

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

ВЛИЯНИЕ ГЛУТАТИОНСОДЕРЖАЩИХ ДИНИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА НА НЕКОТОРЫЕ ПАРАМЕТРЫ МЕТАБОЛИЗМА КРОВИ КРЫС

А.К. Мартусевич^{1,2*}, А.Г. Соловьева¹, Л.К. Ковалева², А.А. Мартусевич³

¹ Университетская клиника ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

² ФГБОУ ВО «Кировская ГМА» Минздрава России, Россия

³ ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Россия

РЕЗЮМЕ. Изучено состояния энергетического обмена и активности альдегиддегидрогеназы крови крыс при внутривентральном введении динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ). Эксперимент выполнен на 60 половозрелых крысах-самцах линии Вистар, разделенных на 6 равных по численности групп. Первая группа животных была интактной (без манипуляций). Крысам, включенным в остальные группы, в течение 10 дней ежедневно вводили внутривентрально 1 мл 0,9%-ного раствора хлорида натрия. Животным третьей–шестой групп во вводимый раствор дополнительно добавляли динитрозильные комплексы железа с глутатионовыми лигандами (концентрации агента – 0,15; 0,30; 0,45 и 0,60 мМ соответственно). Установлено, что внутривентральные инъекции глутатионсодержащих ДНКЖ способствуют стимуляции энергетического метаболизма крови здоровых крыс. Это проявляется в стимуляции прямой реакции лактатдегидрогеназы на фоне угнетения обратной, а также уменьшении концентрации лактата в эритроцитах. Отмечено, что указанные сдвиги были максимальными при использовании 0,3 и 0,45 мМ ДНКЖ. Показано выраженное активирующее действие соединения на состояние альдегиддегидрогеназы эритроцитов, причем наиболее значительным эффектом обладают дозы соединения в диапазоне 0,3–0,45 мМ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: оксид азота, динитрозильные комплексы железа, энергетический метаболизм, альдегиддегидрогеназа.

ВВЕДЕНИЕ

Динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) с тиолатными лигандами были обнаружены в тканях животных и дрожжевых клетках в 1960-х гг. тремя группами исследователей в СССР, США и Великобритании (Граник, Григорьев, 2004; Vanin, 2009). Наиболее специфичным признаком данных комплексов явилось обнаружение анизотропного сигнала при ЭПР-исследовании с центром при $g=2,03$ (Vanin, 2009). Установлено, что ДНКЖ способны существовать в двух основных формах, различающихся количеством включенных в них атомов железа, – моно- и биядерной, причем последние не обладают парамагнитными свойствами (Ванин и др., 2007). Это

не позволяет регистрировать их наличие в различных системах с помощью классического подхода – метода ЭПР-анализа (Ванин, 2009).

В настоящее время показаны многочисленные положительные эффекты естественной депонированной формы оксида азота – динитрозильных комплексов железа – в отношении различных биологических систем (Тимошин и др., 2009; Hall, Garthwaite, 2009; Титов и др., 2012). Так, продемонстрирована эффективность их применения при экспериментальном эндометриозе, эректильной дисфункции и другой патологии (Ванин, 2009; Vanin, Chazov, 2011). Ранее в исследованиях *in vitro* установлен характер влияния ДНКЖ на отдельные компоненты метабо-

* Адрес для переписки:

Мартусевич Андрей Кимович

E-mail: cryst-mart@yandex.ru

лизма крови человека, включая состояние про- и антиоксидантных систем (Мартусевич и др., 2013, 2014) и т.д.

Учитывая показанные отечественными и зарубежными исследователями в системах *in vitro* антиоксидантные свойства ДНКЖ (Шумаев и др., 2006, 2008), нашим коллективом были проведены внутрибрюшинные инъекции водного раствора данного соединения при экспериментальных ожогах у крыс (Мартусевич и др., 2014). Установлено, что рассматриваемый вариант воздействия способствует существенному уменьшению интенсивности перекисного окисления липидов, практически достигающему уровня интактных крыс, что косвенно подтверждает наличие антиоксидантных эффектов ДНКЖ *in vivo*. Оценка действия соединения на антиоксидантную активность плазмы крови продемонстрировала существенное нарастание значения параметра. Это свидетельствует о том, что ДНКЖ не только способны выступать в качестве «ловушки» свободных радикалов, пополнять пул антиоксидантов биологической жидкости за счет частичного распада до относительно стабильных S-нитрозотиолов и оказывать модулирующее действие на активность антиоксидантных ферментов (Шумаев и др., 2001).

На фоне имеющихся сведений о влиянии рассматриваемого донора оксида азота на состояние про- и антиоксидантных систем организма практически не изученным является действие ДНКЖ на параметры энергетического метаболизма. В этом плане имеются лишь единичные работы, выполненные с применением синтетических доноров NO (Young et al., 1992). Также представляет интерес исследование соединения на активность альдегиддегидрогеназы – уникального фермента, обеспечивающего биодеградацию органических нитратов до монооксида азота в условиях *in vivo* (de la Lande et al., 2004; Chen Z. et al., 2005). В то же время модуляция каталитических свойств указанного фермента собственным продуктом (NO) практически не изучена (De Master et al., 1994). Нашими предшествующими исследованиями продемонстрировано, что подобные эффекты реализуются в условиях *in vitro* (Мартусевич и др., 2014), тогда как на организменном уровне они не исследованы.

Цель работы – изучение состояния энергетического обмена и активности альдегиддегидрогеназы крови крыс при внутрибрюшинном введении глутатионсодержащих ДНКЖ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент выполнен на 60 половозрелых крысах-самцах линии Вистар, разделенных на шесть равных по численности групп.

Первая группа животных была интактной (без каких-либо манипуляций). Крысам, включенным в остальные группы, в течение 10 дней ежедневно внутрибрюшинно вводили 1 мл 0,9%-ного раствора хлорида натрия. При этом животным третьей–шестой групп во вводимый раствор дополнительно добавляли динитрозильные комплексы железа с глутатионовыми лигандами (концентрации агента – 0,15; 0,30; 0,45 и 0,60 мМ соответственно) (Мартусевич и др., 2014). У животных всех групп получали образцы крови, причем у крыс первой (интактной) группы – однократно, а у представителей остальных групп – двукратно (до и сразу по завершении курса воздействий).

Динитрозильные комплексы железа с глутатионовыми лигандами синтезировали по методике Ванина (2009) и Бородуллина с соавт. (2013). Концентрация соединения в физиологическом растворе, определяемая спектрофотометрически по известной экстинкции при длинах волны 310 и 360 нм, составляла 3,1 ммоль/л.

В гемолизате отмытых эритроцитов (1:40) определяли активность лактатдегидрогеназы в прямой и обратной реакциях по методу Кочетова (1980) в нашей модификации (Соловьева, Зимин, 2012). Содержание белка устанавливали по модифицированному методу Лоури. Уровень лактата в плазме крови и эритроцитах определяли с помощью анализатора SuperGL Ambulance. В донорской крови также выявляли активность альдегиддегидрогеназы по методу Кешенгольца, Серкиной (1981).

Полученные данные были обработаны статистически в программном пакете Statistica 6.1 for Windows.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что введение животным физиологического раствора, не содержащего изучаемое соединение, не вызывает значимых сдвигов активности лактатдегидрогеназы ни в прямой, ни в обратной реакциях, как не способствует и изменению концентрации лактата в эритроцитах (рис. 1–3). Напротив, курс внутрибрюшинного введения ДНКЖ обеспечивает отчетливую динамику указанных показателей, причем она, анало-

гично влиянию вещества на окислительный метаболизм крови, является нелинейной.

В соответствии с полученными экспериментальными данными (рис. 1), активность лактатдегидрогеназы в прямой реакции при использовании наименьшей из изучаемых концентраций ДНКЖ (0,15 мМ) возрастает на 36% относительно интактных животных ($p < 0,05$), а при введении физиологического раствора, содержащего 0,3 и 0,45 мМ соединения, повышается более выражено и примерно в равной степени (на 44 и 46% по сравнению с крысами, которым не проводили никаких манипуляций; $p < 0,05$ для обеих групп). В то же время дальнейшее нарастание действующей концентрации ДНКЖ способствует

менее существенной, но значимой стимуляции каталитических свойств энзима (+31%; $p < 0,05$). Эту динамику следует рассматривать как позитивную, так как активация прямой реакции фермента способствует увеличению продукции пирувата – первичного субстрата цикла Кребса.

Также выявлено, что в отношении обратной реакции лактатдегидрогеназы эритроцитов тестируемое вещество оказывает ингибирующее действие (рис. 2). При этом все изучаемые дозы ДНКЖ оказывают сопоставимое действие на активность фермента, снижая ее на 15–22% относительно уровня интактных и инъектированных физиологическим раствором животных ($p < 0,05$ для всех случаев).

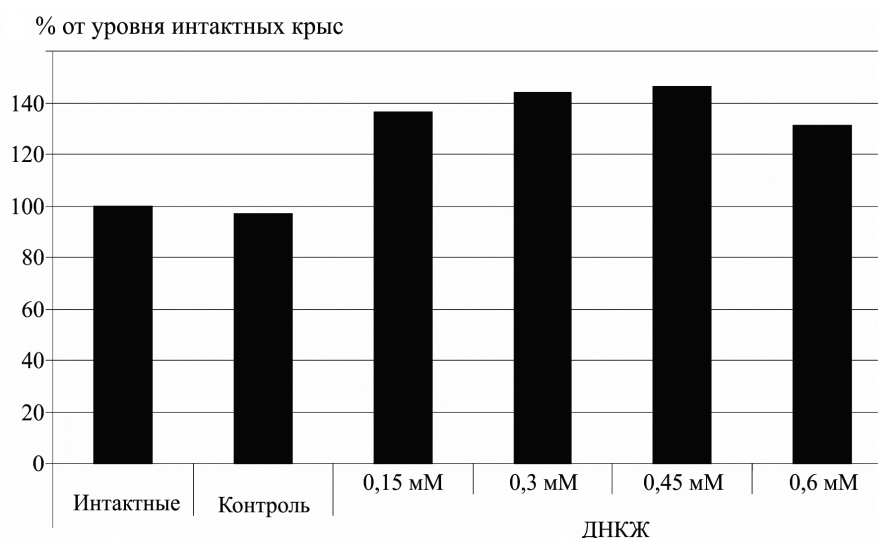


Рис. 1. Активность лактатдегидрогеназы эритроцитов в прямой реакции при введении крысам различных доз динитрозильных комплексов железа

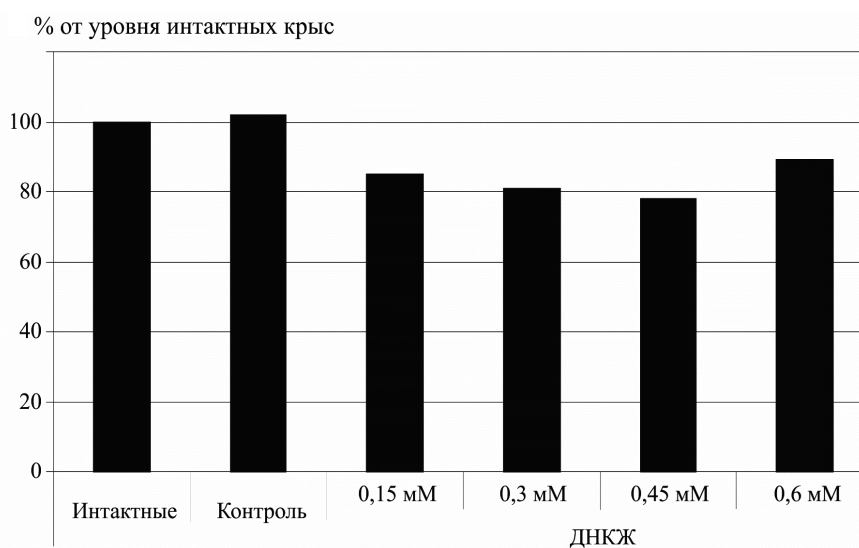


Рис. 2. Активность лактатдегидрогеназы эритроцитов в обратной реакции при введении крысам различных доз динитрозильных комплексов железа

Следует отметить, что и для обратной реакции энзима наиболее выраженное снижение имело место при концентрации соединения 0,45 мМ, а кривая дозозависимости сохраняла двухфазный характер. Пропорциональной изменениям активности лактатдегидрогеназы в прямой и обратной реакциях была динамика эритроцитарного уровня лактата. Установлено, что данный параметр, не изменяющийся у животных контрольной

группы, демонстрирует выраженную тенденцию к снижению у крыс, получавших физиологический раствор, содержащий ДНКЖ (рис. 3).

Важно подчеркнуть, что наименее существенные сдвиги уровня лактата в эритроцитах наблюдали при введении животным 0,15 и 0,6 мМ изучаемого вещества (-11 и -12% относительно интактных крыс; $p < 0,05$ для обоих случаев).

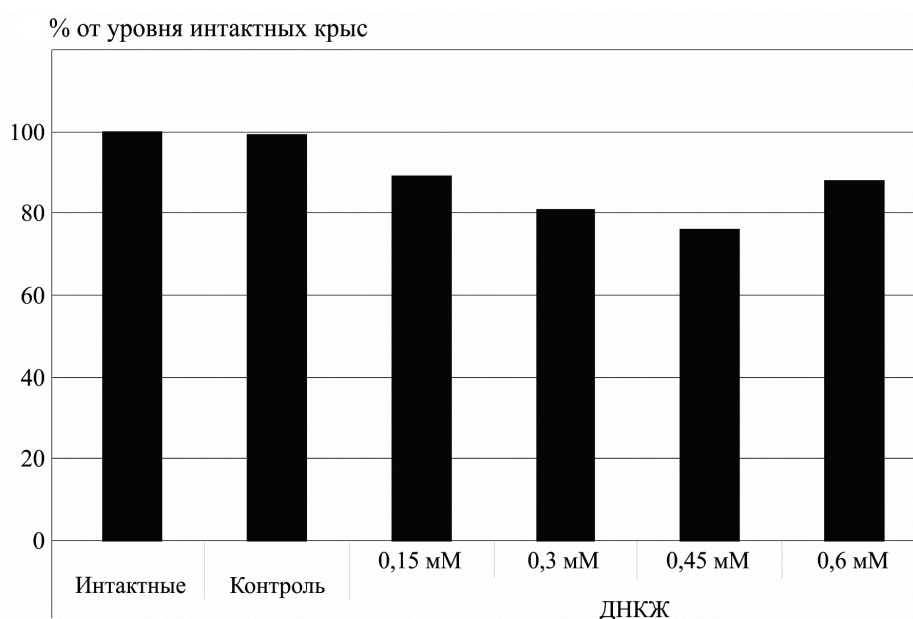


Рис. 3. Уровень лактата в эритроцитах при введении крысам различных доз динитрозильных комплексов железа

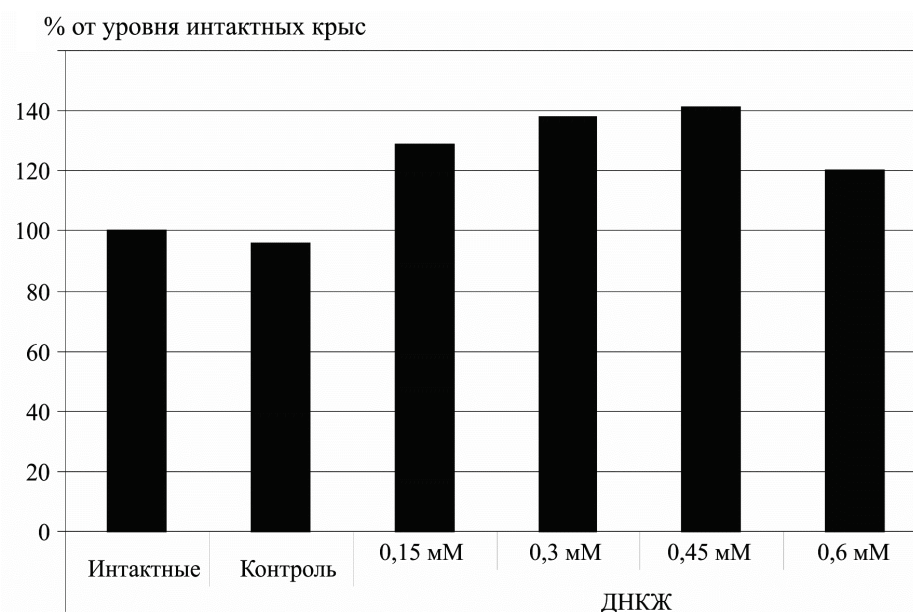


Рис. 4. Активность альдегиддегидрогеназы эритроцитов при введении крысам различных доз динитрозильных комплексов железа

Напротив, максимальное снижение значения показателя регистрировали при использовании 0,3- и 0,45-миллимолярных растворов соединения, составляющее 19 и 24% по сравнению с животными, которым не проводили манипуляций ($p < 0,05$ для обеих групп). Приведенная динамика указывает на оптимальность этих двух концентраций ДНКЖ для стимуляции промежуточной стадии энергетического метаболизма клеток крови, в частности, эритроцитов, что просматривается как по модификации каталитических свойств лактатдегидрогеназы, так и по уровню одного из ее субстратов – лактата, известного маркера гипоксических состояний клеток, тканей и организма в целом.

Также представляет интерес исследование влияния ДНКЖ на каталитическую активность альдегиддегидрогеназы эритроцитов, поскольку данный фермент, во-первых, характеризует состояние ферментной системы детоксикации крови и, во-вторых, является единственным катализатором, принимающим участие в биодеградации органических нитратов до монооксида азота, физиологической депонированной формой которого в организме и служат ДНКЖ. На основании проведенных исследований выявлено, что введение рассматриваемого соединения провоцирует умеренную активацию каталитических свойств фермента (рис. 4). Как и в отношении окислительного и энергетического метаболизма крови, наиболее значительные сдвиги параметра обнаруживаются при использовании водного раствора ДНКЖ в концентрациях 0,3 и 0,45 мМ, что проявляется в нарастании активности альдегиддегидрогеназы на 38 и 41% относительно интактных животных ($p < 0,05$ для обеих групп). При этом наименее существенный ответ фермента (+20%; $p < 0,05$) наблюдали при введении наиболее высокой концентрации соединения (0,6 мМ), что может быть обусловлено постепенным формированием избытка свободного NO в плазме крови животных и развитием субстратного ингибирования активности фермента. Об этом дополнительно свидетельствует тот факт, что применение минимальной концентрации ДНКЖ (0,15 мМ) способствовало более существенной стимуляции альдегиддегидрогеназы ($p < 0,05$) по сравнению с интактными животными и крысами, получавшими вещество в концентрации 0,6 мМ.

ВЫВОДЫ

1. Внутривнутрибрюшинные инъекции глутатионсодержащих ДНКЖ способствуют стимуляции энергетического метаболизма крови здоровых крыс. Это проявляется в стимуляции прямой реакции лактатдегидрогеназы на фоне угнетения обратной, а также уменьшении концентрации лактата в эритроцитах. Следует отметить, что, указанные сдвиги были максимальными при использовании 0,3 и 0,45 мМ ДНКЖ.
2. Показано выраженное активирующее действие соединения на состояние альдегиддегидрогеназы эритроцитов, причем наиболее значительным эффектом обладают дозы соединения в диапазоне 0,3–0,45 мМ.

ЛИТЕРАТУРА

- Ванин А.Ф., Мох В.П., Полтораков А.П., Сереженков В.А., Микоян Д.Б., Кубрина Л.Н. Вазодилаторное действие динитрозильных комплексов железа с тиолсодержащими лигандами. Журнал ГрГМУ. 2009. № 2. С. 114–118.
- Граник В.Г., Григорьев Н.Б. Оксид азота (NO). Новый путь к поиску лекарств. М.: Вузовская книга, 2004. 360 с.
- Мартусевич А.К., Перетягин С.П., Соловьева А.Г., Ванин А.Ф. Оценка некоторых молекулярных эффектов газообразного оксида азота на кровь человека *in vitro*. Биофизика. 2013. Т. 58. № 5. С. 871–875.
- Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Перетягин С.П. Влияние различных форм оксида азота на свойства альдегиддегидрогеназы эритроцитов. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2014. № 11. С. 60–65.
- Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Перетягин С.П., Давыдюк А.В. Влияние динитрозильных комплексов железа на метаболические параметры крови животных с экспериментальной термической травмой. Биофизика. 2014. Т. 59. № 6. С. 1173–1179.
- Сидоркин В.Г., Чулошникова И.А. Метод определения МДА в эритроцитах и плазме крови с помощью тиобарбитуровой кислоты. А.с. №1807410 (СССР). 1993.
- Соловьева А.Г., Зимин Ю.В. Новый способ оценки динамики метаболизма крови у больных с термической травмой. Современные технологии в медицине. 2012. № 2. С. 116–117.
- Тимошин А.А., Губкина С.А., Орлова Ц.Р., Рууге Э.К., Ванин А.Ф., Чазов Е.И. Оценка уровня оксида азота в тканях органов крыс и его изменение при длительной ингаляции воздуха с повышенным содержанием оксида азота. Доклады РАН. 2009. № 425. С. 110–113.

Титов В.Ю., Иванова А.В., Петров В.А., Серженков В.А., Микоян В.Д., Ванин А.Ф., Осипов А.Н. Может ли суммарное содержание нитрита и нитрата служить показателем интенсивности синтеза оксида азота (NO) в тканях организма? Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2012. Т. 153. № 6. С. 816–819.

Шумаев К.Б., Рууге Э.К., Ланкин В.З. с соавт. Механизм ингибирования свободнорадикального окисления β-каротина S-нитрозоглутатионом и динитрозильными комплексами железа. Доклады РАН. 2001. Т. 379. № 5. С. 702–704.

Borodilin R.R., Kubrina L.N., Shvydkiy V.O., et al. A simple protocol for the synthesis of dinitrosyl iron complexes with glutathione: EPR, optical, chromatographic and biological characterization of reaction products. Nitric Oxide Biol. Chem. 2013, 35: 110–115.

Chen Z., Foster M.W., Zhang J., et al. An essential role for mitochondrial aldehyde dehydrogenase in nitroglycerin bioactivation. PNAS. 2005, 102 (34):12159–12164.

de la Lande I.S., Stepien J.M., Philpott A.C., et al. Aldehyde dehydrogenase, nitric oxide synthase and superoxide in ex vivo nitrate tolerance in rat aorta. Eur J. Pharmacol. 2004, 496(1–3):141–149.

DeMaster E.G., Redfern B., Quast B.J., et al. Mechanism for the inhibition of aldehyde dehydrogenase by nitric oxide. Alcohol. 1997, 14(2):181–189.

Hall C.N., Garthwaite J. What is the real physiological NO concentration in vivo? Nitric Oxide Biol. Chem. 2009, 12(2):92–103.

Shumaev K.B., Kosmachevskaya O.V., Timoshin A.A. et al. Globins and other nitric oxide-reactive proteins. Dinitrosyl iron complexes bound with haemoglobin as markers of oxidative stress. Methods in Enzymology. 2008, 436:441–457.

Vanin A.F. Dinitrosyl-iron complexes with thiolate ligands: physico-chemistry, biochemistry and physiology. Nitric Oxide Biol. Chem. 2009, 21:136–149.

Vanin A.F., Chazov E.I. Prospects of designing medicines with diverse therapeutic activity on the basis of dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands. Biophysics. 2011, 56(2):268–275.

Vanin A.F., Mokh V.P., Serezhenkov V.A., Chazov E.I. Vasorelaxing activity of stable powder preparations of dinitrosyl iron complexes with cysteine or glutathione. Nitric Oxide: Biol. Chem. 2007, 16:322–330.

Young M.E., Radda G.K., Leighton B. Nitric oxide stimulates glucose transport and metabolism in rat skeletal muscle in vitro. Biochem. J. 1997, 322:223–228.

THE INFLUENCE OF GLUTATHION-CONTAINING DINITROSYL IRON COMPLEXES ON SOME PARAMETERS OF RATS' BLOOD

A.K. Martusevich^{1,2}, A.G. Soloveva¹, L.K. Kovaleva², A.A. Martusevich³

¹ Privolzhsky Research Medical University, Verhnevolzhskaya emb., 18/1, Nizhny Novgorod, 603005, Russia

² Kirov State Medical University, Karl Marx str., 112, Kirov, 610006, Russia

³ National Research Nizhny Novgorod State University named after N.I. Lobachevsky, Gagarin av., 23, Nizhny Novgorod, 603950, Russia

ABSTRACT. The aim of this work was estimation of dinitrosyl iron complexes (DNIC) influence on energy metabolism and aldehyde dehydrogenase activity of rats' erythrocytes. Our experiment was carried out on 60 male Wistar rats, divided into 6 equal groups. First group was intact (without any manipulations). Rats of other groups got a course of intraperitoneal administration of 1 ml. of saline during 10 days. For rats of third to sixth groups saline additionally contained the dinitrosyl iron complexes with glutathione ligands (concentration – 0,15; 0,30; 0,45 and 0,60 mM, respectively). It is stated that intraperitoneal infusions of DNIC stimulates energy metabolism of the blood in healthy rats. It includes in stimulation of direct reaction of lactate dehydrogenase and inhibition of reverse one. We also fixed decreasing of lactate in erythrocytes. This tendency was maximal at 0,3 and 0,45 mM of DNIC use. Similar changes were registered with aldehyde dehydrogenase.

KEYWORDS: nitric oxide, dinitrosyl iron complexes, energy metabolism, aldehyde dehydrogenase.

REFERENCES

Vanin A.F., Moh V.P., Poltorakov A.P., Serezhenkov V.A., Mikoyan D.B., Kubrina L.N. Vazodilyatatornoe dejstvie dinitrozil'nykh kompleksov zheleza s tiolsoderzhashchimi ligandami. Zhurnal GrGMU. 2009. № 2. S. 114–118.

Granik V.G., Grigor'ev N.B. Oksid azota (NO). Novyj put' k poisku lekarstv. M.: Vuzovskaya kniga, 2004. 360 s.

Martusevich A.K., Peretyagin S.P., Solov'eva A.G., Vanin A.F. Ocenka nekotorykh molekulyarnykh ehffektov gazoobraznogo oksida azota na krov' cheloveka in vitro. Biofizika. 2013. Т. 58. № 5. S. 871–875.

Martusevich A.K., Solov'eva A.G., Peretyagin S.P. Vliyanie razlichnyh form oksida azota na svojstva al'degiddegidrogenazy ehritrocytov. *Voprosy biologicheskoy, medicinskoj i farmacevticheskoy himii*. 2014. № 11. S. 60–65.

Martusevich A.K., Solov'eva A.G., Peretyagin S.P., Davydyuk A.V. Vliyanie dinitrozil'nyh kompleksov zheleza na metabolicheskie parametry krovi zhivotnyh s ehksperimental'noj termicheskoy travmoj. *Biofizika*. 2014. T. 59. № 6. S. 1173–1179.

Sidorkin V.G., CHuloshnikova I.A. Metod opredeleniya MDA v ehritrocytah i plazme krovi s pomoshch'yu tiobarbiturovoj kisloty. *A.s. №1807410 (SSSR)*. 1993.

Solov'eva A.G., Zimin YU.V. Novyj sposob ocenki dinamiki metabolizma krovi u bol'nyh s termicheskoy travmoj. *Sovremennye tekhnologii v medicine*. 2012. № 2. S. 116–117.

Timoshin A.A., Gubkina S.A., Orlova C.R., Ruuge E.H.K., Vanin A.F., CHazov E.I. Ocenka urovnya oksida azota v tkanyah organov krys i ego izmenenie pri dlitel'noj ingyalycii vozduha s povyshennym sodержaniem oksida azota. *Doklady RAN*. 2009. № 425. S. 110–113.

Titov V.YU., Ivanova A.V., Petrov V.A., Serezhenkov V.A., Mikoyan V.D., Vanin A.F., Osipov A.N. Mozhet li summarnoe sodержanie nitrita i nitrata sluzhit' pokazatelem intensivnosti sinteza oksida azota (NO) v tkanyah organizma? *Byulleten' ehksperimental'noj biologii i mediciny*. 2012. T. 153. № 6. S. 816–819.

SHumaev K.B., Ruuge E.H.K., Lankin V.Z. s soavt. Mekhanizm ingybirovaniya svobodnoradikal'nogo okisleniya β -karotina S-nitrozoglutationom i dinitrozil'nyimi kompleksami zheleza. *Doklady RAN*. 2001. T. 379. № 5. S. 702–704.

Borodilin R.R., Kubrina L.N., Shvydkiy V.O., et al. A simple protocol for the synthesis of dinitrosyl iron complexes with glutathione: EPR, optical, chromatographic and biological characterization of reaction products. *Nitric Oxide Biol. Chem.* 2013, 35: 110–115.

Chen Z., Foster M.W., Zhang J., et al. An essential role for mitochondrial aldehyde dehydrogenase in nitroglycerin bioactivation. *PNAS*. 2005, 102 (34):12159–12164.

de la Lande I.S., Stepien J.M., Philpott A.C., et al. Aldehyde dehydrogenase, nitric oxide synthase and superoxide in ex vivo nitrate tolerance in rat aorta. *Eur J. Pharmacol.* 2004, 496(1–3):141–149.

DeMaster E.G., Redfern B. Quast B.J., et al. Mechanism for the inhibition of aldehyde dehydrogenase by nitric oxide. *Alcohol*. 1997, 14(2):181–189.

Hall C.N., Garthwaite J. What is the real physiological NO concentration in vivo? *Nitric Oxide Biol. Chem.* 2009, 12(2):92–103.

Shumaev K.B., Kosmachevskaya O.V., Timoshin A.A. et al. Globins and other nitric oxide-reactive proteins. Dinitrosyl iron complexes bound with haemoglobin as markers of oxidative stress. *Methods in Enzymology*. 2008, 436:441–457.

Vanin A.F. Dinitrosyl-iron complexes with thiolate ligands: physico-chemistry, biochemistry and physiology. *Nitric Oxide Biol. Chem.* 2009, 21:136–149.

Vanin A.F., Chazov E.I. Prospects of designing medicines with diverse therapeutic activity on the basis of dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands. *Biophysics*. 2011, 56(2):268–275.

Vanin A.F., Mokh V.P., Serezhenkov V.A., Chazov E.I. Vasorelaxing activity of stable powder preparations of dinitrosyl iron complexes with cysteine or glutathione. *Nitric Oxide: Biol. Chem.* 2007, 16:322–330.

Young M.E., Radda G.K., Leighton B. Nitric oxide stimulates glucose transport and metabolism in rat skeletal muscle in vitro. *Biochem. J.* 1997, 322:223–228.