

Ендотеліальний моноцитаактивуючий фактор II відмінняє окисний стрес та неспряжений стан конститутивних NO-синтаз і викликане ними порушення кардіогемодинаміки при гіпертензії (частина II)

Н.О.Дорофєєва¹, А.В.Коцюрuba¹, Л.А.Могильницька², А.Е.Малина³, О.І.Корнелюк³, В.Ф.Сагач¹

¹Інститут фізіолології ім. О.О.Богомольця НАН України, Київ; ²Хмельницька обласна лікарня, Хмельницький; ³Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ;
E-mail: dorofeyva@mail.ru

*Метою роботи було перевірити здатність ендотеліального моноцитаактивуючого фактора II (EMAP II) впливати на вільнорадикальний стан серця і судин, на відновлення спряженого стану конститутивних ізоформ NO-синтаз (eNOS) та кардіогемодинаміку у щурів зі спонтанною гіпертензією. Встановлено, що унаслідок інгібування окисдативного і нітрозативного окисного стресу EMAP II швидко нормалізує порушений за гіпертензії конститутивний de novo синтез оксиду азоту (NO) в серці й аорті щурів завдяки відновленню спряженого стану eNOS. Це сприяло поліпшенню показників насосної функції серця (ударний об'єм збільшувався на 18,2 %, хвилинний об'єм крові - на 22 %), зниженню на 23,2 % артеріальної жорсткості, поліпшенню процесу релаксації лівого шлуночка внаслідок зниження в 4,7 раза кінцево-діастолічної жорсткості міокарда.
Ключові слова: артеріальна гіпертензія; окисний стрес; неспряження eNOS; серце; аорта; EMAP II*

ВСТУП

В частині I ми показали, що одним із механізмів розвитку порушень редокс-статусу клітин серця і судинної стінки, що зумовлюють дисфункцію цих органів за гіпертензії, може бути індукція неспряженого стану конститутивних NO-синтаз (eNOS і/чи pNOS), яка супроводжується зниженням конститутивного синтезу оксиду азоту (NO) і зростанням утворення супероксид-аніона ($\cdot\text{O}_2^-$) і його токсичних похідних – пероксинітриту (ONOO^-) та гідроксильного аніон-радикала ($\cdot\text{OH}$). В умовах окисного стресу відбувається глутатіонування SH-груп цистеїну в молекулі ендотеліальної NOS (eNOS) окисненням глутатіоном, що і спричиняє її неспряження [1-3]. Дані останніх дос-

ліджень свідчать, що неспряження eNOS може бути також результатом впливу активованих при запаленні моноцитів [4]. Саме здатність активувати ендотеліальні клітини і моноцити спонукала авторів, які вперше описали ендотеліальний моноцитаактивуючий фактор II (EMAP II), назвати його таким чином [5]. Крім того, було показано, що він відіграє важливу роль у розвитку запалення, апоптозу та ангіогенезу [6], а також здатен збільшувати проникність кровотканинного бар'єра [7]. Ці властивості EMAP II спонукали дослідників до вивчення його як можливого протипухлинного агента [8] чи застосування його блокади для активації ангіогенезу та покращення функції серця при експериментальному інфаркті міокарда [9]. З

© Н.О.Дорофєєва, А.В.Коцюрuba, Л.А.Могильницька, А.Е.Малина, О.І.Корнелюк, В.Ф.Сагач

іншого боку, була показана здатність ЕМАР II стимулювати експресію індуцибельної NOS (iNOS) та збільшувати ендотелій- та NO-залежну дилатацію легеневої артерії [10], тобто збільшувати синтез NO, з нашого погляду, ймовірно, внаслідок здатності відновлювати спряжений стан неспряженої cNOS.

Мета нашої роботи – перевірити здатність ЕМАР II впливати на вільнорадикальний стан серця і судин, на відновлення спряженого стану cNOS та кардіогемодинаміки у щурів зі спонтанною гіпертензією.

МЕТОДИКА

Дослідження проводили на 6-місячних щурах-самцях лінії Вістар та зі спонтанною гіпертензією. Всі експериментальні процедури виконано згідно з Європейською Директивою Ради Громад від 24 листопада 1986р. (86/609/ЕЕС). Щурів наркотизували за допомогою уретану (1,25 г/кг, внутрішньоочередово). ЕМАР II вводили одночасно (внутрішньовенно по 10 мкл розчину, що містив 0,85 мкг цього фактора в 0,5 мл 0,9%-го NaCl). Застосовували стабілізований 1,5%-м декстраном-70 ліофілізований рекомбінантний білок ЕМАР II людини (169 амінокислотних залишків, молекулярна маса 18535 Да), отриманий у відділі білкової інженерії та біоінформатики Інституту молекулярної біології і генетики НАН України (керівник - член-кор. НАН України А.І. Корнелюк) методом бактеріальної експресії. Після введення ЕМАР II негайно визначали фізіологічні показники, а через 30 хв тварин декапітували, відбирали серце та аорту і на холоді готували їх гомогенати для визначення біохімічних показників. Фізіологічні і біохімічні методи дослідження проводили як описано в частині I цієї роботи. Отримані результати представлено у відсотках відносно контролю, значення в якому приймали за 100 %.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Введення ЕМАР II сприяло поліпшенню показників насосної функції серця у щурів зі спонтанною гіпертензією: ударний об'єм збільшився на 18,2 %, хвилиний об'єм крові - на 22 % (рис. 1,а). При цьому кінцево-сistolічний і кінцево-діастолічний тиск у них достовірно не змінювалися, проте на 23,2 % знижувалась артеріальна жорсткість (див. рис. 1,б), що може бути причиною погіршення скорочувальної активності міокарда і свідчить про зниження периферичного опору судин. Так, максимальна швидкість наростання тиску лівого шлуночка (dP/dt max) після введення ЕМАР II збільшилася на 14,8 %, у той час як максимальна і кінцево-сistolічна жорсткість міокарда, які були підвищені у щурів зі спонтанною гіпертензією у 2,2 і 1,9 раза відповідно порівняно з показниками контрольної групи, зменшилися в 1,9 і 2,2 раза відповідно і, таким чином, після введення ЕМАР II ці показники достовірно не відрізнялися від контролю.

Після введення ЕМАР II у щурів зі спонтанною гіпертензією в 4,7 раза знижувалась кінцево-діастолічна жорсткість міокарда, яка визначає наповнення шлуночка в період пізньої діастолі, що може вказувати на поліпшення релаксації серця (див. рис. 1,б). Максимальна швидкість зниження тиску і константа активного розслаблення при цьому достовірно не змінювалися.

Таким чином, при гіпертензії введення ЕМАР II сприяло зниженню артеріальної, кінцево-сistolічної і максимальної жорсткості міокарда, збільшенню показників насосної функції серця, поліпшенню процесу релаксації лівого шлуночка унаслідок зниження в 4,7 раза кінцево-діастолічної жорсткості міокарда.

Як нами показано в частині I цієї роботи, одним із механізмів розвитку порушень редокс-статусу клітин серця і судинної стінки, що зумовлюють дисфункцію цих

органів за гіпертензії, може бути неспряжен-
ня cNOS, яке супроводжується зниженням
конститутивного *de novo* синтезу NO і
зростанням утворення $\cdot\text{O}_2^-$ і його токсич-
них похідних ONOO⁻ та $\cdot\text{OH}$. Для запобі-
гання неспряженості cNOS, яке має таке
велике значення в розвитку кардіальної і
ендотеліальної дисфункції за гіпертензії,
варто насамперед усунути його першопри-
чину – оксидативний і нітрозативний стрес.
Щодо оксидативного стресу, превалює дум-
ка, що ключовим ініціатором реверсного
(reversible) неспряження eNOS і утворення
нею в цьому стані $\cdot\text{O}_2^-$, який відіграє не лише
токсичну, але і регуляторну роль у серцево-
судинній системі, є активована ангіотензином
II НАДФН-оксидаза. Генерований нею $\cdot\text{O}_2^-$
окиснює глутатіон, а вже останній здійснює
реверсне глутаніонування димерної молекули
eNOS за залишками цистеїну [11, 12]. Отже,
фізіологічна роль механізму неспряження
(uncoupling) cNOS (як eNOS, так і/чи nNOS)

на наш погляд, полягає в тому, що цей
процес – один із механізмів адаптації органів
серцево-судинної системи, а саме механізм
швидкого реагування на потребу підвищення
генерації $\cdot\text{O}_2^-$ задля регуляції багатьох фі-
зіологічних процесів [13]. Дійсно, інші
джерела $\cdot\text{O}_2^-$, як то мітохондрії, нуклеотидні
ксантин- і НАДФН-оксидази, чи ліпідні
цикло- та ліпооксигенази, для своєї активації
потребують спеціальних (пато)фізіологічних
умов. Так, для активації мітохондріального
джерела $\cdot\text{O}_2^-$, треба значно збільшити ути-
лізацію кисню для потреб синтезу АТФ і,
навпаки, для активації ксантинооксидази
– запроваджувати гіпоксичний стан [14].
Активация НАДФН-оксидази потребує під-
вищення вмісту ключового її активатора
ангіотензину II і активації протеїнкінази С.
Не менших «жертв» потребує і активация
ліпідного генератора, як мінімум, підвищен-
ня внутрішньоклітинного кальцію, активації
фосфоліпази A₂ і гідролізу мембранних

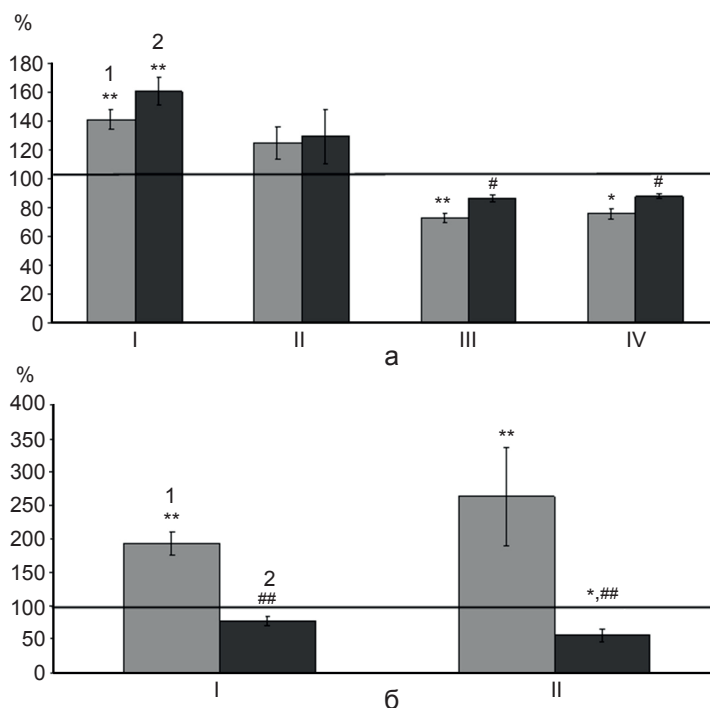


Рис.1. Відносні значення показників кардіогемодинаміки (а) та жорсткості міокарда (б) у щурів зі спонтанною гіпертензією перед (1) та після короткочасної дії ЕМАР II (2): на а: I - кінцево-систолічний тиск, II - кінцево-діастолічний тиск, III - ударний об'єм, IV - хвилинний об'єм крові; на б: I - артеріальна жорсткість міокарда, II - кінцево-діастолічна жорсткість міокарда. *P<0,05, **P<0,01 відносно контролю (100 %), #P<0,05, ##P<0,01 відносно значень за спонтанної гіпертензії.

фосфоліпідів для звільнення арахідонової кислоти. Водночас видаються найбільш оптимальними для швидкого підвищення генерації $\cdot\text{O}_2^-$ саме швидкі механізми реверсного неспряження cNOS унаслідок регуляції різними сигнальними каскадами процесів фосфорилювання, нітрозилування чи глутатіонування певних амінокислотних залишків у молекулах eNOS і/чи pNOS, які регулюють конститутивний кальційзалежний *de novo* синтез NO (за спряженого (coupling) стану) чи $\cdot\text{O}_2^-$ (у неспряженому (uncoupling) стані) цими ферментами. До речі, НАДФН- і пероксинітритзалежний механізм S-глутатіонування давно відомі як регулятори різних процесів у серцево-судинній системі [15–17]. Для адаптації цей механізм одночасної модуляції утворення двох ключових регуляторів – NO (зниження при неспряженні cNOS) і $\cdot\text{O}_2^-$ (підвищення при неспряженні cNOS) може бути дуже важливим для адаптації

органів серцево-судинної системи до різних (пато)фізіологічних станів. Аналогічно реверсному спряженому (*de novo* синтез NO)/ неспряженому (генерація $\cdot\text{O}_2^-$) стану cNOS, працює ще один потужний генератор як синтезу NO так і $\cdot\text{O}_2^-$ – реверсний фермент ксантинооксидаза, він же одночасно нітрат- і нітритредуктаза. Давно відкритий цей феномен ксантинооксидази останнім часом став широко досліджуватися саме в цьому аспекті [18-21]. Неважко припустити, що і реверсний процес неспряження cNOS, за якого також дуже швидко можна підвищити вміст NO і, навпаки, зменшити утворення $\cdot\text{O}_2^-$, теж має бути доступним для багатьох фізіологічних біорегуляторів. Одним із них, можливо, є ЕМАР II, що ми і перевіряли в цій роботі.

Короткочасне введення ЕМАР II повністю нормалізувало швидкість генерації $\cdot\text{O}_2^-$ в серці та аорті щурів зі спонтанною гіпертензією, причому якщо в серці (рис. 2,а) механізм дії

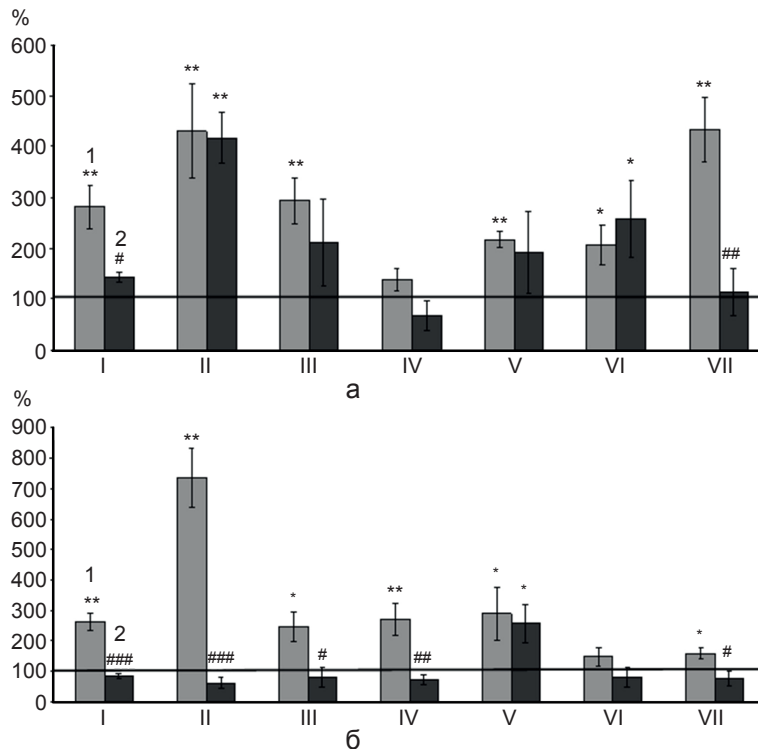


Рис.2. Відносні значення показників окисативного стресу в серці (а) й аорті (б) щурів зі спонтанною гіпертензією перед (1) та після короткочасної дії ЕМАР II (2): I – швидкість генерації $\cdot\text{O}_2^-$, II – швидкість генерації $\cdot\text{OH}$, III – вміст H_2O_2 , IV – вміст тромбоксану B_2 , V – вміст пептидолейкотрієну C_4 , VI – вміст сечової кислоти, VII – вміст дієнових кон'югатів. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ відносно контролю (100%); # $P < 0,05$, ## $P < 0,01$ відносно значень за спонтанної гіпертензії

фактора невідомий (не зреагували ні обидві ліпідні оксигенази, ні ксантинооксидаза), то в аорті (див. рис. 2,б) на короточасну дію ЕМАР II відреагувала швидким зниженням активності циклооксигеназа (про що свідчить зниження пулів тромбоксану B_2) і ксантинооксидаза (про що свідчить зниження пулів сечової кислоти). Генерація токсичного $\bullet\text{OH}$ -радикала в серці цих щурів залишалася за дії фактора на високому рівні. В умовах зниження генерації $\bullet\text{O}_2^-$ це свідчить, що токсичний $\bullet\text{OH}$ -радикал за гіпертензії в серці утворюється в основному внаслідок вільнорадикального розпаду пероксинітритру, а не в класичній реакції Фентона із H_2O_2 за наявності Fe^{2+} . В аорті щурів зі спонтанною гіпертензією (див. рис. 2,б) швидкість генерації $\bullet\text{OH}$ за дії фактора швидко знижувалася, як і пули H_2O_2 . Це свідчить про те, що за гіпертензії

в аорті джерелом токсичного $\bullet\text{OH}$ може бути якраз класична реакція Фентона, яка потребує не лише наявності Fe^{2+} , але і активності супероксиддисмутази для утворення H_2O_2 . Швидке зниження пулів останнього в аорті за дії фактора (див. рис. 2,б) і відсутність такого в серці (див. рис. 2,а) підтверджує це припущення.

Як показано в частині I нашої роботи, важливим механізмом неспряження cNOS є розвиток нітрозативного стресу унаслідок активації надлишкового синтезу оксиду азоту трьома можливими шляхами – за активації iNOS, реутилізації нітрат- і нітрит-аніонів відповідними редуктазами або при декомпозиції (звільненні NO) нітрозотіолів. Причиною інгібування нітрозативного стресу за короточасної дії ЕМАР II в серці щурів зі спонтанною гіпертензією може бути зафіксоване нами (рис.3,а) інгібування декомпозиції нітрозоглутатіону, про що

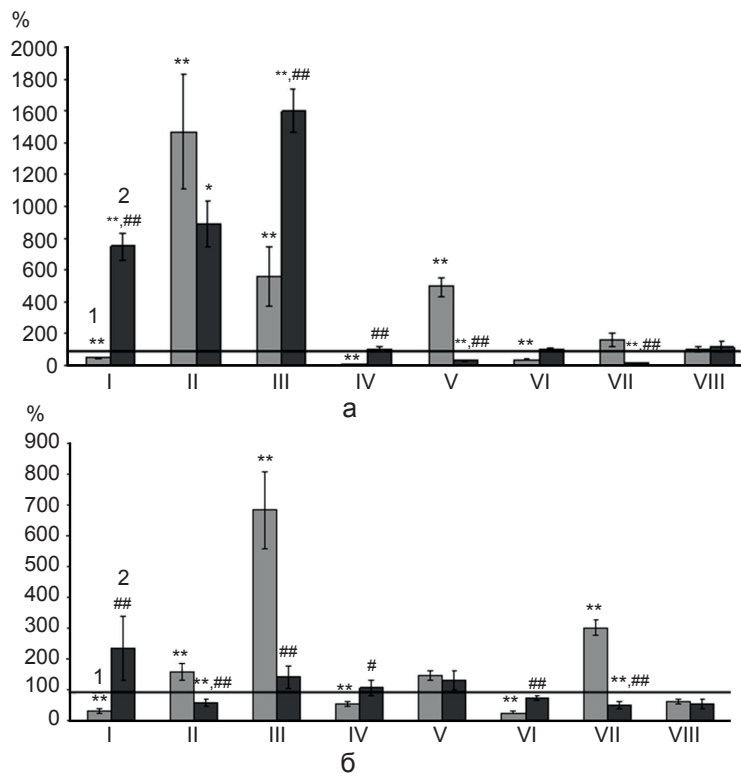


Рис.3. Відносні значення показників нітрозативного стресу в серці (а) й аорті (б) щурів зі спонтанною гіпертензією перед (1) та після короточасної дії ЕМАР II (2): I – активність cNOS, II – активність iNOS, III – нітратредуктазна активність, IV – вміст NO_2^- , V – вміст NO_3^- , VI – вміст низькомолекулярних нітрозотіолів, VII – вміст високомолекулярних нітрозотіолів, VIII – вміст H_2S . * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ відносно контролю (100 %); # $P < 0,05$, ## $P < 0,01$ відносно значень за спонтанної гіпертензії

свідчить підвищення пулів НМНТ. Водночас в аорті (див. рис.3,б) спостерігалось інгібування утворення надлишкового NO de novo (про що свідчить зниження активності iNOS), і завдяки реутилізації (знижується активність нітратредуктази), але не внаслідок декомпозиції нітрозоглутатіону (пули НМНТ підвищуються). Одночасне зниження і генерації $\cdot\text{O}_2^-$ (див. рис.2), і надлишкового NO (див. рис.3) свідчить про швидке інгібування за короточасної дії ЕМАР II і оксидативного, і нітрозативного компонентів окисного стресу в серці й аорті щурів зі спонтанною гіпертензією. При цьому створюються умови для швидкого відновлення конститутивного de novo синтезу NO (на це вказує зростання активності cNOS і пулів нітрит-аніона (див. рис.3) внаслідок відміни неспряження cNOS (див. рис.4) Це в свою чергу нормалізує значення біохімічного індексу функції (БІФ), який, як і індекс спряження cNOS (рис.4) корелює із фізіологічними показниками (див. рис.1), які свідчать про розвиток кардіальної і ендотеліальної дисфункції в цих органах серцево-судинної системи щурів зі спонтанною гіпертензією. Отже, ЕМАР II виявився потужним «відновлювачем» спряженого стану cNOS і, як наслідок, короточасним «ліквідатором» кардіальної й ендотеліальної дисфункції за гіпертензії.

На основі отриманих результатів можна припустити біохімічний механізм швидкої

ліквідації неспряження cNOS за дії ЕМАР II. Він полягає у підвищенні нітрозилування глутатіону (на що вказує підвищення пулів НМНТ в серці і аорті за дії фактора). Позаяк одним із механізмів неспряження є глутатіонування SH-груп цистеїну в молекулі cNOS окисненим глутатіоном (GSSG), утворення нітрозоглутатіону (GSNO) унеможливує утворення GSSG, а, отже, і глутатіонування молекули cNOS, тим самим унеможливаючи її неспряжений стан. Додатково на можливість такого механізму регуляції співвідношення спряженого/неспряженого стану cNOS внаслідок зміни співвідношення відновлений/окиснений глутатіон (GSH/GSSG), або нітрозильований/окиснений глутатіон (GSNO/GSSG), вказує виняткова стабільність пулів сірководню (H_2S) у всіх досліджених групах щурів. Пули H_2S , який є регулятором системи NO [22] в серці і в аорті (див. рис.3а,б) залишалися стабільними як за превалювання неспряженого (переважаюча генерація $\cdot\text{O}_2^-$) стану cNOS за гіпертензії, так і за превалювання спряженого (переважаючий синтез NO) стану в контролі й швидкого повернення до цього стану за дії ЕМАР II у щурів зі спонтанною гіпертензією. Це можна пояснити тим, що у всіх випадках важливим є підтримання необхідних високих концентрацій глутатіону в цих органах серцево-судинної системи, який синтезується de novo з використанням

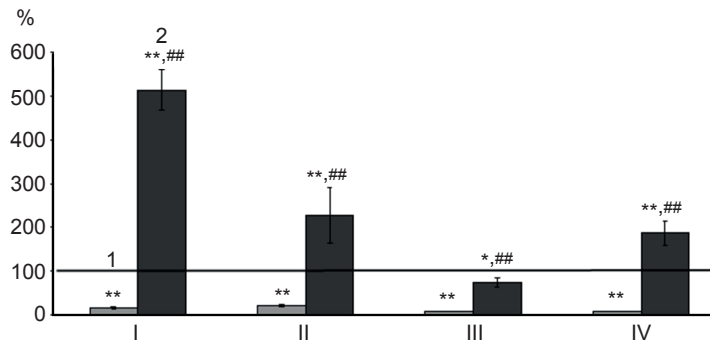


Рис. 4. Відносні значення індексу спряження cNOS та біохімічного індексу функції в серці й аорті щурів зі спонтанною гіпертензією перед (1) та після короточасної дії ЕМАР II (2): I – індекс спряження в серці, II – індекс спряження в аорті, III – біохімічний індекс функції в серці, IV – біохімічний індекс функції в аорті. **P<0,01, *P<0,05 відносно контролю (100 %); ##P<0,01 відносно значень за спонтанної гіпертензії

L- цистеїну, тобто в конкуренції за нього із двома індукційними ферментами *de novo* синтезу H₂S – цистатіонінсинтазою і цистатіонінліазою. Факт, що пули H₂S не змінювалися ні за гіпертензії, ні за дії фактора, вказує на те, що вони могли бути за цих станів мінімальними задля максимальної утилізації L-цистеїну для синтезу *de novo* відновленого глутатіону.

Для відновлення спряженого стану eNOS, тобто відновлення конститутивного *de novo* синтезу NO, використовували безліч речовин [23], але завжди досягали лише короткочасного ефекту. Продовжити цей ефект могли б, на наш погляд, речовини, здатні одночасно пригнічувати активність аргінази (що забезпечувало б збереження L-аргініну для синтезу NO) й інгібувати деградацію гуанозинтрифосфату (що забезпечувало б збереження субстрату для синтезу важливого кофактора спряженого стану cNOS тетрагідробіоптерину (BH₄)) [24]. Можливими довготривалими «ліквідаторами» неспряження cNOS можуть бути інгібітори індукційного синтезу H₂S, наприклад, пропаргілгліцин [25].

ВИСНОВКИ

1. У серці й аорті щурів зі спонтанною гіпертензією ендотеліальний моноцит-активуючий фактор відміняє оксидативний і нітрозативний стрес в основному внаслідок зниження генерації супероксиду неспряженою cNOS та надлишкового синтезу оксиду азоту iNOS.

2. Відміна окисного стресу за дії фактора швидко відновлює конститутивний *de novo* синтез оксиду азоту спряженою cNOS в серці й аорті щурів зі спонтанною гіпертензією.

3. Відновлення конститутивного синтезу оксиду азоту швидко нормалізує фізіологічні показники кардіогемодинаміки у щурів зі спонтанною гіпертензією: знижується артеріальна, кінцево-систолічна і максимальна жорсткість міокарда, збільшу-

ються показники насосної функції серця, покращується процес релаксації лівого шлуночка внаслідок зниження кінцево-діастолічної жорсткості міокарда.

**Н.А.Дорофеева, А.В.Коцюруба, Л.А.Могиль-
ницкая, А.Э.Малина, А.И.Корнелюк, В.Ф.Сагач**

ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЙ МОНОЦИТАКТИВИРУЮЩИЙ ФАКТОР II ОТМЕНЯЕТ ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС, НЕСОПРЯЖЕНИЕ КОНСТИТУТИВНЫХ NO-СИНТАЗ И ИНДУЦИРОВАННОЕ ИМИ НАРУШЕНИЕ КАРДИОГЕМОДИНАМИКИ ПРИ ГИПЕРТЕНЗИИ (ЧАСТЬ II)

Целью данной работы было проверить способность эндотелиального моноцитактивирующего фактора II (EMAP II) влиять на свободнорадикальное состояние сердца и сосудов, на восстановление сопряжения конститутивных NO-синтаз и кардиогемодинамики у крыс со спонтанной гипертонией. Установлено, что вследствие ингибирования оксидативного и нитрозативного стресса EMAP II быстро восстанавливает нарушенный при гипертонии конститутивный *de novo* синтез NO за счет восстановления сопряжения cNOS. Последнее быстро отменяло кардиальную и эндотелиальную дисфункцию у крыс со спонтанной гипертонией. Это способствовало улучшению показателей насосной функции сердца (ударный объем увеличился на 18,2 %, минутный объем крови - на 22 %), снижению на 23,2 % артериальной жесткости, улучшению процесса релаксации левого желудочка за счет уменьшения в 4,7 раза конечно-диастолической жесткости миокарда.

Ключевые слова: артериальная гипертония; оксидативный и нитрозативный окислительный стресс; сопряжение cNOS; сердце; аорта; EMAP II.

**N.A.Dorofeyeva, A.V.Kotsuruba,
L.A.Mogilnitskaya, A.E.Malyina, A.I.Kornelyuk,
V.F.Sagach**

ENDOTHELIAL MONOCYTEACTIVATING FACTOR II CANCELS OXIDATIVE STRESS, CONSTITUTIVE NOS UNCOUPLING AND INDUCED VIOLATIONS OF CARDIAC HE- MODYNAMICS IN HYPERTENSION (PART II)

The purpose of this study was to investigate the effect of EMAP II on free radical state of the heart and blood vessels, to restore cNOS coupling and cardiac hemodynamics in spontaneously hypertensive rats. It was found that, due to the combined inhibition of oxidative and nitrosative stress, EMAP II quickly restores impaired in hypertension constitutive *de novo* synthe-

sis of NO by restoring cNOS coupling. Restoration by EMAP II of constitutive de novo synthesis NO abolished cardiac and endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats. In hypertension, the introduction of EMAP II helped to improve the performance of the pumping function of the heart (stroke volume increased by 18.2 %, cardiac output – 22 %), an arterial stiffness decreased by 23.2 %, process of relaxation of the left ventricle improved, due to decreased in 4,7 times myocardial end-diastolic stiffness.

Key words: hypertension; oxidative and nitrosative stress; cNOS uncoupling; heart; aorta; EMAP II.

O.O. Bogomoletz Institute of Physiology, NAS of Ukraine, Kyiv

REFERENCES

- Hill BG, Bhatnagar A. Protein S-glutathiolation: redox-sensitive regulation of protein function. *J Mol Cell Cardiol.* 2012;52(3):559-67.
- Chen C-A, Wang T-Y, Varadharaj S, Reyes L.R, Hemann C, et al. S-glutathionylation uncouples eNOS and regulates its cellular and vascular function. *Nature.* 2010;468(7327):1115-4.
- Zweier JL, Chen CA, Druhan LJ. S-glutathionylation reshapes our understanding of endothelial nitric oxide synthase uncoupling and nitric oxide/reactive oxygen species-mediated signaling. *Antioxid Redox Signal.* 2011;14:1769-75.
- Kossmann S, Hu H, Steven S, Schönfelder T, Fraccarollo D, Mikhed Y, et al. Inflammatory Monocytes Determine Endothelial Nitric-oxide Synthase Uncoupling and Nitro-oxidative Stress Induced by Angiotensin II. *J Biol Chem.* 2014;289(40):27540-50.
- Kao J, Ryan J, Brett G, Chen J, Shen H, Fan Y, et al. Endothelial monocyte activating polypeptide II. A novel tumor-derived polypeptide that activates host-response mechanisms. *J Biol Chem.* 1992;267(28):20239-47.
- Berger AC, Alexander HR, Tang G, Wu PS, Hewitt SM, Turner E, et al. Endothelial monocyte activating polypeptide II induces endothelial cell apoptosis and may inhibit tumor angiogenesis. *Microvasc Res.* 2000;60(1):70-80.
- Li Z, Liu Y, Xue Y, Liu L, Xie H. Mechanisms for endothelial monocyte-activating polypeptide-II-induced opening of the blood-tumor barrier. *J Mol Neurosci.* 2012;47(2):408-17.
- Reznikov O, Chaikovsk' ka L, Poliakova L, Sachyns' ka O. Effects of cytokine-like polypeptide EMAP II and flutamide on the testosterone-stimulated prostate of castrated rats. *Fiziol. Z.* 1994. 2011;57(4):1-12 [Ukrainian].
- Yuan C, Yan L, Solanki P, Vatner SF, Vatner DE, Schwarz MA. Blockade of EMAP II protects cardiac function after chronic myocardial infarction by inducing angiogenesis. *J Mol Cell Cardiol.* 2015;79:224-31.
- Tsai BM, Wang M, Clauss M, Sun P, Meldrum DR. Endothelial monocyte-activating polypeptide II causes NOS-dependent pulmonary artery vasodilation: a novel effect for a proinflammatory cytokine. *Am J Physiol-Regul Integr Comp Physiol.* 2004;287(4):R767-71.
- Crabtree MJ, Brixey R, Batchelor H, Hale AB, Channon KM. Integrated redox sensor and effector functions for tetrahydrobiopterin- and glutathionylation-dependent endothelial nitric-oxide synthase uncoupling. *J Biol Chem.* 2013;288(1):561-9.
- Galougahi KK, Liu C-C, Gentile C, Kok C, Nunez A, et al. Glutathionylation Mediates Angiotensin II-Induced eNOS Uncoupling, Amplifying NADPH Oxidase-Dependent Endothelial Dysfunction. *J Am Heart Assoc.* 2014;3(1):1-11.
- Hill BG, Bhatnagar A. Protein S-glutathiolation: redox-sensitive regulation of protein function. *J Mol Cell Cardiol.* 2012;52(3):559-67.
- Millar TM, Stevens CR, Benjamin N, Eisenthal R, Harrison R, Blake DR. Xanthine oxidoreductase catalyses the reduction of nitrates and nitrite to nitric oxide under hypoxic conditions. *FEBS Lett.* 1998;427(2):225-8.
- Sanchez G, Pedrozo Z, Domenech RJ, Hidalgo C, Donoso P. Tachycardia increases NADPH oxidase activity and RyR2 S-glutathionylation in ventricular muscle. *J Mol Cell Cardiol.* 2005;39(6):982-91.
- Liu CC, Karimi Galougahi K, Weisbrod RM, Hansen T, Ravaie R, et al. Oxidative inhibition of the vascular Na⁺-K⁺ pump via NADPH oxidase-dependent b1 subunit glutathionylation: implications for angiotensin II-induced vascular dysfunction. *Free Radic Biol Med.* 2013;65(3):563-72.
- Adachi T, Weisbrod RM, Pimentel DR, Ying J, Sharov VS, et al. S-glutathiolation by peroxynitrite activates SERCA during arterial relaxation by nitric oxide. *Nat Med.* 2004;10(11):1200-7.
- Weidert ER, Schoenborn SO, Cantu-Medellin N, Choughule KV, Jones JP, Kelley EE. Inhibition of xanthine oxidase by the aldehyde oxidase inhibitor raloxifene: implications for identifying molybdopterin nitrite reductases. *Nitric Oxide.* 2014;37:41-5.
- Kim-Shapiro DB, Gladwin MT. Mechanisms of nitrite bioactivation. *Nitric Oxide.* 2014;38:58-68.
- Rassaf T, Ferdinandy P, Schulz R. Nitrite in organ protection. *Br J Pharmacol.* 2014 ;171(1):1-11.
- Omar SA, Webb AJ. Nitrite reduction and cardiovascular protection. *J Mol Cell Cardiol.* 2014;73:57-69.
- Cortese-Krott MM, Fernandez BO, Kelm M, Butler AR, Feelisch M. On the chemical biology of the nitrite/sulfide interaction. *Nitric Oxide.* 2015;46:14-24.
- Li H, Forstermann U. Pharmacological prevention of eNOS uncoupling. *Curr Pharm Des.* 2014;20(22):3595-606.
- Schulz E1, Jansen T, Wenzel P, Daiber A, Münzel T. Nitric oxide, tetrahydrobiopterin, oxidative stress, and endothelial dysfunction in hypertension. *Antioxid Redox Signal.* 2008;10(6):1115-26.
- Beltowski J. Hydrogen sulfide in pharmacology and medicine - An update. *Pharmacol. Rep.* 2015;67(3):647-58.

Матеріал надійшов до редакції 10.04.2015