

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

## РЕГУЛЯЦИЯ СЕЛЕНОМ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В КРОВИ КРЫС, ИНДУЦИРОВАННЫХ НИТРИТОМ НАТРИЯ

С.Я. Гусейнова, Т.М. Гусейнов\*, Р.Т. Гулиева, Ф.Р. Яхъяева,  
М.З. Дадашов, А.И. Джафаров

Институт биофизики НАН Азербайджана, г. Баку, Азербайджан

**РЕЗЮМЕ.** Изучена роль селена при воздействии умеренных доз нитрита натрия на эритроциты крыс *in vivo*. Крысы подвергались одиночному и совместному действию  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  (0,5 мг/кг) и  $\text{NaNO}_2$  (30 мг/кг) посредством внутривенных инъекций и последующими экспозициями со сроками 1, 2, 3 и 12, 48 ч. Введение нитрита натрия с экспозициями в 1 и 3 ч в организме крыс приводило к заметному накоплению MetHb и уже к 1 часу достигало  $\approx 30\%$ , которое в течение последующих 2–3 ч монотонно спадало до 30% от достигнутого максимального уровня. К 12 и 48 ч экспозиции уровень MetHb соответственно мало или не отличался от контроля. Под действием нитрита в суспензии эритроцитов обнаружилось снижение (на 30 % от контроля) содержания продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК). Одиночное введение селенита натрия не приводило к изменению показателей MetHb и перекисного окисления липидов (ПОЛ). При кратковременной экспозиции (1–3 ч) комбинированное введение селенита и нитрита натрия приводило к снижению нитритиндуцированного накопления MetHb на  $\approx 35\%$  и к возрастанию накопления продуктов ПОЛ в сравнении с вариантом одиночного действия нитрита. При этом очередность введения не влияла на конечный результат. При длительной экспозиции предварительно введенный селенит с экспозицией 48 ч с последующим введением нитрита (с 1 ч инкубированием) приводил к снижению нитритиндуцированного накопления MetHb на  $\approx 16$  и 41% значений ПОЛ, а введенный через 1 ч после нитрита селенит (экспозиция 48 ч) не влиял на накопление MetHb и незначительно (10%) снижал показатели ПОЛ. Рассмотрено изменение активности антиокислительных (АО) ферментов – глутатионпероксидазы (ГП) и каталазы. Активность каталазы падала при всех вариантах воздействия нитрита натрия. Селенит при кратковременной экспозиции не приводил к заметному росту активности ГП, а нитрит приводил к ее ингибированию. Комбинированное с нитритом воздействие селенита мало влияло на  $\text{NaNO}_2$ -индуцированное падение ГП активности. Уменьшение нитритиндуцированного накопления MetHb, при введении селенита натрия в первые 1–3 ч, возможно, больше связано с самим фактом включения селена в молекулу Hb, чем действием дополнительного вклада ГП, активность которой в указанный период экспозиции заметно не увеличивается. Исходя из положения спектральных максимумов для  $\text{HbO}_2$  и  $\text{doxHb}$ , отметим, что  $\text{NaNO}_2$  увеличивает MetHb за счет уменьшения  $\text{HbO}_2$ , а селенит тормозит этот эффект.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** нитрит натрия, селенит натрия, эритроциты, метгемоглобин, глутатионпероксидаза, каталаза, перекисное окисление липидов.

### ВВЕДЕНИЕ

Кислородсодержащие соединения азота – нитраты и нитриты относятся к категории одних из наиболее распространенных загрязнителей окружающей среды. Нитриты способны оказывать свое действие на всех структурно-функциональных уровнях – от целостного организма до отдельных молекул. В основе системных механизмов этого влияния лежит реакция превращения нитрит-ионов в монооксид азота (NO), кото-

рый способен как стимулировать, так и подавлять процессы окисления биомолекул (Реутов и др., 1994; Hanafy et al., 2004). Одним из основных видов вредных действий NO является его участие в окислении гемоглобина, образование NO-комплексов с гемоглобином и ферментами антиоксидантной системы (Yoshida, Kasama, 1987; Титов, Петренко, 2003; Титов, Петренко, 2005). В результате запускается цепь биохимических реакций, которая приводит к истощению антиок-

\* Адрес для переписки:

Гусейнов Токай Магеррам

E-mail: thuseynov@physics.ab.az

сидантной (АО) системы в клетке и в организме в целом.

Среди важных компонентов этой системы, участвующей в регуляции уровня окислительных процессов в живых организмах, находится эссенциальный микроэлемент селен, входящий в состав около 30 протеинов, часть из которых обладает АО свойствами (Gladyshev, 2006). В данной работе изучалось участие экзогенного селена в индуцированных умеренной дозой нитрита натрия окислительных процессах в крови крыс (гемоглобин, эритроциты).

В ранних работах было показано, что защита селеном от индуцированного окисления гемоглобина в определенной мере реализуется помимо глутатионпероксидазного (ГП) механизма еще и самим фактом включения (или присутствия) селена в молекулу Hb, атомы которого, возможно, играют роль электронной ловушки, влияя на пероксидазную активность Hb. Для сепарации дополнительного вклада ГП механизма от вклада АО действия включающегося в молекулу гемоглобина Se было использовано то обстоятельство, что синтез молекул ГП происходит в печени, и в готовом виде энзим поступает в эритроциты только через 10–12 и более часов, достигая максимума к 48–72 ч в организме животных (крыса, морская свинка и т.д.) (Гусейнов и др., 1990; Гусейнов, 1993; Кулинский, Колесниченко, 2009). В тоже время хорошо известно, что экзогенный селен уже первые 0,5 ч аккумулируется в Hb, достигая максимума к 2 ч, после чего выводится из эритроцитов (Millar et al., 1972).

Цель работы – проследить влияние селена на развитие нитритиндуцированного окислительного процесса в крови крыс при 1–3 и 48 ч экспозиции.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Посредством внутрибрюшинных инъекций крысы подвергались как одиночному, так и совместному действию нитрита натрия  $\text{NaNO}_2$  (30 мг/кг) и селенита натрия  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  (0,5 мг/кг) с последующими различными сроками экспозиции в 1–3 и 48 ч.

Доза 30 мг/кг нитрита натрия была выбрана как оказывающая существенный эффект на повышение уровня MetHb в крови крыс, при том что она значительно ниже летальной (Гоженко и др., 1998; Kohn et al., 2002). Доза 0,5 мг/кг селенита натрия была использована как нетоксичная, но

обеспечивающая двукратный рост ГП активности в эритроцитах крыс уже к 48 ч экспозиции в организме животного (Millar et al., 1972; Гусейнов и др., 1990; Гусейнов, 1993; Гулиева, 2017).

Сразу после быстрой декапитации предварительно наркотизированных крыс (внутрибрюшинное введение препарата каллипсолола (ketamine hydrochloride)) собирали кровь в пробирки с гепарином.

Путем центрифугирования 350 G в течение 15 мин проводили отделение плазмы крови от эритроцитов. Для получения суспензии эритроцитов осадок эритроцитов трижды отмывали в десятикратном объеме физиологического раствора (NaCl 0,9%-ный), центрифугировали при 150 G в течение 15 мин с последующим удалением надосадочной жидкости. Гемолиз эритроцитов достигался путем разбавления эритроцитарной массы дистиллированной водой в соотношении 1:9 с последующим замораживанием, оттаиванием и центрифугированием при 10000 G.

Проведены две серии опытов с различными сроками экспозиции препаратов в организме животных в 1–3 и 48 ч соответственно. Крысы были разделены на восемь групп: одна контрольная и семь опытных. Крысы опытных групп были подвержены действию:  $\text{NaNO}_2$  с 1 ч и 48 ч экспозицией;  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  с 2 ч;  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  48 ч;  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  1 ч +  $\text{NaNO}_2$  1 ч;  $\text{NaNO}_2$  1 ч +  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  2 ч;  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  48 ч +  $\text{NaNO}_2$  1 ч;  $\text{NaNO}_2$  1 ч +  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  48 ч экспозицией соответственно.

Накопление MetHb оценивали по полуэмпирическим формулам, предложенным в (Szebeni et al., 1984). Активность глутатионпероксидазы в лизатах эритроцитов определяли по методу В.М. Моина (Моин, 1986), а каталазы – по методу М.А. Королюка (Королюк, 1988). Уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) эритроцитов оценивали по накоплению окрашенных продуктов окисления, реагирующих в цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) (Mengel, Kann, 1966).

Все измерения выполняли на спектрофотометре СФ-46.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием *t*-критерия при уровне значимости  $p = 0,05$  (Худсон, 1990).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В целях определения пиковых значений накопления MetHb в крови крыс под воздействи-

ем нитрита натрия (30 мг/кг) были проведены предварительные опыты *in vivo*. На рис. 1 представлена кинетика нитритиндуцированного накопления MetHb в суспензии эритроцитов при экспозиции животных от 1–3, 12 и 48 ч. Из него видно, что уже в первые часы после введения нитрита натрия имеет место заметное увеличение MetHb, достигающее максимума к 1 ч экспозиции (30%), которое 2 и 3 ч монотонно спадает на 20 и 30% от максимума соответственно. Экспозиция нитрита в 12 и 48 ч в организме животного не приводит к статистически значимому увеличению содержания MetHb (3–7%).

Таким образом, нитрит натрия проявляет свое окислительное воздействие на гемоглобин в первые часы введения. Введение одного селенита натрия при всех указанных сроках экспозиции не влияет на накопление MetHb. Однако селенит (со сроком экспозиции 2 ч), введенный совместно с нитритом натрия тормозит  $\text{NaNO}_2$  индуцированное накопление MetHb  $\approx$  на 35% независимо от очередности введения (см. таблицу).

Аналогично отсутствию влияния на окисление гемоглобина сам селенит не проявляет своего действия и на процесс ПОЛ. Экспозиция в 1 ч только  $\text{NaNO}_2$ , приводит к снижению ТБК-активных продуктов (30%). При комбинированном введении селенита и нитрита с кратковременной экспозицией, независимо от очередности введения, фиксируется возрастание накопления продуктов ПОЛ и приближение их к контрольным значениям относительно варианта одиночного действия нитрита. Иными словами, комбинированное с нитритом обогащение организма селе-

нитом снимает эффект нитритиндуцированного ингибирования ПОЛ (таблица).

Касательно ПОЛ, можно видеть, что при экспозиции 48 ч с нитритом происходит незначительное снижение накопления продуктов ПОЛ. А селенит при этом сроке экспозиции не оказывает эффекта на процесс ПОЛ. В опытах с комбинированным введением селенита и нитрита при длительной экспозиции имеет место снижение значений ПОЛ на 40% в комбинации  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  48 ч +  $\text{NaNO}_2$  1 ч и на 31% – при варианте  $\text{NaNO}_2$  1 ч +  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  48 ч.

Введенный селенит со сроком экспозиции 48 ч приводит к двукратному увеличению ГП-активности как при одиночном, так и при совместном с нитритом действии. Селенит натрия со сроком экспозиции в 2 ч не оказывает заметного влияния на ГП-активность. Изменения ГП-активности и каталазы при действии нитрита статистически недостоверны (имеется тенденция к уменьшению) (см. таблицу).

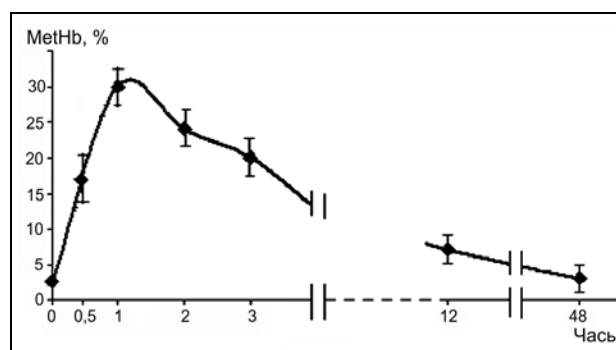


Рис. 1. Кинетика нитритиндуцированного (30 мг/кг  $\text{NaNO}_2$ ) накопления MetHb в суспензии эритроцитов крыс ( $ht = 5$ )

Таблица. Влияние совместного действия селенита и нитрита натрия на показатели MetHb, ПОЛ, ГП и каталазы в эритроцитах крыс

Группа	MetHb, %	ПОЛ, нМ/мг Нб	ГП, мкМ/мин г Нб	Каталаза, мкМ /мг Нб/мин
Контроль	2,3±0,4	11,0±2,7	456±71	8,0±1,6
$\text{NaNO}_2$ 1 ч	33,0±7,6; $p < 0,01$	7,7±1,5	360±54	7,8±1,5
$\text{Na}_2\text{SeO}_3$ 2 ч	2,2±0,5	10,0±2,8	507±82	8,4±1,7
$\text{Na}_2\text{SeO}_3$ 1 ч + $\text{NaNO}_2$ 1 ч	22,4±4,9; $p < 0,01$	8,6±1,7	375±45	7,6±1,5
$\text{NaNO}_2$ 1 ч + $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ 2 ч	23,0±4,3; $p < 0,01$	9,0±1,9	362±43	7,4±1,4
$\text{Na}_2\text{SeO}_3$ 48 ч	2,5±0,5	10,2±2,1	780±0,5; $p < 0,05$	7,8±1,6
$\text{Na}_2\text{SeO}_3$ 48 ч + $\text{NaNO}_2$ 1 ч	27,7±5,7; $p < 0,01$	6,5±1,3; $p < 0,05$	396±80	7,7±1,6
$\text{NaNO}_2$ 1 ч + $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ 48 ч	2,4±0,5	10,3±2,1	712±102; $p < 0,05$	7,9±1,6
$\text{NaNO}_2$ 48 ч	2,6±0,5	10,0±1,9	427±75	7,9±1,6

Исходя из изучения положения характерных максимумов для  $\text{HbO}_2$  и  $\text{doxHb}$ , можно увидеть, что нитрит натрия увеличивает  $\text{MetHb}$  за счет  $\text{HbO}_2$ , в то время как селенит тормозит этот эффект (рис 2).

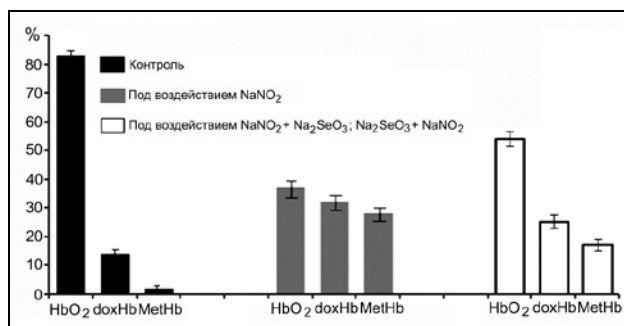


Рис. 2. Соотношение дериватов гемоглобина при действии нитрита натрия (30 мг/кг) и селенита натрия (0,5 мг/кг) с экспозицией в 1 ч

## ВЫВОДЫ

1. Нитрит натрия в малотоксичной дозе (30 мг/кг) при введении в организм крыс уже через 1 ч приводил к существенному повышению уровня накопления  $\text{MetHb}$ , которое снижалось в последующие часы и к 24–48 ч приближалось к контрольному значению. При этом  $\text{NaNO}_2$  уменьшал показатели накопления ТБК-активных продуктов в крови и в ее компонентах.
2. Одиночное введение селенита не влияло на интенсивность окислительных процессов (ПОЛ и  $\text{MetHb}$ ). Однако комбинированное введение селенита и нитрита натрия при кратковременной экспозиции приводило к определенному снижению нитритиндуцированного накопления  $\text{MetHb}$  и к возрастанию накопления продуктов ПОЛ. При долгосрочной экспозиции, селенит с экспозицией 48 ч, введенный до  $\text{NaNO}_2$  (1 ч) приводил к снижению нитритиндуцированного накопления  $\text{MetHb}$  и процесса ПОЛ, а введенный через 1 ч после нитрита селенит (48 ч) не влиял на процесс окисления гемоглобина и показатели ПОЛ. Индуцированный селенидом натрия (48 ч) рост ГП-активности не оказывал заметного влияния на накопление  $\text{MetHb}$  в сравнении с 2 ч экспозицией. Это говорит в пользу того, что здесь защита от нитритного воздействия осуществляется также самим фактом включения селена в молекулу  $\text{Hb}$ .

3. Нитрит натрия при всех сроках экспозиции ингибировал активность ГП и каталазы. Селенит натрия заметно повышал активность ГП уже к 12 ч, которая к 48 ч была максимальной. При комбинированном использовании, введенный до нитрита селенит с 48 ч экспозицией сдерживал ингибирующий эффект  $\text{NaNO}_2$  на ГП, чего не наблюдалось при кратковременной экспозиции.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

Гоженко А.И., Роговый Ю.Е., Федорук А.С. Защитное воздействие  $\alpha$ -токоферола на функцию почек и перекисное окисление липидов при острой гемической гипоксии. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 1998. № 4. С. 35–38 (Gozhenko A.I., Rogovj Ju.E., Fedoruk A.S. Zashhitnoe vozdejstvie  $\alpha$ -tokoferola na funkciju pochek i perekisnoe okislenie lipidov pri ostroj gemicheskoj gipoksii. Patologicheskaja fiziologija i jeksperimental'naja terapija. 1998. № 4. S. 35–38 [In Russ.]).

Гулиева Р.Т. Роль селена в окислительных процессах, индуцированных электрическим полем высокой напряженности и УФ-облучением в Г-6-ФДГ дефицитных эритроцитах: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Баку. 2017. 226 с. (Gulieva R.T. Rol' selena v okislitel'nyh processah, inducirovannyh jelektricheskim polem vysokoj naprja-zhennosti i UF-oblucheniem v G-6-FDG deficitnyh jeritrocitah: Avtoref. dis. ... dok. biol. nauk. Baku. 2017. 226 s. [In Russ.]).

Гусейнов Т.М. Экология селена и его функциональная роль как природного антиокислительного фактора: Автореф. дисс. ... докт. биол. наук. М. 1993. 46 с. (Gusejnov T.M. Jekologija selena i ego funkcional'naja rol' kak prirodno anti-okislitel'nogo faktora: Avtoref. diss. ... dokt. biol. nauk. M. 1993. 46 s. [In Russ.]).

Гусейнов Т.М., Насибов Э.М., Джафаров А.И. Участие селена в регуляции перекисного окисления липидов биомембран и активность глутатионпероксидазы. Биохимия. 1990. Т. 55. № 3. С. 598–605 (Gusejnov T.M., Nasibov Je.M., Dzhafarov A.I. Uchastie selena v reguljacii perekisnogo okislenija lipidov biomembran i aktivnost' glutatjonperoksidazy. Biohimija. 1990. T. 55. № 3. S. 598–605 [In Russ.]).

Королук М.А. Метод определения активности каталазы. Лабораторное дело. 1988. Т. 64. № 3. С. 16–17 (Koroljuk M.A. Metod opredelenija aktivnosti katalazy. Laboratornoe delo. 1988. T. 64. № 3. S. 16–17 [In Russ.]).

Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Система глутатиона I. Синтез, транспорт глутатионтрансферазы и глутатионпероксидазы. Биомедицинская химия. 2009. Т. 55. № 3. С. 255–277 (Kulinskij V.I., Kolesnichesko L.S. Sistema gluta-tiona I. Sintez, transport glutatjontransferazy i glutatjonperoksidazy. Bio-medichinskaja himija. 2009. T. 55. № 3. S. 255–277 [In Russ.]).

Моин В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах. Лабораторное дело. 1986. № 12. С. 724–727 (Moin V.M. Pro-stoj i specificheskij metod opredelenija aktivnosti glutatjonperoksidazy v jeritrocitah. Laboratornoe delo. 1986. № 12. S. 724–727 [In Russ.]).

Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Каюшин Л.П. Цикл окиси азота и нитритредуктазная активность гемсодержащих белков в организме млекопитающих. Вопросы медицинской химии. 1994. Т. 40. № 6. С. 31–35 (Reutov V.P., Sorokina E.G., Kajushin L.P. Voprosy medicinskoj himii. 1994. T. 40. № 6. S. 31–35 [In Russ.]).

Титов В.Ю., Петренко Ю.М. Взаимодействие нитрита скаatalазой как важный элемент его активности. 2003. Т. 68. № 6. С. 769–776 (Titov V.Ju., Petrenko Ju.M. Vzaimodejstvie nitrita s katalazoj kak vazhnyj jelement ego aktivnosti. 2003. T. 68. № 6. S. 769–776 [In Russ.]).

Титов В.Ю., Петренко Ю.М. Предполагаемый механизм развития нитрит-индуцированной метгемоглобинемии. 2005. Т. 70. № 4 (Titov V.Ju., Petrenko Ju.M. Predpolagaemuj mehanizm razvitija nitrit-inducirovannoj metgemoglobinemii. 2005. T. 70. № 4 [In Russ.]).

Худсон Д.Ж. Статистика для физиков. М.: Мир, 1990. 242 с. (Hudson D. Zh. Statistika dlja fizikov. M.: Mir, 1990. 242 s. [In Russ.])

Gladyshev V.N. Selenoproteins and selenoproteomes. In Selenium: Its molecular biology and role in human health (ed.,

Hatfield, D.L., Berry, M.J., Gladyshev, V.N.). Springer. 2006. P. 101–112.

Hanafy K.A., Martin E., Murad F. CCTeta, a novel soluble gvanvlvl cvclase-interacting protein. J. Biol. Chem. 2004, 279: 46946–46953.

Mengel C.F., Kann H.E. Effect of in vivo hyperoxid of erythrocytes, III in vivo peroxidation of erythrocytes lipid. J. Nutr. Chemical Invest. 1966, 45: 1150–1159.

Kohn M.C., Melnick R.L., Frank Y.E., Portier Ch. J. Pharmacokinetics of sodium nitrite-induced methemoglobinemia in the rat. Drug metabolism and disposition. 2002, 30(6).

Millar K.P., Sheppard A.D., Gardiner M.A. A comparison of the distribution of <sup>75</sup>Se in proteins of blood, liver, and kidney from rats differing in selenium status. N.Z.J. Agr. Res. 1972, 15(4): 756–777.

Szebeni J., Winterbourn C.C., Carrell R.W. Oxidative interactions between haemoglobin and membrane lipid. A liposome model. Biochem. J. 1984, 220(3): 685–692.

Yoshida K., Kasama K. Biotransformation of nitric oxide. Environ. Health Perspect. 1987, 73: 201–205.

## SELENIUM REGULATION OXIDATION PROCESSES INDUCED BY SODIUM NITRITE IN THE BLOOD OF RATS

**S.Y. Huseynova, T.M. Huseynov, R.T. Gulieva, F.R. Yahyaeva, M.Z. Dadashov, A.I. Jafarov**

Institute of Biophysics of Azerbaijan NAS, Baku, Azerbaijan, Z. Khalilov str. 117, Baku, AZ1141, Azerbaijan

**ABSTRACT.** The role of selenium under the influence of moderate doses of sodium nitrite on rat erythrocytes *in vivo* was studied. Rats were exposed to separate and combined action of Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> (0.5 mg/kg) and NaNO<sub>2</sub> (30 mg/kg) by intraperitoneal injections and subsequent exposures with terms 1, 2, 3 and 12, 48 h. The introduction of sodium nitrite with exposures of 1 and 3 hours in the body of rats resulted in a noticeable accumulation of MetHb and already after one hour reached ≈ 30%, which monotonically decreased by 30% from the peak level within the next 2–3 hours. By 12 and 48 hours exposure, the MetHb level was not different from the control. Reduction (by 30% of benchmark) of products reacting with thiobarbituric acid (TBA) was revealed in the erythrocyte suspension under the influence of nitrite.

The separated administration of sodium selenite did not change rate of MetHb and lipid peroxidation (LPO). In short exposure (1–3 hours), the combined administration of selenite and sodium nitrite decreased the nitrite-induced accumulation of MetHb by ≈ 35% and increased the accumulation of LPO products in comparison with version of influence only nitrite.

In this case, the sequencing of introduction did not affect the final result. During a long exposure, the previously introduced selenite (exposure of 48 h), with subsequent introduction of nitrite (1 h incubation), decreased the nitrite-induced accumulation of MetHb by ≈ 16% and LPO values by 41%, but selenite (48 h exposure) introduced in 1 h after nitrite, did not affect the accumulation of MetHb and slightly (10%) reduced LPO values. The change in the activity of antioxidant (AO) enzymes glutathione peroxidase (GPx) and catalase was also considered. The catalase activity decreased under all exposure options of sodium nitrite. Selenite during short exposure did not lead to a marked increase of the activity of GPx, and nitrite led to its inhibition. Combined with nitrite effect of selenite had little impact on the NaNO<sub>2</sub>-induced reduction of GP activity. The decrease of the nitrite-induced accumulation of MetHb, during the administration of sodium selenite in the first 1–3 hours, probably more associated with the fact of the inclusion of selenium in the Hb molecule, than additional contribution of GP, which activity is not significantly increased in the indicated period. Based on the position of the spectral maxima for HbO<sub>2</sub> and doxHb, it can be concluded that NaNO<sub>2</sub> increases MetHb through a decrease in HbO<sub>2</sub>, and selenite inhibits this effect to a certain extent.

**KEYWORDS:** sodium nitrite, sodium selenite, erythrocytes, methemoglobin, glutathione peroxidase, catalase, lipid peroxidation.