

УДК 612.816.7

**ВЛИЯНИЕ СЕРОВОДОРОДА НА ОСВОБОЖДЕНИЕ
МЕДИАТОРА И ВЫЯВЛЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ
ЦИСТАТИОНИН-ГАММА-ЛИАЗЫ
В ДИАФРАГМАЛЬНОЙ МЫШЦЕ МЫШИ**

Е.В. Герасимова, С.Г. Вологин, Ю.А. Мухачева, Г.Ф. Ситдикова

Аннотация

Анализировали влияние сероводорода (H_2S) на освобождение медиатора из двигательного нервного окончания мышцы и выявляли возможность его эндогенного синтеза в области нервно-мышечного синапса с использованием внеклеточного микроэлектродного отведения синаптических сигналов и метода полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией. Гидросульфид натрия ($NaHS$) – донор H_2S – увеличивал частоту миниатюрных токов концевой пластинки без изменения их амплитудно-временных параметров и амплитуду вызванных токов концевой пластинки. L-цистеин – субстрат синтеза H_2S – усиливал освобождение медиатора, тогда как β -цианоаланин – блокатор цистатионин- γ -лиазы – приводил к эффектам, противоположным действию $NaHS$. Выявлена экспрессия мРНК цистатионин- γ -лиазы – фермента синтеза H_2S – в диафрагмальной мышце мыши. Сделано заключение, что H_2S может синтезироваться в области нервно-мышечного синапса в диафрагмальной мышце мыши и модулировать передачу сигнала в системе *мотонейрон – скелетная мышца*.

Ключевые слова: сероводород, секреция медиатора, нервно-мышечный синапс, мРНК, цистатионин- γ -лиаза.

Введение

Сероводород (H_2S) – хорошо известный токсичный газ, который в последнее время наряду с оксидом азота (NO) и монооксидом углерода относят к новому классу эндогенных модуляторов физиологических функций [1]. Эндогенно H_2S синтезируется из L-цистеина пиридоксаль-5'-фосфатзависимыми ферментами – цистатионин- β -синтазой (CBS) и цистатионин- γ -лиазой (CSE) [2, 3]. Экспрессия ферментов CBS и CSE является тканеспецифичной. CBS, будучи основным ферментом синтеза H_2S в мозге, также экспрессируется в печени и почках [4, 5]. Второй фермент, катализирующий синтез H_2S , (CSE) обнаружен в основном в почках, печени, сердечно-сосудистой системе, гладких мышцах [6–9]. В центральной нервной системе H_2S усиливает индукцию долговременной потенциации в гиппокампе [10], регулирует активность серотонинергических нейронов, освобождение кортикотропного гормона гипофиза [11, 12]. Как и другие газы, H_2S расслабляет гладкие мышцы [9, 13]. Кроме того, H_2S защищает нейроны и миокард от оксидативного стресса [14, 15] и регулирует секрецию инсулина [16, 17]. Показано, что H_2S приводит к увеличению содержания внутриклеточного кальция в астроцитах и вызывает кальциевые волны, опосредуя взаимодействие

между нейронами и глией [18]. H_2S стимулирует капсаицинчувствительные сенсорные нервные окончания, способствуя секреции тахикининов, вещества Р и нейрокинина А, и вызывает дозозависимое сокращение мышц мочевого пузыря у крысы [19]. Ранее нами было показано, что H_2S усиливает спонтанное и вызванное освобождение медиатора в нервно-мышечном синапсе лягушки [20]. Роль H_2S в регуляции синаптической передачи у теплокровных животных еще не исследована.

Целью работы являлся анализ влияния H_2S на освобождение медиатора в нервно-мышечном синапсе и выявление мРНК цистатионин- γ -лиазы (CSE) в диафрагмальной мышце мыши.

1. Методы исследования

1.1. Электрофизиологический метод. Эксперименты проводились на нервно-мышечном препарате диафрагмы мыши с использованием микроэлектродного внеклеточного отведения токов концевой пластинки (ТКП) – вызванной секреции медиатора – и миниатюрных токов концевой пластинки (МТКП) – спонтанной секреции медиатора – в условиях постоянной перфузии препарата раствором Кребса для теплокровных животных (в мМ): NaCl – 154; KCl – 5; $CaCl_2$ – 2; HEPES – 5, $MgCl_2$ – 1, глюкоза – 11 ($t = 20 \pm 0.5$ °C, pH 7.2–7.4). Для устранения сокращения мышц в раствор добавляли d-тубокурарин (20–30 мкМ).

Анализировали амплитуду, время нарастания (RT), время полуспада (τ) и частоту МТКП. В качестве донора H_2S использовали гидросульфид натрия (NaHS) [10], так как в водных растворах он диссоциирует до иона натрия (Na^+) и гидросульфидного аниона (HS^-), который, вступая в реакцию с протоном (H^+), образует H_2S . Известно, что в физиологическом растворе одна треть H_2S находится в недиссоциированной форме, а остальные две трети существуют в виде HS^- [10]. Использовали субстрат синтеза H_2S (L-цистеин) и блокатор синтеза H_2S (β -цианоаланин), все вещества производства фирмы Sigma (США).

1.2. Проведение обратной транскрипции (ОТ) и полимеразной цепной реакции (ПЦР). Образец ткани замораживали в жидком азоте и разрушали пестиком в фарфоровой ступке. Выделение нуклеиновых кислот проводили с помощью TRIzol-реагента, используя «Набор для выделения ДНК/РНК» (НПФ «Литех», Россия). Обратную транскрипцию (ОТ) проводили в течение 1 ч при температуре 37 °C в реакционной смеси объемом 50 мкл, содержащей буфер для проведения ОТ (50 мМ Трис-HCl (pH = 8.3), 75 мМ KCl, 3 мМ $MgCl_2$, 10 мМ дитиотрейтол), 0.2 мМ смесь нуклеотидтрифосфатов dNTP (ООО «Хеликон», Россия), 1 мкМ праймера oligo(dT)₁₅, 5 единиц ингибитора рибонуклеаз RNase (ООО «Хеликон», Россия), 20 единиц M-MuLV обратной транскриптазы (НПФ «СибЭнзим», Россия) и 5 мкл полученного препарата нуклеиновых кислот.

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в термоциклере «Mystercycler gradient» (Eppendorf, Германия). Реакционная смесь объемом 25 мкл содержала буфер для проведения ПЦР (60 мМ Трис-HCl, 1.5 мМ $MgCl_2$, 25 мМ KCl, 10 мМ 2-меркаптоэтанол, 0.1% Тритон X-100), 0.2 мМ смесь dNTP, 1 единицу Taq ДНК-полимеразы (НПФ «СибЭнзим», Россия), 1 мкМ праймеров CSEmm-s (5'-aagcagtggctgcgttg) и CSEmm-a (5'-tgtgggtgaatcgctgcc), а также 5 мкл

препарата кДНК, полученного в ОТ. Амплификационный синтез ДНК проводили по следующей температурной программе: 1 цикл (94 °С – 5 мин), 40 циклов (94 °С – 1 мин, 67 °С – 1 мин, 72 °С – 1 мин), 1 цикл (72 °С – 5 мин); хранение – 10 °С.

Для проверки специфичности проведенной реакции ОТ-ПЦР к полученным продуктам амплификации ДНК вносили 10 единиц эндонуклеазы рестрикции HaeIII (НПФ «СибЭнзим», Россия), содержание $MgCl_2$ в смеси доводили до 10 мМ и проводили инкубацию в течение 2 ч при температуре 37 °С.

Детекцию результатов ПЦР проводили методом электрофореза в 4%-ном агарозном геле, содержащем бромистый этидий (1 мкг/мл). В работе использовали маркеры молекулярных размеров (НПФ «СибЭнзим», Россия).

2. Результаты исследования

Апликация NaHS (100 мкМ) в перфузируемый раствор Кребса приводила к быстрому и обратимому увеличению вызванной секреции медиатора. Наблюдалось увеличение амплитуды ТКП, которое к 10-й минуте эксперимента достигло $136.3 \pm 7.4\%$ ($n = 7$; $p < 0.05$) относительно контроля (рис. 1, а, б). При этом наблюдали увеличение частоты МТКП до $210.1 \pm 42.5\%$ ($n = 4$; $p < 0.05$) (рис. 2, а, б) относительно контроля к 15-й минуте эксперимента. Амплитудно-временные характеристики МТКП в присутствии NaHS достоверно не изменялись: в контроле средняя амплитуда МТКП составила 0.43 ± 0.01 мВ, $RT = 0.5 \pm 0.06$ мс, $\tau = 1.06 \pm 0.14$ мс, а после добавления NaHS средняя амплитуда МТКП составила 0.41 ± 0.01 мВ, $RT = 0.5 \pm 0.05$ мс, $\tau = 1.01 \pm 0.1$ мс ($n = 4$; $p > 0.05$).

Субстрат эндогенного синтеза H_2S в тканях (L-цистеин) в концентрации 1 мМ увеличивал амплитуду ТКП до $111.2 \pm 1.4\%$ ($n = 4$; $p < 0.05$) (рис. 1, а, б) по отношению к контролю. Для блокирования фермента синтеза H_2S CSE использовали β-цианоаланин в концентрации 1 мМ. Апликация β-цианоаланина на нервно-мышечный препарат приводила к уменьшению амплитуды ТКП до $72.8 \pm 4.2\%$ ($n = 6$; $p < 0.05$) по отношению к контролю (рис. 1, а, б).

Для выявления мРНК CSE в диафрагмальной мышце мыши применяли метод ОТ-ПЦР. Используя информацию о нуклеотидной последовательности мРНК CSE мыши, содержащуюся в базе данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>, локус NM_145953), мы разработали олигонуклеотидные праймеры CSEmm-s и CSEmm-a. Данные праймеры являются гомологами олигонуклеотидов, описанных для выявления мРНК CSE у крысы *Rattus norvegicus* [9], и модифицированы нами с учетом особенностей нуклеотидной последовательности мРНК, выявленной у мыши. На рис. 3 представлен фрагмент мРНК CSE, амплифицируемый в ходе реакции ОТ-ПЦР.

При введении в реакцию ОТ-ПЦР препаратов нуклеиновых кислот ($n = 6$), полученных из тканей печени и диафрагмальной мышцы мыши, на электрофореграмме были выявлены фрагменты, соответствующие теоретически ожидаемому молекулярному размеру – 232 п.н. (пары нуклеотидов) (рис. 4, дорожки 1 и 2). Уровень детектированного сигнала в образцах диафрагмальной мышцы был значительно ниже, чем в образцах печени. Уровень сигнала, сопоставимый с уровнем детектированного сигнала, был получен лишь при десятикратном разведении препаратов нуклеиновых кислот, полученных из печени.

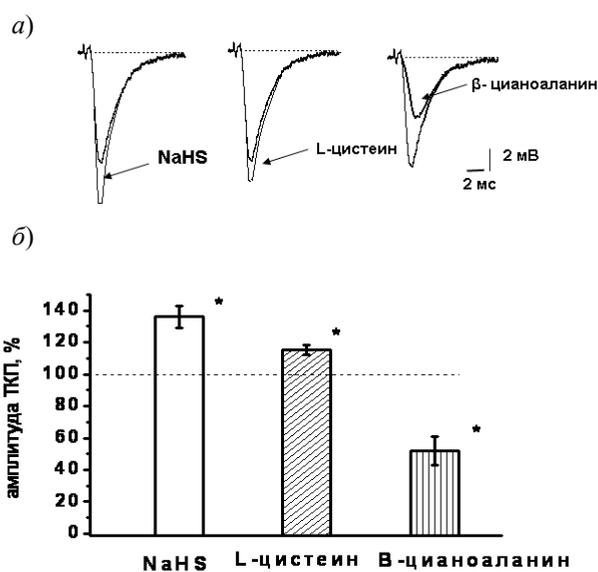


Рис. 1. Влияние NaHS, L-цистеина и β-цианоаланина на вызванную секрецию медиатора в нервно-мышечном синапсе мыши: *a* – усредненные ответы нервного окончания и следующие за ними ТКП (по 10 реализаций). Стрелки указывают на изменения амплитуды ТКП после аппликации NaHS (100 мкМ), L-цистеина (1 мМ) или β-цианоаланина (1 мМ) в отдельных экспериментах; *б* – изменение амплитуды ТКП при действии NaHS, L-цистеина и β-цианоаланина по отношению к контролю

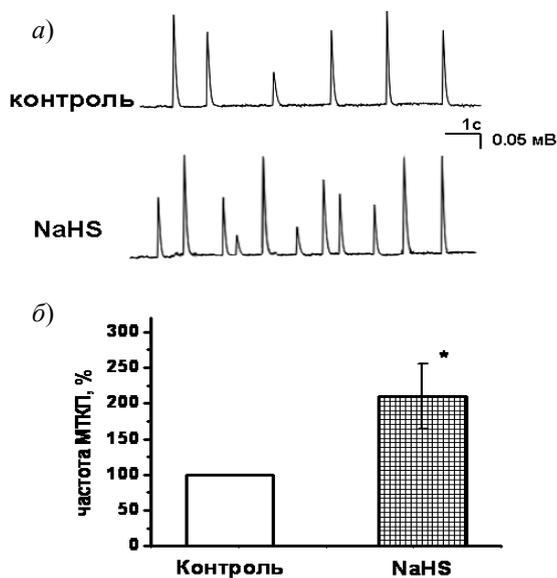


Рис. 2. Влияние NaHS (100 мкМ) на спонтанные токи концевой пластинки в нервно-мышечном синапсе мыши: *a* – миниатюрные токи концевой пластинки в контроле и при действии NaHS (отдельный эксперимент); *б* – изменение частоты МТКП при действии NaHS

```

...241 ttggaaa[aaag cagtggctgc gttgg]atggg gcaaagcaca gtttggcctt tgcattcgggt
301 ctgctgccca ccattacgat taccatctt ttaaagcag gagatgaaat catttgcattg
361 gatgaagtgt atggaggcac caacaggtac ttcaggaggg tggcatctga atttggactg
421 aagatttctt ttgtagattg ttccaaaacc aaattgctag agg[cagcgat tacaccacaa]...

```

Рис. 3. Последовательность мРНК CSE, амплифицируемая в ОТ-ПЦР (232 п.н.). В рамке – области посадки праймеров, черным выделен сайт распознавания эндонуклеазы рестрикции *Hae*III

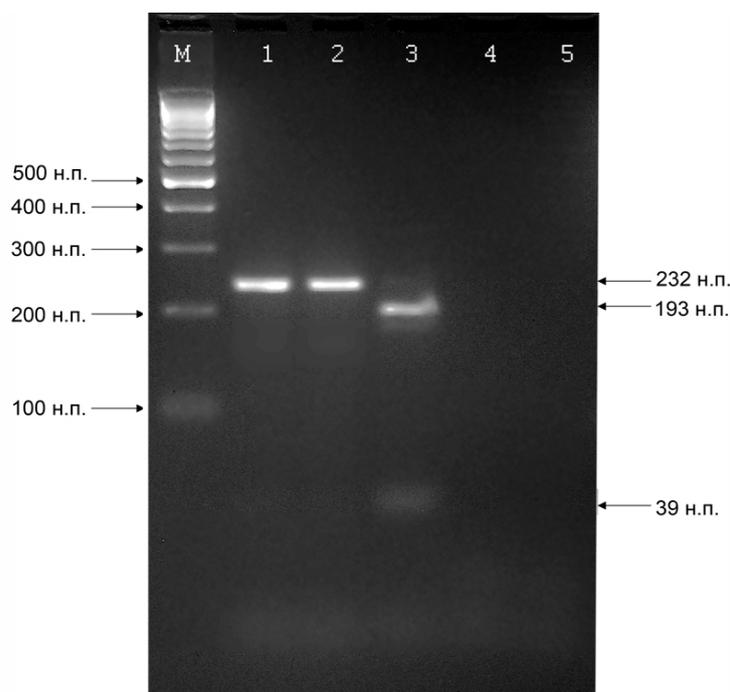


Рис. 4. Результаты выявления мРНК CSE в ОТ-ПЦР: М – маркер молекулярных размеров; образцы: 1 – печень (десятикратное разведение образца), 2 – диафрагмальная мышца, 3 – обработка амплификатов эндонуклеазой рестрикции *Hae*III, 4 – образец диафрагмальной мышцы, обработанный перед проведением ОТ-ПЦР рибонуклеазой А, 5 – отрицательный контроль (деионизованная вода)

Для проверки специфичности продуктов, полученных в реакции ОТ-ПЦР, образовавшиеся ампликоны были обработаны эндонуклеазой рестрикции *Hae*III. На электрофореграмме продукты эндонуклеазного расщепления были выявлены в области 39 и 193 п.н. (рис. 4, дорожка 3), что соответствует теоретически ожидаемому разрезанию амплифицированного фрагмента ДНК CSE в сайте узнавания рестриктазы *Hae*III. Обработка рибонуклеазой А препаратов нуклеиновых кислот, полученных из диафрагмальной мышцы, не вызвала амплификационного синтеза ДНК в ходе ОТ-ПЦР (рис. 4, дорожка 4). Это свидетельствует о том, что молекулярной мишенью в реакции ОТ-ПЦР служила мРНК, а не геномная низкомолекулярная ДНК, попадающая в препараты нуклеиновых кислот при использовании TRIzol-реагента.

На основании совокупности полученных результатов можно сделать вывод об экспрессии мРНК CSE в изученных образцах диафрагмальной мышцы.

3. Обсуждение результатов

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что экзогенный H_2S оказывает облегчающее влияние на спонтанное и вызванное освобождение медиатора в нервно-мышечном синапсе диафрагмальной мышцы мыши. Анализ влияния H_2S на спонтанную секрецию медиатора показал увеличение частоты МТКП без изменения их амплитудно-временных параметров, что свидетельствует об отсутствии влияния газа на чувствительность постсинаптических холинорецепторов. Подобный эффект мы наблюдали и в нервно-мышечном синапсе кожно-грудинной мышцы лягушки [20] – по-видимому, H_2S имеет сходные молекулярные мишени действия как у холоднокровных, так и у теплокровных животных. Увеличение освобождения медиатора может быть связано с изменением электрогенеза двигательного нервного окончания и усилением входящего кальциевого тока, тем более что из литературных данных известно, что целый ряд клеточных эффектов H_2S опосредуется его влиянием на активность ионных каналов ткане- и видоспецифичным образом [21]. Так, гипералгезия, вызванная аппликацией $NaHS$, может быть связана с активацией Т-типа Ca^{2+} -каналов в первичных афферентных нейронах у крысы [22]. H_2S ингибирует L-тип Ca -каналов в кардиомиоцитах, но в то же время активирует L-тип Ca^{2+} -каналов в нейронах, регулируя таким образом концентрацию ионов кальция в клетке [23]. Кроме того, показано, что H_2S может влиять на работу Ca -активируемых калиевых каналов, как усиливая их активность в культуре GH3 клеток крысы [24], так и ингибируя ее в клетках НЕК 293, экспрессирующих α -субъединицу каналов [25].

В двигательной нервной терминали лягушки мы не обнаружили изменений параметров ответа нервного окончания при действии H_2S , однако нельзя исключать влияния газа на ионные каналы у теплокровных животных. Возможно также, что H_2S непосредственно вмешивается в механизмы экзоцитоза синаптических везикул, связанные с трансформацией белков SNARE-комплекса, о чем свидетельствует увеличение частоты МТКП. Известно, что в водных растворах сероводород обладает свойствами восстановителя [5] и способен восстанавливать дисульфидные связи белковых молекул [26]. Можно предположить, что H_2S приводит к изменению окислительно-восстановительного статуса SNARE-комплекса, что влияет на стабильность белковых взаимосвязей [27, 28]. Кроме того, H_2S может усиливать синтез цАМФ в нейрональных клетках [29]. Повышение внутриклеточной концентрации цАМФ приводит к усилению секреции медиатора за счет активации протеинкиназы А и регуляции внутриклеточного уровня Ca^{2+} [30, 31]. В экспериментах на холоднокровных животных нами было показано, что увеличение уровня цАМФ в нервном окончании снижало выраженность воздействия $NaHS$ на вызванное освобождение медиатора. Однако при этом $NaHS$ не оказывал прямого влияния на активность аденилатциклазы [32]. Таким образом, вопрос о молекулярных мишенях сероводорода в нервно-мышечном синапсе остается открытым.

Эндогенно H_2S может синтезироваться из L-цистеина ферментами CBS и CSE [9, 10, 13]. Серосодержащие аминокислоты являются главными источниками эндогенного синтеза H_2S . Во внеклеточной жидкости цистеин образует димер, называемый цистин. Цистеин и цистин имеют специфические транспортные системы для переноса через плазматическую мембрану, увеличение

внутриклеточного уровня цистеина ведет к росту его внутриклеточной концентрации [33]. Концентрация цистина в плазме составляет 100–200 мкМ, а цистеина – около 10–20 мкМ [34]. L-цистеин в концентрации более 1 мМ обычно используется в качестве субстрата синтеза H_2S в различных исследованиях в связи с тем, что CBS и CSE имеют низкую аффинность к цистеину [35]. В наших экспериментах L-цистеин в концентрации 1 мМ приводил к незначительному увеличению вызванного освобождения медиатора, что, по-видимому, связано с высоким эндогенным уровнем этой аминокислоты в ткани.

Цистатионин- γ -лиаза интенсивно экспрессируется в печени, почках, гладкомышечной ткани [6, 8–10]. Для выявления фермента в области нервно-мышечного синапса использовали метод ОТ-ПЦР, с помощью которого была показана специфическая экспрессия мРНК CSE в диафрагмальной мышце мыши. Нельзя исключать также наличия фермента в нервных окончаниях, шванновских клетках или гладкомышечных клетках сосудов, также присутствующих в исследуемом образце, несмотря на преобладание массовой доли мышечной ткани. В любом случае наличие фермента предполагает возможный синтез H_2S в области нервно-мышечного синапса. На это указывают и эксперименты с блокатором CSE – β -цианоаланином, – который снижал вызванное освобождение медиатора, что противоположно действию H_2S и L-цистеина. Синтез H_2S регулируется как на уровне экспрессии ферментов CSE и CBS в тканях, так и путем изменения их активности [36, 37]. В частности, в гладкомышечных клетках NO может регулировать уровень H_2S путем увеличения активности CSE через нитрозилирование цистеиновых остатков молекулы. Кроме того, NO увеличивает экспрессию фермента, поглощение цистеина и активность цГМФ-зависимой протеинкиназы, которая также является стимулятором фермента CSE [38].

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что сероводород может синтезироваться в области нервно-мышечного синапса в диафрагмальной мышце мыши и модулировать передачу сигнала в системе *мотонейрон – скелетная мышца*.

Работа поддержана грантами Министерства образования (№ 2.1.1/786), РФФИ (проект № 09-04-00748) и Президента РФ для государственной поддержки ведущих научных школ РФ (НШ-5250.2010.4).

Summary

E.V. Gerasimova, S.G. Vologin, Y.A. Mukhacheva, G.F. Sitdikova. Effects of Hydrogen Sulfide on Transmitter Release and the Reveal of Cystathionine γ -lyase Expression in Mouse Diaphragm.

The effects of hydrogen sulfide (H_2S) on transmitter release from mouse motor nerve ending and possibility of its endogenous synthesis were analyzed using extracellular micro-electrode technique and reverse transcriptase polymerase chain reaction. Sodium hydrosulfide (100 μ M) – the donor of H_2S – increased the frequency of miniature end-plate currents without changing of amplitude-temporary parameters and the amplitude of evoked end-plate currents. L-cystein (1 mM) – the substrate of H_2S synthesis enhanced the transmitter release whereas the inhibition of cystathionine γ -lyase – enzyme of H_2S synthesis by β -cyanoalanine induced the opposite effect. The expression of mPNA of cystathionine γ -lyase was determined in mouse diaphragm. It was concluded that H_2S could be synthesized nearby of neu-

romuscular junction of mouse diaphragm and modulated the signal transmission in the system motoneuron-skeletal muscle.

Key words: hydrogen sulfide, transmitter release, neuromuscular junction, mRNA, cystathionine γ -lyase.

Литература

1. *Mustafa A.K., Gadalla M.M., Snyder S.H.* Signaling by Gasotransmitters // *Sci. Signal.* – 2009. – V. 2, No 68. – P. 1–8.
2. *Stipanuk M.H., Beck P.W.* Characterization of the enzymic capacity for cysteine desulphhydration in liver and kidney of the rat // *Biochem. J.* – 1982. – V. 206, No 2. – P. 267–277.
3. *Swaroop M., Bradley K., Ohura T. et al.* Rat cystathionine beta-synthase. Gene organization and alternative splicing // *J. Biol. Chem.* – 1992. – V. 267, No 16. – P. 11455–11461.
4. *Meier M., Janosik M., Kery V., Burkhard P.* Structure of human cystathionine beta-synthase: a unique pyridoxal 5'-phosphate-dependent heme protein // *EMBO J.* – 2001. – V. 20, No 15. – P. 3910–3916.
5. *Wang R.* Two's company, three's a crowd: can H₂S be the third endogenous gaseous transmitter? // *FASEB J.* – 2002. – V. 16, No 13. – P. 1792–1798.
6. *Lu Y., O'Dowd B.F., Orrego H., Israel Y.* Cloning and nucleotide sequence of human liver cDNA encoding for cystathionine gamma-lyase // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1992. – V. 189, No 2. – P. 749–758.
7. *Van der Molen E.F., Hiipakka M.J., van Lith-Zanders et al.* Homocysteine metabolism in endothelial cells of a patient homozygous for cystathionine beta-synthase (CS) deficiency // *Thromb. Haemost.* – 1997. – V. 78. – P. 827–833.
8. *Yap S., Naughten E., Wilcken B. et al.* Vascular complications of severe hyperhomocysteinemia in patients with homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency: effects of homocysteine-lowering therapy // *Semin. Thromb. Hemost.* – 2000. – V. 26. – P. 335–340.
9. *Zhao W., Zhang J., Lu Y., Wang R.* The vasorelaxant effect of H₂S as a novel endogenous gaseous K(ATP) channel opener // *EMBO J.* – 2001. – V. 20, No 21. – P. 6008–6016.
10. *Abe K., Kimura H.* The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator // *J. Neurosci.* – 1996. – V. 16. – P. 1066–1071.
11. *Russo C.D., Tringali G., Ragazzoni E. et al.* Evidence that hydrogen sulphide can modulate hypothalamo-pituitary-adrenal axis function: in vitro and in vivo studies in the rat // *J. Neuroendocrinol.* – 2000. – V. 12. – P. 225–233.
12. *Kombian S.B., Reiffenstein R.J., Colmers W.F.* The actions of hydrogen sulfide on dorsal raphe serotonergic neurons in vitro // *J. Neurophysiol.* – 1993. – V. 70, No 1. – P. 81–96.
13. *Hosoki R., Matsuki N., Kimura H.* The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1997. – V. 237, No 3. – P. 527–531.
14. *Kimura Y., Dargusch R., Schubert D., Kimura H.* Hydrogen sulfide protects HT22 neuronal cells from oxidative stress // *Antioxid. Redox. Signal.* – 2006. – V. 8, No 3–4. – P. 661–670.
15. *Sivarajah A., McDonald M.C., Thiernemann C.* The production of hydrogen sulfide limits myocardial ischemia and reperfusion injury and contributes to the cardioprotective effects of preconditioning with endotoxin, but not ischemia in the rat // *Shock.* – 2006. – V. 6, No 2. – P. 154–161.

16. *Ali M.Y., Whiteman M., Low C.M., Moore P.K.* Hydrogen sulfide reduces insulin secretion from HIT-T15 cells by a KATP channel-dependent pathway // *J. Endocrinol.* – 2007. – V. 195. – P. 105–112.
17. *Kaneko Y., Kimura Y., Kimura H., Niki I.* L-cysteine inhibits insulin release from the pancreatic beta-cell: possible involvement of metabolic production of hydrogen sulfide, a novel gasotransmitter // *Diabetes.* – 2006. – V. 55, No 5. – P. 1391–1397.
18. *Nagai Y., Tsugane M., Oka J., Kimura H.* Hydrogen sulfide induces calcium waves in astrocytes // *FASEB J.* – 2004. – V. 18. – P. 557–559.
19. *Patacchini R., Santicoli P., Giuliani S., Maggi C.A.* Hydrogen sulfide (H₂S) stimulates capsaicin-sensitive primary afferent neurons in the rat urinary bladder // *Br. J. Pharmacol.* – 2004. – V. 142, No 1. – P. 31–34.
20. *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.
21. *Tang G., Wu L., Wang R.* Interaction of hydrogen sulfide with ion channels // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2010. – V. 37, No 7. – P. 753–763.
22. *Kawabata A., Ishiki T., Nagasawa K. et al.* Hydrogen sulfide as a novel nociceptive messenger // *Pain.* – 2007. – V. 132. – P. 74–81.
23. *Garcia-Bereguian M.A., Samhan-Arias A.K., Martin-Romero F.J., Gutierrez-Merino C.* Hydrogen sulfide raises cytosolic calcium in neurons through activation of L-type Ca²⁺ channels // *Antiox. Redox Signal.* – 2008. – V. 10. – P. 31–41.
24. *Sitdikova G.F., Weiger T.M., Hermann A.* Hydrogen sulfide increases calcium-activated potassium (BK) channel activity of rat pituitary tumor cells // *Pflugers Arch. Eur. J. Physiol.* – 2010. – V. 459, No 3. – P. 389–397.
25. *Telezhkin V., Brazier S.P., Cayzac S. et al.* Hydrogen sulfide inhibits human BK_{Ca} channels // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2009. – V. 648. – P. 65–72.
26. *Qu K., Lee S.W., Bian J.S. et al.* Hydrogen sulfide: Neurochemistry and neurobiology // *Neurochem. Int.* – 2008. – V. 52. – P. 155–165.
27. *Duman J.G., Forte J.G.* What is the role of SNARE proteins in membrane fusion? // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2003. – V. 285. – P. C237–C249.
28. *LoPachin R.M., Barber D.S.* Synaptic cysteine sulfhydryl groups as targets of electrophilic neurotoxicants // *Toxicol. Sci.* – 2006. – V. 94, No 2. – P. 240–255.
29. *Kimura M.* Hydrogen sulfide induces cyclic AMP and modulates the NMDA receptor // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2000. – V. 267. – P. 129–133.
30. *Takasago T., Imagawa T., Shigekawa M.* Phosphorylation of the cardiac ryanodine receptor by cAMP-dependent protein kinase // *J. Biochem.* – 1989. – V. 106, No 5. – P. 872–877.
31. *Terrian D.M., Ways D.K.* Persistent enhancement of sustained calcium-dependent glutamate release by phorbol esters: requirement for localized calcium entry // *J. Neurochem.* – 1995. – V. 64. – P. 172–180.
32. *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. – P. 312–317.
33. *Lu S.C.* Regulation of hepatic glutathione synthesis: current concepts and controversies // *FASEB J.* – 1999. – V. 13. – P. 1169–1183.
34. *Katoun P.* Endogenous production of hydrogen sulfide in mammals // *Amino Acids.* – 2004. – V. 26. – P. 243–254.

35. *Dominy J.E., Stipanuk M.H.* New roles for cysteine and transsulfuration enzymes: production of H₂S, a neuromodulator and smooth muscle relaxant // *Nutr. Rev.* – 2004. – V. 62, No 9. – P. 348–353.
36. *Eto K, Ogasawara M., Umemura K. et al.* Hydrogen sulfide is produced in response to neuronal excitation // *J. Neurosci.* – 2002. – V. 22. – P. 3386–3391.
37. *Chaudhari K., Wisniewski N.H., Bearden S.E.* Role of sex and eNOS in cystathionine-γ-lyase expression in mouse heart, brain and skeletal muscle // *FASEB J.* – 2007. – V. 21. – P. 577.6. – URL: http://www.fasebj.org/cgi/content/meeting_abstract/21/5/A448-b, свободный.
38. *Fiorucci S., Distrutti E., Cirino G., Wallace J.L.* The emerging roles of hydrogen sulfide in the gastrointestinal tract and liver // *Gastroenterol.* – 2006. – V. 131. – P. 259–271.

Поступила в редакцию
21.01.10

Герасимова Елена Вячеславовна – кандидат биологических наук, ассистент кафедры физиологии человека и животных Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: levchenkova_elena@rambler.ru

Вологин Семён Германович – научный сотрудник ТатНИИСХ Россельхозакадемии, г. Казань.

E-mail: semen_vologin@mail.ru

Мухачева Юлия Анатольевна – студент кафедры физиологии человека и животных Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: musha1202@mail.ru

Ситдикова Гузель Фаритовна – доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии человека и животных Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: Guzel.Sitdikova@ksu.ru