормобарической гипоксии (НГ). НГ моделировали, используя 6 последовательных циклов гипоксии–реоксигенации: нормобарическая гипоксия (10 мин) и реоксигенация (10 мин). У всех животных воспроизводили коронарооккклюзию (45 мин) путем наложения лигатуры на левую коронарную артерию и реперфузию (2 ч) с помощью удаления лигатуры. Перед моделированием коронарооккклюзии животным вводили следующие фармакологические агенты: ингибитор всех изоформ NO-синтазы L-NAME в дозе 10 мг/кг внутривенно за 15 мин до НГ или за 10 мин до коронарооккклюзии; ингибитор индуцибельной NO-синтазы (iNOS) S-метилтиомочевина в дозе 3 мг/кг внутрибрюшинно за 10 мин до коронарооккклюзии; ингибитор нейрональной NO-синтазы (nNOS) 7-нитроиндазол в дозе 50 мг/кг внутривенно за 10 мин до коронарооккклюзии; донор NO диэтилентриамин внутривенно в дозе 2 мг/кг (инфузия в течение 5 мин) за один час до коронарооккклюзии. Установлено, что L-NAME и S-метилтиомочевина полностью устраняют инфаркт-лимитирующий эффект НГ. Диэтилентриамин повышал устойчивость сердца к ишемии/реперфузии у крыс нормоксического контроля. Установлено, что iNOS играет важную роль в реализации кардиопротекторного эффекта НГ.

Ключевые слова: сердце, ишемия, реперфузия, нормобарическая гипоксия, NO-синтаза

DOI: 10.31857/S0869813922080040

Известно, что свободный радикал оксида азота ($NO^{\bullet}$) участвует в отсроченном кардиопротекторном эффекте ишемического прекондиционирования [1] и в инфаркт-лимитирующем эффекте хронической нормобарической гипоксии (НГ) [2]. Доноры NO повышают устойчивость сердца к ишемии/реперфузии (И/Р) [3]. Оставалось неизвестным, может ли NO участвовать в кардиопротекторном эффекте кратковременной нормобарической гипоксии/реоксигенации.

Целью данной работы явилось изучение роли изоформ NO-синтазы в инфаркт-лимитирующем эффекте кратковременной нормобарической гипоксии.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование было выполнено на 154 крысах-самцах линии Вистар массой 250–300 г. Все процедуры регулировались Директивой 2010/63/ЕС Европейского парламента и Руководством по уходу и использованию лабораторных животных, опубликованных Национальными институтами здравоохранения США (публикация NIH № 85-23, пересмотренная в 1996 г.). Этический комитет НИИ кардиологии Томского национального исследовательского медицинского центра одобрил данное исследование (протокол № 207 от 23 декабря 2020 г.).

Животные были разделены на 11 групп по 14 крыс в каждой. Крыс 1-й, 2-й, 3-й, 4-й, 5-й и 6-й групп (групп нормоксического контроля) содержали в стандартных условиях вивария. Животных 7-й, 8-й, 9-й, 10-й и 11-й групп (опытных групп) подвергали кратковременной НГ, используя 6 последовательных циклов гипоксии–реоксигенации: НГ (10 мин) и реоксигенация (10 мин). Гипоксию осуществляли, помещая животных в герметичный сосуд объемом 3.3 л, внутри которого формировали воздушную среду с пониженным содержанием кислорода (8% O_2, 0.9% CO_2 и 91.1% N_2). Затем следовал 10-минутный сеанс реоксигенации (21% O_2). Газовый состав воздуха определяли с помощью газоанализатора Stat Profile M (Nova Biomedical Corporation, Waltham, США). Общая продолжительность НГ составляла 2 ч. Через 30 мин после НГ выполняли коронароокклюзию.

Всех животных перед началом хирургических манипуляций наркотизировали введением α-хлоралозы (100 мг/кг, внутрибрюшинно) и подключали к аппарату искусственной вентиляции легких SAR-830 Series (CWE Inc., США). Перед моделированием коронароокклюзии животным вводили следующие фармакологические агенты: 1-я группа – внутривенно 0.9%-ный раствор NaCl (1 мл/кг) за 10 мин до коронароокклюзии; 2-я группа – внутривенно 20%-ный раствор гидроксипропил-β-циклодекстрина (1 мл/кг) за 10 мин до коронароокклюзии; 3-я группа – ингибитор всех изоформ NO-синтазы N-ω-nitro-L-arginine methyl ester hydrochloride (L-NAME) в дозе 10 мг/кг внутривенно за 10 мин до коронароокклюзии [5]; 4-я и 10-я группы – ингибитор индуцибельной NO-синтазы (iNOS) S-метилтиомочевины сульфат в дозе 3 мг/кг внутрибрюшинно за 10 мин до коронароокклюзии [6]; 5-я и 11-я группы – ингибитор нейрональной NO-синтазы (nNOS) 7-нитроиндазол в дозе 50 мг/кг внутривенно [5]. Животным 6-й группы внутривенно вводили донор NO диэтилентриамин (Diethylenetriamine/nitric oxide, DETA/NO) в дозе 2 мг/кг (инфузия в течение 5 мин) за один час до коронароокклюзии [3]. Крысам 8-й группы внутривенно вводили L-NAME (10 мг/кг) за 15 мин до НГ. Животным 9-й группы внутривенно вводили L-NAME (10 мг/кг) после НГ за 10 мин до коронароокклюзии.

L-NAME, S-метилтиомочевина, 7-нитроиндазол, DETA/NO были закуплены в компании Sigma-Aldrich (St. Louis, США). 7-нитроиндазол первоначально растворяли в 0.1 мл диметилсульфоксида (DMSO), а затем – в 0.9 мл 20%-ного раствора гидроксипропил-β-циклодекстрина (Tocris Bioscience, Bristol, Великобритания); L-NAME, S-метилтиомочевину, DETA/NO растворяли в 0.9%-ном растворе NaCl. Все растворы готовили немедленно перед использованием. В связи с тем, что часть препаратов растворяли в 0.9%-ном NaCl, а часть – в 0.9 мл 20%-ного гидроксипропил-β-циклодекстрина, были сформированы две контрольные группы, которым вводили данные растворители.

Регистрацию артериального давления осуществляли с помощью датчика давления SS13L (BiopacSystem Inc., США), сопряженного с аппаратом MP35 (BiopacSystemInc., Goleta, США). Измерение артериального давления осуществляли с помощью канюлирования правой сонной артерии. Для этого в сонную артерию вводили канюлю, подключенную к датчику давления SS13L. Прибор MP35 использовался и для регистрации ЭКГ.

Для выполнения коронарооккклюзии вскрывали грудную клетку, сердце освобождали от перикарда и выводили за пределы грудной клетки наружу. Затем накладывали лигатуру на левую коронарную артерию в ее верхней части на 45 мин. Реперфузия осуществлялась путем снятия лигатуры. Длительность реперфузии составляла 2 ч.

Для определения размера инфаркта сердце извлекали, канюлировали аорту, промывали физиологическим раствором, затем вновь накладывали лигатуру и вводили 5%-ный раствор перманганата калия для отделения зоны гипоперфузии (зоны риска) от интактного миокарда. После удаления перманганата калия левый желудочек рассекали на срезы толщиной 1 мм, которые окрашивали в 1%-ном растворе 2,3,5-трифенилтетразолия при 37°C в течение 30 мин и фиксировали в течение 24 ч в 10%-ном растворе нейтрального формалина. Готовые срезы сканировали на сканере Scanjet G2710, планиметрически определяя размеры зон некроза и зон риска (ишемии) с помощью программы Ellipse 2.02 (ViDiTo, Чешская республика). Величину инфаркта выражали процентным соотношением площади зоны инфаркта к зоне риска (ЗИ/ЗР).

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 13.0. Для оценки достоверности полученных результатов использовали критерий Манна–Уитни. Достоверными считались различия при $p < 0.05$. Результаты экспериментов выражали как среднее арифметическое (M) ± стандартная ошибка среднего (SEM).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Было установлено, что соотношение ЗИ/ЗР у неадаптированных крыс, которым вводили гидроксипропил-β-циклодекстрин или физиологический раствор, составляет около 50%. Разницы по ЗИ/ЗР между этими группами животных не обнаружено. Коронарооккклюзия и реперфузия не оказывали достоверного эффекта на частоту сердечных сокращений и артериальное давление. Ни в данной серии эксперимента, ни в последующих сериях мы не наблюдали летальности при воздействии НГ или при выполнении коронарооккклюзии–реперфузии.

Было установлено, что НГ способствует уменьшению соотношения ЗИ/ЗР на 30% (рис. 1). Предварительное введение L-NAME за 15 мин до НГ полностью устраняло инфаркт-лимитирующий эффект НГ. Инъекция L-NAME за 10 мин до коронарооккклюзии не влияла на кардиопротекторный эффект НГ. Эти данные указывают на то, что NO является триггером, но не конечным эффектором НГ-индуцированной толерантности сердца к И/Р. Введение ингибитора iNOS S-метилтиомочевины за 15 мин до НГ нивелировало кардиопротекторный эффект адаптации к гипоксии. Ингибитор nNOS 7-нитроиндазол не влиял на инфаркт-лимитирующий эффект НГ. Следует отметить, что L-NAME, 7-нитроиндазол, S-метилтиомочевина не влияли на соотношение ЗИ/ЗР у неадаптированных крыс. L-NAME вызывал снижение частоты сердечных сокращений и увеличивал систолическое артериальное давление.

Эти данные указывают на то, что триггером НГ-индуцированной толерантности сердца к И/Р является NO, синтезируемый iNOS. Донор оксида азота DETA/NO также увеличивал устойчивость сердца к И/Р. DETA/NO не оказывал достоверного эффекта на частоту сердечных сокращений и артериальное давление.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Мишенью для действия оксида азота на сердце являются кардиомиоциты и гладкомышечные клетки коронарных артерий [7–10]. Хорошо известно, что NO-синтаза принимает участие в повышении толерантности сердца к И/Р при ишемическом пре- и пост-кондиционировании [11, 12]. С учетом схожести эффектов пре-, постконди-

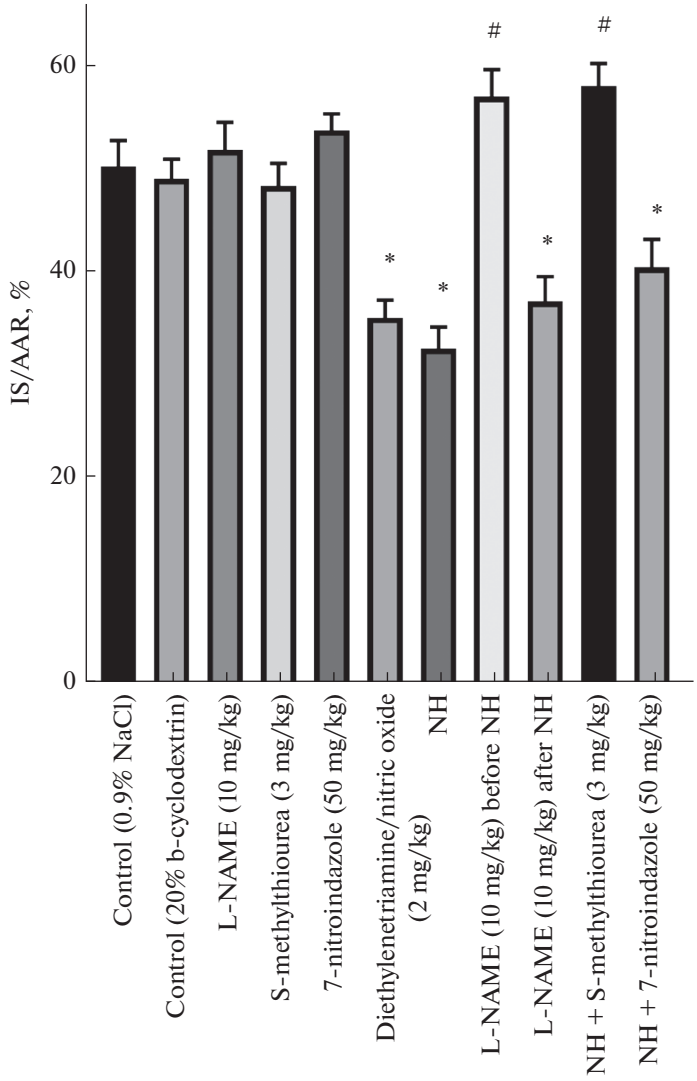

Рис. 1. Влияние ингибиторов NO-синтазы и донора NO диэтилентриамина на размер инфаркта у крыс после курса НГ. IS/AAR – отношение зоны некроза к зоне риска, NH – нормобарическая гипоксия (НГ); * – $p < 0.05$ по сравнению с контрольной группой (0.9%-ный раствор NaCl), # – $p < 0.05$ по сравнению с группой НГ, U-критерий Манна–Уитни.

ционирования и НГ, мы выдвинули предположение о важной роли NO-синтазы в механизме формирования кардиопротекторного эффекта НГ [13, 14]. Однако вопрос об участии отдельных изоформ NOS оставался открытым. Предполагалось, что медиаторами НГ являются iNOS [14] и эндотелиальная NO-синтаза [13]. Нами было подтверждено, что блокада iNOS нивелирует инфаркт-лимитирующий эффект НГ, в то время как nNOS не участвует в реализации данного кардиозащитного эффекта. Факт участия iNOS в повышении толерантности сердца к И/Р предоставил возможность имитировать инфаркт-лимитирующий эффект НГ. Предпола-

галось, что применение донора NO будет способствовать уменьшению размера инфаркта у интактных животных. Данная гипотеза была подтверждена, и нами было показано, что внутривенное введение DETA/NO за 1 ч до моделирования коронарооккклюзии–реперфузии оказывает кардиопротекторный эффект, который выражался в уменьшении размера инфаркта.

Известно, что многие опосредованные NO эффекты связаны с активацией оксидом азота растворимой гуанилилциклазы (рГЦ) и повышением уровня циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ) [15–17]. Кроме того, оксид азота способен взаимодействовать с сульфгидрильными группами белков, что приводит к образованию S-нитрозотиола (SNO) и посттрансляционной модификации протеинов, известной как S-нитрозилирование белков [18, 19]. Считается, что оба пути важны для кардиопротекции. Активация рГЦ с последующим повышением уровня цГМФ приводит к активации протеинкиназы G, которая активирует митохондриальный $K_{АТФ}$-канал с последующим повышением стабильности митохондриальной поры переменной проницаемости (mPTP, mitochondrial permeability transition pore) [15]. Повышение стабильности mPTP приводит к тому, что митохондрии кардиомиоцитов не подвергаются кальциевой перегрузке, снижается продукция активных форм кислорода и вероятность развития окислительного стресса [21].

Нитрозилирование играет важную роль в реализации кардиопротекторного эффекта ишемического прекондиционирования [20, 22]. Известно, что NO приводит к активации PKCε, митохондриальных $K_{АТФ}$-каналов и ингибированию открытия mPTP [22]. Вероятно, эти же молекулярные механизмы задействованы при при воздействии кратковременной НГ.

Таким образом, возможные механизмы кардиопротекторного действия кратковременной нормобарической гипоксии и NO включают каскады внутриклеточных трансмиттеров с активацией митохондриальных $K_{АТФ}$-каналов и повышением устойчивости mPTP, которые, по всей видимости, являются конечными эффекторами. Полученные нами данные указывают на то, что оксид азота является триггером, но не конечным эффектором кардиопротекторного эффекта кратковременной нормобарической гипоксии.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Статья подготовлена при поддержке гранта РФФИ № 21-515-53003. Раздел, посвященный L-NAME, оформлен в рамках гос. задания 122020300042-4. Авторы выражают признательность Н.А. Данильченко за техническую помощь. Работа выполнена на оборудовании Центра коллективного пользования “Медицинская геномика”.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Л.Н.М. и Н.В.Н. предложили концепцию и план работы. А.С.С. выполнил экспериментальную часть работы, И.А.Д. оформил рукопись статьи. С.В.Г. и A.S. участвовали в подборе литературных источников к статье и принимали участие в обсуждении представленных в статье данных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Baxter GF, Ferdinandy P* (2001) Delayed preconditioning of myocardium: current perspectives. Basic Res Cardiol 96: 329–344.
https://doi.org/10.1007/s003950170041
2. *Tsibulnikov SY, Maslov LN, Naryzhnaya NV, Ma H, Lishmanov YB, Oeltgen PR, Garlid K* (2018) Role of protein kinase C, PI3 kinase, tyrosine kinases, NO-synthase, K_{ATP} channels and MPT pore in the signaling pathway of the cardioprotective effect of chronic continuous hypoxia. Gen Physiol Biophys 37: 537–547.
https://doi.org/10.4149/gpb_2018013
3. *Guo Y, Stein AB, Wu WJ, Zhu X, Tan W, Li Q, Bolli R* (2005) Late preconditioning induced by NO donors, adenosine A_1 receptor agonists, and δ_1-opioid receptor agonists is mediated by iNOS. Am J Physiol Heart Circ Physiol 289: H22517.
https://doi.org/10.1152/ajpheart.00341.2005
4. *Maslov LN, Naryzhnaya NV, Tsibulnikov S Yu., Kolar F, Zhang Y, Wang H, Gusakova AM, Lishmanov YuB* (2013) Role of endogenous opioid peptides in the infarct size-limiting effect of adaptation to chronic continuous hypoxia. Life Sci 93: 373–379.
https://doi.org/10.1016/j.lfs.2013.07.018
5. *Chiari PC, Bienengraeber MW, Weihrauch D, Krolikowski JG, Kersten JR, Warltier DC, Pagel PS* (2005) Role of endothelial nitric oxide synthase as a trigger and mediator of isoflurane-induced delayed preconditioning in rabbit myocardium. Anesthesiology 103: 74–83.
https://doi.org/10.1097/00000542-200507000-00014
6. *Jiang X, Shi E, Nakajima Y, Sato S* (2004) Inducible nitric oxide synthase mediates delayed cardioprotection induced by morphine in vivo: evidence from pharmacologic inhibition and gene-knockout mice. Anesthesiology 101: 82–88.
https://doi.org/10.1097/00000542-200407000-00014
7. *Kamkin AG, Kamkina OV, Shim AL, Bilichenko A, Mitrokhin VM, Kazansky VE, Filatova TS, Abramochkin DV, Mladenov MI* (2022) The role of activation of two different sGC binding sites by NO-dependent and NO-independent mechanisms in the regulation of SACs in rat ventricular cardiomyocytes. Physiol Rep 10: e15246.
https://doi.org/10.14814/phy2.15246
8. *Richards MA, Simon JN, Ma R, Loonat AA, Crabtree MJ, Paterson DJ, Fahlman RP, Casadei B, Fliegel L, Swietach P* (2020) Nitric oxide modulates cardiomyocyte pH control through a biphasic effect on sodium/hydrogen exchanger-1. Cardiovasc Res 116: 1958–1971.
https://doi.org/10.1093/cvr/cvz311
9. *Thengchaisri N, Hein TW, Ren Y, Kuo L* (2021) Activation of coronary arteriolar PKCβ2 impairs endothelial NO-mediated vasodilation: role of JNK/Rho kinase signaling and xanthine oxidase activation. Int J Mol Sci 22: 9763.
https://doi.org/10.3390/ijms22189763
10. *Tawa M, Nakano K, Yamashita Y, He Q, Masuoka T, Okamura T, Ishibashi T* (2021) Alteration of the soluble guanylate cyclase system in coronary arteries of high cholesterol diet-fed rabbits. Pharmacol Res Perspect 9:e00838.
https://doi.org/10.1002/prp2.838
11. *Li XD, Cheng YT, Yang YJ, Meng XM, Zhao JL, Zhang HT, Wu YJ, You SJ, Wu YL* (2012) PKA-mediated eNOS phosphorylation in the protection of ischemic preconditioning against no-reflow. Microvasc Res 84: 44–54.
https://doi.org/10.1016/j.mvr.2012.04.002
12. *Frankenreiter S, Groneberg D, Kuret A, Krieg T, Ruth P, Friebe A, Lukowski R* (2018) Cardioprotection by ischemic postconditioning and cyclic guanosine monophosphate-elevating agents involves cardiomyocyte nitric oxide-sensitive guanylyl cyclase. Cardiovasc Res 114: 822–829.
https://doi.org/10.1093/cvr/cvy039
13. *Hu L, Zhou L, Wu X, Liu C, Fan Y, Li Q* (2014) Hypoxic preconditioning protects cardiomyocytes against hypoxia/reoxygenation injury through AMPK/eNOS/PGC-1α signaling pathway. Int J Clin Exp Pathol 7: 7378–7388.
14. *Cuong DV, Kim N, Youm JB, Joo H, Warda M, Lee JW, Park WS, Kim T, Kang S, Kim H, Han J* (2006) Nitric oxide-cGMP-protein kinase G signaling pathway induces anoxic preconditioning through activation of ATP-sensitive K^+ channels in rat hearts. Am J Physiol Heart Circul Physiol 290: H1808–H1817.
https://doi.org/10.1152/ajpheart.00772.2005
15. *Costa AD, Pierre SV, Cohen MV, Downey JM, Garlid KD* (2008) cGMP signalling in pre- and post-conditioning: the role of mitochondria. Cardiovasc Res 77: 344–352.
https://doi.org/10.1093/cvr/cvm050
16. *Yu X, Ge L, Niu L, Lian X, Ma H, Pang L* (2018) The Dual Role of Inducible Nitric Oxide Synthase in Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury: Friend or Foe? Oxid Med Cell Longev 2018: 8364848.
https://doi.org/10.1155/2018/8364848

17. *Kraehling JR, Sessa WC* (2017) Contemporary Approaches to Modulating the Nitric Oxide-cGMP Pathway in Cardiovascular Disease. Circ Res 120: 1174–1182. https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.303776
18. *Sun J, Murphy E* (2010) Protein S-nitrosylation and cardioprotection. Circ Res 106: 285–296. https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.109.209452
19. *Sun J, Aponte AM, Kohr MJ, Tong G, Steenbergen C, Murphy E* (2013) Essential role of nitric oxide in acute ischemic preconditioning: S-nitros(yl)ation versus sGC/cGMP/PKG signaling? Free Radic Biol Med 54: 105–112. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.09.005
20. *Sun J, Kohr MJ, Nguyen T, Aponte AM, Connelly PS, Esfahani SG, Gucek M, Daniels MP, Steenbergen C, Murphy E* (2012) Disruption of caveolae blocks ischemic preconditioning-mediated S-nitrosylation of mitochondrial proteins. Antioxid Redox Signal 16: 45–56. https://doi.org/doi.org/10.1089/ars.2010.3844
21. *Morciano G, Bonora M, Campo G, Aquila G, Rizzo P, Giorgi C, Wieckowski MR, Pinton P* (2017) Mechanistic Role of mPTP in Ischemia-Reperfusion Injury. Adv Exp Med Biol 982: 169–189. https://doi.org/10.1007/978-3-319-55330-6_9
22. *Penna C, Angotti C, Pagliaro P* (2014) Protein S-nitrosylation in preconditioning and postconditioning. Exp Biol Med (Maywood) 239: 647–662. https://doi.org/10.1177/1535370214522935

The Role of NO-Synthase in the Infarct-Limiting Effect of Normobaric Hypoxia

L. N. Maslov[a], N. V. Naryzhnaya[a], A. S. Sementsov[a], I. A. Derkachev[a, *], S. V. Gusakova[a], and Akpay Sarybaev[b, c]

[a] *Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the RAS, Tomsk, Russia*
[b] *Department of Mountain and Sleep Medicine and Pulmonary Hypertension, National Center of Cardiology and Internal Medicine, Bishkek, Kyrgyzstan*
[c] *Kyrgyz-Indian Mountain Biomedical Research Center, Bishkek, Kyrgyzstan*
**e-mail: vanya.derkachev@mail.ru*

The study was performed in male Wistar rats. Animals were randomly divided into normoxic control groups and groups subjected to normobaric hypoxia (NH). NH was modeled using 6 consecutive cycles of hypoxia-reoxygenation: normobaric hypoxia (10 min)/reoxygenation (10 min). All animals were subjected to coronary occlusion (45 min) by applying a ligature to the left coronary artery, and reperfusion (2 h) by removing the ligature. Before modeling coronary occlusion, the following compounds were administered to rats: the non-selective NO-synthase inhibitor L-NAME at a dose of 10 mg/kg intravenously 15 min before NH or 10 min before coronary occlusion; inducible NO-synthase inhibitor (iNOS) S-methylthiourea at a dose of 3 mg/kg intraperitoneally 10 min before coronary occlusion; neuronal NO synthase (nNOS) inhibitor 7-nitroindazole at a dose of 50 mg/kg intravenously 10 min before coronary artery occlusion; a NO donor diethylenetriamine intravenously at a dose of 2 mg/kg (infusion over 5 min) one hour before coronary artery occlusion. It was found that L-NAME and S-methylthiourea completely abolished the infarct-limiting effect of NH. Diethylenetriamine increased cardiac tolerance to ischemia/reperfusion in normoxic control rats. It has been established that iNOS plays an important role in the cardioprotective effect of NH.

Keywords: heart, ischemia, reperfusion, normobaric hypoxia, NO-synthase