

## Генетический контроль эпоксигеназного пути метаболизма эпоксиэйкозатриеновых кислот и развитие сердечно-сосудистых заболеваний

Харченко А.В., Полоников А.В.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, 305004, г. Курск, ул. К.Маркса, д.3. e-mail: hav46@mail.ru

Изучение генетики сердечно-сосудистых заболеваний открывает широкие перспективы разработки фармакологических средств, направленных на их лечение. Одним из направлений в этой области является коррекция метаболизма эпоксиэйкозатриеновых кислот — важного фактора сосудистого гомеостаза. Обзор посвящен особенностям метаболизма эпоксиэйкозатриеновых кислот и их биологической роли в регуляции сердечно-сосудистой системы.

**Ключевые слова:** эпоксиэйкозатриеновые кислоты, цитозольная эпоксидгидролаза, полиморфизм генов, сосудистый гомеостаз, сердечно-сосудистые заболевания.

**Информация о конфликте интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №15-15-10010).

## Genetically determined disorders of epoxygenase pathway of epoxyeicosatrienoic acids as a pathogenetic basis for the development of cardiovascular diseases

Kharchenko A.V., Polonikov A.V.

Rapid development of genetics and research in the field of polymorphism of genes opens up wide field for development of pharmacological agents for correction of cardiovascular diseases. One of the trends in this area is correction of the metabolism epoxyeicosatrienoic acids as biological factor in the regulation of vascular homeostasis. This review is devoted to characteristics of metabolism epoxyeicosatrienoic acids and their biological role in the regulation of the cardiovascular system.

**Keywords:** epoxyeicosatrienoic acid, a cytosolic epoxyphenols, gene polymorphism, vascular homeostasis, cardiovascular diseases.

### Введение

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) возглавляют список причин смертности во всем мире. По оценкам ВОЗ, наиболее часто ССЗ регистрируется в странах с низким и средним уровнем дохода (на них приходится порядка 80% случаев смерти), что на макроэкономическом уровне определяет ССЗ как проблему глобального масштаба.

Ключевым отличием этого класса заболеваний является его многофакторный характер и вовлечение в процесс практически всех органов и систем. Эффективная коррекция и профилактика ССЗ сегодня возможны лишь в тандеме консервативной терапии и современных достижений медицинской генетики, способной объяснить причины предрасположенности к заболеваниям, молекулярные механизмы их развития, фармакокинетику и фармакодинамику химических соединений, а значит, предложить эффективную терапию, либо наметить ориентиры для ее разработки и внедрения результатов в клиническую практику. На-

пример, на сегодняшний день удалось установить, что у носителей вариантного аллеля Trp460 Gly460Trp гена *ADD1*, кодирующего белок клеток почечных канальцев  $\alpha$ -аддуцин, участвующий в регуляции транспорта ионов, прием диуретиков при антигипертензивной терапии снижает риск развития инфаркта миокарда и инсульта, что должно определять приоритет именно этой группы препаратов при лечении таких пациентов, особенно на фоне высокого риска развития указанных ССЗ [1].

Многие полиморфизмы гена ангиотензинпревращающего фермента (*ACE*) статистически значимо ассоциированы с повышенным риском развития гипертонии [2]. Будучи одним из ключевых элементов системы регуляции давления, ACE является мишенью антигипертензивных препаратов. В частности, на сегодняшний день разработан целый спектр ингибиторов ACE, что открывает реальную возможность для ведения больных с учетом их генетических особенностей для подбора наиболее оптимальных медикаментов.

В исследовании, проведенном Giusti V. и соавт. [3], было продемонстрировано, что \*2СУР2С19 аллель гена *СУР2С19* связан с более высокой агрегационной способностью тромбоцитов и остаточной реактивностью тромбоцитов у пациентов с высоким риском сосудистой патологии, получающих антитромбоцитарную терапию.

Разрабатываемые технологии лечения должны учитывать ключевые генетически детерминированные изменения метаболизма, обуславливающие системные нарушения регуляции сосудистого гомеостаза и вовлекающие в патологический процесс жизненно важные органы. При этом лечебно-профилактические мероприятия должны быть направлены, с одной стороны, на защиту сердечно-сосудистой системы от неблагоприятных воздействий повреждающих факторов внешней среды, с другой, — на мобилизацию эндогенных физиологических резервов, которые обеспечивали бы долговременное поддержание жизнедеятельности организма человека на качественном уровне и обеспечивали бы его оптимальную адаптацию к изменяющимся условиям окружающей среды. Одной из таких систем, характеризующихся плеiotропными (системными) биологическими эффектами на сосудистый гомеостаз, является метаболизм эйкозаноидов — окисленных производных полиненасыщенных жирных кислот (эйкозатриеновой, арахидоновой и др).

#### **Эпоксидэйкозатриеновые кислоты и их биологическая роль в функционировании сердечно-сосудистой системы**

Эпоксидэйкозатриеновые кислоты (EETs) различной стереоизомерной организации (5,6-, 8,9-, 11,12-, 14,15-EET) играют важную роль в регуляции сосудистого гомеостаза.

В литературе описаны три возможных механизма действия EETs на гладкомышечную клетку [4, 5].

Во-первых, EETs на поверхности эндотелиальной клетки активируют белковый ионный канал TRPV4 (transient receptor potential cation channel subfamily V member 4), интегрированный в мембрану гладкомышечного волокна. Активированный TRPV4 обеспечивает ток ионов кальция из клетки и активацию кальций-зависимых калиевых каналов большой проводимости (BK<sub>Ca</sub>). [6]. Во-вторых, EETs активируют TRP-каналы (transient receptor potential) мембраны эндотелиальной клетки, обеспечивая приток ионов кальция [7]. Повышение внутриклеточной концентрации кальция активирует кальций-зависимые калиевые каналы малой и промежуточной проводимости (SK<sub>Ca</sub>, IK<sub>Ca</sub>) [8]. Это усиливает ток калия в межклеточную среду и приводит к гиперполяризации мембраны эндотелиальной клетки, которая распространяется на окружающие гладкомышечные миоциты посредством щелевых контактов. Наконец, в-третьих, EETs эндотелиоцита посредством активации неопознанного рецептора на поверхности гладко-

го миоцита, стимулируют образование цАМФ через активацию аденилатциклазы [9]. Циклический АМФ запускает протеинкиназу А (РКА), которая фосфорилирует и активирует ионные каналы BK<sub>Ca</sub> и K<sub>АТР</sub>. [10]. Возникающая во всех случаях гиперполяризация миоцитов является субстратом расслабления сосудов, определяющим вазодилатацию.

EETs идентифицируются как гиперполяризующий фактор в исследованиях на сосудах животных [11] и человека [4]. Вазодилатационный эффект EETs при этом может быть орган- и региоизомер-селективным. Например, 8,9-EETs способны регулировать вазорелаксацию брыжечной артерии у мышей, в то же время в предклубочковых сосудах почки кислота метаболизируется ферментной системой COX в производные с вазоконстрикционным действием. В легочных артериях 8,9-EETs участвует в вазоконстрикции [12].

Кроме опосредованной регуляции сосудистого тонуса, EETs модулируют кальциевые каналы кардиомиоцитов [13]. Было описано явление восстановления функции сердечного сокращения после длительной ишемии при воздействии более высоких концентраций 11,12-EETs.

EETs смягчают воспалительный процесс, играющий ключевую роль в патофизиологии многих сердечно-сосудистых заболеваний. Такие стимулы, как микроорганизмы, липидные продукты и гипоксия могут стать причиной повреждения сосуда и эндотелиальной активации. Адгезия на поверхности и дальнейшее внедрение лейкоцитов через эндотелиальную стенку — некоторые из первичных событий в воспалительном процессе сосудистой стенки, инициирующих атеросклеротические изменения. EETs могут предотвратить адгезию лейкоцитов к сосудистой стенке и ослабить эндотелиальную активацию через ингибирование фактора транскрипции NF-κB и IκB-киназы, что было показано в индуцированных моделях воспаления [15].

Широкий спектр физиологических эффектов EETs включает также активацию антиапоптогических механизмов и неоангиогенеза через сигнальные пути, опосредованные VEGF (vascular endothelial growth factor) [16, 17]. Эти эффекты могут оказаться полезными в восстановлении эндотелия при неоваскуляризации ишемизированных участков ткани. Помимо этого, есть данные, указывающие на возможную роль эпоксидэйкозатриеновых кислот в регуляции секреции пептидных гормонов, гемостатуса и индукции внутриклеточных регуляторных сигналов [18].

Таким образом, эпоксидэйкозатриеновые кислоты выполняют ряд биологических функций, наиболее изученными из которых является вазодилатация, смягчение воспаления и регуляция ангиогенеза. Величина эффекта EETs напрямую зависит от их стационарной концентрации, которая уравнивается скоростью образования кислот, с одной стороны, и их внутриклеточно-го гидролиза — с другой.

### Биогенный синтез EETs

Метаболизм EETs в организме связан с системой ферментов цитохрома P450 (CYP450) (рисунок).

В синтез EETs из  $\omega$ -6 ненасыщенной арахидоновой кислоты, вовлечены два ферментных комплекса семейства CYP450 — CYP2J и CYP2C. Арахидоновая кислота метаболизируется ферментами семейств до четырех региоизомеров эпоксиэйкозатриеновых кислот — 5,6-, 8,9-, 11,12- и 14,15-EETs соответственно. Каждый региоизомер может быть представлен в двух стереоизомерных формах — R,S или S,R, с различной степенью биологической активности. Профиль синтезируемых EETs получен для крыс. Он дает общее представление о соотношении метаболитов, которые различались в зависимости от метаболизирующего фермента: 60% — 11,12-EET, 24% — 8,9-EET, 11% — 14,15-EET — для CYP2C8; 41% — 11,12-EET, 39% — 14,15-EET — для CYP2C11, причем формы 5,6- и 8,9- не регистрировались в ходе исследования [19].

EETs синтезируется преимущественно эндотелиальными клетками сосудов (в синтез вовлечен экспрессирующийся в этом клеточном типе CYP2C9), а также кардиомиоцитами с высоким уровнем экспрессии CYP2J9 [20], каталитическая активность которого в целом ниже, чем у семейства 2C [19]. Гены соответствующих ферментов экспрессируются также в почках, поджелудочной железе, легких, альвеолярных макрофагах и моноцитах [21].

Отдельно стоит отметить возможную роль циркулирующих эритроцитов в регуляции уровня свободных EETs. Внутриклеточный обмен арахидоновой кислоты с образованием EETs катализируется гемоглобином [22]. Эритроцитарные EETs могут служить в качестве резерва, используемого локально при необходимости регуляции просвета кровеносных сосудов, ингибирования агрегации тромбоцитов и уменьшения воспалительных реакций. Внутриклеточный уровень EETs также, по-видимому, регулируется эритроцитарной растворимой эпоксидгидролазой — sEH.

Уровень экспрессии CYP зависит от пола и возраста [23], а также модулируется пищевыми факторами. Например, голодание приводит к снижению экспрессии печеночной CYP2C11 и эпоксигеназной активности у крыс [24]. Биосинтез EETs увеличивается в сосудистой ткани, выделенной у кроликов, получавших богатую холестерином диету по сравнению с контролем [цит. по 25].

### Ферменты, регулирующие метаболизм EETs

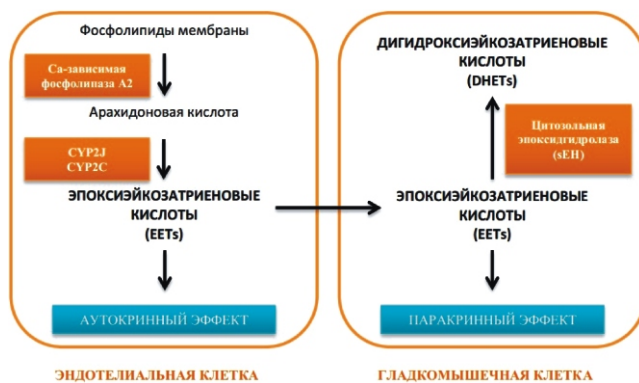
Семейство CYP2C включает ряд ферментов: CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18, CYP2C19, кодируемых генами с высокой степенью гомологии. Семейство CYP2J представлено CYP2J2. Ферменты обоих семейства катализируют NADPH-зависимое превращение арахидоновой кислоты в смесь EETs согласно реакции:



где X — количество атомов углерода, входящих в эпоксидную группу (5,6-, 8,9-, 11,12-, 14,15) [KEGG R07048-R07052].

CYP2J2 (OMIM 601258) — ключевой фермент эпоксигеназного пути обмена арахидоновой кислоты, локализуется в мембране эндоплазматической сети [25]. Наиболее высокий уровень экспрессии CYP2J2 обнаружен в сердце и тканях желудочно-кишечного тракта [26]. Одним из первичных продуктов эпоксидации арахидоновой кислоты под действием CYP2J2 является синтез 11,12-EET. CYP2J2 также участвует в метаболизме ряда других полиеновых жирных кислот — линолевой, докозагексаеновой и эйкозапентаеновой, и ряда ксенобиотиков. Препараты даназол, астемизол и кетоназол резко ингибируют фермент в субмикромольном диапазоне концентраций [27]. Молекулярная масса CYP2J2 — 57611 Да. Локализация кодирующего гена — 1p31.3-p31.2. Важной особенностью гена *CYP2J2* является отсутствие ТАТА-бокса в проксимальной части промотора и содержание ряда связывающих сайтов для транскрипционного фактора Sp1, что может свидетельствовать о принадлежности данного гена к категории повсеместно экспрессирующихся генов. Предполагается наличие 4 сайтов связывания для транскрипционного фактора Sp1 в проксимальной части промотора *CYP2J2* в положениях: -84, -72, -50 и -45. Интересно, что один SNP G-50T (-76G>T) расположен в одном из таких связывающих сайтов для Sp1, частота минорного аллеля данного полиморфного варианта варьирует от 8 до 16% в различных этнических группах [28]. Транскрипционный фактор Sp1 регулирует экспрессию гена *CYP2J2*; потеря Sp1-связывающего сайта у индивидов с генотипом -50TT приводит к выраженному снижению (порядка 50%) транскрипционной активности промотора гена *CYP2J2* и значительному снижению образования EETs [29].

Семейство CYP2C составляет до 20% от всех синтезируемых цитохромов P450 в печени. Путем сплайсинга мРНК-транскриптов гена *CYP2C* формируются химер-



Метаболизм эпоксиэйкозатриеновых кислот (по Spector A.A. [33]).

ные продукты, содержащие экзоны от нескольких генов *CYP2C*, функции которых до конца неизвестны. Ферменты специфичны для мужчин и женщин и участвуют в формировании гормонального профиля. Субстратами для них являются: диазепам, омепразол, мефенитоин, тольбутамид, варфарин, а также многие нестероидные противовоспалительные препараты. Общей особенностью ферментов семейства *CYP2C* является то, что экспрессия индуцируется фенобарбиталом. Гены семейства сгруппированы в виде кластера в 500 т.п.н. на хромосоме 10q24.

*CYP2C8* (OMIM 601129) — продукт гена — микросомальная монооксигеназа, участвует в окислении структурно неродственных соединений, таких, как варфарин и фенитоин, аценокумаролем, толбутамид, а также некоторых нестероидных противовоспалительных препаратов, ксенобиотиков и жирных кислот. В реакциях эпоксицирования арахидоновой кислоты фермент генерирует только 14,15- и 11,12-дигидроксиэпоксиэйкозатриеновые кислоты [30]. Продукция белка *CYP2C8* ингибируется некоторыми антибиотиками, противовоспалительными и антидиабетическими препаратами. Молекулярная масса — 55 825 Да. Варианты гена *CYP2C8\*2* и *CYP2C8\*3* — ассоциированы с повышенным риском возникновения инфаркта миокарда и гипертонической болезни [28].

*CYP2C9* (OMIM 601130) вносит основной вклад в синтез эпоксиэйкозатриеновых кислот в эндотелиальных клетках; он также вовлечен в метаболизм около 100 различных лекарственных препаратов [31] и [32]. Фермент способен метаболизировать линоленовую кислоту до потенциально токсичных продуктов: вернолиевой кислоты (лейкотоксин) и изолейкотоксина (12,13-эпокси-9-октадеценоат), способных вызывать полиорганную недостаточность и острый респираторный дистресс [33]. Активность *CYP2C9* значительно снижается в присутствии вальпроата натрия, амиодарона, миконозола, флуконазола. Молекулярная масса фермента составляет 55628 Да. Вариантные аллели *CYP2C9\*2* и *CYP2C9\*3* встречаются примерно у 10–12% и 8% европеоидов соответственно [34], имеют кардиопротективный эффект, выражающийся в снижении риска возникновения инфаркта миокарда [35].

*CYP2C18* (OMIM 601131) — один из генов семейства *CYP2C*. Фермент обладает эпоксигеназной активностью, помимо этого участвует в метаболизме ряда препаратов — мефенитоин, верапамил, толбутамид, варфарин, а также, как полагают, некоторых эндогенных стероидных гормонов [36]. *CYP2C18* экспрессируется преимущественно в правом желудочке сердца, что объясняет недостаточную эффективность некоторых кардиоселективных препаратов [37]. Молекулярная масса фермента — 55711 Да. Было высказано предположение о том, что носительство минорного аллеля А полиморфизма *rs12777823* (встречается примерно у 40% чернокожих американцев) может объяснить резкое снижение толерантности к варфарину в этой группе населения [38].

Продукт гена *CYP2C19* (OMIM 124020) вовлечен в метаболизм не только арахидоновой, но и линолевой, докозагексаеновой и эйкозапентаеновой кислот, а также ряда терапевтических средств: омепразола, прогванила, диазепама, пропранолола, некоторых барбитуратов. Мощный ингибирующий эффект на фермент оказывают флувоксамин, флуоксетин, моклобемид [39]. Для гена установлены почти 10-кратные межиндивидуальные различия в экспрессии в печени. Молекулярная масса фермента — 55931 Да. Ген *CYP2C19* имеет два аллельных варианта, связанных со сниженной активностью экспрессирующегося фермента. Оба варианта обнаруживаются у 3–5% европеоидов и 15–20% азиатов [40].

### Цитозольная эпоксидгидролаза — ключевой фермент метаболизма EETs

В нативном виде EETs существуют в клетках недолго, так как быстро гидролизуются в соответствующие дигидроксиэйкозатриеновые кислоты (DHETs) под действием растворимой эпоксидгидролазы (sEH) (рисунок). DHETs являются неактивной формой соответствующих EETs, менее липофильной и легче метаболизирующейся другими ферментами [41]. Растворимая эпоксидгидролаза — внутриклеточный фермент, представляющий собой гомодимер с молекулярной массой 125 кДа. Он состоит из двух доменов, разделенных линкерным участком с высоким содержанием пролина [42]. У млекопитающих sEH представляет собой гомодимер, расположенный во внутриклеточной среде. N-концевой домен проявляет фосфатазную активность, гидролизует липидные фосфаты, а C-концевой домен превращает эпоксиды в соответствующие им диолы [43].

Впервые sEH была обнаружена в растворимой фракции лизатов некоторых органов. Впоследствии была установлена субклеточная локализация фермента на уровне митохондриальной, микросомальной и цитозольной фракций [44]. Основная масса sEH синтезируется в печени и почках.

Ген *EPHX2*, кодирующий sEH, локализован в хромосоме 8p21.2-p21.1. Он включает 19 экзонов, определяющих последовательность в 555 аминокислотных остатков.

Многочисленные исследования указывают на связь между полиморфизмами *EPHX2* и риском возникновения ишемической болезни сердца [45], цереброваскулярных заболеваний [46]. Среди полиморфизмов были выявлены варианты с повышенной (Arg55) и пониженной (Gln287) активностью sEH *in vitro*. В рамках исследования Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) удалось установить наличие связи между аллельным вариантом Gln287 и субклиническим атеросклерозом у афроамериканцев; аллель Arg55 был ассоциирован с повышенной активностью sEH *in vivo* и риском возникновения ишемической болезни сердца у белых американцев. Аллель Arg55 также ассоцииро-



ван со сниженной вазодилатацией в ответ на прием брадикинина [47].

С учетом указанных физиологических функций EETs и sEH становится очевидной роль ингибиторов sEH как прогрессивных фармакологических агентов. На данный момент их известно довольно много. Приведем лишь несколько примеров.

Применение ингибитора sEH с кодом AR9281 выявило статистически значимое улучшение функции эндотелия в исследованиях на моделях диабета у животных, гипертензии и ожирения [48]. Мощный ингибитор sEH с кодом GSK2256294A снижает воспалительные процессы в легких у мышей, подвергнутых воздействию сигаретного дыма [49]. У мышей с фенотипом метаболического синдрома ингибитор sEH/агонист EET значительно увеличил концентрацию сосудистых EETs. Следствием этого явилось статистически значимое снижение артериального давления, удалось предотвратить увеличение массы тела и повысить чувствительность к инсулину [50].

### Заключение

Поиск потенциальных мишеней для терапии и разработка лекарственных препаратов, направленных на усиление эндогенного синтеза EETs, представляет собой принципиально новый и многообещающий подход к лечению артериальной гипертензии, атеросклеротического поражения сосудов различной локализации, а также формирующихся на их фоне поражений органов-мишеней.

Наиболее перспективным и клинически оправданным является поиск эффективных ингибиторов sEH. Потенциал применения таких препаратов охватывает целый спектр болезненных состояний: при гипертензии эффективность применения ингибиторов показана на животных моделях, что, с учетом существующих на рынке аналогов, расширяет возможности сочетанной терапии; при гипертрофии сердца, аритмии, атеросклерозе и аневризме аорты ингибиторы способны эффективно снижать сократительную силу миокарда и величину атеросклеротических повреждений, интенсивность воспалительных процессов, смягчать клиническое течение патологии. В экспериментах на грызунах ингибиторы sEH уменьшали размеры инфаркта и реперфузионного повреждения миокарда, а также приводили к общему снижению агрегационного потенциала тромбоцитов. Кроме того, на животных моделях показано протективное действие ингибиторов при повреждении почек и почечной недостаточности различной этиологии — гипертонической болезни, химиотерапии, воспаления [51].

Глубокое понимание путей метаболизма EETs и механизмов их регуляции, а также наследственных факторов, определяющих вероятность возникновения сердечно-сосудистой патологии, должны стать прочной методологической основой при выборе тактики лечения,

обязательным критерием при назначении комплексной и комбинированной терапии, с учетом коррективов, вносимых, прежде всего, индивидуальными различиями пациентов.

### Список литературы

1. Psaty BM, Smith NL, Heckbert SR, et al. Diuretic therapy, the alpha-adducin gene variant, and the risk of myocardial infarction or stroke in person with treated hypertension. *JAMA* 2002; 287: 1680-1689.
2. Thorn CF, Klein TE, Altman RB. PharmGKB summary: very important pharmacogene information for angiotensin-converting enzyme. *Pharmacogenet Genomics* 2010; 20(2): 143-146.
3. Giusti B, Gori AM, Marcucci R, et al. Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism, but not CYP3A4 IVS10 + 12G/A and P2Y12 T744C polymorphisms, is associated with response variability to dual antiplatelet treatment in high-risk vascular patients. *Pharmacogenet Genomics*. 2007; 17: 1057-1064.
4. Archer SL, Gragasin FS, Wu X, Wang S, McMurtry S, Kim DH, Platonov M, Koshal A, Hashimoto K, Campbell WB, Falck JR, Michelakis ED. Endothelium-derived hyperpolarizing factor in human internal mammary artery is 11,12-epoxyeicosatrienoic acid and causes relaxation by activating smooth muscle BK(Ca) channels. *Circulation* 2003; 107: 769-76.
5. Dimitropoulou C, West L, Field MB, White RE, Reddy LM, Falck JR, Imig JD. Protein phosphatase 2A and Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> channels contribute to 11,12-epoxyeicosatrienoic acid analog mediated mesenteric arterial relaxation. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2007; 83: 50-61.
6. Earley S, Pauyo T, Drapp R, Tavares MJ, Liedtke W, Brayden JE. TRPV4-dependent dilation of peripheral resistance arteries influences arterial pressure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009; H1096-H1102.
7. Loot AE, Popp R, Fisslthaler B, Vriens J, Nilius B, Fleming I. Role of cytochrome P450-dependent transient receptor potential V4 activation in flow-induced vasodilatation. *Cardiovasc Res* 2008; 80: 445-452.
8. Fleming I, Rueben A, Popp R, Fisslthaler B, Schrodt S, Sender A, Haendeler J, Falck JR, Morisseau C, Hammock BD, Busse R. Epoxyeicosatrienoic acids regulate Trp channel dependent Ca<sup>2+</sup> signaling and hyperpolarization in endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27: 2612-2618.
9. Imig JD, Dimitropoulou C, Reddy DS, White RE, Falck JR. Afferent arteriolar dilation to 11,12-EET analogs involves PP2A activity and Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> channels. *Microcirculation* 2008; 15: 137-150.
10. Krotz F, Riexinger T, Buerkle MA, Nithipatikom K, Gloe T, Sohn HY, Campbell WB, Pohl U. Membrane-potential-dependent inhibition of platelet adhesion to endothelial cells by epoxyeicosatrienoic acids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 595-600.
11. Weintraub NL, Fang X, Kaduce TL, VanRollins M, Chatterjee P, Spector AA. Potentiation of endothelium-dependent relaxation by epoxyeicosatrienoic acids. *Circ Res* 1997; 81: 258-67.
12. Liu Y, Zhang J, Yu L, Cao F, Rao J, Li J, Jiang C, Falck JR, Jacobs ER, Zhu D. A soluble epoxide hydrolase inhibitor — 8-HUDE increases pulmonary vasoconstriction through inhibition of K(ATP) channels. *Pulm Pharmacol Ther* 2012; 25: 69-76.
13. Roman RJ. P450 metabolites of arachidonic acid in the control of cardiovascular function. *Physiol Rev* 82 2002; 131-185.
14. Zeldin DC, Foley J, Boyle JE, Moomaw CR, Tomer KB, Parker C, Steenbergen C, Wu S. Predominant expression of an arachidonate epoxidase in islets of Langerhans cells in human and rat pancreas. *Endocrinology* 1997; 138: 1338-46.
15. Node K, Huo Y, Ruan X, Yang B, Spiecker M, Ley K, Zeldin DC, Liao JK. Anti-inflammatory properties of cytochrome P450 epoxidase-derived eicosanoids. *Science* 1999; 285: 1276-9.

16. Dhanasekaran A, Gruenloh SK, Buonaccorsi JN, Zhang R, Gross GJ, Falck JR, Patel PK, Jacobs ER, Medhora M. Multiple antiapoptotic targets of the PI3K/Akt survival pathway are activated by epoxyeicosatrienoic acids to protect cardiomyocytes from hypoxia/anoxia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 294: H724-35.
17. Yang S, Wei S, Pozzi A, Capdevila JH. The arachidonic acid epoxygenase is a component of the signaling mechanisms responsible for VEGF-stimulated angiogenesis. *Arch Biochem Biophys* 2009; 489:82-91.
18. Falck JR, Manna S, Moltz J, Chacos N, Capdevila J. Epoxyeicosatrienoic acids stimulate glucagon and insulin release from isolated rat pancreatic islets. *Biochem Biophys Res Commun* 1983; 114: 743-749.
19. Capdevila JH, Falck JR. Biochemical and molecular characteristics of the cytochrome P450 arachidonic acid monooxygenase. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2000; 62: 271-92.
20. Woo S, Moomaw CR, Tomer KB, Falck JR, Zeldin DC. Molecular cloning and expression of CYP2J2, a human cytochrome P-450 arachidonic acid epoxygenase highly expressed in heart. *J Biol Chem* 1996; 271: 3460-8.
21. Nakayama K, Nitto T, Inoue T, Node K. Expression of the cytochrome P450 epoxygenase CYP2J2 in human monocytic leukocytes. *Life Sci* 2008; 83: 339-345.
22. Jiang H, Anderson GD, McGiff JC. Red blood cells (RBCs), epoxyeicosatrienoic acids (EETs) and adenosine triphosphate (ATP). *Pharmacol Rep* 2010; 62: 468-474.
23. Spector AA, Fang X, Snyder GD, Weintraub NL. Epoxyeicosatrienoic acids (EETs): metabolism and biochemical function. *Prog Lipid Res.* 2004; 43: 55-90. [PubMed: 14636671].
24. Qu W, Rippe RA, Ma J, Scarborough P, Biagini C, Fiedorek FT, Travlos GS, Parker C, Zeldin DC. Nutritional status modulates rat liver cytochrome P450 arachidonic acid metabolism. *Mol Pharmacol* 1998; 54: 504-513.
25. Zeldin DC. Epoxygenase pathways of arachidonic acid metabolism. *J Biol Chem* 2001; 276: 36059-36062.
26. Bieche I, Narjoz C, Asselah T, et al. Reverse transcriptase-PCR quantification of mRNA levels from cytochrome (CYP) 1, CYP2 and CYP3 families in 22 different human tissues. *Pharmacogenet Genomics* 2007; 17(9): 731-742.
27. Evangelista EA, Kaspera R, Mokadam NA, Jones JP 3<sup>rd</sup>, Totah Ra. Activity, inhibition, and induction of cytochrome P450 2J2 in adult human primary cardiomyocytes. *Drug Metab Dispos* 2013; 41(12): 2087-94.
28. King LM, Ma J, Srettabunjong S, Graves J, Bradbury JA, Li L, Spiecker M, Liao JK, Mohrenweiser H, Zeldin DC. Cloning of CYP2J2 gene and identification of functional polymorphisms. *Mol Pharmacol* 2002; 61(4): 840-52.
29. Spiecker M, Darius H, Hankeln T, Soufi M, Sattler AM, Schaefer JR, Node K, Borgel J, Mugge A, Lindpaintner K, Huebsing A, Maisch B, Zeldin DC, Liao JK. Risk of coronary artery disease associated with polymorphism of the cytochrome P450 epoxygenase CYP2J2. *Circulation* 2004; 110: 2132-6.
30. Wagner K, Vito S, Inceoglu B, Hammock BD. The role of long chain fatty acids and their epoxide metabolites in nociceptive signaling. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2014 Oct; 113-115: 2-12.
31. Rettie AE, Jones JP. Clinical and toxicological relevance of CYP2C9: drug-drug interactions and pharmacogenetics. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 2005; 45: 477-94.
32. Yang L, Maki-Petaja K, Cheriyan J, McEniery C, Wilkinson IB. The role of epoxyeicosatrienoic acids in the cardiovascular system. *British Journal of Clinical Pharmacology* 2015; 80(1): 28-44.
33. Spector AA. Arachidonic acid cytochrome P450 epoxygenase pathway. *Journal of Lipid Research* 2009; 52-56.
34. Hill CE, Duncan A. Overview of pharmacogenetics in anti-coagulation therapy. *Clin Lab Med* 2008; 28(4): 513-524.
35. Funk M, Endler G, Freitaq R, Wojta J, Huber K, Mannhalter C, et al. CYP2C9\*2 and CYP2C9\*3 alleles confer a lower risk for myocardial infarction. *Clin Chem* 2004; 50: 2395-8.
36. Gray IC, Nobile C, Muresu R, Ford S, Spurr NK. A 2.4-megabase physical map spanning the CYP2C gene cluster on chromosome 10q24. *Genomics* 1995; 28: 328-332.
37. Thum T, Borlak J. Gene expression in distinct regions of the heart. *Lancet* 2000; 355: 979-983.
38. Perera MA, et al. Genetic variants associated with warfarin dose in African-American individuals: a genome-wide association study. *Lancet* 2013, 382: 790-6.
39. Sager JE, Lutz JD, Foti RS, Davis C, Kunze KL, Isoherranen N. Fluoxetine- and norfluoxetine-mediated complex drug-drug interactions: in vitro to in vivo correlation of effects on CYP2D6, CYP2C19, and CYP3A4. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 2014; 95(6): 653-62.
40. Desta Z, Zhao X, Shin JG, Flockhart DA. Clinical significance of the cytochrome P450 2C19 genetic polymorphism. *Clinical Pharmacokinetics*, 2002; 41(12): 913-58
41. Fang X, Weintraub NL, McCaw RB, Hu SM, Harmon SD, Rice JB, Hammock BD, Spector AA. Effects of soluble epoxide hydrolase inhibition on epoxyeicosatrienoic acid metabolism in human blood vessels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 287: H2412-20.
42. Newman JW, Morisseau C, Hammock BD. Epoxide hydrolases: their roles and interactions with lipid metabolism. *Prog Lipid Res* 2005; 44: 1-51.
43. Przybyla-Zawislak BD, Srivastava PK, Vazquez-Matias J, Mohrenweiser HW, Maxwell JE, Hammock BD, Bradbury JA, Enayetallah AE, Zeldin DC, Grant DF. Polymorphisms in human soluble epoxide hydrolase. *Mol Pharmacol* 2003; 64: 482-90.
44. Harris TR, Hammock BD. Soluble epoxide hydrolase: gene structure, expression and deletion. *Gene*, 2013; 526(2): 61-74.
45. Wigg SJ, Tare M, Tonta MA, O'Brien RC, Meredith IT, Parkington HC. Comparison of effects of diabetes mellitus on an EDHF-dependent and an EDHF-independent artery. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 281: H232-40.
46. Gschwendtner A, Ripke S, Freilinger T, Lichtner P, Muller-Myhsok B, Wichmann HE, Meitinger T, Dichgans M. Genetic variation in soluble epoxide hydrolase (EPHX2) is associated with an increased risk of ischemic stroke in white Europeans. *Stroke* 2008; 39: 1593-6.
47. Lee CR, Pretorius M, Schuck RN, Burch LH, Bartlett J, Williams SM, Zeldin DC, Brown NJ. Genetic variation in soluble epoxide hydrolase (EPHX2) is associated with forearm vasodilator responses in humans. *Hypertension* 2011; 57: 116-U309.
48. Zhang LN, Vincelle J, Chen D, Gless RD, Anandan SK, Rubanyi GM, Webb HK, MacIntyre DE, Wang YX. Inhibitors of soluble epoxide hydrolase attenuates endothelial dysfunction in animal models of diabetes, obesity and hypertension. *Eur J Pharmacol* 2011; 654: 68-74.
49. Podolin PL, Bolognese BJ, Foley JF, Long E 3<sup>rd</sup>, Peck B, Umbrecht S, Zhang X, Zhu P, Schwartz B, Xie W, Quinn C, Qi H, Sweitzer S, Chen S, Galop M, Ding Y, Belyanskaya SL, Israel DI, Morgan BA, Behm DJ, Marino JP Jr, Kurali E, Barnette MS, Mayer RJ, Booth-Genthe CL, Callahan JF. In vitro and in vivo characterization of a novel soluble epoxide hydrolase inhibitor. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2013; 104-105: 25-31.
50. Sodhi K, Inoue K, Gotlinger KH, Canestraro M, Vanella L, Kim DH, Manthathi VL, Koduru SR, Falck JR, Schwartzman ML, Abraham NG. Epoxyeicosatrienoic acid agonist rescues the metabolic syndrome phenotype of HO-2-null mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2009; 331: 906-16.
51. Morisseau C, Hammock BD. Impact of soluble epoxide hydrolase and epoxyeicosanoids on human health. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2013; 53: 37-58.