

Комбіноване застосування пропалгілгліцину та L-цистеїну попереджає оксидативний та нітрозативний стрес у тканинах серця при фокальній ішемії-реперфузії головного мозку

Н.О. Дорофєєва, Ю.П. Коркач, Р.Р. Шаріпов, В.Ф. Сагач

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ; e-mail: dorofeyeva@biph.kiev.ua

Ішемія головного мозку – нейродегенеративне порушення, яка призводить до часткового чи загального паралічу і подальшої інвалідності. Розвиток окисно-нітрозативного стресу на тлі недостатньої продукції оксиду азоту (NO) та сірководню (H_2S) є основними причинами, що лежать у патогенезі фокальної ішемії-реперфузії та цереброкардіального синдрому. В роботі вивчали комбіноване застосування пропалгілгліцину та L-цистеїну як препаратів, що попереджають оксидативний і нітрозативний стрес та є активаторами таких газових трансмітерів як NO і H_2S у тканинах серця дорослих щурів при ішемії-реперфузії головного мозку. Показано, що фокальна ішемія-реперфузія супроводжувалася суттєвим збільшенням у серці щурів кальційнезалежного індукційного синтезу NO (iNOS) та підвищенням вмісту маркерів окисного стресу (супероксидного аніон-радикала, гідроксильного радикала, дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду) на тлі зменшення активності конститутивних NO-синтаз (cNOS). Це спричинювало порушення синтезу оксиду азоту внаслідок неспряженого (uncoupling) стану cNOS у серці щурів. Застосування комбінації DL-пропалгілгліцину (11,31 мг/кг) та L-цистеїну (112,1 мг/кг) за 40 хв до моделювання фокальної ішемії значно знижувало в серці дорослих щурів активність iNOS і вміст маркерів окисного метаболізму та підвищувало конститутивний синтез NO, що призводило до відновлення спряження cNOS. При цьому ми спостерігали активацію ендogenous синтезу H_2S , який тісно взаємодіє з системою оксиду азоту і є потужним антиоксидантом. Також слід відмітити збільшення виживання тварин через 24 год на 25%. Отже, комбіноване застосування пропалгілгліцину та L-цистеїну у щурів попереджало порушення синтезу NO та H_2S у тканинах серця дорослих щурів внаслідок уповільнення розвитку окисного стресу, що сприяло відновленню спряження cNOS.

Ключові слова: DL-пропалгілгліцин; L-цистеїн; окисний стрес; індукційна NO-синтаза; конститутивні NO-синтази; сірководень; фокальна ішемія-реперфузія головного мозку.

ВСТУП

За даними ВООЗ, інсульт є однією із основних причин смертності та інвалідності у світі. Прогнозується збільшення частоти ішемічного інсульту до 2030 р. на 43,8% до 23 млн. [1]. Сьогодні все більше доказів того, що церебральна ішемія може викликати серцеву дисфункцію. Механізми, що лежать в основі цієї нейрогенної хвороби серця, недостатньо зрозумілі. Проте показано, що оксидативний стрес відіграє суттєву роль

© Н.О. Дорофєєва, Ю.П. Коркач, Р.Р. Шаріпов, В.Ф. Сагач

у патогенезі фокальної ішемії-реперфузії головного мозку та цереброкардіального синдрому [2–4]. Згідно з даними клінічних випробувань, серцево-судинні ускладнення після ішемічного інсульту, такі як гострий коронарний синдром, серцева недостатність, серцева аритмія тощо, що реєструються вже протягом перших кількох днів [5], є другою провідною причиною смертності в перші два тижні. Тому актуальною задачею залишається пошук нових лікарських засобів, здатних впливати на ланки патогенезу ішемії-

реперфузії головного мозку і зменшувати показники оксидативного та нітрозативного стресу, запобігаючи розвитку ускладнень та збільшуючи виживання хворих.

Нещодавно в нашому відділі була досліджена кардіопротекторна дія DL-пропалгілгліцину (ПАГ) та L-цистеїну при ішемії-реперфузії серця [6]. Ми припустили, що така комбінація препаратів може попереджати розвиток оксидативного та нітрозативного стресу в тканинах серця за умов фокальної церебральної ішемії-реперфузії головного мозку (ГМ).

Метою нашої роботи було дослідження впливу комбінації ПАГ та L-цистеїну на показники оксидативного та нітрозативного стресу під час фокальної ішемії ГМ у тканинах серця щурів.

МЕТОДИКА

Дослідження проводили на 24 дорослих (вік 6 міс) щурах-самцях лінії Вістар, яких було поділено на 3 групи по 8 тварин у кожній. До 1-ї контрольної групи ввійшли інтактні тварини, до 2-ї – щури, яким моделювали фокальну ішемію-реперфузію ГМ, до 3-ї – щури з модельованою фокальною ішемією-реперфузією, яким попередньо внутрішньоочеревинно вводили ПАГ і через 10 хв L-цистеїну у концентраціях 11,31 та 112,1 мг/кг у 1 мл 0,9%-го NaCl відповідно. Модель фокальної ішемії була результатом оклюзії середньої мозкової артерії протягом 60 хв з подальшою 24-годинною реперфузією [7]. Всі експериментальні процедури виконано згідно з Європейською Директивою Ради Громад від 24 листопада 1986 р. (86/609/ЕЕС).

У тканинах серця дослідних тварин визначали такі біохімічні показники, як швидкість генерації супероксид-аніона ($\cdot\text{O}_2^-$), гідроксильного ОН-радикала ($\cdot\text{OH}$), вміст малонового діальдегіду (МДА) та дієнових кон'югатів (ДК), що є маркерами окисного стресу. Систему синтезу оксиду азоту оцінювали за змінами активності

кальційнезалежної індукцибельної NO-синтази (iNOS) та кальційзалежних конститутивних NO-синтаз (cNOS), вмістом стабільних метаболітів NO (нітрит- і нітрат-аніонів). Стан спряження/неспряження cNOS визначали за зміною індексу спряження, який розраховували через відношення активності cNOS до швидкості генерації $\cdot\text{O}_2^-$. Перераховані показники вимірювали спектрофотометрично, як описано раніше [7, 8]. Також у гомогенатах серця щурів визначали вміст сірководню (H_2S), використовуючи 1%-й розчин ацетату цинку, диметил-п-фенілендіамін та FeCl_3 , вимірюючи оптичну густину проб при довжині хвилі 670 нм [9].

Отримані результати представлено у відсотках відносно значення у контрольних тварин, які приймали за 100%. Результати обробляли методами варіаційної статистики з використанням програм Excel (MS Office XP) та Origin 8,5 («Microcall Inc.», США). Різниці між показниками у групах визначали за допомогою критерію t Стьюдента. Значення $P < 0,05$ вважали статистично достовірними.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено, що фокальна ішемія-реперфузія ГМ супроводжується збільшенням показників оксидативного стресу (рис. 1). Так, через 24 год після її моделювання в гомогенатах тканин серця щурів збільшувалася генерація супероксидного аніон-радикала більш ніж у 2 рази та $\cdot\text{OH}$ -радикала майже у 6 разів порівняно з інтактними тваринами ($P < 0,05$). При оцінці маркерів інтенсивності неферментативного вільнорадикального переокисного окиснення ліпідів (ПОЛ) виявлено зростання вмісту ДК в 1,6 раза та МДА втричі.

Слід відмітити, що введення ПАГ та L-цистеїну знижувало швидкість генерації $\cdot\text{O}_2^-$ та $\cdot\text{OH}$ -радикала в 3,3 і 14,7 разів відповідно порівняно зі значенням у тварин, яким моделювали фокальну ішемію-реперфузію (2-га група; див. рис. 1). Також вміст МДА,

який є високотоксичною кінцевою сполукою, що утворюється при розпаді нестійких гідропероксидів ліпідів у процесі ПОЛ, зменшувався майже втричі.

Оксидативний стрес займає провідну ланку в патогенезі ішемії-реперфузії. Багато даних говорять про підвищений вміст активних форм кисню та вільних радикалів у тканинах ГМ. Так, під час ішемії ГМ порушується енергетичний обмін і виснажуються пули АТФ, що спричинює дисфункцію енергозалежних іонних каналів і насосів [4]. Збільшення вмісту внутрішньоклітинного кальцію та позаклітинного калію призводить до гострого набряку та некрозу нейронів [10]. Під час періоду реперфузії, відновлення кисню є причиною значного збільшення вільних його радикалів [11]. Водночас мікроглія при ішемії починає продукувати токсичні прозапальні цитокіни, які посилюють набряк ГМ, розмір інфарктної зони, а також впливають на ендотеліальні клітини та кардіоміоцити [3]. Збільшення продукції інтерлейкіну-1 (ІЛ-1), фактора некрозу пухлин α (ФНП- α) та γ -інтерферону, які продукуються мікроглією, макрофагами та нейтрофілами при ішемії ГМ активують транскрипцію гена іNOS, що сприяє надлишковому син-

тезу NO вже на 1-3-тю добу [12]. Негативний ефект надлишкового індукційного синтезу оксиду азоту був доведений при введенні тваринам селективних інгібіторів іNOS, а також у дослідженнях на тваринах з дефіцитом гена [13]. При цьому збільшення продукції $\cdot\text{O}_2^-$ та NO призводить до утворення потужного оксиданта – пероксинітриду, який в свою чергу окиснює тіольні групи білків, ушкоджує ДНК і клітини в цілому. У мітохондріях окиснення білків дихального ланцюга призводить до роз'єднання окисного фосфорилування, зниження продукції АТФ та підвищення чутливості мітохондріальної пори до кальцію, що і стимулює генерацію $\cdot\text{O}_2^-$. Посилене утворення останнього призводить до окиснення кофактора сNOS – тетрагідробіоптерину [14], а також глутатіону із наступним глутатіонуванням молекули сNOS [15, 16] і розвитком її неспряження. В результаті неспряжена сNOS індукуює утворення $\cdot\text{O}_2^-$ замість NO [17], що підсилює появу «хибного кола» утворення супероксиду і прогресування оксидативного стресу. Як свідчать результати нашого дослідження введення ПАГ та L-цистеїну попереджало зростання маркерів оксидативного стресу в гомогенаті тканин серця щурів за умов ішемії-реперфузії.

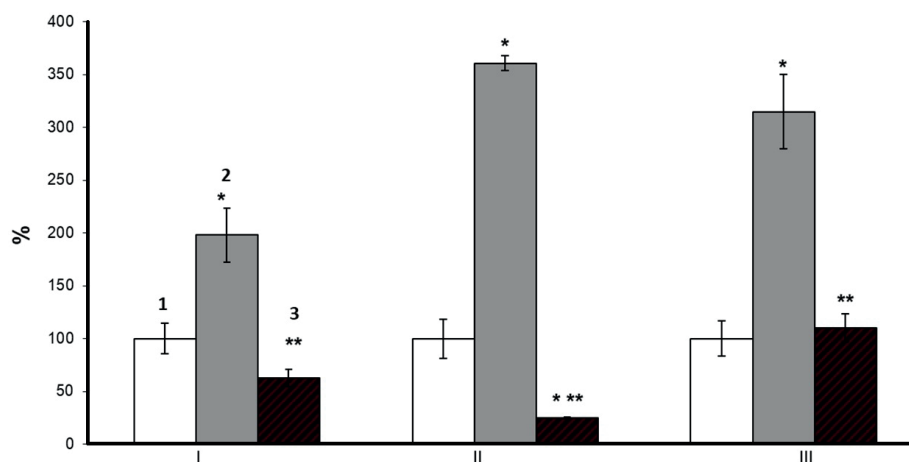


Рис. 1. Вплив фокальної ішемії-реперфузії головного мозку на показники оксидативного стресу та перекисне окиснення ліпідів у тканинах серця дорослих щурів: I – швидкість генерації $\cdot\text{O}_2^-$, II – швидкість генерації $\cdot\text{OH}$ -радикала, III – вміст малонового діальдегіду; 1 – контроль, 2 – фокальна ішемія-реперфузія, 3 – фокальна ішемія-реперфузія після введення DL-пропалгілгліцину та L-цистеїну; *P < 0,05 відносно контролю, **P < 0,05 відносно значення при ішемії-реперфузії

Крім того, фокальна ішемія-реперфузія супроводжувалася змінами показників нітрозативного стресу, а саме достовірним збільшенням активності iNOS та пулу NO_3^- (рис. 2). Водночас активність cNOS зменшувалась утричі, що вказує на порушення конститутивного синтезу NO внаслідок неспряженого (uncoupling) стану цього ферменту. Так, індекс спряження був знижений у 10 разів порівняно зі значенням у групі інтактних тварин.

Виявлено, що комбінація ПАГ та L-цистеїну зменшувала прояви нітрозативного стресу, індукованого фокальною ішемією-реперфузією. Так, активність iNOS зменшилася на 40,5%, а вміст NO_3^- – на 58% відносно значень у тварин 2-ї групи (див. рис. 2). Ще одним вагомим ефектом було підвищення в 2,4 раза активності cNOS порівняно зі значеннями при ішемії-реперфузії. Також відновлювався її спряжений стан, про що свідчить нормалізація індексу спряження (див. рис. 2).

За умов фокальної ішемії-реперфузії пули ендogenous H_2S у тканинах серця щурів 2-ї дослідної групи були в 4 рази нижче, ніж у інтактних тварин (рис. 3). ПАГ та L-цистеїн значно збільшували (майже у 14 разів)

значення цього показника. Це підтверджує наше припущення, що ведення L-цистеїну на фоні інгібування цистатіонін- γ -ліази перед ішемією-реперфузією може за допомогою ферменту 3MST індукувати синтез H_2S , який в свою чергу запобігає молекулярним та функціональним порушенням серця.

Також слід відмітити, що на тлі нормалізації ендogenous синтезу сірководню відновлювалося спряження cNOS, про що свідчить підвищення індексу спряження та активація конститутивного синтезу NO в 2,4 раза за умов проведення корекції. Можемо припустити, що саме H_2S має здатність відновлювати спряження cNOS внаслідок S-сульфгідрування, впливаючи на Cys443. У свою чергу індукована S-сульфгідратація стабілізує димери, запобігаючи S-нітрозилюванню cNOS, що призводить до збільшення синтезу NO та зменшення утворення $\cdot\text{O}_2^-$ [18].

Можливе інгібування цистатіонін- γ -ліази ПАГ, котра є специфічним її інгібітором, при наявності субстрату L-цистеїну збільшує компенсаторну продукцію H_2S іншими ферментами, а саме 3MST. Введення комбінації досліджуваних препаратів збільшувала в 14 разів вміст ендogenous H_2S у тканинах серця. Сірководень відіграє антиапопто-

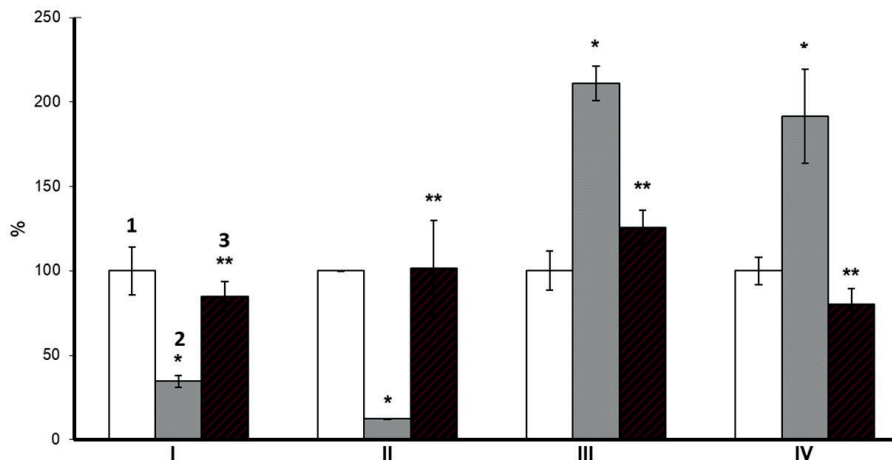


Рис. 2. Вплив фокальної ішемії-реперфузії головного мозку на показники синтезу оксиду азоту та нітрозативного стресу в тканинах серця дорослих щурів: I – активність конститутивних NO-синтаз (cNOS), II – індекс спряження cNOS, III – активність індукційної NO-синтази (iNOS), IV – вміст нітрат-аніона; 1 – контроль, 2 – фокальна ішемія-реперфузія, 3 – фокальна ішемія-реперфузія після введення DL-пропалгілгліцину та L-цистеїну; *P < 0,05 відносно контролю, **P < 0,05 відносно значення при ішемії-реперфузії

тичну, протизапальну та антиоксидантну роль, пом'якшуючи ішемічно-реперфузійні пошкодження ГМ та підвищуючи вміст глутатіону, який зазвичай знижується під час апоптозу клітин. За даними літератури він здатен відновлювати співвідношення між відновним і окисненим глутатіоном (GSH /GSSG) посилюючи активність γ -глутамілцистеїн синтетази, що каталізує перетворення цистеїну в γ -глутамілцистеїн та регулює транспорт цистину [11, 17–19]. Крім того, на фоні інгібування цистатіонін- γ -ліази L-цистеїн може використовуватись як субстрат для глутатіону [20].

Також у цьому дослідженні нами було показано, що попереднє введення ПАГ та L-цистеїну збільшувало виживання тварин через 24 год на 25% (рис. 4).

Отже, результати досліджень свідчать, що комбінована дія ПАГ та L-цистеїну впливає на процеси розвитку оксидативного та нітрозативного стресу в тканинах серця щурів при фокальній церебральній ішемії-реперфузії, може попереджувати серцево-судинні ускладнення та покращувати виживання тварин. Введення L-цистеїну перед ішемією-реперфузією, на фоні інгібування

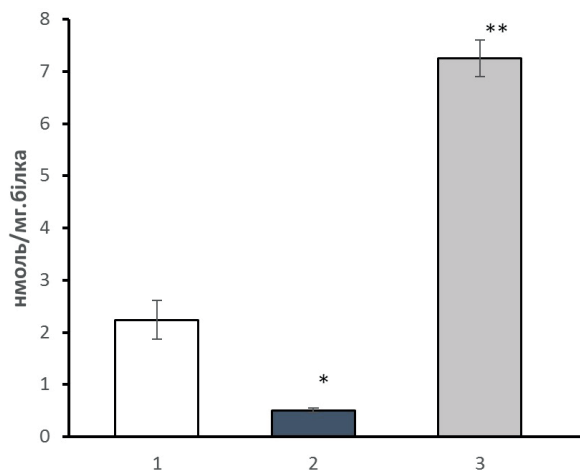


Рис. 3. Вплив фокальної ішемії-реперфузії головного мозку на вміст сірководню в гомогенаті серця дорослих щурів: 1 – контроль, 2 – фокальна ішемія-реперфузія, 3 – фокальна ішемія-реперфузія після введення DL-пропалгілгліцину та L-цистеїну; * $P < 0,05$ відносно контролю, ** $P < 0,05$ відносно значення при ішемії-реперфузії

цистатіонін- γ -ліази, запускло каскад захисних механізмів у яких можуть бути залучені сірководень, оксид азоту та глутатіон.

ВИСНОВКИ

1. Фокальна ішемія-реперфузія ГМ щурів супроводжується розвитком оксидативного та нітрозативного стресу в тканині серця, що характеризується збільшенням вдвічі генерації $\cdot\text{O}_2^-$ і $\cdot\text{OH}$ -радикала у 6 разів та підвищенням активності iNOS, вмісту NO_3^- на тлі значного зниження активності sNOS та ендogenous синтезу H_2S .

2. Комбінована дія ПАГ та L-цистеїну знижувала окисний метаболізм внаслідок інгібування значного утворення $\cdot\text{O}_2^-$ і $\cdot\text{OH}$ -радикала при фокальній церебральній ішемії-реперфузії зменшувала інтенсивність ПОЛ.

3. Введення ПАГ і L-цистеїну відновлювало спряження sNOS, збільшувало активність NO в 2,4 раза і знижувало iNOS, що вказує на NO-залежний механізм їхнього впливу.

4. Збільшення в 14 разів вмісту ендogenous H_2S на тлі уповільнення окисних процесів у тканинах серця щурів за умов введення L-цистеїну свідчить про його кардіопротекторну дію при фокальній церебральній ішемії-реперфузії ГМ.

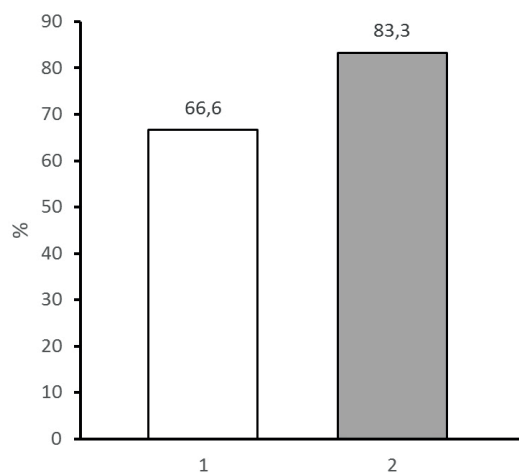


Рис. 4. Виживання тварин після фокальної ішемії-реперфузії головного мозку (1) та при попередньому введенні DL-пропалгілгліцину та L-цистеїну через 24 год (2)

5. Виявлено, що попереднє введення ПАГ та L-цистеїну призводило до збільшення на 25% виживання тварин після фокальної ішемії-реперфузії.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.

Н.А. Дорофеева, Ю.П. Коркач, Р.Р. Шарипов, В.Ф. Сагач

КОМБИНИРОВАННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ПРОПАЛГИЛГЛИЦИНА И L-ЦИСТЕИНА ПРЕДУПРЕЖДАЕТ ОКСИДАТИВНЫЙ И НИТРОЗАТИВНЫЙ СТРЕСС В ТКАНЯХ СЕРДЦА ПРИ ФОКАЛЬНОЙ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Ишемия головного мозга – нейродегенеративное нарушение, которое приводит к частичному или полному параличу и последующей инвалидности. Развитие окислительно-нитрозативного стресса на фоне недостаточной продукции оксида азота (NO) и сероводорода (H₂S) являются основными причинами, лежащими в патогенезе фокальной ишемии-реперфузии и цереброкордиального синдрома. В работе изучали комбинированное применение пропалгілгліцину и L-цистеїну в качестве препаратов, предупреждающих оксидативный и нитрозативный стресс и являющимися активаторами таких газовых транмиттеров как NO и H₂S в тканях сердца взрослых крыс при фокальной ишемии головного мозга. Показано, что ишемия-реперфузия сопровождалась существенным увеличением в сердце кальцийнезависимого индуцибельного синтеза NO (iNOS) и повышением маркеров окислительного стресса (супероксидного анион-радикала, гидроксильного радикала, диеновых конъюгатов и малонового диальдегида) на фоне уменьшения активности конститутивных NO-синтаз (cNOS). Это приводило к нарушению синтеза NO вследствие неспряженного (uncoupling) состояния cNOS. Применение комбинации DL-пропалгілгліцину (11,31 мг/кг) и L-цистеїну (112,1 мг/кг) за 40 мин до моделирования фокальной ишемии значительно снижало в сердце взрослых крыс активность iNOS, содержание маркеров окислительного стресса и повышало конститутивной синтез NO, что приводило к восстановлению сопряжения cNOS. При этом мы наблюдали активацию эндогенного синтеза H₂S, который тесно взаимодействует с системой оксида азота и является мощным антиоксидантом. Также следует отметить увеличение выживаемости животных через 24 ч

на 25%. Комбинированное применение пропалгілгліцину и L-цистеїну при ишемии-реперфузии ГМ предупреждало нарушение синтеза NO и H₂S в тканях сердца вследствие уменьшения развития окислительного стресса, что способствовало восстановлению сопряжения cNOS.

Ключевые слова: DL-пропалгілгліцину; L-цистеїну; окислительный стресс; индуцибельная NO-синтаза; конститутивные NO-синтазы; сероводород; фокальная ишемия-реперфузия головного мозга.

N.O. Dorofeeva, Yu.P. Korkach, P.R. Sharipov, V.F. Sagach

THE COMBINED USE OF PROPARGYLGLYCINE AND L-CYSTEINE PREVENTS OXIDATIVE AND NITROSATIVE STRESS IN CARDIAC TISSUES IN FOCAL CEREBRAL ISCHEMIA-REPERFUSION

*O.O. Bogomoletz Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: dorofeyeva@biph.kiev.ua*

Cerebral ischemia is a neurogenerative disorder that leads to partial or general paralysis and subsequent disability. The development of oxidative-nitrosative stress on the background of insufficient production of nitric oxide (NO) and hydrogen sulfide (H₂S) are the main reasons behind the pathogenesis of focal ischemia-reperfusion and cerebrocardial syndrome. We studied the combined use of propargylglycine and L-cysteine as drugs that prevent oxidative and nitrosative stress and are activators of gasotransmitters - NO and H₂S in the heart tissues of rats with focal ischemia. It was shown that focal ischemia-reperfusion was accompanied by a significant increase in the heart of rats calcium-independent inducible synthesis of NO (iNOS) and an increase in markers of oxidative stress (superoxide anion radical, hydroxyl radical, diene conjugates) NO-synthase (cNOS). This caused disruption of nitric oxide synthesis due to the uncoupling state of cNOS in the rat heart. The use of a combination of DL-propargylglycine (11.31 mg/kg) and L-cysteine (112.1 mg/kg) 40 min before the modeling of focal ischemia significantly reduced the activity of iNOS and the content of markers of oxidative metabolism in the heart of adult rats and increased the constitutive synthesis of NO, which led to restoration of the cNOS uncoupling. We observed activation of endogenous synthesis of H₂S, which interacts closely with the nitric oxide system and is a powerful antioxidant. It should also be noted an increase in animal survival after 24 h by 25%. Thus, the combined use of propargylglycine and L-cysteine in rats prevented disruption of NO and H₂S synthesis in cardiac tissues in ischemia-reperfusion due to a slowing of the development of oxidative stress, which helped to restore cNOS coupling.

Key words: DL-propargylglycine; L-cysteine; oxidative stress; inducible NO synthase; constitutive NO synthases; hydrogen sulfide; focal cerebral ischemia-reperfusion.

REFERENCES

1. Johnson W, Onuma O, Owolabi M, Sachdev S. Stroke: a global response is needed. *Bull World Health Organ.* 2016;94(9):634-34A.
2. Nanetti L, Raffaelli F, Vignini A, Perozzi C, Silvestrini M, Bartolini M, et al. Oxidative stress in ischaemic stroke. *Eur J Clin Invest.* 2011;41(12):1318-22.
3. Zhdanov GN, Gerasimova MM. Study of the content of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the blood serum of patients in the acute period of ischemic stroke. *Cytokine Inflammat.* 2006;5(1):27-30.
4. Deb P, Sharma S, Hassan KM. Pathophysiologic mechanisms of acute ischemic stroke: An overview with emphasis on therapeutic significance beyond thrombolysis. *Pathophysiology.* 2010;17(3):197-218.
5. Scheitz JF, Nolte CH, Doehner W, Hachinski V, Endres M. Stroke–heart syndrome: clinical presentation and underlying mechanisms. *Lancet Neurol.* 2018; 17(12):1109-20.
6. Fedichkina RA, Goshovska YV, Sagach VF. Effect of modulation of L-cysteine metabolism on the implementation of Frank-Starling mechanism. *Fiziol Zh.* 2019;65(3S):82. [Ukrainian].
7. Sharipov RR, Kotsiuruba AV, 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].
8. Mys L, Strutynska N, Goshovska Y, Sagach V. Stimulation of the endogenous hydrogen sulfide synthesis suppresses oxidative-nitrosative stress and restores endothelial-dependent vasorelaxation in old rats. *Can J Physiol Pharmacol.* 2020;98(5):275-81.
9. Svenson A. A rapid and sensitive spectrophotometric method for determination of hydrogen sulfide with 2, 2'-dipyridyl disulfide. *Anal Biochem.* 1980;107(1):51-5.
10. Lee J-M, Zipfel GJ, Choi DW. The changing landscape of ischaemic brain injury mechanisms. *Nature.* 1999; 399(6738):A7-14.
11. Erecińska M, Silver IA. Tissue oxygen tension and brain sensitivity to hypoxia. *Respir Physiol.* 2001;128(3): 263-76.
12. Iadecola C, Anrather J. The immunology of stroke: from mechanisms to translation. *Nat Med.* 2011;17(7):796-808.
13. Narne P, Pandey V, Phanithi PB. Role of nitric oxide and hydrogen sulfide in ischemic stroke and the emergent epigenetic underpinnings. *Mol Neurobiol.* 2019;56(3):1749-69.
14. Vázquez-Vivar J, Kalyanaraman B, Martíásek P. The role of tetrahydrobiopterin in superoxide generation from eNOS: enzymology and physiological implications. *Free Radic Res.* 2003;37(2):121-7.
15. Galougahi KK, Liu C-C, Gentile C, Kok C, Nunez A, Garcia A, et al. Glutathionylation mediates angiotensin II-induced eNOS uncoupling, amplifying NADPH oxidase-dependent endothelial dysfunction. *J Am Heart Assoc.* 2014;3(2):e000731.
16. Hill BG, Bhatnagar A. Protein S-glutathiolation: redox-sensitive regulation of protein function. *J Mol Cell Cardiol.* 2012;52(3):559-67.
17. Brandes RP, Fleming I, Busse R. Endothelial aging. *Cardiovascul Res.* 2005;66(2):286-94.
18. Altaany Z, Ju Y, Yang G, Wang R. The coordination of S-sulfhydration, S-nitrosylation, and phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase by hydrogen sulfide. *Sci Signal.* 2014;7(342):ra87-ra87.
19. Kimura Y, Kimura H. Hydrogen sulfide protects neurons from oxidative stress. *FASEB J.* 2004;18(10):1165-7.
20. Kimura Y, Shibuya N, Kimura H. Sulfite protects neurons from oxidative stress. *Br J Pharmacol.* 2019;176(4): 571-82.
21. Fedichkina R, Goshovska Y, Sagach V. P86 stimulation of endogenous glutathione synthesis prevent postreperfusion NOS uncoupling, oxidative nitrosative stress and cardiodynamic disturbances in rats. *Cardiovascul Res.* 2018;114(Suppl. 1).

Матеріал надійшов до редакції 19.05.2021