

Т. В. Кукоба, О.О. Мойбенко, А.В. Коцюруба

Кардіопротективна дія індукції гемоксигенази-1 за допомогою геміну при ішемії – реперфузії ізольованого серця щура

В експериментах на ізольованих серцях крыс, перфузируемых по методу Лангендорфа, изучали участие индуцибельной изоформы фермента гемоксигеназы (ГО-1) и продуктов, которые образуются при катаболизме гема (билирубина, монооксида углерода и ионов двухвалентного железа) в образовании активных форм кислорода и защите миокарда от постшемических повреждений. Было показано, что 20-минутная ишемия и последующая 40-минутная реперфузия вызывают ослабление функций сердца – снижают давление, развиваемое левым желудочком, приводят к повышению конечно-диастолического давления, перфузионного давления в коронарных сосудах и их сопротивления. В реперфузионный период отмечается усиление образования свободных радикалов кислорода, что приводит к повреждению кардиомиоцитов и увеличению выхода в перфузат креатинкиназы. Предварительная индукция ГО-1 путем инъекции гемина (25 мг/кг внутривенно за 24 ч до эксперимента) приводит к повышению активности фермента, усилению образования кардиального билирубина, существенно ингибирует образование активных форм кислорода, уменьшает повреждение кардиомиоцитов и содержание креатинкиназы в перфузате, вызывает расширение коронарных сосудов и улучшает функциональные показатели работы сердца.

ВСТУП

Нині у літературі є багато повідомлень стосовно участі гемоксигенази-1 (ГО-1), індуцибельної ізоформи ключового ферменту катаболізму гему, у захисті клітин від пошкоджень. Показано, що мікросомальний фермент ГО-1, який індукується при дії на організм стресорних факторів різного походження, може відігравати важливу роль у механізмах захисту клітин, зокрема від окисного стресу. Більшість дослідників при цьому підкреслюють цитопротективні ефекти, які супроводжують посилення індукції ГО-1. У дослідях *in vitro* з використанням моделей окисного стресу, що супроводжуються стійкою експресією ГО-1 в епітеліальних клітинах легень, було продемонстровано підвищення

резистентності клітин до гіпероксичних пошкоджень [14]. Подібний захисний ефект також був показаний при застосуванні геміну на культурі епітеліальних клітин трахеї людини [27]. Suttner і Dennerу [23], досліджуючи вплив різних рівнів експресії ГО-1, підтвердили що помірна індукція ГО-1 є корисною для виживання клітин. Вважається, що протективний вплив ГО-1 опосередковується через ефекти продуктів, що утворюються у результаті її дії, а саме монооксиду вуглецю (СО), іонів вільного заліза (Fe^{2+}) та білівердину, який швидко перетворюється на білірубін за допомогою ферменту білівердинредуктази. СО за фізіологічних умов бере участь у багатьох регуляторних процесах, зокрема у регуляції судинного тонуусу, подібно до

© Т. В. Кукоба, О.О. Мойбенко, А.В. Коцюруба

оксиду азоту, спричинюючи вазодилатацію через активацію розчинної гуанілатциклази [7, 10]. Деякі автори розглядають його як сигнальну молекулу [21, 24]. Монооксид вуглецю також має такі проти-запальні властивості як пригнічення активності та агрегації тромбоцитів через утворення цГМФ [17]. В останні роки з'явилися повідомлення, що антиапоптоична дія ГО-1 також пов'язана з ефектами монооксиду вуглецю [5, 19]. Інші продукти, що утворюються з гемму – білівердин і білірубін – виявляють антиоксидантні властивості, оскільки їх редокс-цикли є пастками для вільних радикалів. Білірубін, зокрема, складає найбільшу частину антиоксидантної активності плазми крові людини, а за ефективністю дії у мозку не поступається такому потужному антиоксиданту, як α -токоферол [11, 22]. Нещодавно було показано позитивний вплив білірубину, який утворюється при посиленні активності ГО-1, на функціонування ішемізованого міокарда [6, 12]. І, нарешті, іони вільного заліза можуть впливати як на утворення вільних радикалів, так і на синтез протективного білка феритину, який секвеструє Fe^{2+} та опосередковує тривалу цитопротективну дію ГО-1 [9, 25]. Також відомо, що індукція синтезу ГО-1, наприклад, іонами важких металів (кадмію, кобальту або ртуті), супроводжується посиленням процесів вільнорадикального окиснення [1, 2]. Тому актуальним є дослідження зв'язку індукції ГО-1 з вільнорадикальними процесами. Недостатньо вивчено механізми дії білірубину та регуляторний вплив ендogenousого СО на гемодинаміку, особливо при посиленні експресії ГО-1. Загалом механізми протективної дії ГО-1 і продуктів, що утворюються при руйнуванні гемму, ще до кінця не розкриті.

Метою нашої роботи було вивчення впливу індукції ГО-1 і продуктів гемоксигеназної реакції на вільнорадикальні

процеси та функціонування міокарда за умов ішемії – реперфузії.

МЕТОДИКА

Дослідження проведено на самцях щурів масою 200 – 250 г. Тварин анестезували уретаном (1,9 г/кг [3]), швидко вилучали серця та поміщали їх у льодяний розчин Кребса – Хензелейта, який містив (ммоль/л): NaCl – 118,2, $NaHCO_3$ – 25, KCl – 4,8, $MgSO_4$ – 1,2, KH_2PO_4 – 1,2, $CaCl_2$ – 1,7, глюкоза – 12. Розчин насичували карбогеном (95% O_2 та 5% CO_2) та термостатували до 37°C; рН 7,4. Ізольовані серця перфузували ретроградно за класичним методом Лангендорфа з 20-хвилинною тотальною ішемією та наступною 40-хвилинною реперфузією. Інтактні тварини склали контрольну групу. У щурів дослідної групи викликали індукцію ГО-1 внутрішньоочеревинною ін'єкцією геміну (“Sigma”, США) у дозі 25 мг/кг. Останній розчинювали у 0,1 моль/л NaOH, розводили фізіологічним розчином і встановлювали рН 7,4. Препарат вводили за добу до експерименту. За даними літератури посилення індукції ГО-1 *in vitro* реєструється вже через 1 – 6 год, у дослідях *in vivo* показано посилення експресії ГО-1 через 24 год після ін'єкції геміну [9, 12]. Під час експерименту реєстрували показники функціональної активності міокарда та коронарних судин, а саме: частоту серцевих скорочень (ЧСС), кінцево-діастолічний тиск (КДТ), тиск, що розвиває лівий шлуночок (ТРЛШ), який розраховували як різницю між систолічним тиском у лівому шлуночку та КДТ, коефіцієнт роботи серця (КРС = ТРЛШ x ЧСС / 1000), перфузійний тиск у коронарних судинах та їх гідралічний опір. Біохімічними методами визначали активність ГО-1 у мікосомальній фракції гомогенатів міокарда [15] та утворення активних форм кисню (АФК): супероксиданіон-радикала ($O_2^{\cdot-}$) [16], перекису водню (H_2O_2) [13] та

гідроксильного радикала ($\cdot\text{OH}$) [8]. Використовуючи набори реактивів фірми “Лакхема” (Чехія), у перфузаті у динаміці ішемії – реперфузії визначали вміст білірубину та креатинкінази, що дозволяло оцінювати ступінь постішемичного пошкодження міокарда.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Було показано, що базальний рівень перфузійного тиску у коронарних судинах, ЧСС, ТРЛШ і швидкість скорочення та розслаблення серцевого м'яза в тварин обох груп був подібним. Однак після 20 хв ішемії у тварин контрольної групи у період реперфузії спостерігалось значне підвищення КДТ і зниження ТРЛШ. Ішемія та наступна реперфузія викликали звуження коронарних судин, яке супроводжувалося підвищенням у них перфузійного тиску та опору (таблиця). У постішемичний період реестрували посилення окисного стресу, внаслідок підвищення утворення АФК (рис. 1, 2). Збільшення вмісту АФК поглиблювало вільнорадикальне пошкодження міокарда, яке супроводжувалося посиленням виходу у перфузат креатинкінази протягом усього періоду реперфузії, що додатково свідчило про руйнування мембран кардіоміоцитів (рис. 3,а). У перфузаті після періоду ішемії спостерігалось деяке підвищення вмісту білірубину, який упродовж наступного періоду реперфузії поступово знижувався (рис. 3,б), а у гомогенаті тканини міокарда після ішемії – реперфузії рееструвалося вірогідне зниження активності ГО-1 на 21,8% щодо контролю (рис. 4).

Попереднє застосування специфічного індуктора ГО-1 геміну з метою посилення індукції ферменту виявляло кардіопротективний вплив на ізольований міокард. Серця тварин, яким попередньо вводили гемін, були більш стійкими до ішемії. Якщо термін зупинки серця під час ішемії у

контролі становив $5,7 \text{ хв} \pm 0,83 \text{ хв}$, то при індукції ГО-1 уже $16,4 \text{ хв} \pm 0,4 \text{ хв}$, а в 60% випадків серця тварин з дослідної групи продовжували скорочуватися протягом

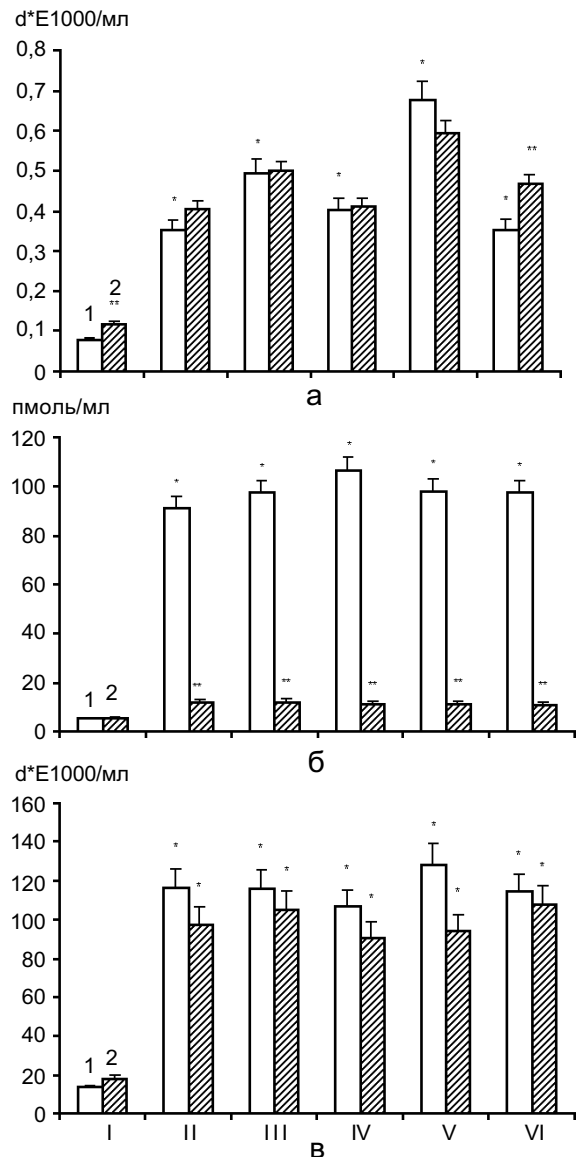


Рис. 1. Вміст активних форм кисню у перфузаті у контролі (1) та при індукції активності гемоксигенази-1 геміном (2): а – супероксиданіон-радикал; б – перекис водню; в – гідроксильний радикал; I – початкові значення; II – 1 хв реперфузії; III – 5 хв реперфузії; IV – 15 хв реперфузії; V – 30 хв реперфузії; VI – 40 хв реперфузії.

* вірогідно до початкових значень;

** вірогідно до контролю; $P < 0,05$ (тут і на рис. 2 – 4)

усього періоду ішемії. Посилення активності ГО-1 не викликало вірогідних змін ЧСС, однак КРС на 40-й хвилині реперфузії порівняно з контролем збільшувався. До ішемії у контролі він становив $5,65 \pm 2,90$, а при використанні геміну – $5,55 \pm 1,86$. Через 40 хв реперфузії КРС у конт-

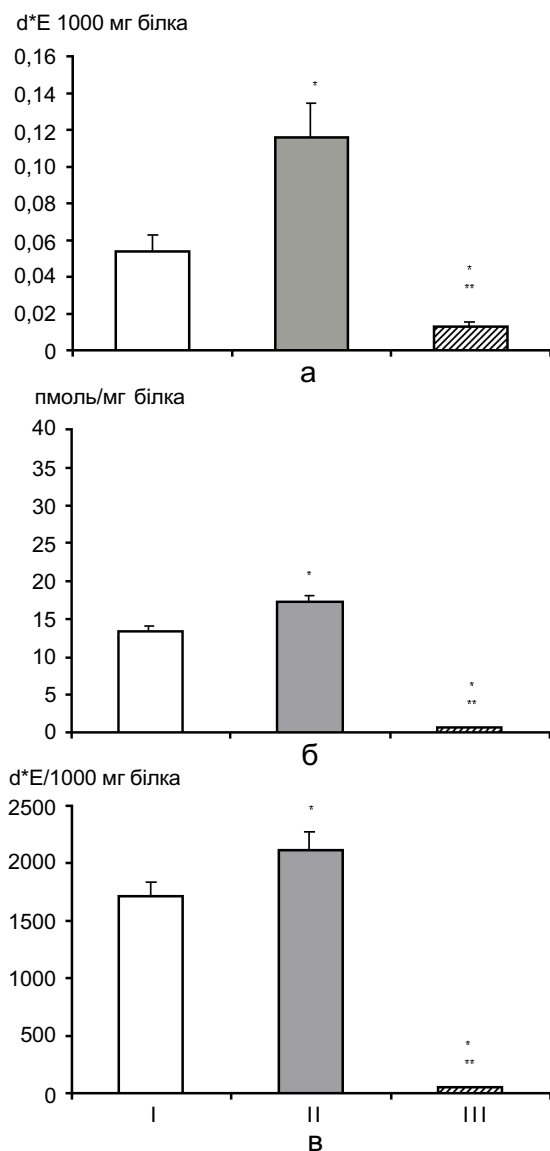


Рис. 2. Вміст активних форм кисню у гомогенаті тканини міокарда у контролі (I), при ішемії – реперфузії (II) та при індукції активності гемоксигенази-1 геміном (III): а – супероксиданіон-радикал; б – перекис водню; в – гідроксильний радикал

ролі був $2,15 \pm 0,50$, а у дослідній групі – $4,82 \pm 1,16$. КДТ у лівому шлуночку, починаючи з 5 хв реперфузії і до кінця експерименту, був вірогідно нижчим, ніж у контрольній групі. ТРЛШ був вірогідно вищим щодо контролю (див.таблицю). Індукція ГО-1 призводила до розслаблення коронарних судин, запобігала суттєвому підвищенню перфузійного тиску у коронарних судинах у постішемічний період і призводила до зниження їх гідравлічного опору (див. таблицю, рис. 5). Оскільки відомо, що з кожної молекули геміну під впливом ГО одночасно утворюється не лише білірубін, а й монооксид вуглецю, ми, припускаємо, що саме збільшення утворення СО внаслідок посилення активності ГО-1 після її попередньої індукції, може опосередковувати розслаблення коронарних судин і, таким чином, брати участь у обмеженні постішемічного ураження тканини міокарда. У нашому експе-

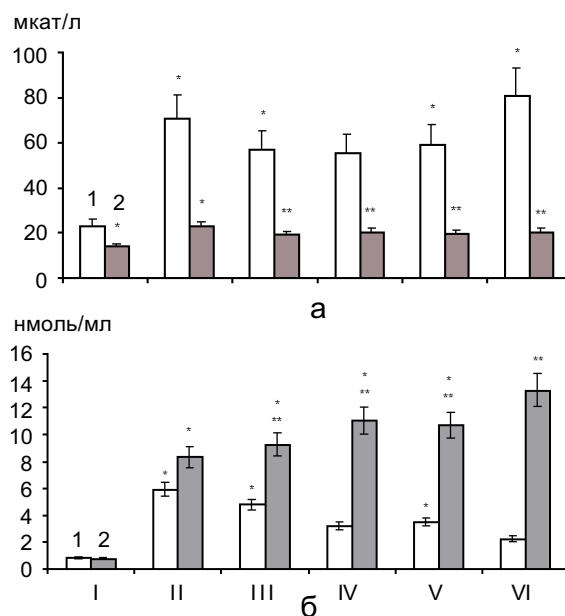


Рис. 3. Вміст креатинкінази (а) та білірубину (б) у перфузаті у динаміці ішемії – реперфузії у контролі (1) та при індукції гемоксигенази-1 геміном (2): I – початкові значення; II – 1 хв реперфузії; III – 5 хв реперфузії; IV – 15 хв реперфузії; V – 30 хв реперфузії; VI – 40 хв реперфузії

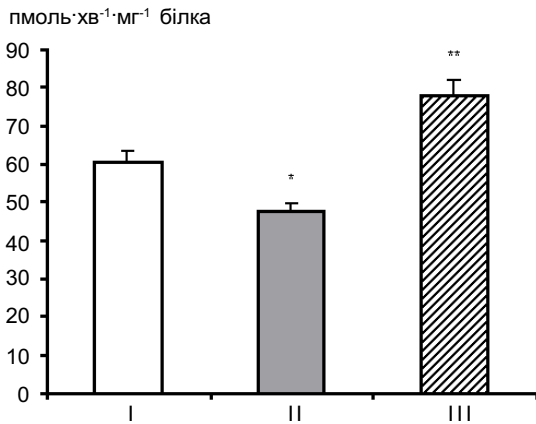


Рис. 4. Активність гемоксигенази-1 у гомогенаті тканини міокарда у контролі (I), після ішемії – реперфузії (II) та при попередньому введенні геміну (III)

рименті введення геміну значно посилювало активність ГО-1 (на 28,7% порівняно з контролем та на 64,6% порівняно з результатами за умов ішемії), супроводжувалося збільшенням виходу кардіального білірубіну у перфузат: у 1,4 раза на 1-й хвилині та у 6 разів на 40-й хвилині реперфузії порівняно з контролем (див. 3,6; 4). Посилення активності ГО-1 призводило до вірогідного пригнічення вільнорадикальної продукції у постішемичний період і зниження вмісту у перфузаті креатинкінази, що свідчило про послаблення окисного стресу. Індукція ГО-1 може виявляти двоякий вплив на вільнорадикальні

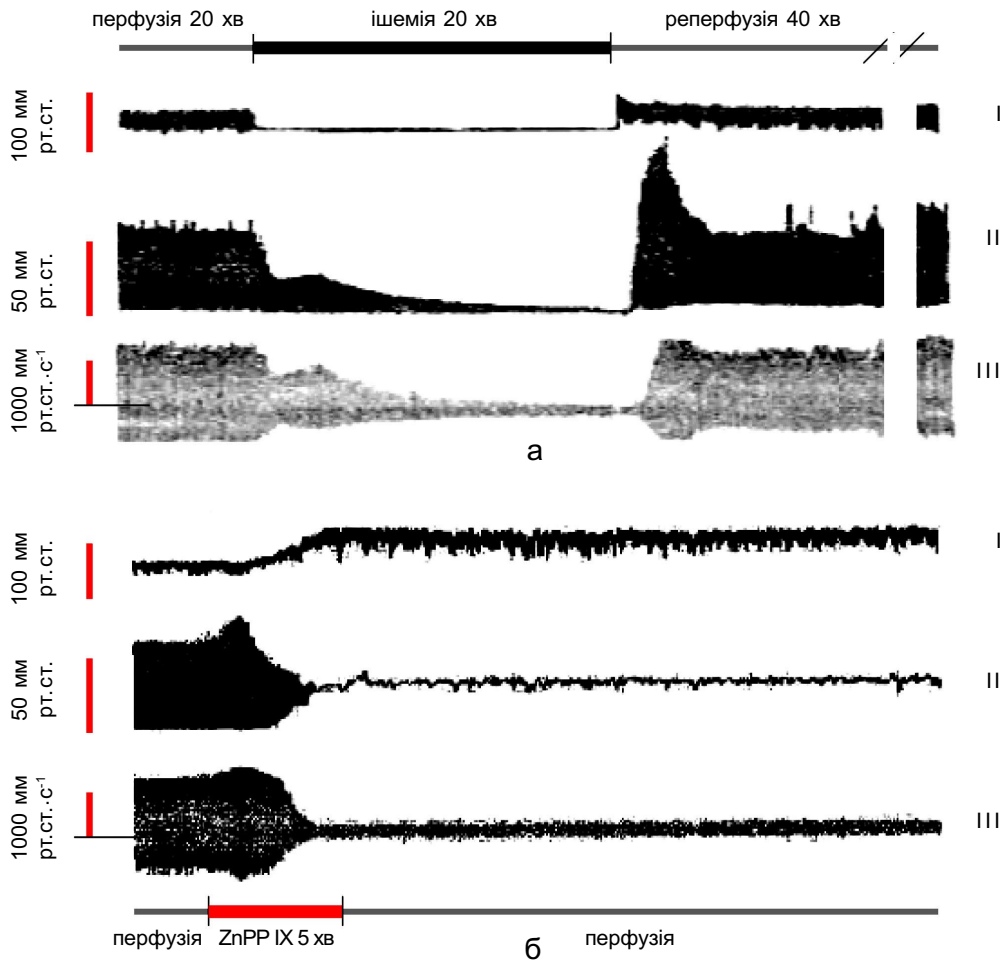


Рис. 5. Вплив індукції та інгібування активності гемоксигенази-1 на роботу ізолюваного серця: а – ін'єкція геміну (25 мг/кг за добу до експерименту); б – 5-хвилинна інфузія ZnPP IX (20 мкмоль/л) у перфузат; I – перфузійний тиск у коронарних судинах; II – тиск у лівому шлуночку; III – перша похідна

Показники роботи ізольованого серця інтактних щурів і щурів, що отримували індуктор активності ГО-1 гемін (M±m, n=10-12)

Показник	Вихідний стан	Реперфузія				
		1 хв	5 хв	15 хв	30 хв	40 хв
Перфузійний тиск у коронарних судинах, мм рт. ст.						
контроль	71,0 ± 2,24	120,0 ± 15,81 *	127,5 ± 9,27 *	118,0 ± 17,88 *	126,0 ± 8,94 *	124,0 ± 8,94 *
дослід	69,99 ± 0,11	95,0 ± 5,0 *	82,22 ± 3,48 **, **	82,29 ± 2,88 *	79,25 ± 1,12 **	85,25 ± 6,35**
Опір коронарних судин, мм рт. ст.·мл ⁻¹ ·хв ⁻¹						
контроль	10,25 ± 2,02	20,85 ± 4,16 *	21,23 ± 6,02 *	20,08 ± 7,54 *	19,58 ± 5,42 *	23,49 ± 8,61 *
дослід	6,28 ± 0,62	9,31 ± 1,57 **, **	8,50 ± 2,01 **	8,51 ± 2,13 **	8,42 ± 2,48 **	9,48 ± 2,81**
Тиск, що розвиває лівий шлуночок, мм рт. ст.						
контроль	61,89 ± 13,98	24,55 ± 12,75 *	15,99 ± 11,16 *	21,04 ± 8,58 *	31,43 ± 7,73 *	28,90 ± 9,15 *
дослід	54,36 ± 2,44	46,87 ± 2,54 *	46,41 ± 17,59**	44,92 ± 4,03**	49,18 ± 2,14**	43,58 ± 4,06
Кінцево-діастолічний тиск, мм рт. ст.						
контроль	1,16 ± 0,25	33,85 ± 10,61	51,62 ± 16,3 *	38,59 ± 10,45 *	31,98 ± 9,11*	35,1 ± 10,35 *
дослід	1,43 ± 0,49	15,84 ± 5,20 *	11,97 ± 0,42 **, **	12,01 ± 0,04 **, **	11,81 ± 0,11 **, **	12,03 ± 0,09 **, **

*вірогідно до початкових значень; **вірогідно до контролю; p<0,05

процеси. З одного боку, утворення білівердину та білірубину може посилювати антиоксидантну ланку захисту, однак з іншого боку, збільшення утворення Fe²⁺ може стати поштовхом для підвищення продукції вільних радикалів, зокрема найбільш реактивного ·ОН-радикала у реакції Фентона, яку каталізують іони заліза [18, 20, 26]. У наших дослідях ін'єкція геміну дещо підвищувала початковий вміст ·O₂- та ·ОН-радикалів у перфузаті, однак після ішемії, вже на 1-й хвилині реперфузії утворення ·O₂-радикала не відрізнялося від показників у контрольній групі, а утворення ·ОН-радикала та перекису водню зменшувалося у 1,2 та 7,8 рази відповідно. На 40-й хвилині реперфузії вміст ·ОН-радикала був на рівні контролю, а вміст H₂O₂ знижувався у 9,1 рази (див. рис. 1). Ще більш виражене пригнічення продукції АФК реєструвалося у тканині міокарда (див. рис. 2). Пригнічення утворення АФК у тканині ізольованого серця під час реперфузії супроводжувалося зменшення пошкодження кардіоміоцитів, про що свідчило обмеження виходу креатинкінази у перфузат (див. рис. 3,а). Такі результати ймовірно є підтвердженням припущення, що іони заліза та АФК,

які у незначних кількостях утворюються при попередній індукції ГО-1, можуть відігравати роль так званих тригерів феномену прекодиціювання, подібно до невеликих пулів АФК, які утворюються під час коротких епізодів ішемії та опосередковують захист клітин міокарда від наступної тривалої ішемії [4, 9].

Отримані результати свідчать про участь і важливу роль індукції ГО-1 у захисті міокарда від ішемічних уражень та узгоджуються з даними інших дослідників, які свідчать, що індукція ГО-1 захищає міокард від ішемічно-реперфузійних пошкоджень, знижуючи розмір інфаркту та поліпшуючи відновлення серцевих функцій [6]. Окремо слід зауважити, що при попередньому внутрішньоочеревинному введенні селективного блокатора активності ГО-1 цинку протопорфірину ІХ (ZnPP ІХ) у дозі 20 мг/кг показники роботи ізольованого серця погіршувались, але практично не відрізнялися від контролю, а при інфузії 20 мкмоль/л ZnPP ІХ у перфузат реєструвався розвиток коронароконтракції та незворотної фібриляції шлуночків (див. рис. 5, б), що, ймовірно, є наслідком значного пригнічення активності ГО-1.

Таким чином, отримані результати дозволяють зробити висновок, що ішемія та наступна реперфузія призводять до розвитку коронарноконстрикції, погіршення скоротливої функції серця, збільшення утворення АФК. Посилення окисного стресу зумовлює вільнорадикальне ураження тканини міокарда, про що свідчить збільшення вмісту креатинкінази у перфузаті. Разом з цим ішемія – реперфузія супроводжується зниженням активності ГО-1 у тканині міокарда та зменшенням вмісту у перфузаті кардіального білірубину. Попередня індукція та посилення активності ГО-1, яка супроводжується збільшенням утворення її каталітичних продуктів (СО, білірубину та Fe^{2+}), відіграє важливу роль у захисті міокарда від окисного стресу, зменшуючи утворення АФК, та запобігає розвитку постішемичних порушень функціонування ізольованого серця.

T.V. Kukoba, O.O. Moybenko, A.V. Kotsjuruba

CARDIOPROTECTIVE EFFECT OF HEME OXYGENASE-1 INDUCTION BY HEMIN ON THE ISOLATED HEART OF RAT AT ISCHEMIA/REPERFUSION

The aim of the study was to determine the role of both an inducible isoform of heme oxygenase (HO-1) and products of heme catabolism (carbon monoxide (CO), cardiac bilirubin and Fe^{2+}) in protecting myocardium against post-ischemic myocardial dysfunction. Rat hearts were isolated and perfused according to the Langendorff technique to evaluate the recovery of myocardial function after total ischemia (20 min) and reperfusion (40 min) and production of reactive oxygen forms at a reperfusion phase. Ischemia/reperfusion caused impairment in myocardial function: left ventricular developing pressure (LVDP) was shown to be decreased, while end-diastolic pressure (EDP) and both coronary perfusion pressure and coronary resistance increased. Free oxygen radicals were generated at the reperfusion phase which led to injuries to cardiomyocytes and creatine kinase efflux into perfusate. We have found that upregulation of HO-1 by preliminary (24 h before ischemia) injections of 25 mg/kg hemin (i.p) resulted in improving the myocardial function due to increasing the enzyme activity and forming the cardiac bilirubine, while generation of reactive oxygen forms was inhibited, as well as the contents of creatine kinase reduced. As a result, impairment in cardiomyocytes diminished, and coronary

vessels dilated to improve the functional parameters of the heart work

*Bogomoletz Institute of Physiology National Academy of Sciences of Ukraine,
A.V. Palladin Institute of Biochemistry National Academy of Sciences of Ukraine*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Калиман П.А., Никитченко И.В., Сокол О.А., Стрельченко Е.В. Регуляция гемоксигеназной активности в печени крыс при оксидативном стрессе, вызванном хлоридом кобальта и хлоридом ртути // Биохимия. – 2001. – 66, вып. 1. – С. 98 – 104.
2. Стрельченко Е.В., Никитченко И.В., Калиман П.А. Гемоксигеназная активность в органах крыс при введении хлорида кадмия // Укр. біохім. журн. – 2002. – 74, №5. – С. 107 – 111.
3. Тимошин А.А., Лакомкин В.Л., Рууге Э.К. Свободнорадикальные центры в ткани изолированного миокарда крысы в условиях перфузии безсубстратным раствором с нормальной оксигенацией // Биофизика – 1996. – 41, вып. 6. – С. 1305 – 1308.
4. Berenshtein E., Vaisman B., Goldberg-Langerman C. et al. Roles of ferritin and iron in ischemic preconditioning of the heart // Mol. Cell. Biochem. – 2002. – 234-235, №1-2. – P. 283 – 292.
5. Brouard S., Otterbein L.E., Anrather J. et al. Carbon Monoxide Generated by Heme Oxygenase 1 Suppresses Endothelial Cell Apoptosis // J. Exp. Med. – 2000. – 192, №7. – P. 1015 – 1026.
6. Clark J.E., Foresti R., Sarathchandra P. et al. – Heme oxygenase-1-derived bilirubin ameliorates postischemic myocardial dysfunction // Amer. J. Physiol. – 2000. – 278, Issue 2. – P. H643-H651
7. Cocconi F. Carbon Monoxide in Vasoregulation The Promise and the Challenge // Circulat. Res. – 2000. – 86, №12. – P. 1184 – 1186.
8. Conte D., Narindrasorasak S., Sarkar B. In Vivo and In Vitro iron-replaced Zinc Finger Generates Free Radicals and Causes DNA Damage // J. Boil. Chem. – 1996. – 271, №9. – P. 5125 – 5130.
9. Eisenstein R.S., Garcia-Mayol D., Pettingell W., Munro H.N. Regulation of ferritin and heme oxygenase synthesis in rat fibroblasts by different forms of iron // PNAS. – 1991. – 88, №3. – P. 688 – 692.
10. Furchgott R.F., Jothianandan D. Endothelium-dependent and independent vasodilation involving cyclic GMP: relaxation induced by nitric oxide, carbon monoxide and light // Blood. Vessels. – 1991. – 28, №1-3. – P. 52 – 61.
11. Gopinathan V., Miller N.J., Milner A.D. et al. – Bilirubin and ascorbate antioxidant activity in neonatal plasma // FEBS Lett. – 1994. – 349, №2. – P. 197 – 200.
12. Hangaishi M., Ishizaka N., Aizawa T. et al. Induction of heme oxygenase-1 can act protectively against cardiac is-

- chemia/reperfusion in vivo // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2000. – **279**, №2. – P. 582 – 588.
13. Huwiler M., Kohler H. Pseudo-catalytic degradation of hydrogen peroxide in the lactoperoxidase/ H₂O₂ iodide system // *Eur. J. Biochem.* – 1984. – **141**, №1. – P. 68 – 74.
 14. Lee P.J., Alam J., Wiegand G.W. et al. – Overexpression of heme oxygenase-1 expression in human pulmonary epithelial cells results in cell growth arrest and increased resistance to hyperoxia // *Ibid.* – 1996. – **93**, № 19. – P. 10393 – 10398.
 15. Maines M.D., Ibrahim N.G., Kappas A. Solubilisation and partial purification of heme oxygenase from liver // *J. Biol. Chem.* – 1977. – **252**, № 16. – P. 5900 – 5903.
 16. McCord J.M., Fridovich I.A. A quantitative test for superoxide radicals produced in biological systems // *Biochem. J.* – 1982. – **203**, №3. – P. 551 – 558.
 17. Otterbein L.E., Bach F.H., Alam J. et al. – Carbon monoxide has anti-inflammatory effects involving the mitogen-activated protein kinase pathway // *Natur. Med.* – 2000. – **6**, № 4. – P. 422 – 428.
 18. Panchenko M.V., Farber H.W., Korn J.H. Induction of heme oxygenase-1 by hypoxia and free radicals in human dermal fibroblasts // *Amer. J. Physiol.* – 2000. – **278**, Issue 1. – P. C92 – C101.
 19. Petrache I., Otterbein L.E., Alam J. et al. Heme oxygenase-1 inhibits TNF- α -induced apoptosis in cultured fibroblast // *Amer. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* – 2000. – **278**, Issue 2. – P. 312L – 319.
 20. Ryter S.W., Tyrrell R.M. The heme synthesis and degradation pathways: role in oxidant sensitivity. Heme oxygenase has both pro- and antioxidant properties // *Free Radic. Biol. Med.* – 2000. – **28**, № 2. – P. 289 – 309.
 21. Snyder S.H., Jaffrey S.R., Zakhary R. Nitric oxide and carbon monoxide: parallel roles as neural messengers // *Brain. Res. Rev.* – 1998. – № 2-3. – P. 167 – 175.
 22. Stocker R., Yamamoto Y., McDonagh A.F. et al. – Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance // *Science.* – 1987. – **235**, № 4792. – P. 1043 – 1046.
 23. Suttner D.M., Dennery P.A. Reversal of HO-1 related cytoprotection with increased expression is due to reactive iron // *FASEB J.* – 1999. – **13**, № 13. – P. 1800 – 1809.
 24. Verma A., Hirsch D.J., Glatt C.E. et al. – Carbon monoxide: a putative neural messenger // *Science.* – 1993. – **259**, № 5093. – P. 381 – 384.
 25. Vile G.F., Basu-Modak S., Waltner C., Tyrrell M. Heme oxygenase 1 mediates an adaptive response to oxidative stress in human skin fibroblasts // *PNAS.* – 1994. – **91**, № 7. – P. 2607 – 2610.
 26. Vreman H.J., Wong R.J., Sanesi C.A. et al. Simultaneous production of carbon monoxide and thiobarbituric acid reactive substances in rat tissue preparations by an iron-ascorbate system // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* – 1998. – **76**, №12. – P. 1057 – 1065.
 27. Yamada N., Yamaya M., Okinaga S. et al. – Protective Effects of Heme Oxygenase-1 against Oxidant-Induced Injury in the Cultured Human Tracheal Epithelium // *Amer. J. Respirat. Cell. Mol. Boil.* – 1999. – **21**, № 3. – P. 428 – 435.

*Ин-т фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, Київ;
Ин-т біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Київ*

*Матеріал надійшов до
редакції 12.09.2003*