

УДК 577.15: 616.1

## ГЕМОКСИГЕНАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ В ТКАНЯХ СОСУДОВ И СЕРДЦА КРЫС ПРИ СОВМЕСТНОМ ВВЕДЕНИИ ИНГИБИТОРА NO-СИНТАЗ И ХЛОРИДА ГЕМИНА

П. А. КАЛИМАН, В. П. ФИЛИМОНЕНКО, И. В. НИКИТЧЕНКО

Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина, Украина;  
e-mail: nikitchenkoiv@mail.ru

Установлено, что введение хлорида гемина в дозе 1,5 мг/100 г массы тела вызывает у них накопление общего гема и продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-реагирующих продуктов) в сыворотке крови и сосудах крыс. Предварительное введение N<sup>o</sup>-нитро-L-аргинина (за 0,5 ч до введения хлорида гемина) не влияет на динамику накопления общего гема и ТБК-реагирующих продуктов. После введения хлорида гемина наблюдается повышение гемоксигеназной активности в сосудах. Этот эффект более выражен в условиях предварительного введения ингибитора NO-синтаз. Изменений гемоксигеназной активности и содержания гема ни в один из исследуемых сроков в сердце не наблюдается. Повышение уровня ТБК-реагирующих продуктов в сердце после инъекции экзогенного гемина сопровождается увеличением содержания нитритов и блокируется предварительным введением N<sup>o</sup>-нитро-L-аргинина. Введение только N<sup>o</sup>-нитро-L-аргинина вызывает накопление гема, ТБК-реагирующих продуктов и повышение гемоксигеназной активности в сосудах. Обсуждается роль гема и оксида азота в регуляции гемоксигеназной активности.

*Ключевые слова:* гем, гемоксигеназа, оксид азота, хлорид гемина, N<sup>o</sup>-нитро-L-аргинин.

Гем функционирует в организме как компонент ряда важных гемопротеинов или непосредственно участвует в регуляторных процессах [1]. Накопление свободного гема, в том числе в сосудах и сердечной мышце, представляет большую опасность, поскольку ведёт к усилению образования активных форм кислорода (АФК) с последующим повреждением клеток и развитием сердечно-сосудистых заболеваний [2].

Один из механизмов защиты от прооксидантного действия гема — связывание и разрушение гема гемоксигеназой (ГО, КФ 1.14.99.3) [3]. Конститутивная изоформа ГО-2 определяет скорость деградации гема в норме. Индуцибельный изофермент ГО-1 играет важную роль в адаптации клеток и тканей в условиях стресса. Индукция ГО-1 происходит в ответ на действие стрессорных факторов различной природы. Общей чертой многих из них является способность повышать содержание свободного гема в крови с последующим поступлением его в другие ткани. Учитывая постоянный контакт клеток сосудистой стенки и сердца с различными компонентами крови, в том числе с продуктами гемолиза, функционирование гемоксигеназы в данной системе имеет большое значение.

В регуляции гемоксигеназной активности принимает участие и оксид азота (NO). Извест-

но, что NO индуцирует экспрессию ГО-1 на транскрипционном уровне [4]. С другой стороны, показано, что NO может ингибировать активность ГО-1 и ГО-2 через нитрозилирование гема [5,6]. В свою очередь продукты гемоксигеназной реакции также оказывают влияние на NO-синтазную систему: CO подавляет активность NO-синтаз (NOS) [7], а ионы железа могут активировать транскрипцию гена индуцибельной NO-синтазы (iNOS) [8].

Несмотря на обширный материал, касающийся взаимосвязи гемоксигеназной и NO-синтазной систем, механизмы регуляции гемоксигеназной активности в условиях ингибирования образования NO до конца не изучены. В связи с этим целью данной работы явилось исследование гемоксигеназной активности в сосудах и сердце крыс, содержания общего гема и ТБК-реагирующих продуктов в сыворотке крови, сосудах и сердце при введении хлорида гемина на фоне предварительного введения ингибитора NO-синтаз, N<sup>o</sup>-нитро-L-аргинина.

### Материалы и методы

В работе использовали самцов крыс линии Вистар с массой тела 160–200 г. Хлорид гемина вводили внутривентриально в дозе 1,5 мг на 100 г массы тела животного, N<sup>o</sup>-нитро-L-

аргинин (L-NNA) – внутривенно в дозе 3,5 мг на 100 г массы тела за 0,5 ч до основного воздействия. Контрольным животным вводили соответствующий объем 0,9%-ного NaCl. Животных декапитировали под легким эфирным наркозом через 2 и 24 ч после инъекции хлорида гемина. Сердце и сосуды перфузировали охлажденным физиологическим раствором *in situ*. Исследованные показатели изучали в сыворотке крови, гомогенате сосудов и постмитохондриальной фракции сердца.

Гемоксигеназную активность определяли, как описано в работе [9]. Субстратом служил метгемальбумин (конечная концентрация гемина в кювете – 0,033 мМ, сывороточного альбумина человека – 0,0025 мМ). Инкубацию проводили в темноте при 37 ° в течение 10 мин. Активность фермента рассчитывали по количеству образовавшегося билирубина с использованием молярного коэффициента поглощения  $\epsilon = 4 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$  и выражали в нмоль билирубина/мин на 1 мг белка.

Содержание общего гема определяли методом дифференциальной спектрофотометрии [10] и выражали в нмоль на 1 мг белка, используя молярный коэффициент поглощения  $\epsilon = 32,4 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ .

Содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, определяли как описано в работе [11] и выражали в нмоль на 1 мг белка, используя молярный коэффициент поглощения  $\epsilon = 1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ .

Содержание нитритов в сердце определяли с использованием реактива Грисса и выражали в мкг на 1 мг белка, учитывая данные калибровки с  $\text{NaNO}_2$  [12].

Количество белка оценивали методом Лоури в модификации Миллера, используя в

качестве стандарта бычий сывороточный альбумин [13].

Результаты экспериментов обрабатывали статистически, достоверность различий рассчитывали с использованием непараметрического U-критерия Манна–Уитни для групп с ненормальным распределением признака и параметрического классического или модифицированного *t*-критерия Стьюдента для групп с нормальным распределением признака [14]. Расхождение считали статистически значимым при  $P \leq 0,05$ .

В работе использовали следующие реактивы: NADPH и альбумин (AppliChem GmbH, Германия), 2-тиобарбитуровую кислоту (Organica, Германия), бутанол (Merck, Германия), N<sup>ω</sup>-нитро-L-аргинин, пиридин и дезоксихолат натрия (Fluka, Швейцария), остальные реактивы отечественного производства марки чда или хч.

### Результаты и обсуждение

Введение хлорида гемина сопровождается накоплением гема в сыворотке крови. Так, содержание общего гема в сыворотке превышает контрольные значения в 3,5 раза в первые часы, а через сутки после воздействия несколько снижается, но остается выше исходного уровня (рис. 1). В гомогенате сосудов содержание общего гема увеличивается в 2 раза через 2 ч после инъекции хлорида гемина, а через сутки этот показатель не отличается от контрольных значений (рис. 1). Содержание общего гема в сыворотке коррелирует с его содержанием в сосудах (коэффициент корреляции 0,77;  $P = 0,04$ ). В постмитохондриальной фракции сердца содержание общего гема не изменяется

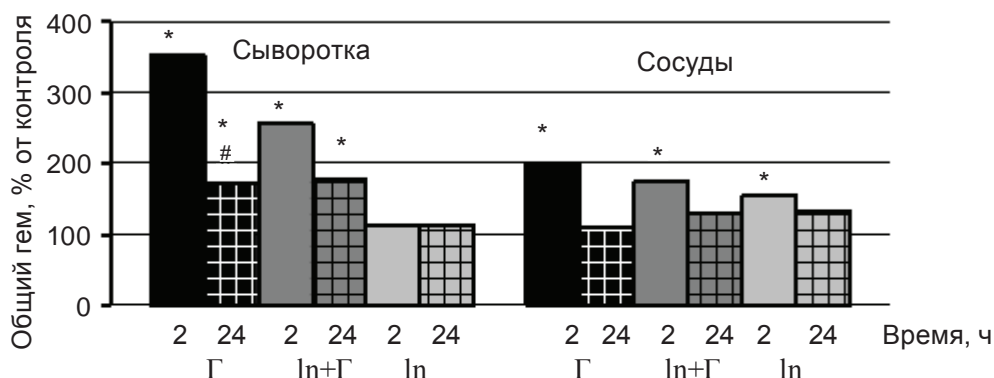


Рис. 1. Содержание общего гема (% по отношению к контролю) после введения хлорида гемина, совместного введения L-NNA и хлорида гемина и введения L-NNA: в сыворотке крови ( $n = 4-7$ , \*  $P \leq 0,05$  по отношению к контролю, #  $P \leq 0,05$  по отношению к «гемин, 2 ч») и сосудах ( $n = 3-5$ , \*  $P \leq 0,05$  по отношению к контролю). Г – хлорид гемина, ln – L-NNA

ни в один из исследуемых сроков после введения хлорида гемина (табл. 1).

Известно, что гем и гемопротеины, накапливающиеся в кровяном русле в результате лизиса эритроцитов, связываются с белками плазмы крови (гемопексином, альбумином, гаптоглобином) и переносятся по рецептор-опосредованному механизму в клетки печени, где подвергаются деградации [1]. Однако при интенсивном гемолизе, когда гемсвязывающие «возможности» белков плазмы исчерпаны, гем, как липофильная молекула, может свободно проходить через плазматические мембраны в клетки различных тканей, в том числе эндотелий сосудов [15]. Продукты гемолиза пополняют внутриклеточный пул свободного гема, который является активатором свободнорадикального окисления [1]. Отсутствие накопления гема в сердце при повышении его содержания в сыворотке крови, вероятно связано с преобладанием специфических механизмов транспорта гема в крови. Вследствие этого гем из кровяного русла поступает, прежде всего, в печень, что приводит к быстрому снижению уровня гема в сыворотке крови (рис. 1). Накопление более высоких концентраций гема в крови, наблюдаемое при ряде патологических состояний (при действии гемолитических агентов, обширных мышечных травмах, аутоиммунных заболеваниях и др.), сопровождается повышением содержания гема и в кардиомиоцитах [16].

В данном эксперименте одновременно с накоплением гема в сыворотке крови отмечается повышение содержания ТБК-реагирующих продуктов в 1,5 и 1,7 раза через 2 и 24 ч соот-

ветственно (рис. 2). Перенос гема в сосуды из кровяного русла по-видимому осуществлялся по неспецифическим механизмам транспорта, поскольку сопровождался накоплением ТБК-реагирующих продуктов (рис. 2).

В сердце содержание ТБК-реагирующих продуктов не изменяется в ранние сроки, но повышается через сутки после инъекции гемина (табл. 2).

Один из путей снижения концентрации свободного гема в клетке – его разрушение ферментами гемоксигеназной системы. В нормальных условиях в сердце и сосудах преобладает конститутивный изофермент ГО-2. Однако при действии на организм стрессорных факторов различной природы большое значение в ограничении повреждающего действия гема приобретает активация синтеза индуцибельной формы ГО-1.

Введение хлорида гемина в первые часы вызывает повышение в 1,7 раза активности ГО в сосудах, которая остается повышенной и через сутки (в 1,3 раза по сравнению с контролем) (табл. 3). В сердце активность фермента не отличается от контрольных значений после введения экзогенного гемина (табл. 1). Как показано в работе [17], использование более высокой дозы хлорида гемина (2,5 мг/100 г массы тела) вызывает индукцию гемоксигеназы-1 в сердце через сутки после воздействия.

Известно, что в нормальных условиях базальный уровень продукции гемоксигеназы-1 ингибируется фактором транскрипции Vach1 (BTV and CNC homology 1), а свободный гем активует синтез ГО-1 посредством дерепрессии Vach1 [18]. Показано, что избыток свобод-

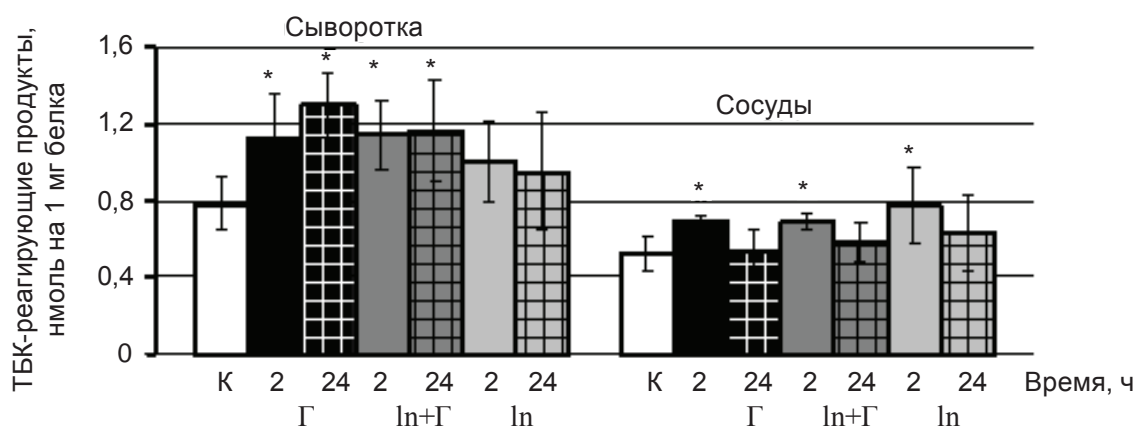


Рис. 2. Содержание ТБК-реагирующих продуктов (нмоль на 1 мг белка) после введения хлорида гемина, совместного введения L-NNA и хлорида гемина и введения L-NNA: в сыворотке крови (n = 4–7, \* P ≤ 0,05 по отношению к контролю) и сосудах (n = 3–4, \* P ≤ 0,05 по отношению к контролю). Г – хлорид гемина, ln – L-NNA

Таблица 1. Содержание общего гема (нмоль на 1 мг белка,  $M \pm s$ ,  $n = 3-5$ ) и гемоксигеназная активность (нмоль билирубина/мин/мг белка,  $M \pm s$ ,  $n = 3-5$ ) в сердце после введения хлорида гемина, совместного введения L-NNA и хлорида гемина и введения L-NNA

Показатель	Контроль	Хлорид гемина		L-NNA+хлорид гемина		L-NNA	
		2 ч	24 ч	2 ч	24 ч	2 ч	24 ч
Гем	$1,50 \pm 0,61$	$1,52 \pm 0,50$	$1,62 \pm 0,44$	$1,92 \pm 0,46$	$1,27 \pm 0,30$	$1,54 \pm 0,42$	$1,60 \pm 0,54$
Гемоксигеназа	$0,026 \pm 0,004$	$0,024 \pm 0,002$	$0,027 \pm 0,003$	$0,024 \pm 0,004$	$0,026 \pm 0,004$	$0,022 \pm 0,003$	$0,024 \pm 0,005$

Таблица 2. Содержание ТБК-реагирующих продуктов, нмоль на 1 мг белка, Me (интерквартильный размах),  $n = 4-7$ ) и нитритов, мкг на 1 мг белка,  $M \pm s$ ,  $n = 3-5$  в сердце после введения хлорида гемина, совместного введения хлорида гемина и L-NNA и введения L-NNA

Показатель	Контроль	Хлорид гемина		L-NNA+хлорид гемина		L-NNA	
		2 ч	24 ч	2 ч	24 ч	2 ч	24 ч
ТБК-реагирующие продукты	0,042 (0,039÷0,053)	0,051 (0,041÷0,075)	0,078 (0,061÷0,094)*	0,04 (0,035÷0,053)	0,051 (0,048÷0,053)	0,032 (0,032÷0,04)	0,039 (0,036÷0,062)
Нитриты	$0,245 \pm 0,090$	$0,213 \pm 0,050$	$0,52 \pm 0,06^*$	$0,266 \pm 0,070$	$0,26 \pm 0,06$	$0,223 \pm 0,090$	$0,220 \pm 0,114$

\*  $P \leq 0,05$  по отношению к контролю

Таблица 3. Гемоксигеназная активность в сосудах после введения хлорида гемина, совместного введения L-NNA и хлорида гемина и введения L-NNA, нмоль билирубина/мин/мг белка, Me (интерквартильный размах),  $n = 3-5$

Показатель	Гемин		L-NNA+гемин		L-NNA	
	2 ч	24 ч	2 ч	24 ч	2 ч	24 ч
Контроль	0,032 (0,019÷0,023)	0,026 (0,025÷0,034)*	0,053 (0,045÷0,059)*,#	0,026 (0,022÷0,026)	0,039 (0,032÷0,044)*	0,020 (0,018÷0,021)

\*  $P \leq 0,05$  по отношению к контролю, #  $P \leq 0,05$  по отношению к «хлорид гемина, 2 ч»



ного гема ведет также к снятию ингибирования регуляторным белком Keap1 (Kelch-like erythroid-derived CTC homology-associating protein 1) транскрипционного фактора Nrf2 (nuclear related factor 2) с транслокацией последнего в ядро и последующей индукцией ГО-1 [19]. Еще один предполагаемый механизм индукции ГО-1 свободным гемом – активация экспрессии гена данного изофермента фактором транскрипции NF-κB (nuclear factor kappa B) при участии ГО-2 [3].

Balla J. et al. [15] продемонстрировали, что захват гема эндотелиальными клетками сосудов сопровождается индукцией ГО-1. Следовательно, повышение гемоксигеназной активности в сосудах после введения хлорида гема (табл. 3) опосредовано накоплением гема и обусловлено синтезом de novo индуцибельной формы гемоксигеназы – ГО-1. А отсутствие изменений в гемоксигеназной активности в сердце очевидно связано с низким уровнем свободного гема в этом органе.

Предварительное введение неспецифического конкурентного ингибитора NO-синтазы, N<sup>o</sup>-нитро-L-аргинина, не влияет на динамику накопления гема в сыворотке крови, наблюдаемую после инъекции хлорида гема. Содержание гема остается выше контрольного уровня и через 2 ч, и через сутки после совместного введения экзогенного гема и ингибитора (рис. 1). Базальный уровень общего гема в сыворотке крови при введении N<sup>o</sup>-нитро-L-аргинина не изменяется ни в один из исследуемых сроков. Предварительное введение ингибитора NO-синтазы не оказывает влияния на динамику накопления гема и в сосудах: в первые часы сохраняется повышение уровня общего гема, а через сутки этот показатель снижается до уровня контрольных значений (рис. 1). В то же время N<sup>o</sup>-нитро-L-аргинин вызывает увеличение базального уровня общего гема в сосудах в ранние сроки. Содержание общего гема в сердце не изменяется после совместного введения ингибитора NO-синтазы и хлорида гема ни в один из исследуемых сроков (табл. 1). Введение только N<sup>o</sup>-нитро-L-аргинина также не влияет на данный показатель ни через 2, ни через 24 ч.

На динамику накопления ТБК-реагирующих продуктов в сыворотке крови и в сосудах предварительное введение N<sup>o</sup>-нитро-L-аргинина не оказывает влияния (рис. 2). Сам ингибитор также не оказывает влияния на данный показатель в сыворотке, тогда как в сосудах вызывает повышение содержания ТБК-реагирующих продуктов в первые часы после инъекции.

Повышение ТБК-реагирующих продуктов в сердце через сутки после инъекции экзогенного гема предотвращается предварительным введением ингибитора NO-синтазы (табл. 2). Сам N<sup>o</sup>-нитро-L-аргинин не оказывает влияния на базальный уровень этого показателя в сердце ни в один из исследуемых сроков.

Блокирование N<sup>o</sup>-нитро-L-аргинином повышения ТБК-реагирующих продуктов в сердце, вызванного введением хлорида гема, свидетельствует о том, что активация свободнорадикальных процессов связана с образованием оксида азота в NO-синтазных реакциях. Последнее подтверждается данными о повышении в сердце содержания стабильных метаболитов NO-нитритов (табл. 2). Коэффициент корреляции между содержанием ТБК-реагирующих продуктов и нитритов в сердце составляет 0,89 ( $P = 0,007$ ).

Отсутствие изменений в динамике ТБК-реагирующих продуктов в сыворотке крови и сосудах при совместном введении ингибитора NO-синтазы и хлорида гема свидетельствует о том, что изменения в прооксидантно-антиоксидантном состоянии этих тканей вызваны образованием активных форм кислорода, а не азота.

Спектр процессов, в который вовлечен оксид азота в норме и при патологии очень широк, в том числе NO участвует в регуляции активности гемоксигеназы. Данные литературы свидетельствуют об активации экспрессии ГО-1 оксидом азота через транскрипционный фактор AP-1 (aktivator protein-1) [4]. Другой известный путь активации фермента этим соединением – повышение стабильности мРНК гемоксигеназы-1 [7]. Однако образование нитрозильных комплексов оксида азота с гемом в активном центре ГО-1 и ГО-2 или в гем-регуляторных участках ГО-2 инактивирует эти изоферменты [5,6].

При совместном введении N<sup>o</sup>-нитро-L-аргинина и хлорида гема в сосудах наблюдается более выраженное повышение гемоксигеназной активности (табл. 3), что, очевидно, связано с различными путями, по которым реализуют свои эффекты эти агенты. При этом введение самого ингибитора увеличивает активность фермента в ранние сроки и не влияет на данный показатель через сутки.

В сердце при совместном введении N<sup>o</sup>-нитро-L-аргинина и хлорида гема гемоксигеназная активность не отличается от контрольных значений ни в один из исследуемых сроков (табл. 1). На базальную активность исследованного фермента введение ингибитора не влияет.

Повышение гемоксигеназной активности в сосудах после введения ингибитора NO-синтазы, может быть связано с увеличением активности как ГО-2, так и ГО-1. Известно, что активность ГО-2 регулируется через гем-регуляторные сайты в молекуле фермента. Нитрозилирование гема в этих участках ингибирует активность ГО-2 [6]. Авторы работы [7] связывают повышение гемоксигеназной активности в сосудистой стенке при сильной гипоксии, когда заингибированы NO-синтазы, с активацией ГО-2. Однако в нашем эксперименте при введении ингибитора наблюдается накопление гема в сосудах, поэтому повышение гемоксигеназной активности может быть и результатом индукции ГО-1. В работе [20] показано увеличение ГО активности в условиях снижения ферментативного образования NO при атеросклерозе сосудов за счет индукции ГО-1.

Известно, что при подавлении синтеза NO функцию сосудорасслабляющего фактора выполняет монооксид углерода, главным источником которого в клетках млекопитающих является гемоксигеназная реакция [7]. В связи с этим, повышение ГО активности в условиях снижения образования NO может быть компенсаторным механизмом для поддержания нормального тонуса сосудов.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что введение хлорида гемина в дозе 1,5 мг/100 г массы тела вызывает накопление общего гема в сыворотке крови и сосудах, но не в сердце. Во всех исследованных тканях и органах наблюдается активация свободнорадикальных процессов, однако только в сердце она связана с образованием оксида азота в NO-синтазных реакциях. Повышение активности ГО в сосудах более выражено при совместном введении N<sup>o</sup>-нитро-L-аргинина и хлорида гемина. Сам ингибитор также увеличивает активность ГО в сосудистой стенке, по-видимому за счет индукции гемоксигеназы-1 свободным гемом.

## ГЕМОКСИГЕНАЗНА АКТИВНІСТЬ У ТКАНИНАХ СУДИН ТА СЕРЦЯ ЩУРІВ ЗА СУМІСНОГО ВВЕДЕННЯ ІНГІБІТОРА NO-СИНТАЗ ТА ХЛОРИДУ ГЕМІНУ

П. А. Каліман, В. П. Філімоненко,  
І. В. Нікітченко

Харківський національний університет  
ім. В. Н. Каразіна, Україна;  
e-mail: nikitchenkoiv@mail.ru

Встановлено, що введення хлориду геміну в дозі 1,5 мг/100 г маси тіла спричинює накопичення загального гему і ТБК-реагуючих продуктів у сироватці крові та судинах щурів. Попереднє введення N<sup>o</sup>-нітро-L-аргініну (за 0,5 год до введення хлориду геміну) не впливає на динаміку накопичення загального гему і ТБК-реагуючих продуктів. Після введення хлориду геміну спостерігається підвищення гемоксигеназної активності в судинах. Цей ефект більш виражений за умов попереднього введення інгібітора NO-синтаз. У серці не спостерігається змін гемоксигеназної активності та вмісту загального гему в жоден із досліджуваних термінів. Підвищення рівня ТБК-реагуючих продуктів у серці після ін'єкції екзогенного геміну супроводжується збільшенням вмісту нітритів і блокується попереднім введенням N<sup>o</sup>-нітро-L-аргініну. Введення тільки N<sup>o</sup>-нітро-L-аргініну спричинює накопичення гему, ТБК-реагуючих продуктів та підвищення гемоксигеназної активності в судинах. Обговорюється роль гему та оксиду азоту в регуляції гемоксигеназної активності.

Ключові слова: гемоксигеназа, гем, оксид азоту, хлорид геміну, N<sup>o</sup>-нітро-L-аргінін.

**HEME OXYGENASE ACTIVITY  
IN THE TISSUES OF THE  
VESSELS AND HEART OF RATS  
UNDER CO-ADMINISTRATION  
OF NO-SYNTASES AND HEMIN  
CHLORIDE**

*P. A. Kaliman, V. P. Filimonenko,  
I. V. Nikitchenko*

Karazin Kharkov National University, Ukraine;  
e-mail: nikitchenkoiv@mail.ru

**S u m m a r y**

The administration of hemin chloride in a dose of 1.5 mg/100 g of the body weight was found to cause accumulation of the total heme and TBA-reactive products in the rat blood serum and vessels. Pretreatment by N<sup>o</sup>-nitro-L-arginine (0.5 h before hemin chloride administration) did not affect the dynamics of the total heme and TBA-reacting products accumulation. The increase of heme oxygenase activity was observed in the vessels after hemin chloride administration. This effect was strengthened by N<sup>o</sup>-nitro-L-arginine pretreatment. The changes of heme oxygenase activity and the total heme level in heart were not observed at any periods studied. The increase of the TBA-reactive products level in the heart after exogenous hemin injection was accompanied by an increase of nitrites content and blocked by pretreatment of NOS inhibitor. The N<sup>o</sup>-nitro-L-arginine alone caused the accumulation of the total heme, TBA-reacting products and the increase of heme oxygenase activity in the vessels. The role of heme and NO in regulation of the heme oxygenase activity is discussed.

**Key words:** heme oxygenase, heme, nitric oxide, hemin chloride, N<sup>o</sup>-nitro-L-arginine.

1. *Wagener F.A.D.T.G., Volk H. D., Willis D. et al.* // *Pharmacol. Rev.* – 2003. – N 55. – P. 551–571.

2. *Balla J., Vercellotti G. M., Nath K. et al.* // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 2003. – N 5. – P. 8–12.  
3. *Maines M. D.* // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 1997. – N 37. – P. 517–554.  
4. *Bouton C., Demple B.* // *J. Biol. Chem.* – 2000. – **275**, N 42. – P. 32688–32693.  
5. *Jukket M., Zheng Y., Yuan H. et al.* // *Ibid.* – 1998. – **273**, N 36. – P. 23388–233297.  
6. *Ding Y., McCoubrey W. K., Maines M. D.* // *Eur. J. Biochem.* – 1999. – **264**. – P. 854–861.  
7. *Wu L., Wang R.* // *Pharmacol. Rev.* – 2005. – N 57. – P. 585–630.  
8. *Carraway M. S., Yhio A. J., Carter J. D.* // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* – 2000. – **278**, N 1. – P. 806–812.  
9. *Sardana M. K., Sassa S., Kappas A.* // *Biochem. Pharmacol.* – 1985. – **34**, N 16. – P. 2937–2944.  
10. *Paul K. G., Theorell H., Akesson A.* // *Acta Chem. Scand.* – 1953. – **7**, N 9. – P. 1284–1287.  
11. *Ohkawa H., Ohahi N., Jadi K.* // *Anal. Biochem.* – 1979. – **95**, N 2. – P. 351–358.  
12. *Green L. C., Wagner D. A., Glogovski J. et al.* // *Ibid.* – 1982. – **126**. – P. 131–138.  
13. *Miller G. L.* // *Anal. Chem.* – 1959. – **31**, N 5. – P. 964–966.  
14. *Гланц С.* Медико-біологічна статистика. Пер. с англ. – М.: Практика, 1998. – 459 с.  
15. *Balla J., Jacob H. S., Balla G. et al.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1993. – **90**. – P. 9285–9289.  
16. *Павіченко О. В., Каліман П. А.* // *Медична хімія.* – 2003. – № 3. – С. 68–71.  
17. *Кукоба Т. В., Мойбенко О. О., Коцюрuba А. В.* // *Фізіол. журн.* – 2003. – **49**, № 6. – С. 14–21.  
18. *Zenke-Kawasaki Y., Dohi Y., Katoh Y. et al.* // *Mol. Cel. Biol.* – 2007. – **27**, N 19. – P. 6962–6971.  
19. *Ryter S. W., Alam J., Choi A. M. K.* // *Physiol. Rev.* – 2006. – N 86. – P. 583–650.  
20. *Siow R. C., Sato H., Mann G. E.* // *Cardiovasc. Res.* – 1999. – **41**, N 2. – P. 385–394.

Получено 08.11.2007