

УДК 612.261

ГАЗОМЕДИАТОРЫ: ОТ ТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ К РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТОЧНЫХ ФУНКЦИЙ И ИСПОЛЬЗОВАНИЮ В КЛИНИКЕ

Ситдикова Г.Ф., Яковлев А.В., Зефиоров А.Л.

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, г. Казань**Казанский государственный медицинский университет, г. Казань*

РЕЗЮМЕ

В течение многих десятилетий оксид азота (II) (NO), монооксид углерода (CO) и сероводород (H₂S) описывались как токсичные газы, оказывающие повреждающие эффекты на организм человека. Недавно было обнаружено, что NO, CO и H₂S эндогенно синтезируются и являются сигнальными молекулами, выполняющими как аутокринную, так и паракринную регуляцию во многих системах организма. В настоящей статье представлены данные о свойствах, ферментах синтеза и механизмах действия газообразных посредников в возбудимых системах. Кроме того, описываются результаты собственных исследований по выявлению эффектов и механизмов действия NO, CO и H₂S в периферической нервной системе – в области нервно-мышечного синапса.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: газомедиаторы, оксид азота, монооксид углерода, сероводород, освобождение медиатора, двигательное нервное окончание, ионные каналы.

Введение

К сигнальным молекулам относят различные по размеру и химической структуре соединения, включающие крупные белки, липиды, пептиды, биогенные амины, аминокислоты. Разнообразие свойств сигнальных молекул хорошо представлено среди нейромедиаторов, содержащих амины, аминокислоты, пептиды, пурины. При этом все они хранятся в синаптических везикулах и освобождаются порциями в ответ на нервный импульс путем экзоцитоза. Нейромедиаторы связываются с рецептором на постсинаптической мембране и затем инактивируются путем обратного захвата в нервное окончание или глию или ферментативного расщепления. Оксид азота (II) (NO) был первым идентифицированным газомедиатором, к которому относят в настоящее время любую газообразную молекулу, вовлеченную в сигнальный процесс. Недавние исследования установили, что другие газы – монооксид углерода (CO) и сероводород (H₂S) – также можно отнести к группе газомедиаторов [1–7]. Хотя функции газомедиаторов сходны с функциями гормонов и нейромедиаторов, они имеют ряд особенностей. Газообразные посредники являются липидораствори-

мыми, выделяются из любого участка клетки, не запасаются в везикулах и не освобождаются экзоцитозом. Кроме того, для них не существует рецепторов на постсинаптической мембране, они могут диффундировать внутрь клетки. Обычно мишени газов – внутриклеточные ферменты и ионные каналы [3, 5, 8, 9]. Надо отметить, что NO и H₂S, будучи химически активными, непосредственно модифицируют мембранные и внутриклеточные белки, что приводит к изменению их функций. В нервной системе газы обычно участвуют в передаче ретроградного сигнала от пост-к пресинаптического нейрона, а также могут синтезироваться в клетках глии [3, 5, 10]. В табл. 1 представлены субстраты, ферменты синтеза газов, приведены примеры блокаторов синтеза газов, указаны некоторые мишени действия и время жизни газообразной молекулы.

Оксид азота II (NO)

Впервые NO был идентифицирован как эндотелиальный фактор расслабления сосудов и медиатор бактерицидного действия макрофагов [11]. Впоследствии было обнаружено, что глутамат, действуя на НМДА-рецепторы в центральной нервной системе (ЦНС), вызывает высвобождение химического агента, свойства которого сходны со свойствами эндотелиального

✉ Яковлев Алексей Валерьевич, тел: 8-843-233-7812; e-mail: alv.yakovlev@gmail.com

Таблица 1

Метаболизм и функции газообразных посредников			
	NO	CO	H ₂ S
Субстрат	L-аргинин	Гем	L-цистеин
Фермент	NO-синтаза (eNOS, iNOS, nNOS)	Гемоксигеназа (ГО-1, ГО-2, ГО-3)	Цистатионин β-синтаза Цистатионин γ-лиаза Меркаптосульфотрансфераза
Ингибиторы	N ^G -нитро-L-аргинин метиловый эфир (L-NAME)	Цинк-протопорфирин IX	Аминооксиацетилловая кислота β-цианоаланин
Мишени действия	Растворимая гуанилатциклаза K ⁺ , Ca ²⁺ , K(Ca)-каналы	Растворимая гуанилатциклаза K(Ca)-каналы	K(ATФ)-каналы, K(Ca)-каналы, аденилатциклаза
Система связывания	Гемоглобин	Гемоглобин	Гемоглобин
Время полураспада	Секунды	Минуты	Минуты

Примечание. K(ATФ) – АТФ-зависимые калиевые каналы, K(Ca) – кальций-активируемые калиевые каналы.

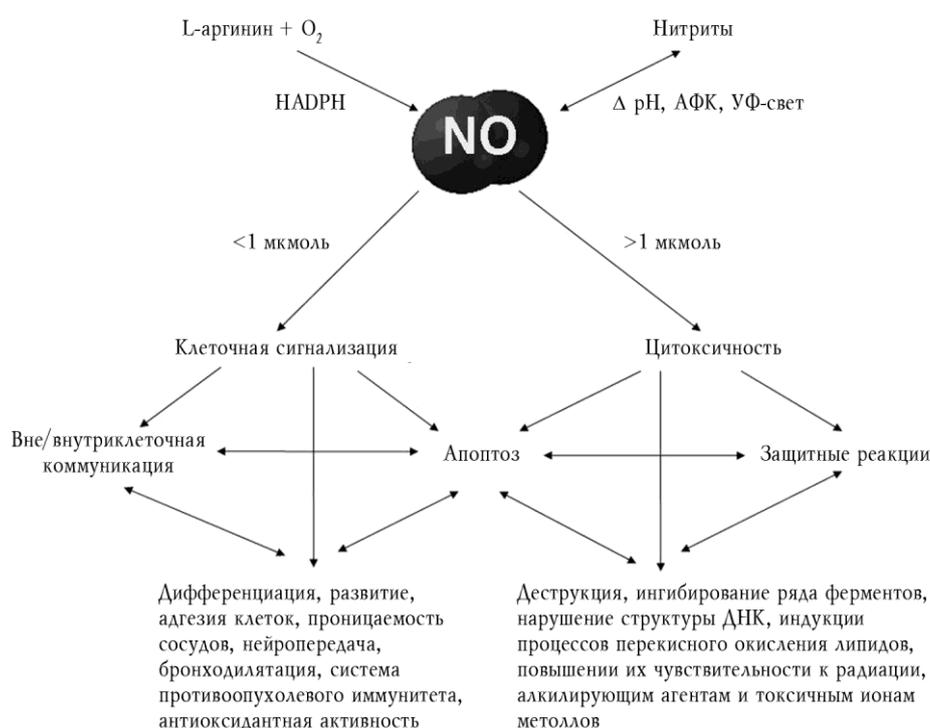


Рис. 1. Пути образования NO и его физиологические эффекты в низких и высоких концентрациях. NO может образовываться из L-аргинина с помощью NO-синтазы или из нитритов при изменении pH, действии активных форм кислорода, и ультрафиолетовых лучей. В зависимости от концентрации NO может участвовать в клеточной сигнализации или вызывать токсические эффекты

фактора расслабления сосудов, и были получены доказательства нейрональной роли NO [2]. NO образуется в результате окисления аминокислоты L-аргинина с одновременным синтезом другой аминокислоты L-цитруллина под влиянием фермента NO-синтазы в присутствии O₂ и НАДФН (рис. 1). В настоящее время известно, что NO-синтаза представляет собой не один фермент, а семейство или группу ферментов [КФ 1.14.13.39], способных образовывать NO. Синтезировать и выделять NO могут большинство клеток человека и животных, однако наиболее изучены три клеточных популяции NO-синтазы: эндотелия кровеносных сосудов, клеток нервной ткани и макрофагов. В

связи с этим традиционно выделяют три типа NO-синтазы по уровню экспрессии в клетках, кодируемые различными генами: нейрональной (nNO-синтазы), макрофагальной (iNO-синтазы) и эндотелиальной (eNO-синтазы). Нейрональная и эндотелиальная изоформы постоянно присутствуют в клетках и называются конститутивными, а макрофагальная или индуцибельная изоформа синтезируется в ответ на определенное внешнее воздействие на клетку [10]. NO-синтазы в организме распространены широко. Так, нейрональная NO-синтаза, кроме нервной ткани, встречается в мышцах, а также в области атриовентрикулярного и синатриального узлов и в эпикардиальной

коронарной артерии сердца [12]. Индуцибельная NO-синтаза идентифицирована в миокарде, глиальных клетках и в клетках гладких мышц кровеносных сосудов. Эндотелиальная NO-синтаза имеет высокий уровень экспрессии в головном мозге (нейроны гиппокампа), в миоцитах и тромбоцитах [13]. Стимуляция конститутивных форм фермента осуществляется Ca^{2+} -кальмодулином. Активность eNO-синтазы определяется ее транслокацией между кавеоларными структурами и плазматической мембраной. Долговременная активация eNO-синтазы обеспечивается также фосфоинозитид 3-киназа – Akt фосфорилированием. Так, например, во время эрекции пениса происходит вазодилатация кавернозных тел, что инициируется активацией pNO-синтазы Ca^{2+} -кальмодулином и поддерживается стимуляцией eNO-синтазы Akt. Транспортный белок CAPON обеспечивает доставку pNO-синтазы к ее мишеням. С-конец этого белка связывается с PDZ-доменом pNO-синтазы, и конкурирует с ферментом за связывание с PSD95 (белком постсинаптической плотности), и таким образом регулирует на способность pNO-синтазы с комплексом PSD95-НМДА-рецептор [14].

Действие NO в небольших концентрациях (в наномолярных пределах), обычно в результате синтеза конститутивными формами NO-синтаз, в основном связано с влиянием на гемовую группу растворимой (цитозольной) формы гуанилатциклазы [15] (рис. 1). Данный участок молекулы ответственен за активацию фермента при действии NO. После связывания NO с ионом железа в порфириновом кольце гема, этот ион несколько смещается по отношению к плоскости кольца, что приводит к конформационному изменению молекулы и активации гуанилатциклазы. Повышение уровня цГМФ происходит в течение 5 с, что может влиять на ионные каналы, фосфодиэстеразы или активировать цГМФ-зависимые протеинкиназы (протеинкиназы G) [16]. К тому же цГМФ снижает уровень внутриклеточного Ca^{2+} , что также вносит вклад в расслабление гладких мышц. В скелетных мышцах цГМФ участвует в регуляции сократимости, роста и дифференцировки миобластов и мышечных трубочек, нейротрофического контроля, нервно-мышечной передачи и в развитии нервно-мышечных заболеваний [17, 18].

В больших концентрациях NO (в микромолярных пределах), синтезируемый индуцибельной изоформой NO-синтазы, может оказывать на клетку токсические эффекты (рис. 2). Они связаны как с прямым действием на железосодержащие ферменты, так и с образованием сильного окислителя, очень реакционного и токсичного свободнорадикального соединения перокси-

нитрита (ONOO^-), который образуется при взаимодействии NO с радикальным супероксид-анионом (O_2^-) [19]. В условиях, когда в тканях образуются чрезмерно большие количества NO, последний оказывает повреждающее действие на клетки, вплоть до вызывания апоптоза. Такие большие количества NO образуются в мозге, например, при ишемии, локальном нарушении кровоснабжения, когда из клеток мозга выделяется

L-глутамат, стимулирующий N-метил-D-аспартатные (НМДА) рецепторы, через ионный канал которых в цитоплазму поступают ионы кальция. Эти ионы, связываясь с кальмодулином, активируют NO-синтазу, что приводит к увеличению продукции NO, который в высоких концентрациях оказывает нейротоксическое действие на клетку [20].

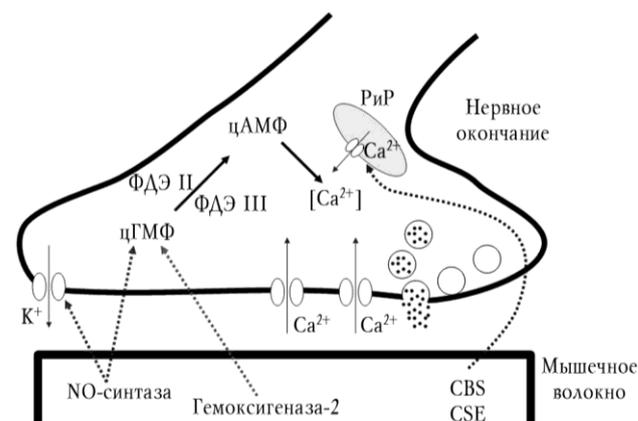


Рис. 2. Схематическое изображение механизмов действия оксида азота, монооксида углерода и сероводорода в нервно-мышечном синапсе. CSE – цистатионин γ -лиаза, CBS – цистатионин β -синтаза; РнР – риадиноновый рецептор; ФДЭ I и II – фосфодиэстераза I и II соответственно

Кроме этого, эффекты NO могут реализовываться через химическую модификацию белковых структур. Данный механизм включает прямое взаимодействие NO с белками, ведущее к нитрозилированию (*S*-нитрозилирование), и опосредованное – через образование пероксинитритов [21]. Показано, что таким модификациям подвергаются белки, участвующие в экзоцитозе, субъединицы ионных каналов и рецепторов [22, 23].

Источниками NO в ЦНС кроме нейронов являются нейроглиальные клетки и эндотелий кровеносных сосудов. Нейроны, экспрессирующие NO-синтазу, имеются во многих отделах ЦНС, причем в большинстве отделов содержание таких нейронов невелико. Максимальное количество нейронов, экспрессирующих NO-синтазу, находится в коре мозжечка (клетки-зерна и корзинчатые клетки), обонятельных луковицах и в некоторых отделах гиппокампа и полосатого тела [20]. В основном NO действует как межклеточ-

ный посредник, быстро диффундируя и достигая клеток-мишеней в пределах до 0,3–0,4 мм [20].

Эффекты NO в ЦНС поразительно разнообразны. Даже в отдельном нейроне NO может как увеличивать, так и уменьшать возбудимость [24, 25]. NO контролирует пачечную активность нейронов, служит медиатором ноцицепции, термогенеза, обоняния, участвует в регуляции жажды и голода, снижает тревожность [21].

Вскоре после открытия доказательства синтеза NO в тканях мозга было предположено, что он является ретроградным посредником, изменяющим высвобождение медиатора в пресинаптической клетке и модулирующим синаптическую пластичность. Было обнаружено, что долговременная потенциация в гиппокампе частично или полностью блокируется у мышей, нокаутированных по нейрональной и эндотелиальной NO-синтазам, а также под действием ингибиторов NO-синтазы и в присутствии гемоглобина, который связывает NO во внеклеточном пространстве [26]. Напротив, доноры NO облегчали долговременную потенциацию при их введении в пресинаптическую клетку. По-видимому, NO необходим только во время фазы индукции долговременной потенциации, так как ингибиторы NO-синтазы, введенные через 20–30 мин после тетанической стимуляции не прекращали развития долговременной потенциации [27]. Предположено, что при ритмической стимуляции NO синтезируется в постсинаптической клетке, диффундирует через межклеточное пространство и вызывает синтез цГМФ в пресинаптическом нервном окончании, что приводит к развитию долговременных синаптических изменений. Данный механизм продемонстрирован и для формирования долговременной депрессии в области СА1 гиппокампа и в коре мозжечка [24, 26]. В наших исследованиях было продемонстрировано, что NO модулирует высвобождение нейромедиатора и в периферической нервной системе, функционально соединяя постсинаптический и пресинаптический нейроны [5, 10, 28]. Было показано, что доноры NO снижали спонтанное и вызванное высвобождение ацетилхолина и усиливали выходящие потенциал-зависимые K^+ -токи. Выявление внутриклеточных механизмов действия NO обнаружило роль как гуанилилциклазной, так и аденилатциклазной систем в реализации эффектов газа [29]. По-видимому, эффекты NO на секрецию медиатора и K-каналы могут опосредоваться изменением концентрации цГМФ с последующей активацией фосфодиэстеразы II, разрушающей цАМФ, уменьшением концентрации цАМФ и активности протеинкиназы А [30] (рис. 2). Кроме того, блокирование синтеза NO с помощью неспецифического блокатора NO-синтазы – L-NAME (N^G -нитро-L-аргинин метиловый

эфир) – приводило к усилению высвобождения медиатора, что противоположно действию доноров NO. Субстрат синтеза NO L-аргинин усиливал процесс образования эндогенного NO, что способствовало появлению эффектов, сходных с теми, которые наблюдались в результате воздействия доноров NO [31]. Полученные данные предполагают эндогенный тонический синтез NO в области нервно-мышечного синапса, который ретроградно диффундирует в нервное окончание и уменьшает высвобождение ацетилхолина (рис. 2).

Монооксид углерода (CO)

Монооксид углерода (угарный газ, CO) давно был известен своими токсическими свойствами, однако оказалось, что CO синтезируется эндогенно в микромолярных концентрациях в результате расщепления гема ферментом гемоксигеназой (ГО) [1, 3, 5]. Исследования функций CO как сигнальной молекулы были вызваны тем, что активность ГО в мозге приближается к таковой в тканях, разрушающих гем эритроцитов (например, в селезенке) [1]. Физиологические концентрации CO в тканях, исходя из содержания карбоксигемоглобина (COHb) (1–2%), оценивают в среднем в наномолярных пределах [32]. Однако надо учитывать, что CO, образующийся в цитозоле, может связываться в клетках до выхода в кровеносное русло, где формируется COHb [33].

На сегодняшний день известно три формы ГО (табл. 2). Два фермента, гемоксигеназа-1 (ГО-1) и гемоксигеназа-2 (ГО-2), локализованы в эндоплазматической ретикулярной ткани и катализируют синтез CO. Третья изоформа, гемоксигеназа-3 (ГО-3), была также описана, но она не синтезирует CO из гема, и ее функциональная роль неясна [34]. При участии ГО разрывается порфириновое кольцо гема с образованием биливердина [1]. В результате деятельности фермента также высвобождается атом железа, который является высоко токсичным веществом, так как вступает в реакцию Фентона с образованием перекиси водорода. А также в ходе этой реакции образуется одноуглеродистый фрагмент – CO (рис. 3). В реакции, катализируемой ГО, источником восстановительного эквивалента является NADPH. Система ГО требует согласованной активности микросомальной цитохром-P450-редуктазы, которая переносит электрон из NADPH к гему и утилизирует молекулярный кислород для расщепления гема.

Гемоксигеназа-1 наиболее распространена в селезенке. Это единственный орган, где в физиологических условиях ГО-1 преобладает над ГО-2. Во многих других тканях млекопитающих ГО-1 индуцируется. Это про-

исходит во всем организме множеством факторов, связанных с повреждением клетки или воспалением.

Наиболее яркий пример – реакция на гематому [35].

Таблица 2

Особенности различных изоформ гемоксигеназы			
	ГО-1	ГО-2	ГО-3
Изоформа	Повсеместно индуцируемая	Конститутивная, индуцируемая глюкокортикоидами надпочечников	Неизвестно
Регуляция	Транскрипция, доступность гема	Фосфорилирование киназами, доступность гема	Неизвестно
Гомология	43% с ГО-2 50% с ГО-3	43% с ГО-1 90% с ГО-3	50% с ГО-1 90% с ГО-2
Предполагаемая роль	Антиоксидант, участие в воспалении	Синтезирует сигнальные молекулы	Регуляция гем-зависимых генов

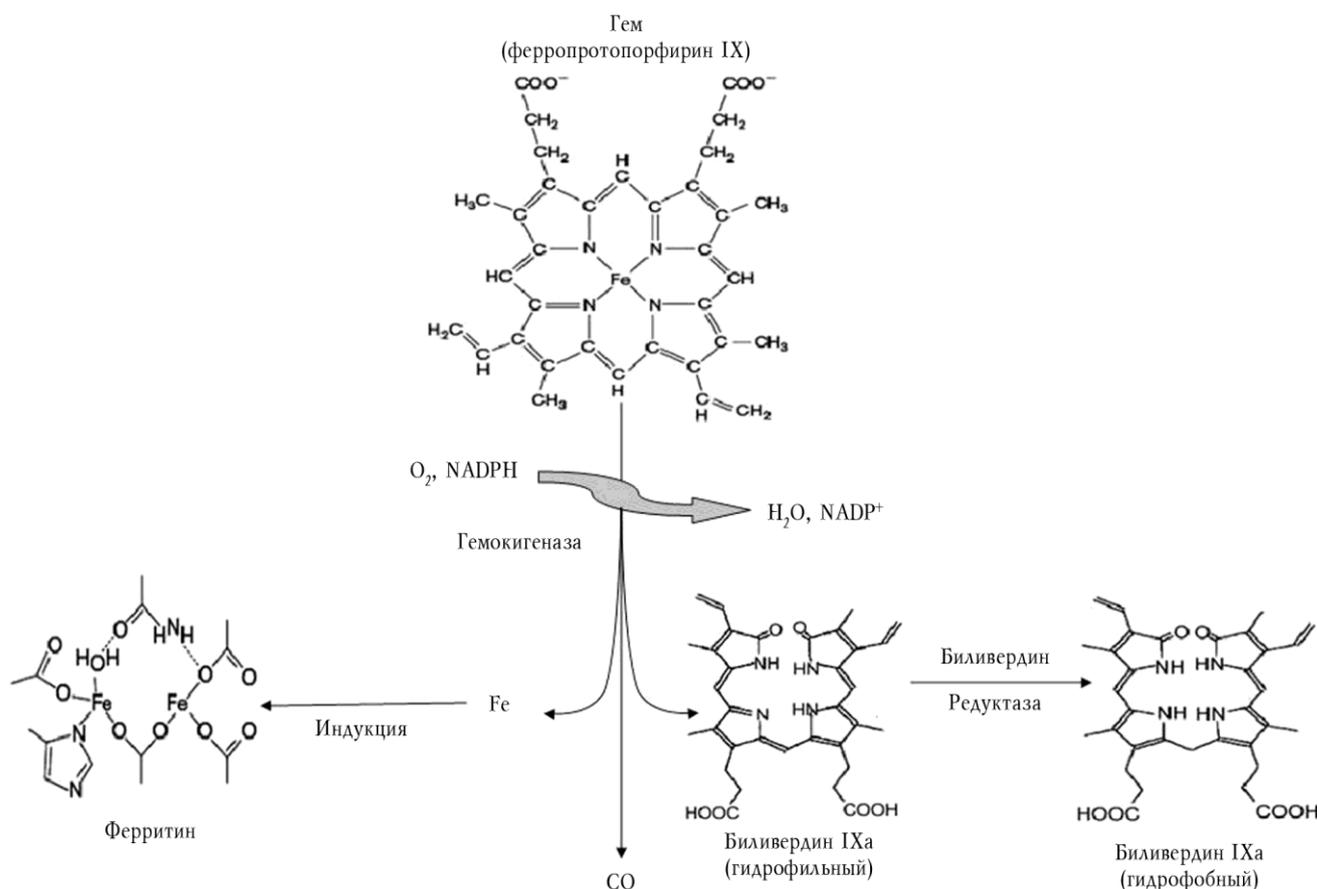


Рис. 3. Схема синтеза монооксида углерода из гемма

В этой ситуации фермент способствует удалению гема из участка повреждения. ГО-1 также индуцируется ультрафиолетовой радиацией, активными формами кислорода, тяжелыми металлами, цитокинами, липополисахаридами, а также в условиях ишемии, гипоксии, окислительного стресса и теплового шока [35]. ГО-1 – это белок теплового шока HSP32, который является основной частью реакции на клеточный стресс независимо от участия гема. В отличие от других белков теплового шока индукция ГО-1 на действие теплового стресса – общий и координированный ответ практически всех органов животного [36].

Сердечно-сосудистая система имеет высокую способность синтезировать CO благодаря тому, что субстрат, гем, легко доступен, а также потому, что в кровеносных сосудах ГО проявляет высокий уровень активности. Впервые явление релаксации коронарной артерии крысы при действии экзогенного CO было показано в 1984 г. В последнее время все больше исследований указывают на то, что CO-вызванная вазорелаксация является повсеместной во многих типах сосудов [37].

В тонком кишечнике CO, как и NO, участвует в регуляции двигательной активности желудочно-

кишечного тракта [38, 39]. Установлено, что в мышечных слоях желудочно-кишечного тракта СО выступает как фактор гиперполяризации и опосредует градиент мембранного потенциала вдоль желудочно-кишечного тракта и стенки кишечника [39]. Также показано, что продукция СО и активность ГО выше в гиперполяризованных областях желудка, тонкой кишки и толстой кишки и ниже в более деполяризованных областях [39]. Наличие градиента мембранного потенциала позволяет регулировать мышечный ответ кишечника на стимул, когда при слабом стимуле вовлекается только более деполяризованная гладкая мышца, при более сильном стимуле – более гиперполяризованная.

В ЦНС преобладает активность ГО-2, экспрессия которой выявлена в митральных клетках обонятельной луковицы, пирамидных клетках коры, гиппокампе [40, 41], гранулярных клетках зубчатой извилины, в нейронах таламуса и гипоталамуса, мозжечка и ствола мозга. Активность ГО-2, во-первых, быстро и кратковременно увеличивается связыванием с кальций-кальмодулином во время нейрональной активности [42]. Во-вторых, протеинкиназа С и форболовые эфиры фосфорилируют ГО-2 и увеличивают ее активность [43]. В-третьих, селективное фосфорилирование СК2 (casein kinase 2) значительно усиливает каталитическую активность ГО-2 [44]. В-четвертых, показано, что глутамат через активацию метаботропных глутаматных рецепторов (mGluR) стимулирует нейрональную ГО-2 [42] через механизм, не связанный с фосфорилированием протеинкиназы С [45].

Предположения, что СО может влиять, как и NO, на нейротрансдукцию, основываются на нейрональной экспрессии ГО и ее колокализации с NO-синтазой в ЦНС [41]. Ингибиторы ГО уменьшали освобождение глутамата из синапто-нейрональных препаратов [46] и блокировали индукцию долговременной потенциации в гиппокампе [47]. Было предположено, что СО, также как и NO, служит ретроградным посредником для индукции и поддержания долговременной потенциации.

Основные молекулярные мишени СО – гем-содержащие белки, включая гемоглобин, миоглобин, циклооксигеназы, NO-синтазы, растворимую гуанилатциклазу, каталазы и другую (рис. 4). Связывание СО с гем-содержащими белками ингибирует их функции за исключением гуанилатциклазы, активность которой увеличивается при связывании СО, однако с меньшей эффективностью, чем при действии NO [48]. СО также взаимодействует с различными ионными каналами. Показано, что СО активирует калиевые каналы в различных тканях, включая желудочно-кишечный тракт. В гладкой мышце кишечника человека и собаки СО

активирует потенциал-зависимые K^+ -токи задержанного выпрямления, что приводит к гиперполяризации мембраны [49]. Прямая активация K^+ -каналов была показана для Ca^{2+} -активируемых K^+ -каналов путем взаимодействия с остатками гистидина α -субъединицы, что отличается от механизма действия NO, который взаимодействует с β -субъединицей канала [50]. В гладкомышечных клетках артериол мозга СО активирует Ca^{2+} -активируемые K^+ -каналы, что является основным механизмом сосудорасширяющего действия СО [51].



Рис. 4. Известные молекулярные мишени действия монооксида углерода и возможности использования в медицине. ЖКТ – желудочно-кишечный тракт; MAPK – MAP-киназы; NF-kB – ядерный фактор-kB

В периферической нервной системе СО оказывал пресинаптические эффекты, вызывая усиление как спонтанного, так и вызванного освобождения медиатора, не изменяя ионных токов, протекающих через мембрану НО [52]. Исследование внутриклеточных механизмов действия СО выявило, что его эффекты опосредуются изменением концентраций цАМФ и цГМФ. Было предположено, что СО приводит к активации гуанилатциклазы с последующим синтезом цГМФ, который ингибирует фосфодиэстеразу III и тем самым уменьшает деградацию цАМФ [53]. Известно, что СО является слабым активатором растворимой гуанилатциклазы. Очищенный фермент активируется в 130 раз при действии NO и только в 4,4 раза при действии СО в одних и тех же условиях [48]. По-видимому, различия в эффектах NO и СО при действии на один и тот же внутриклеточный фермент – гуанилатциклазу – можно объяснить различной степенью активации фермента и соответствующим синтезом цГМФ, который в зависимости от концентрации способен запускать разные сигнальные пути, ведущие либо к повышению, либо к понижению уровня цАМФ. При этом в отличие от NO СО-вызванное увеличение

внутриклеточного уровня цАМФ опосредуется не только снижением деградации циклического нуклеотида, но и повышением его синтеза [53] (рис. 2).

Для анализа физиологической роли эндогенного СО в регуляции освобождения медиатора мы использовали блокатор ГО-2 цинк (II) протопорфирин IX (ZnPP-IX), который приводил к уменьшению освобождения медиатора, что противоположно действию СО [52]. Кроме того, с использованием антител к гемокГО-2 и с помощью иммуногистохимического метода нами впервые была показана локализация ГО-2 как в экстрафузальных, так и интрафузальных мышечных волокнах кожно-грудинной мышцы лягушки [53]. Известно, что ГО-2 может быть активирована при связывании некоторых нейромедиаторов со своими рецепторами, а нейрональная деполяризация приводит к увеличению активности ГО-2 и последующему синтезу СО [1, 42]. Экспрессия ГО-2 усиливается под действием глюкокортикоидов, что может опосредовать нарушения нервно-мышечной передачи во время стресса [1, 5, 42]. В скелетных мышечных волокнах ГО-2 может быть активирована при увеличении внутриклеточной концентрации ионов Са в процессе мышечного сокращения. Синтезированный СО будет диффундировать в НО и усиливать секрецию ацетилхолина через цАМФ/цГМФ-зависимый механизм, осуществляя положительную обратную связь в регуляции нервно-мышечной передачи (рис. 2).

В последнее время появляются данные о перспективах использования СО в качестве фармакологического агента для лечения различных патологических состояний, в особенности заболеваний легких, системного воспаления и сердечно-сосудистых заболеваний (рис. 4). С одной стороны, СО может являться маркером различных патологических состояний у человека. Так, при воспалительных процессах в дыхательных путях, астме, у больных сезонными аллергическими ринитами и даже при колитах уровень СО увеличивается, что связано с активацией гемоксигеназной системы при оксидативном стрессе. С другой стороны, исследуется терапевтический потенциал ингаляции газом или использования альтернативных способов доставки СО в клетки и ткани, основанный на применении нового класса СО-высвобождающих молекул.

Противовоспалительное действие СО является наиболее интригующим и перспективным использованием данного газа в будущем, так как воспаление лежит в основе развития множества заболеваний сердечно-сосудистой системы, диабета, рака и ожирения, реакций организма на внешние патогенные факторы (рис. 4). В ряде исследований на культуре клеток было показано, что СО снижает выработку провоспали-

тельных цитокинов и стимулирует освобождение интерлейкина-10 [54, 55]. Похожий эффект наблюдался в экспериментах на животных с индуцированным воспалением, при трансплантации или под действием аллергенов, например альбумина [54]. В экспериментах на крысах было установлено, что ингаляции СО имели защитное действие при гипероксических повреждениях, СО не только снижал воспаления, вызванные аллергенами у мышей-астматиков, но и защищал при трансплантации, легочной гипертензии и оксидантном стрессе [54, 55].

В настоящее время уже разработан целый класс молекул, высвобождающих СО, являющихся липидорастворимыми, растворяющимися в органических растворителях и также водорастворимыми, которые стабильны в водных растворах, но высвобождают СО при взаимодействии с биологическими жидкостями и клеточными мембранами. В экспериментальных условиях на животных такие молекулы вызывали расслабление сосудов и снижали давление *in vivo*.

Сероводород (H₂S)

Сероводород (H₂S) хорошо известен как токсичный газ, в высоких концентрациях блокирующий дыхательную функцию митохондрий [56]. Однако относительно высокие концентрации H₂S были обнаружены в мозге крысы и человека, что предположило возможную физиологическую роль этого газа [57]. В дальнейшем были выявлены важнейшие биологические эффекты H₂S, включая регуляцию кровяного давления, освобождения инсулина, расслабления гладких мышц, клеточной возбудимости, цитопротекторное действие [8, 58–64], что позволило отнести H₂S к группе газомедиаторов, включающих также оксид азота (II) (NO) и монооксид углерода (CO) [65]. Эндогенно H₂S синтезируется из L-цистеина пиридоксаль-5'-фосфат-зависимыми ферментами – цистатионин β-синтазой (ЦБС) и цистатионин γ-лиазой (ЦГЛ), экспрессирующимися практически во всех тканях [3] (рис. 5). У млекопитающих большое количество ЦБС обнаружено в мозге (особенно в клетках Пуркинье мозжечка и гиппокампе), тогда как наибольшая активность ЦГЛ отмечена в периферических тканях – почках, печени и кровеносных сосудах. В печени многих видов животных, включая человека, выявлены большие количества обоих ферментов [3, 66]. Активность ЦБС зависит от внутриклеточного кальция и кальций-связывающего белка – кальмодулина, что позволяет предполагать возможность регуляции синтеза H₂S в ответ на вход ионов Са²⁺ в клетку. Большое количество мутаций в различных областях ЦБС было найдено у больных с гомоцистеинурией. При гомоци-

стеинурии наблюдаются повышение концентрации гомоцистатинина и метионина в плазме и моче и снижение уровня цистатинина и цистеина. Клинический фенотип пациентов с этим заболеванием включает умственную отсталость, повреждения хрусталика, мышечные расстройства и сосудистые заболевания. Недостаточность фермента часто сопровождается патологиями ЦНС, возможно, что некоторые из этих нарушений связаны с пониженным синтезом H_2S в мозге [3, 66]. У мышей с генетическим дефицитом ЦБС проявляются признаки, сходные с гипергомоцистеинемией у человека. Наблюдалось уменьшение размеров мозжечка, в частности толщины молекулярного и внутреннего гранулярного слоев, со 2-й нед постнатального развития [67]. Еще один фермент 3-меркаптопируват-сульфуртрансфераза (ЗМСТ) вместе с цистеин-аминотрансферазой (ЦАТ) синтезирует H_2S (рис. 5). Обнаружено, что ЗМСТ локализована в нейронах, например, в пирамидных клетках гиппокампа и может оказывать существенный вклад в синтез H_2S в мозге [3]. Кроме того, существует альтернативный путь синтеза H_2S из D-цистеина, поступающего с пищей, который превращается с помощью фермента D-аминооксидаза в 3-меркаптопируват, далее используемый ЗМСТ [68]. Синтез сероводорода из D-аминокислоты не зависит от наличия пиридоксал-5'-фосфата (PLP) и осуществляется при pH 7,4, тогда как для превращения L-цистеина среда должна быть более щелочной [69]. Эндогенно генерируемый H_2S в нормальных условиях не накапливается и не оказывает токсического воздействия на клетку благодаря сбалансированному клеточному метаболизму этого газа [58]. Грань между физиологическими и токсическими эффектами H_2S очень тонкая. По-видимому, клетки млекопитающих имеют четкий регуляторный механизм контроля эндогенного уровня H_2S в физиологически допустимых пределах [3, 58]. Концентрация свободного H_2S в гомогенате клеток в головном мозге

в зависимости от методов определения составляет от 14 нмоль до 9,2 мкмоль [70]. В крови крыс уровень H_2S составляет от 10 (Wistar) до 50 мкмоль (Sprague-Dawley) [3]. Такой сильный разброс в концентрации связан с особенностями используемых методов определения газа, а кроме того, H_2S способен храниться в связанном виде и высвобождаться в ответ на стимуляцию. Также H_2S может образовывать полисульфиды (H_2S_n , $n = 2-8$) в присутствии кислорода [71]. Было показано, что полисульфиды приблизительно в 300 раз более эффективно активируют TRPA1-каналы, чем H_2S [71]. Таким образом, уровень H_2S в тканях повышается только в ответ на специфическую стимуляцию, притом локально и кратковременно. Затем его концентрация быстро снижается, так как он расщепляется ферментами, связывается с белками или реагирует с другими соединениями [72].

Один из основных механизмов действия H_2S – модификация протеинов. H_2S является сильным восстановителем и может восстанавливать двойные дисульфидные связи. Другой механизм – это присоединение дополнительного атома серы к тиоловой группе (рис. 5) [3, 7]. Химическая модификация белков приводит к изменению их конформации и функциональной активности. В клетке мишенями действия H_2S могут быть ионные каналы, мембранные и внутриклеточные ферменты, различные протеины и т.д.

К настоящему времени накоплены данные о том, что H_2S может модифицировать функции нейронов и глиальных клеток и за счет этого оказывать влияние на интегративные функции ЦНС, такие как обучение и память. В первых исследованиях физиологических эффектов H_2S , проведенных в работе К. Abe и Н. Kimura в 1996 г., была показана экспрессия ЦБС в мозге крысы (гиппокамп, мозжечок, кора и ствол мозга) и продукция H_2S в гомогенатах мозга. H_2S облегчал индукцию долговременной потенциации в гиппокампе крысы,

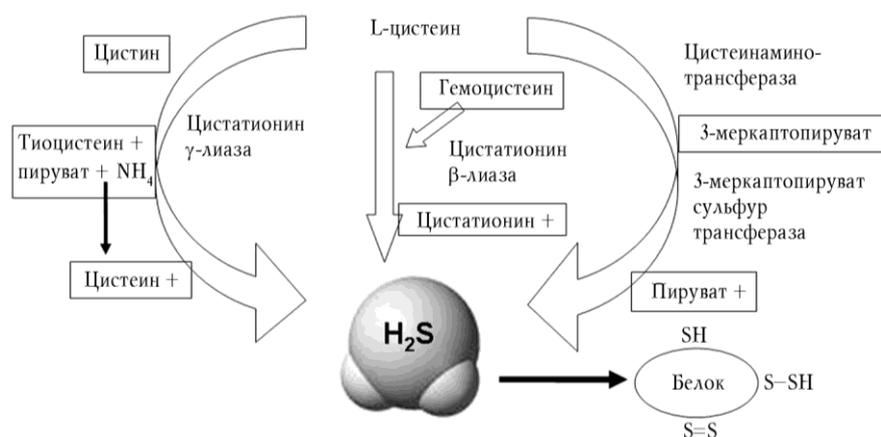


Рис. 5. Пути синтеза H_2S . Цистатионин- γ -лиаза катализирует преобразование цистина (дисульфид цистеина) до тиоцистеина, пирувата и

аммиака; тиоцистеин затем неферментативно преобразуется до цистеина и H_2S . Цистатионин β -синтаза вызывает конденсацию гомоцистеина с цистеином, что ведет к образованию цистатионина и H_2S . Цистеин-аминотрансфераза образует 3-меркаптопирuvat из цистеина и альфа-кетоглутарата. 3-меркаптопирuvat подвергается дальнейшему метаболизму ферментом 3-меркаптопирuvat-сульфотрансферазой и образует H_2S и пируват. H_2S может модифицировать белковые молекулы (показано справа): восстанавливать двойные дисульфидные связи ($S=S$), присоединяться к тиоловым группам ($-SH$), в результате чего связь $-SH$ изменяется на $-SSH$

в основе этого эффекта H_2S лежит повышение активности НМДА-рецепторов, активируемых глутаматом [73]. Кроме того, установлено, что H_2S увеличивал уровень внутриклеточного кальция в нейрональных и глиальных клетках посредством активации Ca^{2+} -каналов мембраны и эндоплазматического ретикулума. При этом в глиии возникали Ca^{2+} -волны, опосредующие глиально-глиальные и глиально-нейрональные взаимодействия в мозге, модулирующие нейрональную возбудимость [73]. Ряд экспериментальных данных указывает на то, что H_2S может участвовать в развитии различных нейродегенеративных заболеваний. Так, при болезни Альцгеймера уровень H_2S в мозге снижен примерно на 55% по сравнению с контрольными группами, что связано с изменением уровня активатора ЦБС – S-аденозилметионина, концентрация которого в тканях мозга пациентов с болезнью Альцгеймера была на ~70% меньше, чем в контрольной группе. Ген ЦБС расположен в 21-й хромосоме, поэтому возникновение трисомии 21-й хромосомы при синдроме Дауна приводит к повышенной экспрессии ЦБС и увеличению синтеза H_2S в мозге. Было показано, что у людей с этим заболеванием в моче увеличена концентрация тиосульфата, продукта метаболизма H_2S . По-видимому, избыток H_2S оказывает токсичное воздействие на нейроны, таким

образом, вносит свой вклад в формирование олигофрении у больных с 21 трисомией [3, 66, 74, 75].

Как и другие газообразные посредники (NO и CO), H_2S оказывает расслабляющее действие на гладкие мышцы в сосудистой системе, желудочно-кишечном тракте, репродуктивной и дыхательной системах (рис. 4). В сосудистой системе за синтез H_2S главным образом отвечает ЦГЛ, который экспрессируется в эндотелии [7]. Считают, что H_2S является, наряду с NO, эндотелиальным фактором расслабления сосудов, вызывая гиперполяризацию мембранного потенциала за счет активации АТФ-зависимых K^+ -каналов. В исследованиях, проведенных на мышах, нокаутированных по ЦГЛ, к 12-й нед жизни развивается стойкая гипертензия, сходная с гипертензией мышей, нокаутированных по эндотелиальной NO-синтазе – ферменту синтеза NO [76].

Вышеприведенные данные позволяют предположить, что эндогенный путь ЦГЛ/ H_2S вовлечен в патофизиологические процессы при гипертензии и других сосудистых заболеваниях (рис. 6). Действительно, в моделях спонтанно гипертензивных крыс снижен уровень сульфидов в плазме крови и также подавлена активность ЦГЛ [76]. Большое количество исследований свидетельствуют о кардиопротекторном эффекте H_2S при инфаркте миокарда и гипоксии.

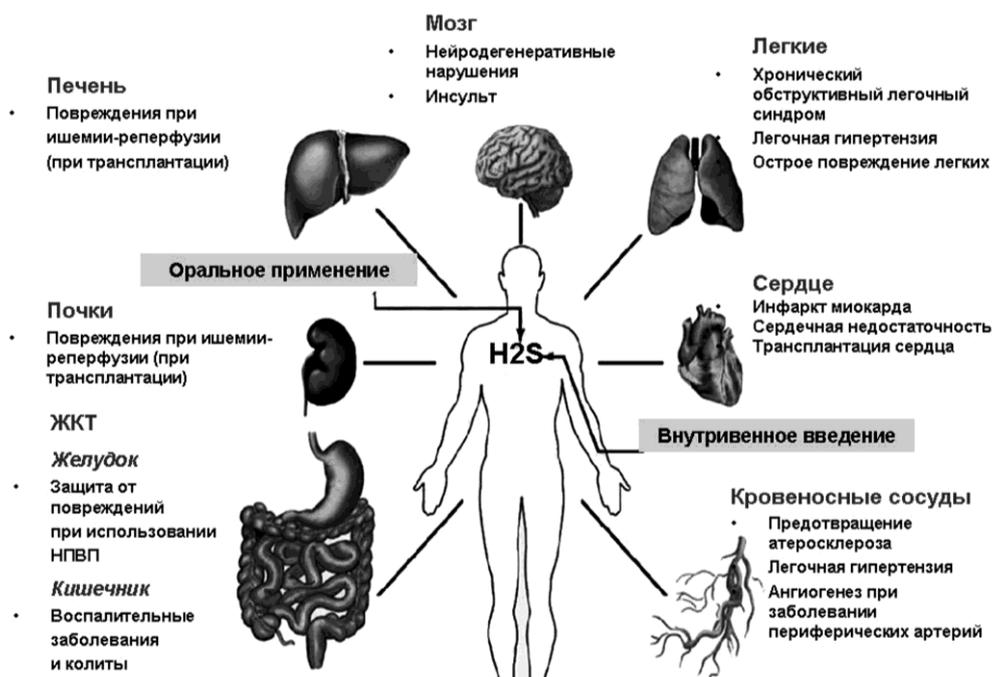


Рис. 6. Терапевтические мишени сероводорода. Соединения, высвобождающие сероводород, могут применяться orally или вводиться внутривенно. H_2S вовлечен в патогенез хронического обструктивного синдрома легких и легочной гипертензии, а также способен снижать острое повреждение легких. H_2S обладает кардиопротекторными свойствами при инфаркте миокарда, сердечной недостаточности и может предотвращать развитие атеросклероза. H_2S также способствует ангиогенезу. Разработаны соединения, высвобождающие H_2S , для лечения воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта и колитов, кроме того, H_2S может предотвращать повреждения, вызванные использованием нестероидных противовоспалительных препаратов. H_2S также предотвращает повреждения, вызванные ишемией-реперфузией почек и печени. Наконец, исследуется возможность применения H_2S для лечения нейродегенеративных заболеваний и при инсульте

В модели инфаркта миокарда крыс H_2S уменьшал их смертность и снижал размер инфаркта. По-видимому, сосудорасширяющее действие H_2S приводит к усилению коронарного кровотока при ишемических заболеваниях и снижает клеточные повреждения. Кроме того, имеются данные о том, что H_2S способствует стимуляции ангиогенеза – процессу образования новых кровеносных сосудов, усиливая миграцию эндотелиальных клеток, что также оказывает кардиопротекторный эффект [77] (рис. 6). Интересным является предположение, что кардиопротекторная роль чеснока является следствием выделения H_2S . Оказывается, что ряд сульфид-содержащих соединений, присутствующих в продуктах питания (грибах, луке, чесноке), расщепляются в кишечнике и образуют органические полисульфиды, которые затем выделяют H_2S в ходе дальнейшего метаболизма [7].

В наших исследованиях показано, что H_2S оказывает влияние и на периферическую нервную систему. Оказалось, что H_2S приводит к усилению освобождения медиатора из двигательных нервных окончаний мотонейронов спинного мозга, образующих синаптические контакты с мышечными волокнами скелетных мышц у холоднокровных и теплокровных животных. По нашим данным, этот эффект связан как с изменением уровня цАМФ, так и с накоплением кальция в нервном окончании [78–81] (рис. 2).

Перспективным является синтез соединений, высвобождающих H_2S , для лечения воспалительных и других заболеваний. Так, уже было синтезировано производное мезаламина – АТВ-429, которое проявляет обезболивающий и противовоспалительный эффекты в моделях воспаления кишечника. Другой пример – S-диклофенак, производное диклофенака (известного нестероидного противовоспалительного средства), содержащее дополнительную химическую группировку, высвобождающую H_2S . В экспериментальных моделях воспаления кишечника у крыс S-диклофенак продемонстрировал более значительное противовоспалительное действие по сравнению с обычным диклофенаком и менее выраженные побочные эффекты со стороны желудочно-кишечного тракта [66, 75] (рис. 6).

Сероводород и другие газомедиаторы. Взаимодействие газов

Данные последних лет подтверждают тесное взаимодействие газообразных посредников (NO , CO и H_2S) как на уровне регуляции ферментов синтеза, так и мишеней их действия. Например, NO и CO , связываясь с ЦБС, модулируют его каталитическую активность, а H_2S ингибирует активность ферментов синтеза NO . NO является хорошо установленным эндотелиальным фактором расслабления сосудов в аорте и других крупных сосудах [11]. Однако в брыжеечных артериях, относящихся к резистивным сосудам и являющихся более значимыми для регулирования периферического давления крови, расслабление в основном связано с H_2S . По-видимому, в зависимости от типа сосудов и вида животного значение того или иного фактора, обладающего активностью эндотелиального фактора расслабления сосудов, может различаться. Кроме того, механизмы действия H_2S и NO в сосудах различны. Эффекты NO опосредуются через растворимую форму гуанилатциклазы и модуляцию Ca^{2+} -активируемых K-каналов, тогда как основным механизмом действия H_2S является гиперполяризация, что обеспечивается активацией АТФ-зависимых K-каналов [7, 76].

Все три газа (NO , CO и H_2S) облегчают индукцию долговременной потенциации в гиппокампе, однако механизмы, лежащие в основе этого эффекта, различны. Предполагается, что NO и CO являются ретроградными посредниками, действующими на пресинаптическом уровне и усиливающими секрецию медиатора, тогда как в основе эффекта H_2S лежит изменение активности постсинаптических НМДА-рецепторов. Все три газа могут активировать Ca^{2+} -активируемые K⁺-каналы, вызывая различные типы химической модификации белка канала. NO модулирует активность каналов через модификацию сульфгидрильных групп, CO – путем изменения остатков гистидина, а H_2S – путем восстановления дисульфидных связей [3, 5, 58]. Таким образом, газы, несмотря на общность свойств и часто схожесть функций, имеют различные механизмы и мишени действия, но при этом тесно взаимосвязаны друг с другом, поэтому необходимо рассматривать газомедиаторы не по отдельности, а как триумвират молекул, работающих вместе и регулирующих функции клетки в норме и патологии.

Надо отметить, что NO, CO и H₂S – не единственные газы, представляющие интерес для физиологов. Аммиак (NH₃) имеет сосудосуживающий эффект, что, вероятно, связано с изменением внутриклеточного pH. Диоксид серы (SO₂) и закись азота (N₂O) являются продуктами клеточного и бактериального метаболизма и также влияют на физиологические функции. Например, SO₂ снижает кровяное давление у крыс и усиливает адгезию нейтрофилов в культуре эпителиальных клеток, а N₂O ингибирует глутамат-опосредованную нейротрансмиссию, действуя как антагонист НМДА-рецепторов. В клетках млекопитающих был показан немикробный синтез метана (CH₄) в ходе взаимодействия электрофильной метиленовой группы с позитивно заряженным азотом в молекулах метионина или холина. Экзогенная аппликация метана (CH₄) снижает оксидативный стресс в ходе ишемического повреждения у собак и подавляет лейкоцитов *in vitro* [58].

Концепция газомедиаторов возникла в 2002 г. и положила начало новой области исследования клеточных сигнальных механизмов [82]. Особые свойства и разнообразие эффектов газов изменили традиционную концепцию внутриклеточной и межклеточной коммуникации [14]. В течение последующих лет и в настоящее время ученые пытаются выявить многообразие эффектов и физиологическую значимость газомедиаторов в тканях организма, что открывает новые перспективы для фармакологических исследований и создания препаратов, регулирующих метаболизм и концентрацию газов в тканях организма при различных патологических состояниях.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-15-00618 и выполнена в рамках государственной программы повышения конкурентоспособности Казанского (Приволжского) федерального университета среди ведущих мировых научно-образовательных центров.

Литература

1. *Maines M.D.* The heme oxygenase system: a regulator of second messenger gases // *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1997. V. 37. P. 517–554.
2. *Зефирова А.Л., Уразаев А.Х.* Функциональная роль оксида азота // *Успехи физиол. наук.* 1999. Т. 30, № 1. С. 547–572.
3. *Wang R.* Signal Transduction and the Gasotransmitters. NO, CO and H₂S in Biology and Medicine. Totowa: Humana Press, 2004. 377 p.
4. *Зефирова А.Л.* Медиаторы, эволюция представлений // *Вестник РАМН.* 2005. Т. 1. С. 1–4.
5. *Ситдикова Г.Ф., Зефирова А.Л.* Газообразные посредники в нервной системе // *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 2006. Т. 92, № 7. С. 872–882.
6. *Hermann A., Sittikova G.F., Weiger T.* Gase als zellulare Signalstoffe // *Biol. Unserer Zeit.* 2010. V. 40. P. 185–193.
7. *Gadalla M.M., Snyder S.H.* Hydrogen sulfide as a gasotransmitter // *J. Neurochem.* 2010. V. 113. P. 14–26.
8. *Sittikova G.F., Weiger T.M., Hermann A.* Hydrogen sulfide increases calcium-activated potassium 5 (BK) channel activity of rat pituitary tumor cells // *Pflugers Arch. Eur. J. Physiol.* 2010. V. 459. P. 389–397.
9. *Ситдикова Г.Ф.* Ретроградная модуляция нервно-мышечной передачи газообразными посредниками // *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 2004. Т. 90, № 8. С. 279–280.
10. *Garthwaite J.* Concepts of neural nitric oxide-mediated transmission // *Eur. J. Neurosci.* 2008. V. 27. P. 2783–2802.
11. *Ignarro L.J.* Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1987. V. 84. P. 9265–9269.
12. *Danson E.J., Choate J.K., Paterson D.J.* Cardiac nitric oxide: Emerging role in regulating physiological function // *Pharmacol. Ther.* 2005. V. 106. P. 57–74.
13. *Kelly R.A., Balligand J.L., Smith T.W.* Nitric oxide and cardiac function // *Circulation. Res.* 1996. V. 79. P. 363–380.
14. *Mustafa A.K., Gadalla M.M., Snyder S.H.* Signaling by Gasotransmitters // *Sci. Signal.* 2009. V. 2, № 68. P. 1–8.
15. *Arnold W.P., Millal C.K., Katsuki S., Murad F.* Nitric oxide activates guanylate cyclase and increases guanosine 3', 5'-cyclic monophosphate levels in various tissue preparations // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1977. V. 74. P. 3203–3207.
16. *Domek-Lopacinska K., Strosznajder J.B.* Cyclic GMP metabolism and its role in brain physiology // *J. Physiol. Pharmacol.* 2005. V. 56. P. 15–34.
17. *Schuman E.M., Madison D.V.* Nitric oxide and synaptic function // *Ann. Rev. Neurosci.* 1994. V. 17. P. 153–183.
18. *Stampler J.S., Meissner G.* Physiology of nitric oxide in skeletal muscle // *Physiology Rev.* 2001. V. 81, № 1. P. 209–237.
19. *Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Охотин В.Е., Косицин Н.С.* Циклические превращения NO в организме млекопитающих. М.: Наука, 1998. 156 с.
20. *Меньшиков Е.Б., Зенков Н.К., Реутов В.П.* Оксид азота и NO-синтазы в организме млекопитающих при различных функциональных состояниях // *Биохимия.* 2000. Т. 65, № 4. С. 485–503.
21. *Bishop A., Anderson J. E.* NO signaling in the CNS: from the physiological to the pathological // *Toxicology.* 2005. V. 208. P. 193–205.
22. *Meffert M.K., Premack B.A., Schulman H.* Nitric oxide stimulates Ca²⁺-independent synaptic vesicle release // *Neuron.* 1994. V. 12, № 6. P. 1235–1244.
23. *Wang G., Moniri N.H., Ozawa K.* Nitric oxide regulates endocytosis by S-nitrosylation of dynamin // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006. V. 103, № 5. P. 1295–1300.
24. *Prast H., Philippu A.* Nitric oxide as modulator of neuronal function // *Progr. Neurobiol.* 2001. V. 64. P. 51–68.
25. *Esplugues J.V.* NO as a signaling molecule in the nervous system // *British. J. Pharmacol.* 2002. V. 136. P. 1079–1095.
26. *Hopper R.A., Garthwaite J.* Tonic and Phasic Nitric Oxide Signals in Hippocampal Long-Term Potentiation // *J. Neuroscience.* 2006. V. 26, № 45. P. 11513–11521.
27. *Zhuo M., Laitinen J.T., Li X., Hawkins R.D.* On the respective roles of nitric oxide and carbon monoxide in long-term potentiation in the hippocampus // *Learn. Mem.* 1999. V. 6, № 1. P. 63–76.
28. *Зефирова А.Л., Халиуллина Р.Р., Анучин А.А.* Эффекты экзогенного оксида азота на секрецию медиатора и ионные токи двигательного нервного окончания // *БЭБиМ.* 1999. Т. 128, № 8. С. 144–147.
29. *Яковлев А.В., Ситдикова Г.Ф., Зефирова А.Л.* Роль циклических нуклеотидов в реализации эффектов оксида азота

- (II) на секрецию медиатора и электрогенез двигательного нервного окончания // Доклады Академии наук. 2002. Т. 382, № 2. С. 1–4.
30. Яковлев А.В., Ситдикова Г.Ф., Зефиоров А.Л. Внутриклеточные пресинаптические механизмы эффектов оксида азота (II) в нервно-мышечном соединении лягушки // Нейрохимия. 2005. Т. 22, № 1. С. 81–87.
 31. Ситдикова Г.Ф., Яковлев А.В., Зефиоров А.Л., Архипова О.В. Эффекты L- и D-стереоизомеров аргинина на секрецию медиатора и ионные токи двигательного нервного окончания // Доклады Академии Наук. 2003. Т. 393, № 5. С. 15–19.
 32. Piantadosi C.A. Biological chemistry of carbon monoxide // Antioxid. Redox. Signal. 2002. V. 4. P. 259–270.
 33. Wu L., Wang R. Carbon monoxide: endogenous production, physiological functions, and pharmacological applications // Pharmacol. Rev. 2005. V. 57. P. 585–630.
 34. McCoubrey W.K. Jr., Huang T.J., Maines M.D. Isolation and characterization of a cDNA from the rat brain that encodes hemoprotein heme oxygenase-3 // Eur. J. Biochem. 1997. V. 247. P. 725–732.
 35. Foresti R., Motterlini R. The heme oxygenase pathway and its interaction with nitric oxide in the control of cellular homeostasis // Free Radic. Res. 1999. V. 31. P. 459–475.
 36. Raju V.S., Maines M.D. Coordinated expression and mechanisms of induction of HSP32 (heme oxygenase-1) mRNA by hyperthermia in rat organs // Biochem. Biophys. Acta. 1993. V. 1217. P. 273–280.
 37. Ndisang J.F., Tabien H.E.N., Wang R. Carbon monoxide and hypertension // J. Hypertension. 2004. V. 22. P. 1057–1074.
 38. Xue L., Farrugia G., Miller S.M. et al. Carbon monoxide and nitric oxide as coneurotransmitters in the enteric nervous system: evidence from genomic deletion of biosynthetic enzymes // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2000. V. 97. P. 1851–1855.
 39. Farrugia G., Lei S., Lin X. et al. A major role for carbon monoxide as an endogenous hyperpolarizing factor in the gastrointestinal tract // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003. V. 100. P. 8567–8570.
 40. Ewing J.F., Maines M.D. *In situ* hybridization and immunohistochemical localization of heme oxygenase-2 mRNA and protein in normal rat brain: differential distribution of isozyme 1 and 2 // Mol. Cell. Neurosci. 1992. V. 3. P. 4559–4570.
 41. Verma A., Hirsch D.J., Glatt C.E. et al. Carbon monoxide: a putative neural messenger // Science. 1993. V. 59. P. 381–84.
 42. Boehning D., Sedaghat L., Sedlak T.W., Snyder S.H. Heme oxygenase-2 is activated by calcium-calmodulin // J. Biol. Chem. 2004. V. 279. P. 30927–30930.
 43. Dore S., Takahashi M., Ferris C.D. et al. Bilirubin, formed by activation of heme oxygenase-2, protects neurons against oxidative stress injury // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. V. 96. P. 2445–2450.
 44. Boehning D., Moon C., Sharma S. et al. Carbon monoxide neurotransmission activated by CK2 phosphorylation of heme oxygenase-2 // Neuron. 2003. V. 40. P. 129–137.
 45. Nathanson J.A., Scavone C., Scanlon C., McKee M. The cellular NaC pump as a site of action for carbon monoxide and glutamate: a mechanism for long-term modulation of cellular activity // Neuron. 1995. V. 14. P. 781–794.
 46. Shinomura T., Nakao S-I., Mori K. Reduction of depolarization-induced glutamate released by heme oxygenase inhibitor: possible role of carbon monoxide in synaptic transmission // Neurosci. Lett. 1994. V. 166. P. 131–134.
 47. Stevens C.F., Wang Y. Reversal of long-term potentiation by inhibitors of haem oxygenase // Nature. 1993. V. 364. P. 147–49.
 48. Stone J.R., Marletta M.A. Soluble guanylate cyclase from bovine lung: Activation of nitric oxide and carbon monoxide and spectral characterization of the ferrous and ferric states // Biochemistry. 1994. V. 33. P. 5636–5640.
 49. Farrugia G., Miller S.M., Rich A. et al. Distribution of heme oxygenase and effects of exogenous carbon monoxide in canine jejunum // Am. J. Physiol. 1998. V. 274. P. G350–G358.
 50. Xi Q., Tcheranova D., Parfenova H. et al. Carbon monoxide activates K_{Ca} channels in newborn arteriole smooth muscle cells by increasing apparent Ca^{2+} sensitivity of α -subunits // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. 2004. V. 286. P. 610–618.
 51. Jaggar J., Leffler Ch., Cheranova S. et al. Carbon monoxide dilates cerebral arterioles by enhancing the coupling of Ca^{2+} sparks to Ca^{2+} -activated K^+ channels // Circ. Res. 2002. V. 91. P. 610–617.
 52. Ситдикова Г.Ф., Гришин С.Н., Зефиоров А.Л. Пресинаптические эффекты монооксида углерода в нервно-мышечном синапсе лягушки // Доклады Академии Наук. 2005. Т. 403, № 1. С. 121–125.
 53. Ситдикова Г.Ф. et al. **Modulation of neurotransmitter release by carbon monoxide at the frog neuro-muscular junction** // *Curr Drug Metab.* 2007. V. 8, № 2. P. 177–184.
 54. Otterbein L.E., Bach F.H., Alam J., Soares M. et al. Carbon monoxide has anti-inflammatory effects involving the mitogen-activated protein kinase pathway // Nature Med. 2000. V. 6. P. 422–428.
 55. Foresti R., Bani-Hani M. G., Motterlini R. Use of carbon monoxide as a therapeutic agent: promises and challenges // Intensive Care Med. 2008. V. 34. P. 649–658.
 56. Reiffenstein R.J., Hulbert W.C., Roth S.H. Toxicology of hydrogen sulfide // Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 1992. V. 32. P. 109–134.
 57. Savage C., Gould D.H. Determination of sulfides in brain tissue and rumen fluid by ion-interaction reversed-phase high-performance liquid chromatography // J. Chromatogr. 1990. 526. P. 540–545.
 58. Wang R. Gasotransmitters: growing pains and joys // Trends Biochem. Sci. 2014. 39 (5). P. 227–232.
 59. Ситдикова Г.Ф., Зефиоров А.Л. Газообразные посредники в нервной системе // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2006. Т. 97, № 7. С. 872–882.
 60. Ситдикова Г.Ф., Зефиоров А.Л. Сероводород: от канализаций Парижа к сигнальной молекуле // Природа. 2010. № 9. С. 29–37.
 61. Ситдикова Г.Ф., Яковлев А.В., Одношвикина Ю.Г., Зефиоров А.Л. Влияние сероводорода на процессы экзо- и эндоцитоза синаптических везикул в двигательном нервно-мышечном соединении лягушки. // Нейрохимия. 2011. Т. 28, № 4. С. 1–7.
 62. Khaertdinov N.N., Ahmetshina D.R., Zefirov A.L., Sitdikova G.F. Hydrogen Sulfide in Regulation of Frog Myocardium Contractility // Biochemistry (Moscow). 2013. V. 7, № 1. P. 52–57.
 63. Хаертдинов Н.Н., Герасимова Е.В., Ситдикова Г.Ф. АТФ-зависимые K^+ -каналы как мишень действия сероводорода в миокарде лягушки // Естественные науки. 2012. Т. 1, № 38. С. 210–213.
 64. Шафигуллин М.У., Зефиоров Р.А., Сабируллина Г.И., Зефиоров А.Л., Ситдикова Г.Ф. Эффекты донора сероводорода на спонтанную сократительную активность желудка и тощей кишки крысы // БЭБИМ. 2014. Т. 157, № 3. С. 275–279.
 65. Яковлев А.В., Ситдикова Г.Ф., Зефиоров А.Л. Внутриклеточные пресинаптические механизмы эффектов оксида азота (II) в нервно-мышечном соединении лягушки. // Нейрохимия. 2005. V. 22, № 1. P. 81–87.
 66. Lowicka E, Beltowski J. Hydrogen sulfide (H₂S) – the third

- gas of interest for pharmacologists // *Pharmacol. Rep.* 2007. V. 59, № 1. P. 4–24.
67. Enokido Y., Suzuki E., Iwasawa K. et al. Cystathionine beta-synthase, a key enzyme for homocysteine metabolism, is preferentially expressed in the radial glia/astrocyte lineage of developing mouse CNS // *FASEB journal*. 2005. V. 19, № 13. P. 1854–1856.
68. Nagahara N., Ito T., Kitamura H., Nishino T. Tissue and subcellular distribution of mercaptopyruvate sulfurtransferase in the rat: confocal laser fluorescence and immunoelectron microscopic studies combined with biochemical analysis // *Histochem. and Cell Biology*. 1998. V. 110, № 3. P. 243–250.
69. Shibuya N., Koike S., Tanaka M., et al. A novel pathway for the production of hydrogen sulfide from D-cysteine in mammalian cells // *Nature Communications*. 2013. V. 4. P. 13–66.
70. Kimura H. Hydrogen Sulfide: From Brain to Gut // *Antiox. Redox Signal*. 2010. V. 12, № 9. P. 1111–1123.
71. Kimura H. Physiological role of hydrogen sulfide and polysulfide in the central nervous system // *Neurochem. International*. 2013. V. 63, № 5. P. 492–497.
72. Wang R. Physiological implications of hydrogen sulfide: A Whiff exploration that blossomed. // *Physiological reviews*. 2012. V. 92, № 2. P. 791–896.
73. Abe K., Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator // *J. Neurosci.* 1996. V. 16. P. 1066–1071.
74. Tan B.H., Wong P.T.-H., Bian J-S. Hydrogen sulfide: A novel signaling molecule in the central nervous system // *Neurochem. Int.* 2010. V. 56. P. 3–10.
75. Szabó C. Hydrogen sulphide and its therapeutic potential // *Nature rev. Drug discovery*. 2007. V. 6. P. 917–935.
76. Yang G. H₂S as a physiologic vasorelaxant: Hypertension in mice with deletion of cystathionine γ -lyase // *Science*. 2008. V. 322. P. 587–590.
77. Elsej D.J., Fowkes R.C., Baxter G.F. Regulation of cardiovascular cell function by hydrogen sulfide (H₂S) // *Cell biochemistry and function. Cell. Biochem. Funct.* 2010. V. 28. P. 95–106.
78. Герасимова Е.В., Ситдикова Г.Ф., Зефирова А.Л. Сероводород как эндогенный модулятор освобождения медиатора в нервно-мышечном синапсе лягушки // *Нейрохимия*. 2008. Т. 25, № 1–2. С. 138–145.
79. Герасимова Е.В., Вологин С.Г., Мухачева Ю.А., Ситдикова Г.Ф. Эффекты сероводорода на освобождение медиатора и выявление экспрессии цистатионин гамма-лиазы в диафрагмальной мышце мыши // *Ученые записки КГУ. Серия Естественные науки, кн 2*. 2010. Т. 152. С. 41–50.
80. Герасимова Е.В., Ситдикова Г.Ф., Зефирова А.Л. Исследование блокаторов синтеза сероводорода на секрецию медиатора в нервно-мышечном синапсе лягушки // *Неврологический вестник, Казань*. 2007. Т. XXXIX, № 1. С. 83–84.
81. Ситдикова Г.Ф., Герасимова Е.В., Хаертдинов Н.Н., Зефирова А.Л. Роль циклических нуклеотидов в эффектах сероводорода на освобождение медиатора в нервно-мышечном синапсе лягушки // *Нейрохимия*. 2009. Т. 26, № 4. С. 1–7.
82. Wang R. Two's company, three's a crowd – Can H₂S the third endogenous gaseous transmitter? // *FASEB*. 2002. V. 16. P. 1792–1798.

Поступила в редакцию 01.11.2014 г.

Утверждена к печати 12.11.2014 г.

Ситдикова Гузель Фаритовна – д-р биол. наук, профессор, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, кафедра физиологии человека и животных; кафедра нормальной физиологии Казанского медицинского государственного университета (г. Казань).

Яковлев Алексей Валерьевич (✉) – канд. биол. наук, доцент, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, кафедра физиологии человека и животных (г. Казань).

Зефирова Андрей Львович – д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАМН, зав. кафедрой нормальной физиологии Казанского медицинского государственного университета (г. Казань).

✉ **Яковлев Алексей Валерьевич**, тел: 8-843-233-7812; e-mail: alv.yakovlev@gmail.com

GASOTRANSMITTERS: FROM THE TOXIC EFFECTS TO THE REGULATION OF CELLULAR FUNCTION AND CLINICAL APPLICATION

Sitdikova G.F., Yakovlev A.V., Zefirov A.L.

Kazan Federal University, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan, Russian Federation
Kazan State Medical University, Kazan, Russian Federation

ABSTRACT

Nitric oxide II (NO), carbon monoxide (CO) and hydrogen sulfide (H₂S) for many decades were described as the toxic gases inducing damaging action in man's organisms. Recently it was found that NO,

CO and H₂S endogenously synthesized and served as signaling molecules of autocrine and paracrine regulation in many systems. The properties, mechanisms of synthesis and action in excitable systems are presented in this paper. Besides we also described our results concerning the effects and mechanisms of action of gaseous messengers in peripheral nervous system – in neuromuscular junction.

KEY WORDS: gasotransmitters, nitric oxide (II), carbon monoxide, hydrogen sulfide, transmitter release, motor nerve ending, ion channels.

Bulletin of Siberian Medicine, 2014, vol. 13, no. 6, pp. 185–200

References

- Maines M.D. The heme oxygenase system: a regulator of second messenger gases. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 1997, vol. 37, pp. 517–554.
- Zefirov A.L., Urazaev A.H. Funkcionalnaya rol oksida azota. *Uspehi fiziol. nauk*, 1999, vol. 30, no. 1, pp. 547–572.
- Wang R. Signal Transduction and the Gasotransmitters. NO, CO and H₂S in Biology and Medicine. Totowa: Humana Press, 2004. 377 p.
- Zefirov A.L. Mediatory, evolyuciya predstavleniy. *Vestnik Rossiyskoy AMN*, 2005, vol. 1, pp. 1–4.
- Sitdikova G.F., Zefirov A.L. Gazoobraznye posredniki v nervnoy sisteme. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I. M. Sechenova – Russian Journal of Physiology*, 2006, vol. 92, no. 7, pp. 872–882.
- Hermann A., Sitdikova G.F., Weiger T. Gase als zellulare Signalstoffe. *Biol. Unserer Zeit*, 2010, vol. 40, pp. 185–193.
- Gadalla M.M., Snyder S.H. Hydrogen sulfide as a gasotransmitter. *J. Neurochem.*, 2010, vol. 113, pp. 14–26.
- Sitdikova G.F., Weiger T.M., Hermann A. Hydrogen sulfide increases calcium-activated potassium 5 (BK) channel activity of rat pituitary tumor cells. *Pflugers Arch. Eur. J. Physiol.*, 2010, vol. 459, pp. 389–397.
- Sitdikova G.F. Retrogradnaya modulyaciya nervno-myshechnoy peredachi gazoobraznymi posrednikami. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I. M. Sechenova – Russian Journal of Physiology*, 2004, vol. 90, no. 8, pp. 279–280.
- Garthwaite J. Concepts of neural nitric oxide-mediated transmission. *Eur. J. Neurosci.*, 2008, vol. 27, pp. 2783–2802.
- Ignarro L.J. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1987, vol. 84, pp. 9265–9269.
- Danson E.J., Choate J.K., Paterson D.J. Cardiac nitric oxide: Emerging role for nNOS in regulating physiological function. *Pharmacol. Ther.*, 2005, vol. 106, pp. 57–74.
- Kelly R.A., Balligand J.L., Smith T.W. Nitric oxide and cardiac function. *Circulation. Res.*, 1996, vol. 79, pp. 363–380.
- Mustafa A.K., Gadalla M.M., Snyder S.H. Signaling by Gasotransmitters. *Sci. Signal.*, 2009, vol. 2, no. 68, pp. 1–8.
- Arnold W.P., Millal C.K., Katsuki S., Murad F. Nitric oxide activates guanylate cyclase and increases guanosine 3',5'-cyclic monophosphate levels in various tissue preparations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1977, vol. 74, pp. 3203–3207.
- Domek-Lopacinska K., Strosznajder J.B. Cyclic GMP metabolism and its role in brain physiology. *J. Physiol. Pharmacol.*, 2005, vol. 56, pp. 15–34.
- Schuman E.M., Madison D.V. Nitric oxide and synaptic function. *Ann. Rev. Neurosci.*, 1994, vol. 17, pp. 153–183.
- Stampler J.S., Meissner G. Physiology of nitric oxide in skeletal muscle. *Physiology Rev.*, 2001, vol. 81, no. 1, pp. 209–237.
- Reutov V.P., Sorokina E.G., Ohotin V.E., Kosicin N.S. Ciklicheskie prevrascheniya NO v organizme mlekopitayuschih. Moscow, Nauka Publ., 1998. 156 p.
- Menshikov E.B., Zenkov N.K., Reutov V.P. Oksid azota i NO-sintazy v organizme mlekopitayuschih pri razlichnyh funkcionalnyh sostoyaniyah. *Biohimiya –*, 2000, vol. 65, no. 4, pp. 485–503.
- Bishop A., Anderson J.E. NO signaling in the CNS: from the physiological to the pathological. *Toxicology*, 2005, vol. 208, pp. 193–205.
- Meffert M.K., Premack B.A., Schulman H. Nitric oxide stimulates Ca²⁺-independent synaptic vesicle release. *Neuron*, 1994, vol. 12, no. 6, pp. 1235–1244.
- Wang, G., Moniri NH., Ozawa K. Nitric oxide regulates endocytosis by S-nitrosylation of dynamin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006, vol. 103, no. 5, pp. 1295–1300.
- Prast H., Philippu A. Nitric oxide as modulator of neuronal function. *Progr. Neurobiol.*, 2001, vol. 64, pp. 51–68.
- Esplugues J.V. NO as a signaling molecule in the nervous system. *British. J. Pharmacol.*, 2002, vol. 136, pp. 1079–1095.
- Hopper R.A., Garthwaite J. Tonic and Phasic Nitric Oxide Signals in Hippocampal Long-Term Potentiation. *J. Neuroscience*, 2006, vol. 26, no. 45, pp. 11513–11521.
- Zhuo M., Laitinen J.T., Li X., Hawkins R.D. On the respective roles of nitric oxide and carbon monoxide in long-term potentiation in the hippocampus. *Learn. Mem.*, 1999, vol. 6, no. 1, pp. 63–76.
- Zefirov A.L., Haliullina R.R., Anuchin A.A. Effekty ekzogennogo oksida azota na sekreciyu mediatora i ionnye toki dvigatel'nogo nervnogo okonchaniya. *BEBiM –*, 1999, vol. 128, no. 8, pp. 144–147.
- Yakovlev A.V., Sitdikova G.F., Zefirov A.L. Rol ciklicheskih nukleotidov v realizacii effektov oksida azota (II) na sekreciyu mediatora i elektrogenез dvigatel'nogo nervnogo okonchaniya. *Doklady Akademii Nauk*, 2002, vol. 382, no. 2, pp. 1–4.
- Yakovlev A.V., Sitdikova G.F., Zefirov A.L. Vnutrikletochnye presinapticheskie mehanizmy effektov oksida azota (II) v nervno-myshechnom soedinenii lyagushki. *Neirochimia – Neurochemical Journal*, 2005, vol. 22, no. 1, pp. 81–87.
- Sitdikova G.F., Yakovlev A.V., Zefirov A.L., Arhipova O.V. Effekty L-i D-stereoizomerov arginina na sekreciyu mediatora i ionnye toki dvigatel'nogo nervnogo okonchaniya. *Doklady Akademii Nauk*, 2003, vol. 393, no. 5, pp. 15–19.
- Piantadosi C.A. Biological chemistry of carbon monoxide. *Antioxid. Redox. Signal*, 2002, vol. 4, pp. 259–270.
- Wu L., Wang R. Carbon monoxide: endogenous production, physiological functions, and pharmacological applications. *Pharmacol. Rev.*, 2005, vol. 57, pp. 585–630.
- McCoubrey W.K. Jr., Huang T.J., Maines M.D. Isolation and characterization of a cDNA from the rat brain that encodes hemoprotein heme oxygenase-3. *Eur. J. Biochem.*, 1997, vol. 247, pp. 725–732.
- Foresti R., Motterlini R. The heme oxygenase pathway and its interaction with nitric oxide in the control of cellular homeostasis. *Free Radic. Res.*, 1999, vol. 31, pp. 459–475.
- Raju V.S., Maines M.D. Coordinated expression and mechanisms of induction of HSP32 (heme oxygenase-1) mRNA by hyperthermia in rat organs. *Biochem. Biophys. Acta*, 1993, vol. 1217, pp. 273–280.

37. Ndisang J.F., Tabien H.E.N., Wang R. Carbon monoxide and hypertension. *J. Hypertension*, 2004, vol. 22, pp. 1057–1074.
38. Xue L., Farrugia G., Miller S.M. et al. Carbon monoxide and nitric oxide as coneurotransmitters in the enteric nervous system: evidence from genomic deletion of biosynthetic enzymes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000, vol. 97, pp. 1851–1855.
39. Farrugia G., Lei S., Lin X. et al. A major role for carbon monoxide as an endogenous hyperpolarizing factor in the gastrointestinal tract. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, vol. 100, pp. 8567–8570.
40. Ewing J.F., Maines M.D. In situ hybridization and immunohistochemical localization of heme oxygenase-2 mRNA and protein in normal rat brain: differential distribution of isozyme 1 and 2. *Mol. Cell. Neurosci.*, 1992, vol. 3, pp. 4559–4570.
41. Verma A., Hirsch D.J., Glatt C.E. et al. Carbon monoxide: a putative neural messenger. *Science*, 1993, vol. 59, pp. 381–384.
42. Boehning D., Sedaghat L., Sedlak T.W., Snyder S.H. Heme oxygenase-2 is activated by calcium-calmodulin. *J. Biol. Chem.*, 2004, vol. 279, pp. 30927–30930.
43. Dore S., Takahashi M., Ferris C.D. et al. Bilirubin, formed by activation of heme oxygenase-2, protects neurons against oxidative stress injury. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, vol. 96, pp. 2445–2450.
44. Boehning D., Moon C., Sharma S. et al. Carbon monoxide neurotransmission activated by CK2 phosphorylation of heme oxygenase-2. *Neuron*, 2003, vol. 40, pp. 129–137.
45. Nathanson J.A., Scavone C., Scanlon C., McKee M. The cellular NaC pump as a site of action for carbon monoxide and glutamate: a mechanism for long-term modulation of cellular activity. *Neuron*, 1995, vol. 14, pp. 781–794.
46. Shinomura T., Nakao S-I., Mori K. Reduction of depolarization-induced glutamate released by heme oxygenase inhibitor: possible role of carbon monoxide in synaptic transmission. *Neurosci. Lett.* 1994. V. 166. P.131–134.
47. Stevens C.F., Wang Y. Reversal of long-term potentiation by inhibitors of haem oxygenase. *Nature*, 1993, vol. 364, pp. 147–49.
48. Stone J.R., Marletta M.A. Soluble guanylate cyclase from bovine lung: Activation of nitric oxide and carbon monoxide and spectral characterization of the ferrous and ferric states. *Biochemistry*, 1994, vol. 33, pp. 5636–5640.
49. Farrugia G., Miller S.M., Rich A. et al. Distribution of heme oxygenase and effects of exogenous carbon monoxide in canine jejunum. *Am. J. Physiol.*, 1998, vol. 274, pp. G350–G358.
50. Xi Q., Tcheranova D., Parfenova H. et al. Carbon monoxide activates KCa channels in newborn arteriole smooth muscle cells by increasing apparent Ca²⁺ sensitivity of α -subunits. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.*, 2004, vol. 286, pp. 610–618.
51. Jaggar J., Leffler Ch., Cheranov S. et al. Carbon monoxide dilates cerebral arterioles by enhancing the coupling of Ca²⁺ sparks to Ca²⁺-activated K⁺ channels. *Circ. Res.*, 2002, vol. 91, pp. 610–617.
52. Sitdikova G.F., Grishin S.N., Zefirov A.L. Presinapticheskie efekty monooksida ugljoroda v nervno-myshechnom sinapse lyagushki. *Doklady Akademii Nauk.*, 2005, vol. 403, no. 1, pp. 121–125.
53. Sitdikova G.F. et al. Modulation of neurotransmitter release by carbon monoxide at the frog neuro-muscular junction. *Curr. Drug. Metab.*, 2007, vol. 8, no. 2, pp. 177–184.
54. Otterbein L.E., Bach F.H., Alam J., Soares M. et al. Carbonmonoxide has anti-inflammatory effects involving the mitogen-activated protein kinase pathway. *Nature Med.*, 2000, vol. 6, pp. 422–428.
55. Foresti R., Bani-Hani M.G., Motterlini R. Use of carbon monoxide as a therapeutic agent: promises and challenges. *Intensive Care Med.*, 2008, vol. 34, pp. 649–658.
56. Reiffenstein R.J., Hulbert W.C., Roth S.H. Toxicology of hydrogen sulfide. *Ann. Rev Pharmacol Toxicol.*, 1992, 32, pp. 109–134.
57. Savage C., Gould D.H. Determination of sulfides in brain tissue and rumen fluid by ion-interaction reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, 1990, 526, pp. 540–545.
58. Wang R. Gasotransmitters: growing pains and joys. *Trends Biochem. Sci.*, 2014, 39 (5), pp. 227–232.
59. Sitdikova G.F., Zefirov A.L. Gazoobraznye posredniki v nervnoy sisteme. *Rossiyskiy fiziologicheskij zhurnal im. I. M. Sechenova – Russian Journal of Physiology*, 2006, vol. 97, no. 7, pp. 872–882.
60. Sitdikova G.F., Zefirov A.L. Serovodorod: ot kanalizaciy Parizha k signalnoy molekule. *Priroda*, 2010, no. 9, pp. 29–37.
61. Sitdikova G.F., Yakovlev A.V., Odnoshivkina Yu.G., Zefirov A.L. Vliyanie serovodoroda na processy ekzo- i endocitoza sinapticheskikh vezikul v dvigatelnom nervnom okonchaniy lyagushki. *Neurochimia – Neurochemical Journal*, 2011, vol. 28, no. 4, pp. 1–7.
62. Khaertdinov N.N., Ahmetshina D.R., Zefirov A.L., Sitdikova G.F. Hydrogen Sulfide in Regulation of Frog Myocardium Contractility. *Biochemistry (Moscow)*, 2013, vol. 7, no. 1, pp. 52–57.
63. Khaertdinov N.N., Gerasimova E.V., Sitdikova G.F. ATF-zavisimye K⁺-kanaly kak mishen deysvtiya serovodoroda v miokarde lyagushki. *Estestvennye nauki*, 2012, vol. 1, no. 38, pp. 210–213.
64. Shafigullin M.U., Zefirov R.A., Sabirullina G.I., Zefirov A.L., Sitdikova G.F. Effekty donora serovodoroda na spontannuyu sokratitelnyuyu aktivnost zheludka i toschey kishki krysy. *BEBIM*, 2014, vol. 157, no. 3, pp. 275–279.
65. Yakovlev A.V., Sitdikova G.F., Zefirov A.L. Vnutrikletochnye presinapticheskie mehanizmy effektov oksida azota (II) v nervno-myshechnom soedinenii lyagushki. *Neurochimia – Neurochemical Journal*, 2005, vol. 22, no. 1, pp. 81–87.
66. Lowicka E., Beltowski J. Hydrogen sulfide (H₂S) – the third gas of interest for pharmacologists. *Pharmacol. Rep.*, 2007, vol. 59, no. 1, pp. 4–24.
67. Enokido Y, Suzuki E, Iwasawa K. Et al. Cystathionine beta-synthase, a key enzyme for homocysteine metabolism, is preferentially expressed in the radial glia/astrocyte lineage of developing mouse CNS. *FASEB journal*, 2005, vol. 19, no. 13, pp. 1854–56.
68. Nagahara N., Ito T., Kitamura H., Nishino T. Tissue and subcellular distribution of mercaptopyruvate sulfurtransferase in the rat: confocal laser fluorescence and immunoelectron microscopic studies combined with biochemical analysis. *Histochem. and Cell Biology*, 1998, vol. 110, no. 3, pp. 243–250.
69. Shibuya N., Koike S., Tanaka M., et al. A novel pathway for the production of hydrogen sulfide from D-cysteine in mammalian cells. *Nature Communications*, 2013, vol. 4, pp. 13–66.
70. Kimura H. Hydrogen Sulfide: From Brain to Gut. *Antiox. Redox Signal*, 2010, vol. 12, no. 9, pp. 1111–1123.
71. Kimura H. Physiological role of hydrogen sulfide and polysulfide in the central nervous system. *Neurochem. International*, 2013, vol. 63, no. 5, pp. 492–497.
72. Wang R. Physiological implications of hydrogen sulfide: A Whiff exploration that blossomed. *Physiological reviews*,

- 2012, vol. 92, no. 2, pp. 791–896.
73. Abe K., Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. *J. Neurosci.*, 1996, vol. 16, P. 1066–1071.
74. Tan B.H., Wong P.T.-H., Bian J-S. Hydrogen sulfide: A novel signaling molecule in the central nervous system. *Neurochem. Int.*, 2010, vol. 56, pp. 3–10.
75. Szabó C. Hydrogen sulphide and its therapeutic potential. *Nature rev. Drug discovery*, 2007, vol. 6, pp. 917–935.
76. Yang G. H₂S as a physiologic vasorelaxant: Hypertension in mice with deletion of cystathionine γ -lyase. *Science*, 2008, vol. 322, pp. 587–590.
77. Elsey D.J., Fowkes R.C., Baxter G.F. Regulation of cardiovascular cell function by hydrogen sulfide (H₂S). *Cell biochemistry and function. Cell. Biochem. Funct.*, 2010, vol. 28, pp. 95–106.
78. Gerasimova E.V., Sitdikova G.F., Zefirov A.L. Serovodorod kak endogennyy modulyator osvobozhdeniya mediatora v nervno-myshechnom sinapse lyagushki. *Neirochimia – Neurochemical Journal*, 2008, vol. 25, no. 1–2, pp. 138–145.
79. Gerasimova E.V., Vologin S.G., Muhacheva Yu.A., Sitdikova G.F. Effekty serovodoroda na osvobozhdenie mediatora i vyavlenie ekspressii cistationin gamma-liazy v diafragmalnoy myshce myshi. *Uchenye zapiski KGU seriya Estestvennye nauki*, kn 2, 2010, vol. 152, pp. 41–50.
80. Gerasimova E.V., Sitdikova G.F., Zefirov A.L. Issledovanie blokatorov sinteza serovodoroda na sekreciyu mediatora v nervno-myshechnom sinapse lyagushki. *Nevrologicheskiy vestnik – Neurological Bulletin, Kazan*, 2007, vol. XXXIX, no. 1, pp. 83–84.
81. Sitdikova G.F., Gerasimova E.V., Haertdinov N.N., Zefirov A.L. Rol ciklicheskih nukleotidov v effektah serovodoroda na osvobozhdenie mediatora v nervno-myshechnom sinapse lyagushki. *Neirochimia – Neurochemical Journal*, 2009, vol. 26, no. 4, pp. 1–7.
82. Wang R. Two's company, three's a crowd – San H₂S the third endogenous gaseous transmitter? *FASEB*, 2002, vol. 16, pp. 1792–1798.

Sitdikova Guzel F., Kazan Federal University, Institute of Fundamental Medicine and Biology; Kazan State Medical University, Kazan, Russian Federation.

Yakovlev Aleksey V. (✉), Kazan Federal University, Institute of fundamental medicine and biology, Russian Federation.

Zefirov Andrey L., Kazan State Medical University, Kazan, Russian Federation.

✉ **Yakovlev Aleksey V.**, Ph. +7-843-233-7812; e-mail: alv.yakovlev@gmail.com