

# Неспряження конститутивних NO-синтаз викликає окисний стрес та порушення кардіогемодинаміки при гіпертензії (частина I)

А.В. Коцюруба, Н.О. Дорофєєва, В.Ф. Сагач

Інститут фізіолології ім. О.О.Богомольця НАН України, Київ; E-mail: [toliko49@ukr.net](mailto:toliko49@ukr.net)

*Порівняли показники кардіогемодинаміки й окисдативного та нітрозативного стресу в серці й аорті у щурів лінії Вістар і у щурів зі спонтанною гіпертензією. На основі експериментально визначених показників розрахували індекс спряження конститутивних NO-синтаз (cNOS) і біохімічний індекс функції в цих органах серцево-судинної системи. Як у серці, так і, особливо, в аорті щурів зі спонтанною гіпертензією розвивається окисдативний і нітрозативний окисний стрес при яких значно знижуються обидва індекси і погіршуються показники кардіогемодинаміки. Встановили, що у щурів зі спонтанною гіпертензією порівняно з контролем серце працює менш ефективно із більшим споживанням кисню. При цьому виявлено збільшення жорсткості артеріальних судин, вірогідне зниження показників насосної функції, зменшення ефективності механізму Франка–Старлінга і порушення процесу релаксації серця. Зроблено припущення про існування в органах серцево-судинної системи щурів зі спонтанною гіпертензією замкнутого кола взаємодіяння окисного стресу і роз'єднання cNOS унаслідок надлишкової генерації супероксиду, яке може бути причиною погіршення показників кардіогемодинаміки.*

*Ключові слова: серце; аорта; неспряження cNOS; гіпертензія; окисний стрес.*

## ВСТУП

Незважаючи на багаторічні інтенсивні дослідження, артеріальна гіпертензія та її ускладнення залишаються серед головних причин смертності в усьому світі. Останніми роками з'явилося достатньо фактів, що свідчать про центральну роль у розвитку артеріальної гіпертензії як окисдативного, так і нітрозативного стресу [1-4]. Останній викликається значним одночасним підвищенням продукції нетоксичних супероксидного радикала ( $\cdot\text{O}_2^-$ ) і оксиду азоту (NO), кожний з яких зумовлює утворення токсичних гідроксильного аніон-радикала ( $\cdot\text{OH}$ ) і пероксинітритру ( $\text{ONOO}^-$ ), та суттєвим зменшенням утворення NO ендотеліальною NO-синтазою (eNOS) [5,6]. Саме синтезований цим ізоферментом NO є основним регулятором тонуусу та інших процесів у су-

динній стінці. Крім регуляторного, в серці й аорті може утворюватися надлишковий NO, який викликає нітрозативний стрес. Він може утворюватися за допомогою de novo синтезу індукцйбельною NO-синтазою (iNOS), внаслідок реутилізації стабільних метаболітів NO нітрат- і нітрит-аніонів відповідними редуцтазами чи декомпозиції нітрозотіолів, що є депо NO, в судинній стінці [7-10]. Серед механізмів виникнення окисдативного стресу крім зниження активності ферментів антиоксидантної системи та сполук, що нейтралізують вільні радикали, перевага останнім часом надається збільшенню генерації  $\cdot\text{O}_2^-$  неспряженою eNOS [11-15], а не лише, як раніше вважалося, його надходженням з таких джерел, як мітохондрії [16], НАДФН-оксидаза [17-19], ксантинооксидаза [20] чи ліпо- та циклооксигенази [21].

© А.В. Коцюруба, Н.О. Дорофєєва, В.Ф. Сагач

Мета нашої роботи - намагання оцінити різні джерела утворення  $\cdot\text{O}_2^-$  і NO та їх роль у розвитку оксидативного і нітрозативного стресу, а також впливу останніх на порушення кардіогемодинаміки у тварин зі спонтанною гіпертензією.

## МЕТОДИКА

Дослідження проводили на щурах-самцях віком 6 міс 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, внутрішньоочеревинно). Функціональні показники кардіогемодинаміки у щурів *in vivo* реєстрували за допомогою ультрамініатюрного катетера 2F і Pressure-Volume System («Millar Instruments», США). Катетер вводили через сонну артерію ретроградно у лівий шлуночок (ЛШ), що давало змогу одночасно реєструвати сигнали тиску й об'єму з візуалізацією кривих залежності цих показників протягом серцевого циклу [24]. Співвідношення тиску й об'єму ЛШ визначали за допомогою програми PVAN 3,6 («Millar Instruments», США). Кінцево-діастолічну жорсткість (для оцінки здатності міокарда до розтягнення) вивчали під час оклюзії черевної порожнистої вени в умовах зниженого притоку крові до серця. Артеріальну жорсткість, розраховували як відношення кінцево-систоличного тиску до ударного об'єму. У цільних свіжоприготовлених гомогенатах серця й аорти щурів визначали біохімічні показники, які тестують наявність комбінованого окисного стресу та надлишкового синтезу  $\cdot\text{O}_2^-$ , NO і пероксинітриту і характеризують причини його виникнення. Показники оксидативного стресу (швидкість генерації супероксидного ( $\cdot\text{O}_2^-$ ) і гідроксильного ( $\cdot\text{OH}$ ) радикалів, пули стабільного пероксиду водню ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), ейкозаноїдів тромбоксану  $\text{V}_2$  ( $\text{TxB}_2$ ) та пептидолейкотрієну  $\text{C}_4$  ( $\text{LTC}_4$ ),

сечової кислоти й маркера перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) дієнових кон'югатів (ДК) визначали як описано раніше [23]. Визначали показники нітрозативного стресу: кальційзалежну активність cNOS, як суму ендотеліальної (eNOS) і нейрональної (nNOS) NOS, кальційнезалежну активність iNOS, НАДН-залежну активність нітратредуктази, пули стабільних метаболітів NO - нітрит ( $\text{NO}_2^-$ )- і нітрат ( $\text{NO}_3^-$ ) -аніонів, низькомолекулярних (НМНТ) і високомолекулярних (ВМНТ) нітрозотіолів, вміст регулятора активності cNOS сірководню ( $\text{H}_2\text{S}$ ) [24]. Індекс спряження (coupling) cNOS розраховували як відношення активності cNOS до швидкості генерації  $\cdot\text{O}_2^-$  за наявності її інгібітора L-NAME. Цей індекс характеризує наявність субстратів (L-аргінін,  $\text{O}_2$ ) і кофактора тетрагідробіоптерину ( $\text{BH}_4$ ) для утворення NO, а не  $\cdot\text{O}_2^-$  при окисному метаболізмі L-аргініну. Вважається [25], що будь-яке підвищення генерації  $\cdot\text{O}_2^-$  (мітохондріями, ксантинооксидазою чи НАДФН-оксидазою) спричиняє неспряження (uncoupling) eNOS. Більше того, неспряжена eNOS не лише сама стає потужним генератором  $\cdot\text{O}_2^-$ , але одночасно активує інші згадані джерела його утворення, тим самим утворюючи свого роду замкнуте коло взаємопідсилення окисного стресу і неспряження eNOS. Розраховували також умовний біохімічний індекс функції (БІФ) в серці і аорті за формулою:  $\text{БІФ} = \left[ \frac{\text{вміст нітриту}}{\text{вміст нітрату} + \text{вміст нітриту}} \right] \times \text{індекс спряження cNOS}$ . Перший компонент формули відображає частку нітриту в сумі нітрит- і нітрат-аніонів і, таким чином, відображає рівень оксигенації в органах серцево-судинної системи. Відомо, що  $\text{NO}_2^-$  спонтанно утворюється при окисненні NO лише в оксигенованих розчинах, в той час як  $\text{NO}_3^-$  лише в умовах інтегрального окисного стресу при нерадикальному розпаді пероксинітриту. Другий компонент формули відображає рівень неспряження cNOS, який зростає в умовах стресу. Отже, БІФ відображає ступінь оксидативного

і нітрозативного стресу та синтезовані cNOS пули NO, важливі для нормального функціонування серця й аорти. Вміст загального білка визначали методом Лоурі. Отримані результати оброблені методами варіаційної статистики з використанням програм Excell (MS Office XP), Student (MS Excell) та Origin 6.0 («Microcall Inc.», США).

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

*Зміни фізіологічних показників за гіпертензії.* У щурів зі спонтанною гіпертензією кінцево-сistolічний і кінцево-діастолічний тиск був вищим, ніж у контрольній групі, тоді як показники насосної функції серця - ударний і хвилинний об'єм, навпаки, нижчими (рис.1,а). Водночас ударна робота серця вірогідно не відрізнялася від контролю, тобто, їх серце перекачувало менший об'єм крові. Це може вказувати на менш

ефективну роботу серця. Споживання кисню міокардом у цих тварин було на 58,7 % більшим порівняно з контролем (див. рис. 1,б). Можливо, менш ефективна робота серця щурів зі спонтанною гіпертензією пов'язана зі значним збільшенням постнавантаження міокарда внаслідок збільшення артеріальної жорсткості. Цей показник був збільшеним майже в 2 рази, що може свідчити про підвищення периферичного опору судин і призводити до погіршення скоротливої активності міокарда.

Показано, що максимальна швидкість наростання тиску ЛШ була більшою в серці щурів зі спонтанною гіпертензією, ніж у тварин контрольної групи (10414± 206,74 та 9742 ± 245,35 мм рт.ст./с відповідно, P<0,05). Крім того, у них виявлено збільшення в 2,6 рази жорсткості камери ЛШ, яка визначає наповнення шлуночка в період пізньої діастолі. Збільшення кінцево-діас-

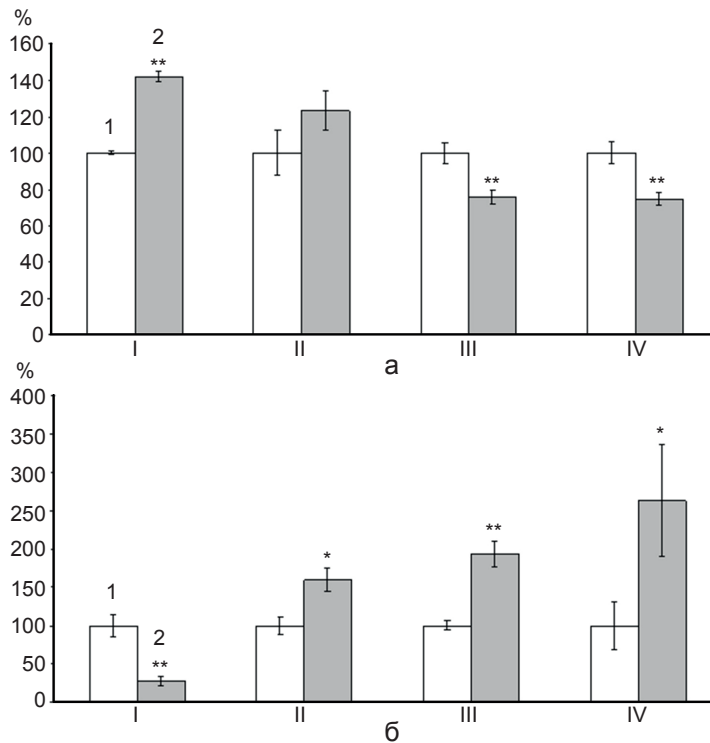


Рис. 1. Відносні зміни показників кардіогемодинаміки (а) та функціонального стану (б) серця й аорти у щурів лінії Вістар (1) та зі спонтанною гіпертензією (2): а: I - кінцево-сistolічний тиск, II - кінцево-діастолічний тиск, III - ударний об'єм, IV - хвилинний об'єм крові; б: I - ефективність механізму Франка-Старлінга, II - споживання кисню серцем, III - артеріальна жорсткість, IV - кінцево-діастолічна жорсткість міокарда. \*P<0,05, \*\*P<0,01 відносно контролю

толічної жорсткості міокарда свідчить про порушення процесів релаксації серця щурів. Більш інтенсивна і менш ефективна робота серця може негативно позначатися на адаптації до навантаження. Для підтвердження цього припущення та оцінки функціональних резервів серця ми проводили тест навантаження об'ємом. Виявлено, що ефективність механізму Франка-Старлінга у цих щурів була в 4 рази нижчою ( $P < 0,01$ ), ніж у контрольній групі (див. рис. 1,б) тобто реалізація цього механізму пригнічена. Відомо, що енергетично механізм Франка-Старлінга економніший, ніж гомеометрична регуляція скоротливої функції серця, і тому його пригнічення свідчить про енерговитратну роботу серця з більшим споживанням кисню у щурів зі спонтанною гіпертензією.

Таким чином, у щурів зі спонтанною гіпертензією серце працює менш ефективно з більшим споживанням кисню. Виявлено також зниження показників насосної функції, збільшення скоротливої активності і порушення процесу релаксації серця, а також збільшення артеріальної жорсткості порівняно з контрольною групою тварин. При навантаженні об'ємом у щурів зі спонтанною гіпертензією відмічалось зменшення ефективності реалізації механізму Франка-Старлінга.

*Зміни біохімічних показників за гіпертензії.* Для встановлення можливих біохімічних механізмів, що призводять до виявлених нами змін показників функціонального стану серця і судин у щурів зі спонтанною гіпертензією, ми визначили ступінь окисдативного і нітрозативного стресу, який може зумовлювати неспряження cNOS. Майже всі показники окисдативного стресу як у серці (рис.2,а), так і в аорті (рис. 2,б) щурів зі спонтанною гіпертензією були вищими від контрольних значень, що неспростовно засвідчує його розвиток. Вірогідно не відрізнялися від контролю лише пули  $TxB_2$ , які характеризують активність циклооксигеназного генератора  $\bullet O_2^-$

в серці (див. рис. 2,а) та пули сечової кислоти, які характеризують активність ксантинооксидази (див. рис. 2,б) в аорті. Нітрозативний стрес (надлишковий синтез NO) у щурів зі спонтанною гіпертензією також розвивається в обох досліджених органах серцево-судинної системи (рис. 3). Так, у серці зростає активність iNOS (кальційнезалежний de novo синтез NO) та нітратредуктази (реутилізаційний синтез NO) і пули  $NO_3^-$ , але, навпаки, знижується активність cNOS (кальційзалежний de novo синтез NO) і пули  $NO_2^-$  та НМНТ (див. рис.

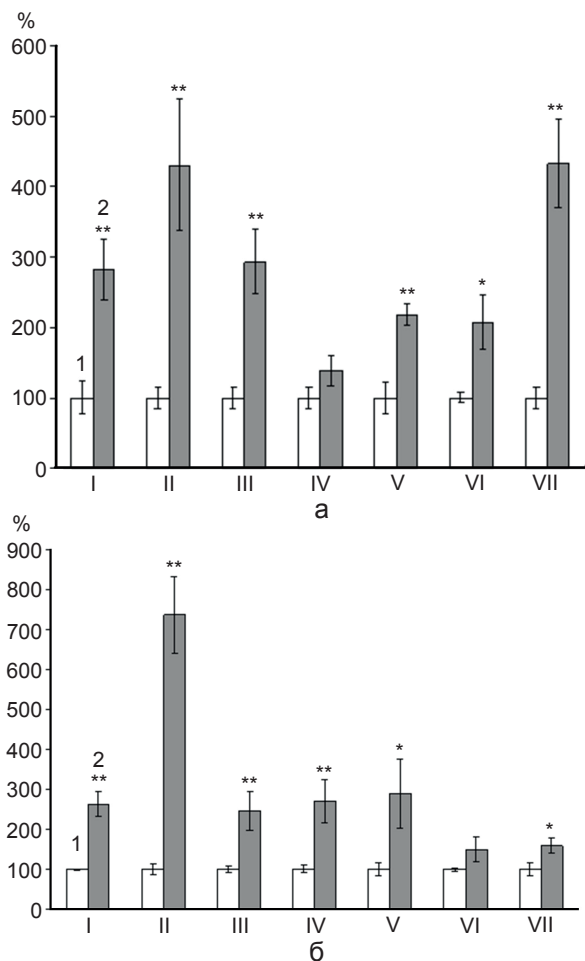


Рис. 2. Відносні показники окисдативного стресу в серці (а) і в аорті (б) щурів лінії Вістар (1) та зі спонтанною гіпертензією (2): I - швидкість генерації  $\bullet O_2^-$ , II - швидкість генерації  $\bullet OH$ , III - вміст  $H_2O_2$ , IV - вміст тромбоксану  $B_2$ , V. - вміст пептидолейкотрієну  $C_4$ , VI - вміст сечової кислоти, VII - вміст дієнових кон'югатів. \* $P < 0,05$ , \*\* $P < 0,01$  відносно контролю

3,а). Пули НМНТ включають три компоненти: нітрозильовану амінокислоту L-цистеїн, що є попередником *de novo* синтезу H<sub>2</sub>S, нітрозоглутатіон (GSNO), що містить у своєму складі L- цистеїн і так званий «мінімальний» нітрозотіол – нітрозильований сірководень (HSNO). Натомість більші пули ВМНТ складають нітрозильовані білки, що мають у своєму складі L-цистеїн. Нітрозилювання здійснюється переважно пероксинітридом, який утворюється при взаємодії  $\cdot\text{O}_2^-$  і NO. НМНТ мають функцію транспортування і депонування NO, причому останній може бути звільнений через процес декомпозиції. Отже, пули НМНТ характеризують інтенсивність процесів нітрозилювання (включення NO) і декомпозиції ( звільнення NO). На відміну від цього, пули ВМНТ відображають інтенсивність нітрозилювання

білків пероксинітридом і тому вважаються маркерами нітрозативного стресу. В аорті (див. рис. 3,б) щурів зі спонтанною гіпертензією значно підвищуються активність іNOS і нітратредуктази та пули ВМНТ. При цьому активність сNOS, пули NO<sub>2</sub><sup>-</sup> та НМНТ, навпаки, знижуються, пули NO<sub>3</sub><sup>-</sup> і H<sub>2</sub>S не змінювалися. Внаслідок таких змін у серці і аорті цих щурів суттєво (P<0,01) знижуються значення обох розрахованих індексів (рис. 4). Отже, спільним для обох досліджених органів серцево-судинної системи у щурів зі спонтанною гіпертензією є наявність інтегрального окисного стресу який спричиняє неспряжений стан сNOS. При цьому ізоферменти конститутивного *de novo* синтезу NO (eNOS та/чи pNOS) замість NO продукують  $\cdot\text{O}_2^-$ , тим самим утворюючи замкнуте коло взаємопідсилення

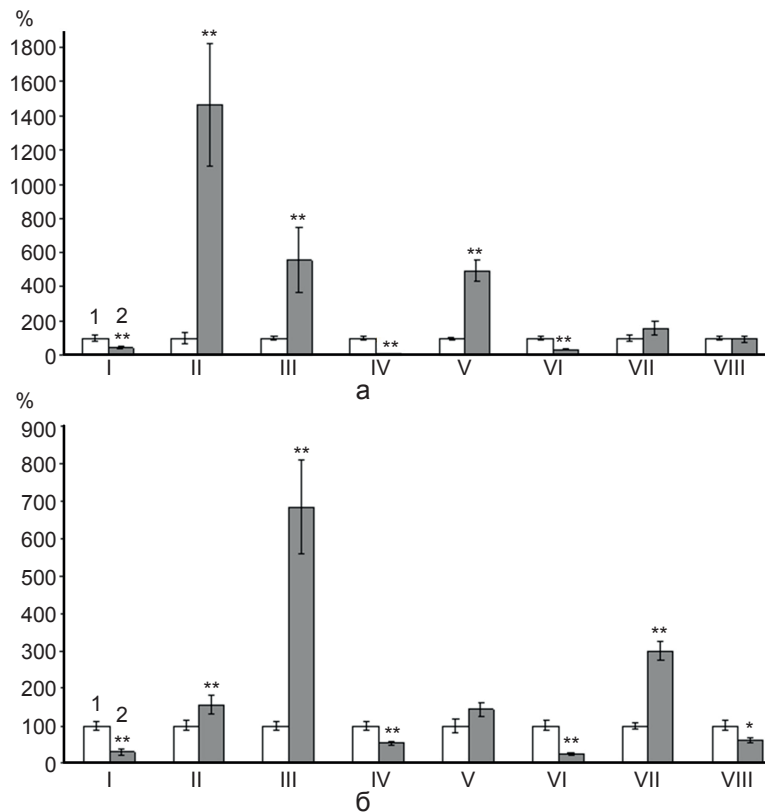


Рис. 3. Відносні показники нітрозативного стресу в серці (а) і в аорті (б) щурів лінії Вістар (1) та зі спонтанною гіпертензією (2): 1 - активність конститутивних NO-синтаз, 2 - активність індукційної NO-синтази, 3 - нітратредуктазна активність, 4 - вміст NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, 5 - вміст NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, 6 - вміст низькомолекулярних нітрозотіолів, 7 - вміст високомолекулярних нітрозотіолів, 8 - вміст H<sub>2</sub>S, \*P<0,05, \*\*P<0,01 відносно контролю

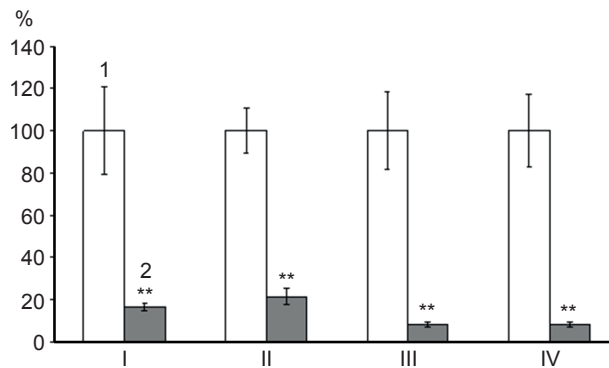


Рис. 4. Відносні значення індексів спряження конститутивних NO-синтаз (IC) і біохімічний індекс функції (БІФ) у серці і в аорті щурів лінії Вістар (1) та зі спонтанною гіпертензією (2): I - IC в серці, II - IC в аорті, III - БІФ в серці, IV - БІФ в аорті, \*\* $P < 0,01$  відносно контролю

рівня окисного стресу і неспряженості cNOS. За цього стану помірний окисний стрес започатковує незначний неспряжений стан cNOS, внаслідок чого окисний стрес посилюється і спричиняє більший рівень неспряженості, і т.д. Розірвати це коло адаптивним системам серцево-судинної системи у щурів зі спонтанною гіпертензією самостійно не вдається, що і призводить до спостережених нами функційних порушень на кшталт збільшення споживання кисню і скоротливої активності серця та підвищення артеріальної жорсткості одночасно зі зниженням показників насосної функції, порушенням процесу релаксації та зменшенням ефективності реалізації механізму Франка–Старлінга в серці. Варто зазначити, що погіршення фізіологічних показників кардіогемодинаміки, які вказують на кардіальну і ендотеліальну дисфункцію у щурів зі спонтанною гіпертензією, корелюють із зниженням значень біохімічних індексів спряження cNOS та БІФ у цих органах.

Очевидно, для нормалізації функційних показників у серцево-судинній системі за гіпертензії потрібний якийсь зовнішній чинник, здатний відмінити неспряжений стан cNOS і, тим самим, розірвати вказане замкнене коло його взаємопідсилення. Які саме властивості повинен мати цей чинник? Як було показано нами (див. рис. 2,а), у серці щурів зі спонтанною гіпертензією максимально

зростали два показники окисативного стресу - швидкість генерації  $\cdot\text{OH}$  (у реакції Фентона або при розпаді пероксинітриту) і вміст ДК (маркер вільнорадикального ПОЛ). При цьому максимальними були підвищення таких показників нітрозативного стресу (див. рис. 3,а), як активність iNOS (активується прозапальними цитокінами, а  $\cdot\text{O}_2^-$  дуже підсилює цю індукцію), активність нітратредуктази (в основному нітрат- і нітритредуктазної активності ксантиноксидази, яка активується за гіпоксії) і  $\text{NO}_3^-$ , що утворюється при розпаді пероксинітриту, будучи маркером утворення останнього. Водночас за гіпертензії в серці пули  $\text{NO}_2^-$  (утворюється за нормальної оксигенації органа), НМНТ і, головне, активність cNOS (лише ферменти конститутивного синтезу NO продукують його регуляторні, а не токсичні пули) знижувались. Останнє, на нашу думку, зумовлено зростанням її неспряженого стану (див. рис.4). Таким чином, для ліквідації кардіальної, як і, особливо, ендотеліальної дисфункції, що виникає за гіпертензії, необхідним є відновлення спряженого стану cNOS одночасним максимальним послабленням окисного стресу і підвищенням активності cNOS, що дасть змогу розірвати замкнене коло взаємопідсилення окисного стресу і неспряженого стану cNOS у серці й аорті щурів зі спонтанною гіпертензією.

## ВИСНОВКИ

1. Як у серці, так і, особливо, в аорті щурів зі спонтанною гіпертензією розвивається оксидативний і нітрозативний стрес, наслідком якого є неспряжений стан cNOS, за якого замість синтезу NO кальційзалежні NOS генерують  $\cdot\text{O}_2^-$ , і утворення замкнутого кола взаємопідсилення рівнів оксидативного стресу і неспряженості cNOS за рахунок його додаткової генерації.

2. Внаслідок неспряження cNOS, у щурів зі спонтанною гіпертензією серце працює менш ефективно, із більшим споживанням кисню, порівняно з контролем, коли вони знаходяться у спряженому стані і поповнюють регуляторні пули NO.

3. За неспряженого стану cNOS у щурів зі спонтанною гіпертензією збільшується жорсткість артеріальних судин, знижуються показники насосної функції, зменшується ефективність механізму Франка–Старлінга і порушується процес релаксації серця.

**А.В.Коцюруба, Н.А.Дорофеева, В.Ф.Сагач**

### НЕСОПРЯЖЕНИЕ КОНСТИТУТИВНЫХ NO-СИНТАЗ ВЫЗЫВАЕТ ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС И НАРУШЕНИЕ КАРДИОГЕМОДИНАМИКИ ПРИ ГИПЕРТЕНЗИИ (ЧАСТЬ I)

Сравнили показатели кардиогемодинамики, оксидативного и нитрозативного стресса в сердце и аорте у контрольных крыс линии Вистар и со спонтанной гипертензией. На основе экспериментально определенных биохимических показателей рассчитали значение индексов сопряжения конститутивных изоферментов NO-синтаз (cNOS=eNOS+nNOS) и биохимического индекса функции (БИФ) у этих животных. Как в сердце, так и, особенно, в аорте крыс со спонтанной гипертензией развивается оксидативный и нитрозативный окислительный стресс, вызывая значительные изменения значений БИФ, степени несопряжения cNOS и показателей кардиогемодинамики. Установили, что у них по сравнению с контролем сердце работает менее эффективно и с большим потреблением кислорода. При этом выявлено увеличение артериальной жесткости, достоверное снижение показателей насосной функции, уменьшение эффективности механизма Франка–Старлинга и нарушение процесса релаксации сердца. Сделано предположение о существовании в органах

серечно-сосудистой системы крыс со спонтанной гипертензией механизма усиления окислительного стресса за счет дополнительной генерации супероксида изоферментами cNOS в состоянии несопряжения.

Ключевые слова: сердце; аорта; сопряжение cNOS; спонтанная гипертензия; окислительный стресс.

**A.V.Kotsuruba, N.A.Dorofeyeva, V.F.Sagach**

### NOS UNCOUPLING IS ACCOMPANIED WITH INDUCTION OF THE OXIDATIVE STRESS AND THE CARDIOHEMODYNAMICS DISTURBANCES IN HYPERTENSION

We compared the performance of cardiohemodynamics and indicators of oxidative and nitrosative stress in the heart and aorta in normotensive Wistar rats (WKR) and spontaneously hypertensive rats (SHR). On the basis of experimentally determined parameters to calculate cNOS uncoupling index and biochemical index of function (BIF) in these organs of the cardiovascular system. In the heart, and especially in the aorta of SHR develop a combined oxidative and nitrosative stress that leads to cNOS uncoupling, BIF lowering that correlate with lowering of systolic and diastolic functions, inhibition of the efficiency Frank-Starling mechanism, oxygen consumption of the heart and increasing arterial stiffness. We made the assumption of the existence of the vicious circle of enhancing oxidative stress in organs of the cardiovascular system due to additional superoxide generation by uncoupling cNOS.

Key words: heart; aorta; uncoupling cNOS; hypertension; oxidative stress.

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

## REFERENCES

1. Förstermann U. Nitric oxide and oxidative stress in vascular disease. *Pflugers Arch.* 2010;459(6):923-39.
2. Förstermann U. Oxidative stress in vascular disease: causes, defense mechanisms and potential therapies. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med.* 2008;5(6):338-49.
3. Escobales N, Crespo MJ. Oxidative-nitrosative stress in hypertension. *Curr Vasc Pharmacol.* 2005;3(3):231-46.
4. 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.
5. Thomas SR, Chen K, Keaney JF Jr. Oxidative stress and endothelial nitric oxide bioactivity. *Antioxid Redox Signal.* 2003;5(2):181-94.
6. Schulz E, 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.
7. Oliveira-Paula GH, Lacchini R, Tanus-Santos JE. Inducible nitric oxide synthase as a possible target in hypertension. *Curr Drug Targets.* 2014;15(2):164-74.

8. Shumilova TE, Nozdrachev AD, Fedorova MA. Role of inorganic nitrite and nitric oxide in the function of cardiovascular system. *Russ Fiziol Zh Im I M Sechenova*. 2014 ;100(3):301-17 [Russian].
9. Pellegrino D, Parisella ML. Nitrite as a physiological source of nitric oxide and a signalling molecule in the regulation of the cardiovascular system in both mammalian and non-mammalian vertebrates. *Recent Pat Cardiovasc Drug Discov*. 2010;5(2):91-6.
10. Jansson EA, Huang L, Malkey R, Govoni M, Nihlén C, et al. A mammalian functional nitrate reductase that regulates nitrite and nitric oxide homeostasis. *Nat Chem Biol*. 2008 ;4(7):411-7
11. Mitchell BM, Cook LG, Danchuk S, Puschett JB. Uncoupled endothelial nitric oxide synthase and oxidative stress in a rat model of pregnancy-induced hypertension. *Am J Hypertens*. 2007;20(12):1297-304.
12. Chen CA, Lin CH, Druhan LJ, Wang TY, Chen YR, Zweier JL. Superoxide induces endothelial nitric-oxide synthase protein thyl radical formation, a novel mechanism regulating eNOS function and coupling. *JBiol Chem*. 2011;286:29098–107.
13. 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;288:561–9.
14. Roe ND, Ren J. Nitric oxide synthase uncoupling: a therapeutic target in cardiovascular diseases. *Vascul Pharmacol*. 2012;57(5):168–72.
15. Karbach S, Wenzel P, Waisman A, Munzel T, Daiber A. eNOS uncoupling in cardiovascular diseases--the role of oxidative stress and inflammation. *Curr Pharm Des*. 2014;20(22):3579-94.
16. Dikalov S, Ungvari Z. Role of mitochondrial oxidative stress in hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2013;305(10):H1417-27.
17. Konior A, Schramm A, Czesnikiewicz-Guzik M, Guzik TJ. NADPH oxidases in vascular pathology. *Antioxid Redox Signal*. 2014;20(17):2794-814.
18. Paravicini TM, Touyz RM. NADPH oxidases, reactive oxygen species, and hypertension: clinical implications and therapeutic possibilities. *Diabetes Care*. 2008;31 Suppl 2:S170-80.
19. Cave AC, Brewer AC, Narayanapanicker A, Ray R, Griever DJ, et al. NADPH oxidases in cardiovascular health and disease. *Antioxid Redox Signal*. 2006;8(5-6):691-728.
20. Berry CE, Hare JM. Xanthine oxidoreductase and cardiovascular disease: molecular mechanisms and pathophysiological implications. *J Physiol*. 2004;555(Pt 3):589-606.
21. Hernanz R, Briones AM, Salaices M, Alonso MJ. New roles for old pathways? A circuitous relationship between reactive oxygen species and cyclo-oxygenase in hypertension. *Clin Sci (Lond)*. 2014;126(2):111-21.
22. Pacher P, T.Nagayama, P. Mukhopadhyay , S.Batkai , D. A. Kass Measurement of cardiac function using pressure-volume conductance catheter technique in mice and rats. *Nat. Protoc*:2008,3, № 9:1422–1434.
23. Sharipov RR, Kotsiuruba AV, Kop'iak BS, Sahach VF. Induction of oxidative stress in heart mitochondria in brain focal ischemia-reperfusion and protective effect of ecdysterone. *Fiziol Zh*. 2014; 60(3):11-7. (Ukrainian).
24. Sharipov RR, Kotsiuruba AV, Kop'iak BS, Sahach VF. Induction of nitrosative stress in mitochondria of rats hearts in experimental ischemia-reperfusion of the brain and its correction by ecdysterone. *Fiziol Zh*. 2014; 60(5):3-13. (Ukrainian).
25. Paravicini TM, Touyz RM. Redox signaling in hypertension. *Cardiovasc Res*. 2006 ;71(2):247-58.

*Матеріал надійшов до редакції 10.04.2015*