**Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования**

**«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА ФИЗИОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

Специальность: 012000 – физиология 020205.65

Специализация: физиология человека и животных

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

# ВЛИЯНИЕ СЕРОВОДОРОДА НА СОКРАТИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МИОКАРДА ПРАВОГО ЖЕЛУДОЧКА КРЫСЫ

**Работа завершена:**

Студент(ка) гр. 01-004
"20" мая 2015г. _____ (Э.И.Гаязова)

**Работа допущена к защите:**

Научный руководитель
к.б.н., ассистент кафедры физиологии
человека и животных
"20" мая 2015 г. _____ (Н.Н.Хаертдинов)

Заведующий кафедрой
д.б.н., профессор
"26" мая 2015 г. _____ (Г.Ф.Ситдикова)

Казань - 2015

## СОДЕРЖАНИЕ


| | стр. |
|---|---|
| **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ** | 3 |
| **ВВЕДЕНИЕ** | 5 |
| **1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ** | 9 |
| 1.1 Роль $H_2S$ в межклеточной коммуникации и регуляции деятельности клетки | 9 |
| 1.2 Взаимодействие NO, CO и $H_2S$ | 14 |
| 1.3 Физико-химические свойства $H_2S$ | 15 |
| 1.4 Образование и катаболизм $H_2S$ | 16 |
| 1.5 Токсичность и эндогенные концентрации $H_2S$ | 19 |
| 1.6 Физиологические и патофизиологические эффекты и механизмы действия $H_2S$ | 20 |
| 1.7 Патологические процессы, связанные с метаболизмом $H_2S$ в организме | 22 |
| 1.8 Роль $H_2S$ в сердечно-сосудистой системе | 23 |
| 1.9 Влияние $H_2S$ на сократимость миокарда | 26 |
| 1.10 Механизмы регуляции сократимости сердечной мышцы | 28 |
| **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ** | 36 |
| **2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ** | 36 |
| 2.1 Объект и методы исследования | 36 |
| 2.2 Растворы и фармакологические вещества | 38 |
| **3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖЕНИЕ** | 40 |
| 3.1 Эффекты донора $H_2S$-NaHS на сократимость изолированной полоски миокарда желудочка | 40 |
| 3.2 Роль К-каналов в отрицательном инотропном эффекте NaHS в изолированной полоске миокарда | 41 |
| 3.3 Роль NO в эффектах $H_2S$ на сократимость миокарда | 43 |
| 3.4 Обсуждение результатов | 45 |
| **ВЫВОДЫ** | 47 |
| **СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ** | 48 |

# СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АД - артериальное давление

АДФ - аденозиндифосфат

АТФ - аденозинтрифосфат

ГАМК - γ - аминомасляная кислота

ГМК - гладко-мышечные клетки

ЖКТ - желудочно-кишечный тракт

К (АТФ) - каналы - АТФ-зависимые калиевые каналы

ЛПС- липополисахарид

3-МСТ- 3-меркаптопируватсульфотрансфераза

МП - мембранный потенциал

мРНК- матричная рибонуклеиновая кислота

ПД - потенциал действия

ПКВ - протеинкиназа В

СПР - саркоплазматический ретикулум

ФНО -α - фактор некроза опухоли - α

цАМФ - циклический аденозинмонофосфат

ЦАТ- цистеинаминотрансфераза

ЦБС - цистатионин β-синтаза

ЦГЛ - цистатионин γ-лиаза

цГМФ - циклический гуанозинмонофосфат

ЧСС - частота сердечных сокращений

CO - оксид углерода

CN - цианид

DAO - D-аминокислотная оксидаза

eNOS - эндотелиальная NO-синтаза

ERK - внеклеточные сигнал-активируемые киназы

GSH- глутатион

HIF-1 - гипоксически-опосредованный фактор-1

HO-1- гемоксигеназа-1

$H_2S$ - сероводород

IFN-γ- интерферон-γ

IκB-α - ингибитор каппа-«би»

iNOS - индуцибельная NO-синтаза

L-NAME - NG-нитро-L-аргинин метиловый эфир

МАРК – митоген активируемые протеинкиназы

MPO - миелопероксидаза

NADH - никотинамидадениндинуклеотид

NF-κB- ядерный фактор каппа-«би»

NOS - NO-синтазы

nNOS - нейрональная NO-синтаза

NO - оксид азота

STAT3 - активатор транскрипции- 3

Trx-1 - тиоредоксин-1

# ВВЕДЕНИЕ

Последние достижения в физиологии в основном связаны с расшифровкой механизмов межклеточных взаимодействий и регуляции деятельности клетки. Кроме исследования классических посредников прошлый век ознаменовался открытием физиологической роли некоторых общеизвестных газообразных веществ. Оказалось, что сигнальную функцию в межклеточной коммуникации и во внутриклеточной регуляции выполняют известные своими токсичными эффектами газы: сероводород ($H_2S$), монооксид углерода (CO) и оксид азота (NO) [Wang, 2004].

Существует ряд параметров, которым должен соответствовать потенциальный газообразный посредник: его молекулы должны существовать в виде газа и беспрепятственно проникать сквозь мембраны клеток, он должен иметь источник эндогенного синтеза и ферменты синтеза, должен участвовать в регуляции физиологических функций, иметь специфические клеточные и молекулярные мишени [Wang, 2002]. Все известные и исследованные на данное время газотрансмиттеры соответствуют этим параметрам.

В окружающей среде $H_2S$ образуется, главным образом, при разложении органических веществ. Также он обнаруживается в природном газе, нефти и выбросе вулканической серы [Gadalla et al., 2010]. Как и все газотрансмиттеры, $H_2S$ является небольшой молекулой, которая может проходить через клеточные мембраны без использования конкретных переносчиков. Большая часть сероводорода метаболизируется в тиосульфат и сульфат в ходе окислительного процесса в митохондриях. Только низкие уровни $H_2S$ могут быть превращены в цитозоле клетки в менее токсичные соединения [Chen et al., 2004; Stipanuk et al., 2010]. С целью поддержания сбалансированного уровня $H_2S$, его метаболические продукты удаляются в течение 24 часов через почки, желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) и легкие

[Furne et al., 2001]. В нормальных физиологических условиях, при отсутствии нарушений, связанных с метаболизмом $H_2S$, его накопления не происходит. Это означает, что в нормальных для жизнедеятельности организма условиях, эндогенный $H_2S$ не токсичен для клеток.

Известно, что ткани млекопитающих могут образовать $H_2S$ через эндогенные системы синтеза, которые состоят в основном из двух ферментов - цистатионин β-синтазы (ЦБС) и цистатионин γ-лиазы (ЦГЛ) [Kimura, 2010; Martin et al., 2010]. Аминокислота L-цистеин является основным субстратом для синтеза $H_2S$. Последние исследования на людях показали, что $H_2S$ также может быть синтезирован в ЖКТ не только при помощи бактерий, но и из цистеина [Oh et al., 2006].

Физиологическая роль $H_2S$ показана для всех систем органов и тканей. Показаны эффекты $H_2S$ в нервной ткани [Abel, 1997; Kimura, 2000; Moore et al., 2003; Pushchina et al.,2011], в ЖКТ [Distrutti et al., 2006; Fiorucci, 2005; Hosoki, 1997; Schicho et al.,2006], в репродуктивной системе [Guzman et al.,2006; Liang et al.,2007; Srilatha et al.,2006], а также в сердечно-сосудистой системе [Bucci, 2009; Cheng et al., 2004; Dombkowski et al., 2004; Dombkowski et al., 2005; Fiorucci, 2006; Geng, 2004; Zhu et al., 2007].

Зависимость между уровнем содержания $H_2S$ в плазме крови, тканях и клетках и развитием различных заболеваний, протекторное действие при ишемическом повреждении жизненно важных органов позволяют считать этот газ важным звеном патогенеза многих заболеваний центральной нервной и сердечно-сосудистой систем (ССС). Во многих исследованиях было показано, что физиологические эффекты $H_2S$ делают его идеально подходящим для защиты сердца, головного мозга, печени, почек и легких от повреждений при ишемии/реперфузии [Lavu et al., 2011].

Имеются данные о кардиопротекторной роли $H_2S$, выражающейся в уменьшении повреждений миокарда в условиях ишемии/реперфузии в экспериментах *in vitro* и *in vivo* [Bian et al., 2006; Elsey et al., 2010; Geng et al.,

2004]. В единичных исследованиях показано, что $H_2S$ оказывает отрицательный инотропный эффект на сердце различных видов теплокровных животных и уменьшает длительность потенциала действия рабочих кардиомиоцитов [Geng et al., 2004; Sun et al., 2008].

Механизмы действия $H_2S$ малоизучены и включают, по разным данным, аденилатциклазную систему, различные ионные каналы в зависимости от вида животного [Sun et al., 2008; Xu et al., 2007; Yong, et al., 2008]. Установлено влияние $H_2S$ на тонус сосудов у всех классов позвоночных животных, включая как расслабление, так и усиление тонуса, что указывает на эволюционную древность $H_2S$, как трансмиттера, и универсальность его действия [Dombkowski et al., 2004; Olson et al., 2006]. Данные о действии $H_2S$ на сократимость миокарда во многом фрагментарны и многие вопросы остаются открытыми.

Изучение механизмов влияния $H_2S$ на функциональную активность клеток может иметь значение не только с позиции фундаментального знания о принципах регуляции поведения клеток и механизмах внутриклеточной коммуникации, но и с точки зрения его терапевтической и профилактической значимости.

Основываясь на актуальности выявления роли газообразного посредника $H_2S$ в механизмах регуляции сократимости миокарда, нами была поставлена цель: исследовать эффекты сероводорода и выявить механизмы его действия на сократимость миокарда правого желудочка крысы (Rattus norvegicus).

Согласно поставленной цели нами были сформулированы следующие задачи:

1) Исследовать дозозависимые эффекты донора сероводорода-гидросульфида натрия на сократимость миокарда правого желудочка крысы.

2) Выявить роль К-каналов в инотропном эффекте донора сероводорода на миокард правого желудочка крысы.

3) Исследовать роль системы оксида азота в эффектах сероводорода на сократимость желудочкового миокарда крысы.

# 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

## 1.1 Роль $H_2S$ в межклеточной коммуникации и регуляции деятельности клетки

Хотя многие физиологические и патофизиологические эффекты $H_2S$ уже известны, но многое все еще остается неизученным. Молекулярные мишени $H_2S$ также до конца не изучены, но скорее всего, к ним относятся внутриклеточные белки, ферменты, транскрипционные факторы, а также множество ионных каналов. Предполагается, что активные участки, через которые оказываются биологические эффекты $H_2S$, находятся внутри клетки.

Показано, что после ишемии/реперфузии в митохондриях (МТХ) $H_2S$ действует как фактор защиты клеток через ингибирование активности цитохром-оксидазы. Также $H_2S$ действует как нейропротектор за счет увеличения производства глутатиона (GSH) [Kimura et al., 2010], модуляции уровня ЦГЛ и снабжения аденозинтрифосфата (АТФ) в условиях гипоксии. Выявлено участие $H_2S$ и в регуляции апоптоза [Yuan et al., 2011].

На основе активности, аналогичной цианиду (CN-), и способности $H_2S$ ингибировать *in vitro* цитохром С-оксидазу при низких микромолярных концентрациях, на протяжении долгого времени он считался экзогенным токсином и ядом [Glass, 1990], так как в клетках, подвергнутых действию $H_2S$, происходило снижение окислительного фосфорилирования и биосинтеза АТФ [Cooper, Brown, 2008]. Действительно, в некоторых сообщениях было показано, что недостаток АТФ может способствовать сосудорасширяющему эффекту $H_2S$ [Kiss et al., 2008].

За исключением цитохром С-оксидазы, в качестве первой молекулярной мишени $H_2S$ были предложены АТФ-зависимые калиевые каналы (К (АТФ) - каналы) [Zhao et al., 2001]. Расширение кровеносных сосудов, индуцированное $H_2S$, основано на его способности открывать

К (АТФ) - каналы гладкой мускулатуры сосудов [Cheng et al., 2004; Fiorucci et al., 2005; Hosoki et al., 1997; Li et al., 2008; Zhao et al., 2001], о чем свидетельствует их чувствительность к различным антагонистам, в том числе к глибенкламиду, пинацидилу и PNU37883A.

Известно также действие $H_2S$ на ряд других ионных каналов. Например, $H_2S$ ингибирует $Ca^{2+}$ - активируемые $K^+$ - каналы большой проводимости ($K^+(Ca^{2+})$-каналы) в HEK-293 клетках [Telezhkin et al., 2009], а в опухолевых клетках гипофиза крыс $H_2S$ оказывал на эти каналы противоположный эффект [Sitdikova et al., 2010]. Также $H_2S$ ингибирует $Ca^{2+}$ - каналы L-типа кардиомиоцитов [Sun et al., 2008]; $Ca^{2+}$ каналы T-типа [Matsunami et al., 2009]; $Cl^-$ - каналы лизосом сердца крысы [Malekova et al., 2009]; активирует переходный рецепторный потенциал ваниллоидных каналов (TRPV) мочевыводящих путей [Streng et al., 2008] и гладкой мускулатуры дыхательных путей [Trevisani et al., 2005].

Взаимодействие $H_2S$ с внутриклеточным фактором транскрипции привлекло большое внимание, особенно в связи с его ролью в воспалении и ишемии/реперфузии. Первоначально было показано, что NaHS ингибирует липополисахарид (ЛПС) - индуцированную активацию ядерного фактора «каппа-би» (NF-κB) в культуре макрофагов RAW 264.7 [Oh et al., 2006]. Подобное действие NaHS также было показано в ряде исследований на культурах клеток и целых животных. Также NaHS ингибирует деградацию IκB-α (ингибитор ядерного фактора «каппа-би») и переход NF-κB в ФНО-α (фактор некроза опухоли α) [Zanardo et al., 2006] в ацинарных клетках поджелудочной железы крысы [Tamizhselvi, Moore, Bhatia, 2008]; он также ингибирует эти процессы в почках [Tripatara et al., 2008] и сердце [Sivarajah, McDonald, Thiemermann, 2006] после ишемии / реперфузии аорты у крыс, которым вводили NaHS [Jin et al., 2008].

В некоторых экспериментах был показан провоспалительный эффект NaHS: усиление деградации IκB-α и активации NF-κB. Это происходит,

например, в интерферон-γ (IFN-γ) - чувствительных моноцитах человека (U937) [Zhi et al., 2007]. Было также установлено, что $H_2S$ активирует экспрессию провоспалительных генов в синовиоцитах через механизм, не зависящий от NF-κB пути [Stuhlmeier, Broll, Iliev, 2009]. Таким образом, $H_2S$ может ингибировать или активировать NF-κB, и в зависимости от стадии воспалительного процесса может оказывать противовоспалительный эффект.

Дополнительные факторы транскрипции также являются мишенями действия $H_2S$. Например, введение GYY4137 крысам с ЛПС-инъекцией приводит к активации активатора транскрипции- 3 (STAT3) [Li et al., 2009]. STAT3 регулируют экспрессию многих генов, которые опосредуют выживаемость, пролиферацию клеток, ангиогенез (например, сосудистый эндотелиальный фактор роста) [Aggarwal et al., 2009]. NaHS также индуцирует локализацию транскрипционного фактора CP-2 у крыс с экспериментально вызванной ишемией миокарда [Calvert et al., 2009]. CP-2 контролирует экспрессию генов ряда защитных ферментов клетки, в том числе гемоксигеназы-1 (HO-1) и тиоредоксина-1 (Trx-1). Наконец, $H_2S$ увеличивает активность гипоксически-опосредованного фактора-1 (HIF-1) у нематод, *Caenorhabditis elegans* [Budde, Roth, 2010].

$H_2S$ также принимает участие в фосфорилировании внеклеточной сигнал регулируемой киназы (ERK) у свиней, подвергшихся закупорке коронарной артерии и реперфузии [Osipov et al., 2010]. Антиапоптические эффекты $H_2S$ в полиморфно-ядерных лейкоцитах человека связаны с ингибированием p38 митоген-активируемых протеинкиназ (МАРК) [Rinaldi et al., 2006] и ослаблением ЛПС-индуцированного фосфорилирования p38 МАРК в микроглиальных клетках [Hu et al., 2007] и кератиноцитах [Gobbi et al., 2010]. Эти эффекты $H_2S$ вторичны по отношению к активации p38 МАРК: апоптоз аортальных гладкомышечных клеток человека [Yang, Sun, Wang, 2004; Yang, Wu, Wang, 2006] и защита эпителиальных клеток слизистой оболочки желудка от окислительного стресса [Yonezawa et al., 2009] .

Образовавшийся в результате сверхэкспрессии ЦГЛ $H_2S$ вызывает устойчивую активацию/фосфорилирование внеклеточных сигнал регулируемых киназ (ERK) в HEK-293 клетках [Yang, Sun, Wang, 2004]; похожие эффекты наблюдались и в гладкомышечных клетках сосудов крыс [Jeong et al., 2006], клетках толстой кишки человека [Cai et al., 2010]; $H_2S$ также активирует/фосфорилирует протеинкиназу B (ПКВ) в культуре эндотелиальных клеток [Cai et al., 2007] и мускулатуре задних конечностей у крыс, подвергшихся ишемии [Wang et al., 2007]. В сердце, предварительно подвергнутом ишемии *in vitro*, кратковременная инфузия NaHS стимулировала активность ПКВ и протеинкиназы C (ПКС). Этот эффект связан с улучшением сердечной работоспособности и снижением травм [Yong et al., 2008].

В культуре нейрональных клеток $H_2S$ оказывает защитный эффект посредством увеличения уровня GSH. Первоначально считалось, что это связано с увеличением активности γ-глутамилцистеин синтетазы и транспорта цистина. Позже выяснилось, что этот защитный эффект связан с открытием сероводородом K(АТФ) - каналов и $Cl^-$ - каналов [Kimura et al., 2006]. Антиоксидантная активность $H_2S$ может объяснить ряд его биологических эффектов: защита сердца [Rossoni et al., 2008], печени [Jha et al., 2008] после ишемии/реперфузии; защита эпителиальных клеток желудка крыс от $H_2O_2$-опосредованных повреждений [Yonezawa et al., 2009]; предотвращение травм миокарда [Chang et al., 2008] и почек [Sen et al., 2009] при гипергомоцистеинемии крыс; метионин-индуцированного [Tyagi et al., 2009] и гомоцистеин-индуцированного [Yan, Chang, Wang, 2006] окислительного стресса. Антиоксидантное действие $H_2S$ было рассмотрено более подробно посредством использования его производных, ACS67 ($H_2S$-образующее производное латанопроста) снижает внутриглазное давление у крыс [Perrino et al., 2009] и ослабляет повреждение сетчатки при высоком внутриглазном давлении [Osborne et al., 2010]. Он обладает более сильным

эффектом, чем латанопрост. Ингибирует образование NADH и окисление в эндотелиальных клетках. АСУ-6 ($H_2S$-образующее производное силденафила) также эффективно расслабляет гладкие мышцы кишечника, интактные и деэндотелизированные сосудистые сегменты, активируя АТФ - чувствительные калиевые каналы ГМК или $Ca^{2+}$-зависимые калиевые каналы большой проводимости и потенциалзависимые аминопиридин-чувствительные калиевые каналы [Jang et al., 2005; Webb et al., 2008; Zhao et al., 2001].

Первой определенной молекулярной мишенью $H_2S$ были АТФ-зависимые калиевые каналы [Zhao et al., 2001], которые располагаются на сарколемме, внутренней митохондриальной мембране и ядерной мембране [Seino, Miki, 2003]. Было предположено, что $H_2S$-индуцированное расширение кровеносных сосудов является результатом открытия K(ATP)-каналов и гиперполяризации ГМК [Hosoki et al., 1997; Zhao et al., 2001]. В нескольких исследованиях было показано, что $H_2S$ оказывает кардиопротекторный эффект посредством активации K(ATP)- каналов [Bian et al., 2006; Sivarajah et al., 2009; Zhao et al., 2001].

Точный механизм действия $H_2S$ на K(ATP)- каналы остается неясным, однако имеются некоторые предположительные механизмы. Было показано [Murata et al., 2001; Wang et al., 2001], что открытие митохондриальных K(ATP)-каналов уменьшает количество митохондриального $Ca^{2+}$ при ишемии. Уменьшение концентрации митохондриального $Ca^{2+}$ может приводить к защите изолированной митохондрии, и таким образом объяснять антиапоптотические эффекты $H_2S$. В дополнение к K(ATP)-каналам, было показано, что $H_2S$ влияет на ряд других ионных каналов. В кардиомиоцитах $H_2S$ ингибирует $Ca^{2+}$ каналы L-типа [Sun et al., 2008]. Кроме того, было обнаружено, что $H_2S$ активирует переходный рецепторный потенциал ваниллоидных (TRPV) каналов в мочевыводящих путях [Streng et al., 2008] и в гладкой мускулатуре дыхательных путей [Trevisani et al., 2005]. Также $H_2S$

оказывает действие на большое число различных ионных каналов, и его биологическая значимость требует дальнейшего изучения.

## 1.2 Взаимодействие NO, CO и $H_2S$

Многочисленные исследования свидетельствуют о множественных эффектах газотрансмиттеров. В отличие от других фармакологических агентов $H_2S$ активирует многие сигнальные пути одновременно. По-видимому, $H_2S$ обладает всеми положительными влияниями NO на клетки, без способности образовывать токсичные метаболиты. Более того, $H_2S$ нейтрализует $ONOO_2$.

Впервые о возможном взаимодействии NO и $H_2S$ предположили, когда выяснилось, что $H_2S$ в низких концентрациях еще больше усиливает вазодилятацию, вызванную предапликацией нитропруссида натрия - донора NO [Hosoki, Matsuki, Kimura, 1997]. Известно, что $H_2S$ стимулирует образование NO в эндотелии сосудов [Zhao, Wang, 2002]. Нитропруссид натрия усиливает синтез $H_2S$ из цистеина [Zhao et al., 2001] и увеличивает экспрессию ЦГЛ в гладких мышцах сосудов [Zhao et al., 2001; Zhao et al., 2002]. С другой стороны, $H_2S$ приводит к ингибированию экспрессии эндотелиальной NO-синтазы (eNOS), и это может обуславливать усиление сокращений аорты крысы и мыши, вызванные $H_2S$ [Kubo et al., 2007]. Участие системы NO в регуляции концентрации $H_2S$ может осуществляться разными способами. Возможна активация ЦГЛ через нитрозилирование остатков цистеина оксидом азота, и возможно усиление экспрессии ЦГЛ через увеличение поступления цистина в клетку [Searcy, Lee, 1998]. В условиях понижения синтеза NO взаимодействие газов становится еще более очевидным, так как подавление NO-синтаз в течение долгого времени приводит к вазоконстрикции, сопровождающейся уменьшением активности и экспрессии мРНК ЦГЛ [Zhong et al., 2003]. Введение донора

$H_2S$, NaHS, приводило к нормализации давления в сосудах, но при этом увеличения синтеза NO не наблюдалось. Выявлено, что $H_2S$ ингибирует активность всех трех изоформ NOS: нейрональной (nNOS), индуцибельной (iNOS), эндотелиальной (eNOS) [Kubo et al., 2007].

Также с физиологическими эффектами $H_2S$ может конкурировать и CO (актуально это и для взаимодействия CO и NO). Общеизвестно, высокое сродство CO к гему обуславливает его токсические эффекты. Связывание гемоглобина с одним из газов может привести к увеличению концентрации в плазме и усилению биологических эффектов двух других газов [Wang, 2002].

Обнаружено, что в двигательных нервных окончаниях холоднокровных животных NO и CO являются модуляторами высвобождения медиатора [Герасимова и др., 2008; Ситдикова и др., 2006; Ситдикова, Зефиров, 2006]. Доказано, что NO угнетает секрецию медиатора, как вызванную, так и спонтанную; модифицирует потенциалзависимые и кальций активируемые $K^+$-каналы нервного окончания лягушки [Яковлев и др., 2005]. Выявлено, что $H_2S$ усиливает вызванное высвобождение медиатора в нервно-мышечном синапсе лягушки. Механизмы его действия при этом отличаются от механизмов действия NO и CO [Герасимова, Ситдикова, Зефиров, 2008; Ситдикова и др., 2009].

## 1.3 Физико-химические свойства $H_2S$

Давно известно, что $H_2S$ является бесцветным газом с запахом тухлых яиц. Он представляет собой молекулу небольшого размера, которая может находиться в газообразном, жидком и твердом состоянии. При температуре 25-27C° в воде, его концентрация составляет ~0,11 М. В водных растворах при pH 7,4 около 1/3 $H_2S$ не диссоциирует, а 2/3 подвергается диссоциации до $H^+$ и $HS^-$ (гидросульфид анион), который впоследствии может разложиться до $S^{2-}$ и $H^+$:

$$H_2S \leftrightarrow H^+ + HS^- \leftrightarrow 2H^+ + S^{2-}$$

Реакция разложения до серы и протона происходит только при высоком pH, поэтому концентрация $S^{2-}$ *in vivo* незначительна [Abe, Kimura, 1996; Lowicka, Beltowski, 2007]. Для $H_2S$ характерно свойство сильного восстановителя. Химическая активность $H_2S$ имеет большое значение для сродства газа с гемсодержащими и другими белками организма [Pietri, Leon, 2009]. В реакции с окислителями молекула $H_2S$ теряет 2, 6 и 8 электронов.

## 1.4 Образование и катаболизм $H_2S$

Идея возможности синтеза $H_2S$ естественным путем была предложена только в конце прошлого века.

Образуется $H_2S$ эндогенно при участии либо цитозольных ферментов цистатионин-β-синтаза (ЦБС), цистатионин-γ-лиаза (ЦГЛ), либо митохондриальных 3-меркаптопируват сульфатрансферазы (3-МСТ) и цистеин аминотрансферазы (ЦАТ) (рисунок 1). Так как это сильно диффундирующий газ, то образовавшийся $H_2S$ либо сразу же вступает во взаимодействие, либо же быстро катаболизируется. В последних исследованиях была показана специфичность распределения ферментов синтеза $H_2S$; например, экспрессия ЦБС выражена в мозге, печени, почках, подвздошной кишке, матке, плаценте, панкреатических островках, к тому же ЦБС является основным ферментом синтеза $H_2S$ в центральной нервной системе [Jiang et al., 2005].

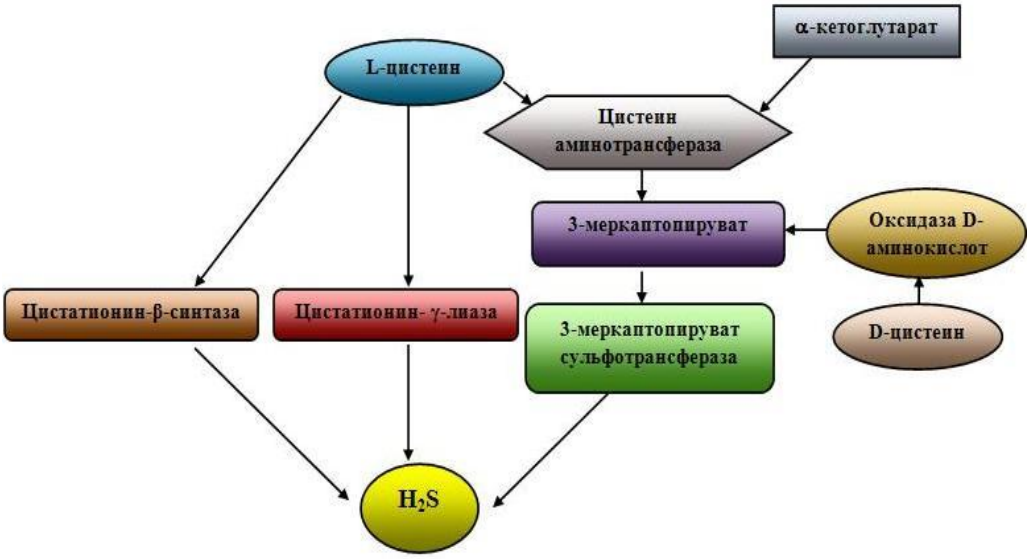


Рисунок 1 - Схема образование эндогенного сероводорода.
L-цистеин, D-цистеин- эндогенные субстраты синтеза $H_2S$; ферменты синтеза $H_2S$: цистатионин-β-синтаза, цистатионин- γ-лиаза, 3-меркаптопируват сульфотрансфераза.

ЦГЛ является основным ферментом синтеза $H_2S$ в ССС, а также в печени, почках, подвздошной кишке, грудной аорте, портальной вене, матке, плаценте; в головном мозге ее экспрессия понижена [Elrod et al., 2007; Shymans'ka et al., 2012]. Фермент 3-МСТ, вместе с ЦАТ, отвечает за синтез газа в нейронах, эндотелии сосудов и сетчатке [Liu et al., 2012; Polhemus et al., 2014]. ЦБС и ЦГЛ являются пиридоксаль-5-фосфат (PLP-) зависимыми ферментами и располагаются в цитоплазме, в качестве основного субстрата для синтеза $H_2S$ они используют L-цистеин [Dhalla et al., 2000]. В отличие от ЦБС и ЦГЛ, 3-МСТ и ЦАТ обнаруживаются и в митохондриях, и в цитозоле, хотя две трети 3-МСТ примерно приходится на митохондрии [Polhemus et al., 2014], он синтезирует $H_2S$ из 3-меркаптопирувата (3-МП), который образуется из L-цистеина и α-кетоглатуровой кислоты (α-КГ) при участии ЦАТ [Luan et al., 2012]. В дополнение к этим путям, был обнаружен новый путь синтеза сероводорода в клетках млекопитающих из D-цистеина [Hosoki et al., 2007], который метаболизируется при помощи D-аминокислотной

оксидазы (DAO) в 3-МП, который является субстратом получения $H_2S$ при участии 3-МСТ. Этот путь работает только в почках и головном мозге, особенно в мозжечке.

Для поддержания баланса метаболизма в физиологических условиях, катаболизм $H_2S$ может проходить несколькими путями. Во-первых, $H_2S$ быстро окисляется в митохондриях с образованием тиосульфата (неферментативное преобразование) с последующим дальнейшим превращением в сульфит и, наконец, в сульфат, конечный продукт метаболизма $H_2S$ [Liu et al., 2012]. Во-вторых, $H_2S$ может метилироваться тиол-S-метилтрансферазой с образованием диметилсульфида и метантиола. Наконец, $H_2S$ может вступать во взаимодействие с метгемоглобином с образованием сульфгемоглобина [Elrod et al.,2007]. В некоторых исследованиях была показана тканеспецифичность в распределении также продуктов метаболизма $H_2S$ [Jiang et al., 2005]. Так, например, преобразование сульфида в сульфат происходит в печени крысы, в почках обнаруживаются тиосульфат и сульфат, в легких преимущественно тиосульфат.

Особый интерес вызывает клеточное местонахождение ЦГЛ, синтез данного фермента был показан в культуре ГМК сосудов [Yang et al., 2008]. Изначально, на основе измерений мРНК ЦГЛ предполагалось [Zhao et al., 2001], что эндотелиальные клетки сосудов лишены этого фермента. Однако в настоящее время стало известно, что ЦГЛ-опосредованный биосинтез $H_2S$ происходит не только в гладких мышцах, но и в эндотелиальных клетках сосудов [Yang et al., 2008]. Действительно, на мышах, нокаутированных по гену ЦГЛ, наблюдалась значительная гипертензия [Yangn et al., 2008], а также замедление процесса заживления ран, которое, вероятно, связано с ингибированием ангиогенеза [Papapetropoulos et al., 2009].

## 1.5 Токсичность и эндогенные концентрации $H_2S$

Входными воротами для $H_2S$ служат легкие и кожа. К его основным токсическим эффектам на организм человека относят прямое повреждение слизистых оболочек глаз и верхних дыхательных путей за счет местного раздражающего действия, и системную интоксикацию. Газ способен угнетать деятельность дыхательного и сосудодвигательного центров, резко нарушать микроциркуляцию в тканях, вызывая патологические изменения в различных органах и системах, в том числе и иммунной [Polunin, Asfandiyarov, Trizna, 1999].

Во многих исследованиях проводились попытки измерения уровня $H_2S$ в тканях и биологических жидкостях. При этом использовался наиболее распространенный метод анализа - связывание $H_2S$ с металлом (обычно с цинком) с последующим окислением, далее реакция с красителем, N,N-диметил - *p* - фенилендиамином (DMPD), с образованием метиленового синего, который далее измеряется спектрофотометрическим методом. Несколько десятилетий назад этот метод показал, что мозговая ткань содержит около 50-160 мкМ $H_2S$; сыворотка крови человека и крысы - около 50-100 мкМ $H_2S$. Большинство авторов, использовавших этот метод, позже выяснили, что при этом регистрируются не только свободные формы $H_2S$, но и другие, такие как гидросульфид анионы ($HS^-$) и сульфиды ($S^{2}$-). Для измерения концентрации $H_2S$ в плазме крыс используются также амперометрический метод (сульфид-селективная проба), регистрирующий концентрации приблизительно в 50 мкМ, и газовый хроматограф-масс-спектрометрический метод, обнаруживающий концентрации в 80 мкМ. Принимая во внимание то, что $H_2S$ оказывает сильное влияние на митохондриальную цитохром С-оксидазу, эти чрезвычайно высокие значения концентраций, вероятно, не совместимы с жизнью [Li, Hsu, Moore, 2009; Szabo, 2007]. В недавних исследованиях было показано, что концентрация

свободного $H_2S$ в плазме находится субмикромолярном диапазоне [Olson et al., 2006]; в гомогенатах головного мозга мышей и печени уровень $H_2S$ ~ 15 нМ [Furne et al., 2008] . Интересно, что 10-15 лет назад, по общему мнению, считалось, что концентрация $H_2S$ и NO в плазме крови находится в микромолярных диапазонах. Но после того как были усовершенствованы существующие методы анализа и разработаны новые чувствительные биосенсорные методы, было обнаружено, что фактический уровень NO в плазме находится в диапазоне 1-5 нМ, что на несколько порядков ниже ранее предполагаемого. Такой низкий диапазон уровня NO в плазме свидетельствует о его важном физиологическом значении, а также необходимости поддержания его уровня в строго контролируемых пределах. Поэтому, возможно, низкий уровень $H_2S$ в плазме и тканях также указывает на важность его биологического значения [Ling, Peter,Philip, 2011].

Пока не существует достаточно чувствительных, селективных методов для измерения внутриклеточного $H_2S$ в реальном времени.

## 1.6 Физиологические и патофизиологические эффекты и механизмы действия $H_2S$

На сегодняшний день проведено множество исследований, направленных на изучение воздействия $H_2S$ на отдельные системы организма. И наибольшее внимание привлекают его эффекты на сердечно-сосудистую систему и на процессы воспаления. Были продемонстрированы также влияния эндогенного $H_2S$ на периферическую и центральную нервную систему, влияние на оценку боли и нейродегенерации, контроль над ЖКТ, мочеполовой и эндокринной системами [Kimura, 2010; Leffler et al., 2008; Li, Hsu, Moore, 2009; Olson, 2008; Qu et al., 2008].

В центральной нервной системе сероводород функционирует как нейромодулятор, но может выполнять и протекторную функцию при

оксидативном стрессе. Установлено благотворное влияние доноров сероводорода при геморрагическом шоке, эндотоксемии, бактериальном сепсисе и асептическом воспалении [Lowicka, Beltowski, 2007].

Также $H_2S$ оказывает влияние на антиагрегантную активность тромбоцитов при высоких концентрациях [Zagli et al., 2007], на уменьшение [Zanardo et al., 2006] или повышение [Zhang et al., 2006] уровня нейтрофилов в эндотелиальном слое сосудов при воспалительном процессе.

Есть данные, которые показывают противовоспалительные эффекты доноров $H_2S$, например, производные диклофенака обладают повышенной противовоспалительной активностью при эндотоксическом шоке и каррагинан-вызванном отеке задних лап [Li et al., 2007; Wallace et al., 2007]. Медленно $H_2S$-высвобождающий GYY4137, также оказывает противовоспалительный эффект на мышах с моделью эндотоксического шока [Whiteman et al., 2010]; $H_2S$-образующий мезаламин уменьшает проникновение лейкоцитов и экспрессию некоторых провоспалительных цитокинов [Fiorucci et al., 2007]; способствует заживлению язв у крыс [Wallace et al., 2007].

В основе расслабляющего действия $H_2S$ на гладкую мускулатуру толстой кишки [Distrutti et al., 2006] и глаз [Monjok et al., 2008] лежит активация K(АТФ) - каналов. Некоторые исследователи предположили, что некоторые гладкие мышцы (например, желудка мышей) расслабляются в ответ на NaHS не через открытие K(АТФ) - каналов, а при активации фосфатазы легкой цепи миозина [Dhaese et al., 2010]. Точный механизм, с помощью которого $H_2S$ активизирует K(АТФ) - каналы, пока остается не ясным [Jiang et al., 2010]. В последнее время сообщается, что К (АТФ) - каналы подвергаются сульфгидратации $H_2S$ [Mustafa et al., 2009].

## 1.7 Патологические процессы, связанные с метаболизмом $H_2S$ в организме

Принимая участие во многих физиологических реакциях, $H_2S$, равно как и другие газомедиаторы, играет очень важную роль. Основной патогенетический механизм повреждающего воздействия сероводорода на организм - необратимое ингибирование железосодержащих цитохромов, связывание с железом в их молекулах, и, как следствие-нарушение усвоения тканями кислорода с развитием тканевой гипоксии [Polunin, Asfandiyarov, Trizna, 1999]. Состояние тканевой гипоксии стимулирует выделение провоспалительных цитокинов, являющихся физиологическими активаторами апоптоза [Pashkov, Shishlo, Prokhorov, 2008]. Повышение активности p53 - фактора, запускающего апоптоз, связано с вынужденными радикальными мерами, к которым организму приходится прибегать при серьезных стрессах, интоксикациях, облучении, инфекциях и воспалении [Ярилин, 2001]. Изменения в механизмах регуляции апоптоза приводят к нарушениям на тканевом и системном уровнях, что служит причиной различных возрастных патологий.

Учитывая то, что у большинства млекопитающих $H_2S$ расширяет кровеносные сосуды, можно предположить, что дефицит биосинтеза этого газа способствует возникновению заболеваний ССС. Наблюдалось снижение экспрессии ЦГЛ и биосинтеза $H_2S$ при экспериментально вызванной гипоксической легочной гипертензии [Chunyu et al., 2003]; при легочной гипертензии, вызванной высоким кровяным давлением [Yanfei et al., 2006], который в свою очередь вызывался NG-нитро-L-аргинин метиловым эфиром (L-NAME) [Zhong et al., 2003]; а также при спонтанной гипертензии у крыс [Yan, Du, Tang, 2004]. В совокупности эти данные свидетельствуют о том, что дефицит ЦГЛ (следовательно, и $H_2S$) может предрасполагать к возникновению гипертензии.

Большой интерес также привлекает роль $H_2S$ в воспалительном процессе. Введение NaHS вызывает воспаление ткани, о чем свидетельствует увеличение активности миелопероксидазы (MPO) в результате тканевого проникновения нейтрофилов [Li et al., 2005]. Кроме того, у животных с моделью воспалительного процесса (например, эндотоксический, септический и геморрагический шок, панкреатит, каррагинан-вызванный отек задней лапы) увеличивается концентрация $H_2S$ в плазме, активность синтеза $H_2S$ в тканях и экспрессия ЦГЛ [Li et al., 2005; Bhatia et al., 2005; Mok et al., 2004].

## 1.8 Роль $H_2S$ в сердечно-сосудистой системе

В ряде исследований было выявлено, что $H_2S$ расширяет кровеносные сосуды у крыс, как *in vitro*, так и *in vivo*. Было выявлено, что данный эффект опосредован активацией K(АТФ) - каналов гладких мышц сосудов [Zhao et al., 2001; Hosoki, Matsuki, Kimura, 1997]. Сосудорасширяющие эффекты $H_2S$ были показаны и на изолированных сосудах млекопитающих (аорта, желудочная артерия, воротная вена) [Ali et al., 2006; Hosoki, Matsuki, Kimura, 1997; Kubo, Kajiwara, Kawabata, 2008; Webb et al., 2008; Zhao et al., 2001]. В целом, острое [Hosoki, Matsuki, Kimura, 1997; Zhao et al., 2001] и хроническое введение NaHS [Cai et al., 2007] снижает артериальное давление (АД), так же как и введение других доноров $H_2S$, таких как ADT-OH, S-диклофенак [Lim et al., 2007] и GYY4137 [Lim et al., 2008]. В различных исследованиях было показано, что концентрация NaHS, необходимая для расширения кровеносных сосудов *in vitro,* должна быть высокой. В общем, для расслабления кровеносных сосудов, необходимо введение NaHS в концентрации более 50-100 мМ, в то время как для значительного снижения артериального давления, необходима концентрация в 10-50 мкМ/кг. Эти

биологические эффекты доноров и эндогенного $H_2S$ делают его кандидатом для применения в терапевтических целях [Ling, Peter, Philip, 2011].

За последние несколько лет были отмечены и многие другие эффекты действия $H_2S$ на ССС. К примеру, влияние $H_2S$ на проангиогенез *in vitro* и *in vivo* [Cai et al., 2007; Papapetropoulos et al., 2008]; ремоделирующий эффект (снижение гиперплазии сосудов) $H_2S$ в кровеносных сосудах у гипертензивных крыс [Shi et al., 2007; Zhao et al., 2008], антиатеросклеротическая активность [Wang et al., 2009].

Также $H_2S$ оказывает кардиопротекторное влияние в изолированном сердце крыс при лигировании коронарной артерии [Zhu et al., 2007], ишемии [Elrod et al., 2007], или инъекции ЛПС [Sivarajah, McDonald, Thiemermann, 2006]. Во многом этот эффект $H_2S$ обусловлен активацией К(АТФ) - каналов миоцитов предсердий и желудочков сердца крыс. Прямое подтверждение влияния этого газа на К(АТФ) - каналы было обнаружено в электрофизиологических исследованиях, в которых NaHS увеличивал проводимость для К(АТФ) - каналов ГМК аорты и брыжейки [Zhao et al., 2001].

По данным Kubo, $H_2S$ может вызывать сокращение сегментов аорты крысы через изменение внутриклеточной концентрации циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) или активацию Cl/HCO3 обменника и ацидификацию цитоплазмы ГМК [Kubo et al., 2007]. Данные сосудистые эффекты имеют существенное значение для поддержания артериального давления, предотвращения ремоделирования сосудов, и позиционируют $H_2S$ как истинный газотрансмиттер и важный патогенетический фактор при гипертонии и ишемии/реперфузии.

В ССС сероводород ингибирует пролиферацию гладкомышечных клеток, модулируя MAP-киназный сигнальный путь [Lim et al., 2008].

Обнаружение фермента ЦГЛ в сердце крыс, а также идентификация $H_2S$ как сигнальной молекулы сделали прорыв в изучении роли данного

газотрансмиттера в функциях сердца. Появляется все больше доказательств указывающих на то, что многие болезни сердца связаны с нарушением синтеза $H_2S$. Было обнаружено, что у больных ишемией сердца (ИБС) был значительно понижен уровень $H_2S$ в плазме крови по сравнению с контрольной группой [Jiang et al., 2005]. Помимо больных ИБС, уровень $H_2S$ в плазме крови был значительно снижен у пациентов с нестабильной стенокардией и острым инфарктом миокарда, по сравнению с пациентами со стабильной стенокардией. Кроме того, было обнаружено снижение уровня циркулирующего в крови $H_2S$ у больных с сердечной недостаточностью [Polhemus et al., 2014]. В экспериментальных моделях на животных также было показано значительное снижение эндогенного синтеза $H_2S$ при многих сердечных заболеваний, в том числе ишемии, инфаркте миокарда, сердечной недостаточности, гипергомоцистеин-индуцированной гипертонии [Liu et al., 2012].

Все больше данных указывает на то, что $H_2S$ уменьшает размеры повреждений после ишемии/реперфузии на изолированном сердце крысы посредством активации JAK2/STAT3 сигнального пути [Luan et al., 2012]. В другом исследовании, предварительное применение диоксида серы ($SO_2$) значительно уменьшало повреждение миокарда *in vivo*, что связано с увеличением миокардиальной антиоксидантной проводимости и регуляцией $H_2S$/ЦГЛ [Liu et al., 2012]. Предварительная обработка изолированного сердца крысы NaHS защищает его от травм после ишемии/реперфузии путем уменьшения проводимости через мембрану митохондрий [Shymans'ka et al., 2012]. Также было обнаружено фармакологическое ингибирование ЦГЛ в результате увеличении травм после ишемии/реперфузии на крысиной модели [Zhuo et al., 2009]. Кроме того, специфический для ССС фермент ЦГЛ сверхэкспрессируется у трансгенных мышей, и он значительно снижает у них размеры повреждений миокарда после инфаркта; улучшает сердечную

функцию после 45 минутной ишемии и 72-часовой реперфузии по сравнению с группой мышей дикого типа [Elrod et al., 2007].

## 1.9 Влияние $H_2S$ на сократимость миокарда

Показано что $H_2S$ продуцируется в миокардиальной ткани крысы со скоростью 19 нМ/г в мин, это указывает на то, что сердце является важным источником эндогенного газа в организме. Уровень мРНК ЦГЛ в миокарде на 24% выше, чем в грудной аорте и на 14% ниже, чем в ткани мозга [Geng et al., 2004].

Донор $H_2S$, NaHS, в концентрации $10^{-6}$-$10^{-4}$ М/л вызывает отрицательный инотропный эффект в модели изолированного перфузируемого сердца крысы, не оказывая влияния на частоту сердечных сокращений (ЧСС) и не оказывая эффекта на скорость коронарного тока. Эти эффекты частично блокировались в присутствии глибенкламида, что позволило предположить, что К(АТФ) - каналы являются одними из мишеней действия $H_2S$ [Geng et., al 2004]. Активация К (АТФ) - каналов приводит к укорочению потенциала действия (ПД), уменьшению входа $Ca^{2+}$ и снижению силы сокращения миокарда [Cole, McPherson, Sontag, 1991]. При высокой концентрации $H_2S$ ($10^{-3}$ М/л) ЧСС и скорость коронарного тока снижались, наряду с отрицательным инотропным эффектом, что может быть объяснено общим токсическим эффектом $H_2S$ на все измеренные сердечные параметры [Geng et al., 2004].

В папиллярной мышце сердца морской свинки *in vitro* было показано, что NaHS снижает длительность и амплитуду ПД. Предварительное применение ингибитора К (АТФ) - каналов, глибенкламида, или агониста $Ca^{2+}$-каналов, Bay K8644, частично снимало эффект NaHS. Авторами было предположено, что эффект $H_2S$ реализуется путем увеличения $K^+$ - тока через К (АТФ) - каналы и уменьшения входа $Ca^{2+}$ [Xu et al., 2007]. Кроме того,

NaHS также снижал $Ca^{2+}$ - сигналы и сократимость кардиомиоцитов в изолированной папиллярной мышце. При этом NaHS не влиял на кофеин индуцированное увеличение внутриклеточного $Ca^{2+}$ - тока ($[Ca^{2+}]_i$). Сделано предположение, что снижение $[Ca^{2+}]_i$ при действии $H_2S$ происходит в результате ингибирования $Ca^{2+}$ - каналов L-типа кардиомиоцитов [Yang et al., 2005].

Было показано, что NaHS оказывает концентрационно-зависимый отрицательный хронотропный эффект в изолированном сердце крысы [Ji et al., 2008]. Это действие также наблюдалось на мышах, которым вводили NaHS в концентрации 1 мг на 1 кг при моделировании реперфузии *in vivo* [Elrod et al., 2007]. NaHS также вызывал концентрационно-зависимое уменьшение скорости возбуждения в пейсмейкерных клетках синоатриального узла кролика. Этот негативный хронотропный эффект был блокирован в присутствии глибенкламида, что указывает на роль К (АТФ) - каналов, активация которых ведет к реполяризации волокон и сопровождается снижением входящего $Ca^{2+}$ - тока [Xu et al., 2008]. $H_2S$ в диапазоне концентраций $1*10^{-4}$ – $4*10^{-4}$ М на целом изолированном сердце крысы при перфузии *ex vivo* по Лангендорфу вызывал блокирование проведения возбуждения в атриовентрикулярном узле вплоть до полной блокады и перехода работы сердца на атриовентрикулярный ритм [Абрамов, Абрамочкин, Кузьмин, 2010].

Имеются данные о кардиопротекторной роли $H_2S$ при ишемии, инфаркте [Bian et al., 2006; Zhu et al., 2007]. Показано, что длительная терапия NaHS (до 3-х месяцев) уменьшала медиальное утолщение интрамиокардиальных коронарных артериол [Shi et al., 2007].

Таким образом, имеются немногочисленные данные о снижении сократимости миокарда при действии $H_2S$, однако, механизмы его действия на возбудимость сердца и функционирование кардиомиоцитов остаются до конца неясными.

## 1.10 Механизмы регуляции сократимости сердечной мышцы

В живых организмах гемодинамическая работа сердца регулируется, в первую очередь, изменениями сократимости сердечной мышцы-миокарда, которые параллельно сопровождаются изменениями скорости сокращения.

Электромеханическое сопряжение в сердце – это процесс, включающий все этапы от электрического возбуждения миоцитов до сокращения сердца. Сократительная активность сердца во многом зависит от электрических процессов на мембране кардиомиоцитов [Bers, 2001; Fozzard, 1991], где ПД формируется за счет большого количества разнообразных каналов.

Деполяризация мембраны активирует потенциал-активируемые $Ca^{2+}$ - каналы L-типа, вход $Ca^{2+}$ через которые во время плато является основным триггером для сопряжения процесса возбуждения-сокращения в рабочем миокарде [Vinogradova, Bogdanov, Lakatta, 2002]. В мембране кардиомиоцитов присутствует множество типов потенциал-активируемых $K^+$ - каналов, каналов утечки и $K^+$ - каналов входящего выпрямления, участвующих в реполяризации ПД [Nerbonne, Kass, 2003; Розенштраух, 2007]. $K^+$ - каналы сердца определяют МП покоя, ЧСС, форму и продолжительность ПД и являются важными мишенями для действия медиаторов, гормонов, лекарств и токсинов [Coetzee, Amarillo, Chiu, 1999; Nerbonne, 2000; Snyder, 2010] Блокирование определенных $K^+$ - каналов продлевает ПД в сердце и рефрактерный период без замедления проведения импульса.

Наибольшие функциональные различия характерны для потенциал-активируемых $K^+$ - каналов. Имеется, по крайней мере, два быстрых выходящих токов, потенциал-активируемые $K^+$ - токи и несколько компонентов токов задержанного выпрямления – быстрый $K^+$ - ток, медленный $K^+$ - ток, и сверхбыстрый $K^+$ - ток. В кардиомиоцитах человека

обнаружен постоянный неинактивирующийся стационарный медленный $K^+$ - ток, впервые выявленный у грызунов. Кроме того, в кардиомиоцитах присутствуют каналы, образованные субъединицами семейства Kir2, обуславливающие $K^+$ - токи входящего выпрямления. В сердце токи входящего выпрямления через К (АТФ)-каналы играют важную роль в условиях ишемии [Nerbonne, Kass, 2003, Розенштраух, 2007].

К (АТФ) - каналы вовлекаются в поддержание МП покоя, когда содержание энергии в клетке снижено, например, при ишемии, гипоксии, гипогликемии [Babenko, Aguilar-Bryan, Bryan, 1998]. При ишемии происходит гиперполяризация кардиомиоцитов сердца, вследствие уменьшения внутриклеточной концентрации АТФ, активации К(АТФ)-тока и укорочения ПД. Последующее уменьшение возбудимости и сократимости сердечной мышцы уменьшает потребление энергии и способствует выживанию кардиомиоцитов в период метаболического повреждения [Aguilar-Bryan et al., 1998; Grover, Garlid, 2000; Seino, Miki, 2003; Yokoshiki, Sunagawa, Seki, 1998]. К (АТФ)-каналы ингибируются АТФ и активируется МgАДФ, так что канал регулируется соотношением АТФ/АДФ [Yellen, 2002].

Во время ПД кардиомиоцитов $Ca^{2+}$ входит в клетку через потенциал-зависимые $Ca^{2+}$-каналы и вызывает освобождение $Ca^{2+}$ из саркоплазматического ретикулума (СПР), что приводит к повышению $[Ca^{2+}]_i$. $Ca^{2+}$ связывается с белком тропонин С, который затем запускает механизм сокращения. Для процесса расслабления концентрация ионов $Ca^{2+}$ должна снизиться, и $Ca^{2+}$ должен диссоциировать от тропонина. Существует четыре основных механизма, удаляющих ионы $Ca^{2+}$ – $Ca^{2+}$-АТФаза СПР и сарколеммы, $Na^+/Ca^{2+}$-обменник сарколеммы, и транспортер $Ca^{2+}$ в митохондриях [Bers, 2002; Bers, 2010]. За вход внеклеточного $Ca^{2+}$ в сердечной мышце отвечают либо дигидропиридиновые рецепторы потенциал чувствительных $Ca^{2+}$-каналов L-типа, локализованные на внешней части

мембраны (плазмалемма и Т-тубулы) [Ashley, Mulligan, Lea, 1991; Cannell, Cheng, Lederer, 1995; Stern, Lakatta, 1992], либо $Na^{+}/Ca^{2+}$-обменник. Высвобождение $Ca^{2+}$ из СПР происходит либо через рианодиновые рецепторы [Coronado et al., 1994; Franzini-Armstrong, Protasi, 1997; Meissner, 1994; Sutko, Airey, 1997] или возможно через рецепторы инозитол-трифосфата [Niedergerke, Page, 1981b]. В сердечной мышце активация рианодиновых рецепторов зависит от входа $Ca^{2+}$ через дигидропиридиновые рецепторы, и это взаимодействие происходит в периферических соединениях, называемых триадами, между специализированными доменами СПР и поверхностными мембранами Т-трубочек. Активация дополнительных кластеров рианодиновых рецепторов, находящихся на некотором расстоянии от дигидропиридиновых рецепторов [Sommer et al., 1991] должна происходить опосредованно с помощью $Ca^{2+}$, входящего в клетку, и/или освобождающегося из $Ca^{2+}$-высвобождающих единиц [Mackenzie et al., 2001; Trafford et al., 2002].

Имеется два основных способа регуляции силы сокращения – изменение амплитуды и длительности $Ca^{2+}$ - сигнала и изменение чувствительности миофиламентов к ионам $Ca^{2+}$. Чувствительность миофиламентов к ионам $Ca^{2+}$ увеличивается при их растяжении (когда сердце заполняется кровью), что ведет к более сильному сокращению. Это частично связано с увеличением актин-миозинового взаимодействия в результате латерального сдавления решетки миофиламентов в процессе растяжения [Wang et al., 1997]. Этот процесс является важным ауторегуляторным механизмом, позволяющим сердцу приспосабливаться к измененному диастолическому наполнению (закон Франка-Старлинга) Чувствительность миофиламентов к $Ca^{2+}$ уменьшается при ацидозе, при увеличении уровня фосфатов и магния (что происходит при ишемии). Кроме того, чувствительность миофиламентов снижается при β-адренергической

стимуляции, но увеличивается при воздействии кофеина и некоторых инотропных агентов [Bers, 2002].

В норме быстрая кинетика $Ca^{2+}$ - сигнала предотвращает полную насыщаемость миофиламентов $Ca^{2+}$. Вклад различных путей в удаление ионов $Ca^{2+}$ из цитозоля различается у разных животных. В желудочковых кардиомиоцитах кролика $Ca^{2+}$ - АТФаза СПР удаляет 70%, $Na^{+}/Ca^{2+}$-обменник – 28%, и 1% удаляется $Ca^{2+}$-АТФазой сарколеммы и транспортером $Ca^{2+}$ в митохондриях (которые обозначаются как медленная система удаления $Ca^{2+}$) [Brandes, Bers, 1997].

В желудочковых кардиомиоцитах $Ca^{2+}$ - ток, в основном, проходит через потенциал-чувствительные $Ca^{2+}$-каналы L-типа. $Ca^{2+}$-ток активируется деполяризацией, но $Ca^{2+}$-зависимая инактивация с цитозольной стороны ограничивает $Ca^{2+}$ - вход во время ПД. $Ca^{2+}$-каналы L-типа локализуются, в основном, в области соединений сарколеммы и СПР, где находятся рианодиновые рецепторы. Выход $Ca^{2+}$ из СПР через рианодиновые рецепторы также оказывает вклад в инактивацию $Ca^{2+}$-каналов [Scriven, Dan, Moore, 2000].

$Na^{+}/Ca^{2+}$ обменник является обратимым со стехиометрией 3 иона $Na^{+}$ на 1 ион $Ca^{2+}$ и может как выкачивать, так и закачивать ионы $Ca^{2+}$ в клетку [Egger, Niggli, 2000; Fujioka, Komeda, Matsuoka, 2000]. Высокий $[Ca^{2+}]_i$ благоприятствует выходу $Ca^{2+}$ (входящий $Na^{+}/Ca^{2+}$-ток), тогда как положительный МП и высокий внутриклеточный $Na^{+}$ – входу $Ca^{2+}$ в клетку (выходящий $Na^{+}/Ca^{2+}$-ток). В физиологических условиях $Na^{+}/Ca^{2+}$ - обменник в основном работает на выкачивание ионов $Ca^{2+}$ из клетки. В обратном режиме обменник работает при увеличении внутриклеточного уровня $Na^{+}$ (например, при действии сердечных гликозидов, блокирующих $Na^{+}/K^{+}$-АТФ-азу), блокировании освобождения $Ca^{2+}$ из СПР или $Ca^{2+}$-каналов сарколеммы или при увеличении длительности ПД [Bers, 2002].

Высокое содержание $Ca^{2+}$ в СПР напрямую увеличивает количество $Ca^{2+}$, способное к высвобождению [Bassani et al., 1995; Shannon, Ginsburg, Bers, 2000] и повышает вероятность открытия и чувствительность рианодиновых рецепторов к $Ca^{2+}$ [Lukyanenko, Györke, Györke, 1996; Sitsapesan, Williams, 1994]. При относительно низком уровне $Ca^{2+}$ в СПР $Ca^{2+}$-ток не может вызвать высвобождение $Ca^{2+}$ из СПР и низкий уровень $Ca^{2+}$ в СПР способствует более интенсивному входу $Ca^{2+}$ через $Ca^{2+}$-каналы и $Na^{+}/Ca^{2+}$- обменник. Фосфоламбан является эндогенным ингибитором $Ca^{2+}$-АТФазы СПР, и его фосфорилирование протеинкиназой А или кальмодулин-зависимой протеинкиназой обращает это ингибирование, способствуя более быстрому расслаблению и снижению уровня $Ca^{2+}$. Так как $Ca^{2+}$-АТФаза СПР конкурирует с $Na^{+}/Ca^{2+}$-обменником, фосфорилирование фосфоламбана также увеличивает содержание $Ca^{2+}$ в СПР [Brittsan, Kranias, 2000].

Сокращение сердца находится под непосредственным воздействием адренергической системы. На основании структурных особенностей и разной чувствительности к фармакологическим агентам адренорецепторы разделяют на α1, α2, и β1, β2, β3 подтипы [Di-Pilato, Zhang, 2006; Xiao, Lakatta, 1993]. β-адренорецепторы являются посредниками гормон-опосредованных химических сигналов в механизме сокращения миокарда, увеличивая силу сокращения (интропия), ускоряя расслабление и снижая $[Ca^{2+}]_i$. Стимуляция β-адренорецепторов активирует Gs-белок, который стимулирует аденилатциклазу и приводит к увеличению внутриклеточного уровня цАМФ, который, в свою очередь, стимулирует протеинкиназу А. Эта киназа фосфорилирует ряд белков, относящихся к возбуждению-сокращению (фосфоламбан, $Ca^{2+}$-каналы L-типа, рианодиновые рецепторы, тропонин 1, миозин-связывающий протеин С). Как и все адренорецепторы, β2-подтип принадлежит к суперсемейству метаботропных, сопряженных с G-белками рецепторов, имеющих семь трансмембранных доменов. Возможно, что одним из главных субстратов пула протеинкиназы А, контролируемых

зависимым от β2-адренорецепторов способом, выступают $Ca^{2+}$-каналы L-типа, которые находятся в непосредственной близости от β2-адренорецепторов, образуя вместе с ними макромолекулярный комплекс [Cherezov et al., 2007; Haase, 2007]. β2-адренорецепторы могут вмешиваться и в другие системы внутриклеточной сигнализации, напрямую соединяясь со многими регуляторными протеинами, такими как тирозин-киназа, фактор регулирующий $Na^+/H^+$-обмен, аррестин, N-этилмалеимид-чувствительный фактор, ряд каркасных белков [Hall et al., 1998; Peleg et al., 2001; Sun et al., 2007; Wang et al., 2007; Xiang, Kobilka, 2003]. Агонисты β2-адренорецепторов за счет стимуляции протеинкиназы-В и тирозин-киназы способны вызывать фосфорилирование эндотелиальной формы NO-синтазы, влияя на продукцию NO [Balligand, Feron, Dessy, 2009; Figueroa et al., 2009; Fulton et al., 2005]. Более того каркасные белки и аррестин - 2 могут одновременно взаимодействовать с β2-адренорецепторами и NOS [Haase, 2007; Ozawa et al., 2008]. Недавно было показано существование нескольких активных состояний (конформаций) β2-адренорецептора, в которых рецептор с разной эффективностью связывается с сигнальными молекулами и, следовательно, способен запускать различные варианты клеточных ответов [Bokoch et al., 2010; Jozwiak et al., 2010; Rosenbaum et al., 2011].

Симпатомиметические амины, такие как изопреналин оказывают позитивный инотропный эффект [Kamp, Hell, 2000; Rapundalo, 1998;]. В сердце млекопитающих, изопреналин активирует β1- и β2-адренергические рецепторы и оба рецептора способствуют синтезу цАМФ и протеинкназа А-опосредованной стимуляции $Ca^{2+}$-тока L-типа [Hartzell, Budnitz, 1991; Skeberdis, Jurevicius, Fischmeister, 1997b; Zhou et al., 1997] и повышает амплитуду сокращений [Molenaar et al., 2000; Steinberg, Baron, 1999]. Хотя оба рецептора активируют общие сигнальные пути, положительный инотропный эффект β2-адренергических агонистов отличается от эффектов β1-агонистов тем, что он не сопровождается значительной продукцией

внутриклеточного цАМФ, не ускоряет скорость расслабления [Xiao et al., 1994], и при этом не наблюдается цАМФ-зависимое фосфорилирование фосфоламбана [Molenaar et al., 2000; Xiao et al., 1994]. Возможным объяснением этих различий является более тесная локализация цАМФ-сигнала вблизи β2-адренорецепторов, что было показано на желудочковых кардиомиоцитах крысы [Steinberg, Brunton, 2001; Zhou et al., 1997].

Эндогенная продукция NO в сердце играет важную роль в регуляции сократимости как в физиологических, так и патофизиологических условиях. NO синтезируется в кардиомиоцитах и эндотелиальных клетках с помощью двух форм NOS, eNOS и nNOS, которые сосуществуют в кардиальной ткани [Damy et al., 2004; Massion et al., 2003]. Третья форма - iNOS экспрессируется при патологических условиях [Abi-Gerges et al., 1999], например, при инфаркте миокарда [Massion et al., 2003; Paulus, Bronzwaer, 2004]. Большое количество исследований указывает на то, что NO модулирует $Ca^{2+}$ -т ок через активацию гуанилатциклазы и синтез цГМФ [Feron, Han, Kelly, 1999; Kirstein et al., 1995; Levi, Sagiv, Srivastava, 1994; Méry et al., 1993; Wahler, Dollinger, 1995; Wang et al., 1998]. Этот циклический нуклеотид может оказывать противоположное влияние на $Ca^{2+}$-ток, в зависимости как от концентрации ГМФ, так и от сложного взаимодействия трех предполагаемых цГМФ мишеней: цГМФ-зависимых протеинкиназ G [Méry et al., 1991; Sumii, Sperelakis, 1995], цГМФ-стимулируемых фосфодиэстераз [Feron, Han, Kelly, 1999; Han et al., 1998; Hartzell, Fischmeister, 1987; Ji et al., 1999; Méry et al., 1996] и цГМФ-ингибируемой фосфодиэстеразы [Kirstein et al., 1995; Méry et al., 1993; Ono, Trautwein, 1991; Wang et al., 1998]. Например, ингибирование фосфодиэстеразы III, которое приводит к увеличению $Ca^{2+}$-тока, может происходить при более низких концентрациях цГМФ, чем активация фосфодиэстеразы II, которая ведет к снижению $Ca^{2+}$-тока [Kirstein et al., 1995; Méry et al., 1993]. NO может также оказывать цГМФ-независимые эффекты, так в низких дозах NO активирует Gs-белок, стимулирующий

аденилатциклазу [Abi-Gerges et al., 1999]. NO также продуцирует пероксинитриты, оказывающие специфические эффекты на $Ca^{2+}$-токи и сократимость [Fischmeister et al., 2005].

# ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

## 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1 Объект и методы исследования

Эксперименты по исследованию сократимости изолированных полосок желудочкового миокарда проводились на самцах беспородных крыс *Rattus norvegicus* в возрасте от 90 до 120 дней. Животных содержали при стандартных условиях, при свободном доступе к еде и воде.

Эксперименты по определению сократимости миокарда правого желудочка проводились в изометрических условиях на установке PowerLab (Biopac, США) (рисунок 2), с датчиком силы 0-50 г. (Biopac, США).

Животных усыпляли ингаляционным наркозом при помощи изофлюрана. Приготовленное к эксперименту животное фиксировали на препаровальном столе, затем вскрывали. Аккуратно извлекали и промывали сердце несколько раз через сосуды физиологическим раствором при помощи шприца. Затем сердце помещали в специальную ванночку со стимуляцией, в которую предварительно наливали физиологический раствор. Из ткани миокарда правого желудочка вырезались полоски длиной 4-6 мм и диаметром 0,2-0,4 мм, в соответствии с анатомическим строением.

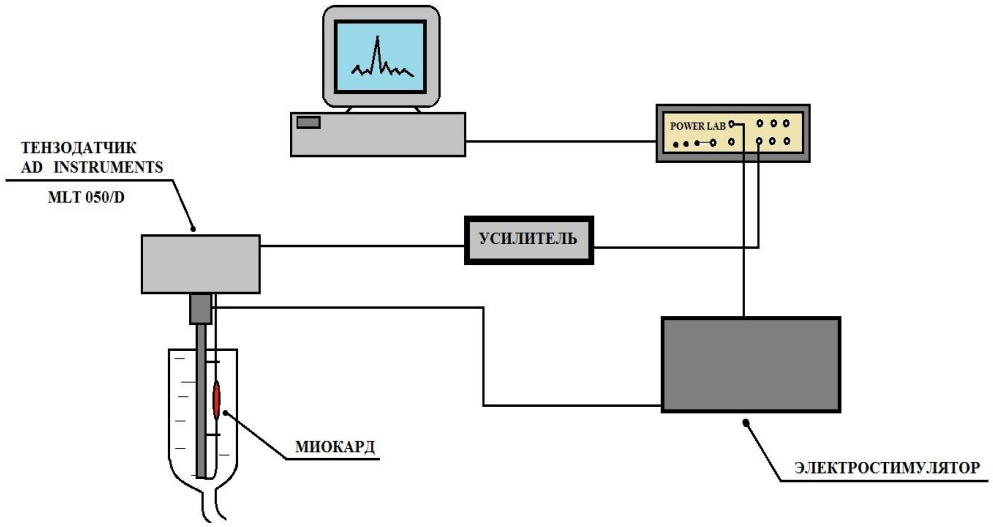


Рисунок 2 - Схематическое изображение установки по определению сократимости миокарда.

Препарат помещался вертикально в резервуар объемом 20 мл, заполненный физиологическим раствором, обогащенным карбогеном. Верхний конец препарата прикреплялся к тензометрическому датчику через планку, нижний конец фиксировался на блоке. Стимуляция препарата желудочкового миокарда осуществлялось электрическими импульсами прямоугольной конфигурации через 2 металлических электрода (с помощью стимулятора ЭСЛ – 2). Параметры стимула: частота 0,1 Гц, амплитуда 40 mV, продолжительность 5 мс. После погружения препарата в резервуар следовал период разработки в течение часа, в ходе которого волокнам желудочкового миокарда постепенно придавалось оптимальное натяжение (точка растяжения препарата, после преодоления которой начиналось снижение силы сокращения препарата). Запись кривой регистрировали на персональном компьютере при помощи программного обеспечения «Elph_4p0». По окончанию приработки регистрировались базовые сигналы.

Анализ и обработка сигналов осуществлялись при помощи программ «Elph_4p0», «OriginPro 8». Достоверность определяли по U критерию Мана-Уитни.

Фармакологические вещества, согласно протоколу экспериментов, не добавлялись до тех пор, пока не происходила стабилизация изометрического сокращения.

## 2.2 Растворы и фармакологические вещества

Для эксперимента на изолированном препарате миокарда сердца использовали модифицированный физиологический раствор Кребса, для теплокровных животных. Физиологический раствор имел следующий состав (в мМ): NaCI – 137,0; KCI – 5,0; $MgSO_4$ – 1,0; $NaHCO_3$ – 11,0; $CaCI_2$ – 2,2; глюкоза – 11,0; аскорбиновая кислота – 0,3. Для поддержания pH в пределах 7,2-7,4 в раствор добавляли основной буфер $NaH_2PO_4$ – 1,0 мМ (все препараты Sigma), раствор продували карбогеном (95% $O_2$–5% $CO_2$) в течение 20 мин. Определение значения pH проводили с помощью pH-метра (Mettler Toledo, Швейцария).

В экспериментах использовали фармакологические препараты фирмы Sigma (таблица 1). Все вещества хранились согласно инструкции.

В качестве донора $H_2S$ использовали NaHS, который широко используется в научных исследованиях [Abe, Kimura, 1996], так как в водных растворах происходит его разложение до иона натрия ($Na^+$) и гидросульфидного аниона ($HS^-$). В воде $HS^-$ реагирует с протоном ($H^+$), продуцируя $H_2S$. Известно, что при этой реакции в физиологическом растворе одна треть $H_2S$ находится в недиссоциированной форме, а остальные 2/3 существуют в виде $HS^-$ [Abe, Kimura, 1996; Ryan et al., 2004]. Концентрация $H_2S$ не остается постоянной, так как происходит постоянное его выделение из раствора в воздух и участие в химических реакциях.

Таблица 1 - Химические вещества, использованные в экспериментах

| Вещество | Концентрация, мкМ | Действие |
|---|---|---|
| Гидросульфид натрия (NaHS) | 1-300 | Донор сероводорода |
| Тетраэтиламмония хлорид (TEA) | 15000 | Неселективный блокатор К–каналов |
| Глибенкламид | 50 | Блокатор К(АТФ)-каналов |
| NG-нитро-L-аргинин-метил-эфир (L-NAME) | 100 | Неспецифический блокатор разных форм NO-синтаз |
| S–nitroso–N-acetylpenicillamine (SNAP) | 80 | Донор NO |

# 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

## 3.1 Эффекты донора $H_2S$ - NaHS на сократимость изолированной полоски миокарда желудочка

Аппликация донора $H_2S$ – NaHS в низких концентрациях (1 и 10 мкМ) приводила к достоверному увеличению силы напряжения полоски миокарда (рисунок 3) до 110,82 ± 2,54% (n = 10; p < 0,001) и 108,58 ± 1,87% (n = 8; p < 0,001) соответственно. В более высоких концентрациях NaHS 50 - 300 мкМ дозозависимо снижал силу напряжения относительно контрольного уровня.

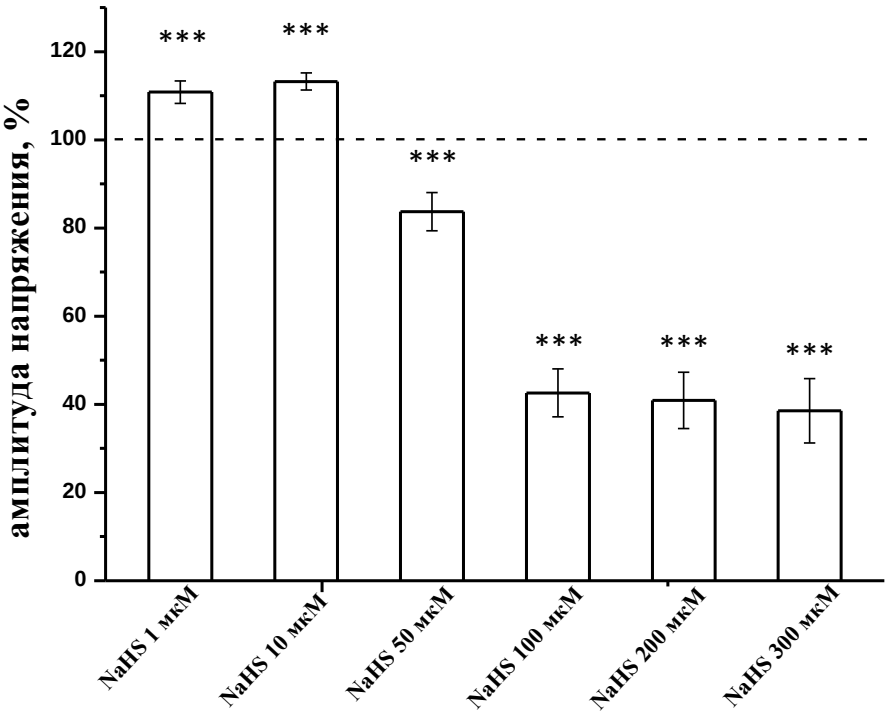


Рисунок 3 - Эффекты донора сероводорода NaHS в различных концентрациях на сократимость желудочкового миокарда крысы.

– – – — контрольные значения

*** – p < 0,001

При добавлении NaHS в концентрации 50мкМ сила напряжения полоски миокарда менялась до 83,72 ± 4,23% (n = 8; p < 0,001). Добавление донора $H_2S$ в концентрации 100мкМ приводило к понижению амплитуды сигнала до 42,58 ± 5,43% (n = 8; p < 0,001). Аппликация NaHS в концентрациях 200мкМ и 300мкМ приводила к изменению силы напряжения до 40,89 ± 6,39% (n = 16; p < 0,001) и 38,56 ± 7,31% (n = 10; p < 0,001) соответственно (рисунок 3).

Отрицательный инотропный эффект NaHS на сократимость полосок желудочкового миокарда наблюдался с первых минут и выходил на плато к 15 мин после добавления донора $H_2S$. В дальнейших экспериментах использовали NaHS в концентрации 200 мкМ.

## 3.2 Роль К-каналов в отрицательном инотропном эффекте NaHS в изолированной полоске миокарда

В ряде исследований показана роль различных К-каналов в эффектах сероводорода на сердце. Для блокирования К-каналов использовали неселективный ингибитор тетраэтиламмоний хлористый (ТЭА), который наиболее эффективно увеличивал силу напряжения полоски миокарда в концентрации 15 мМ, при которой сила напряжения составила 132,14 ± 6,68% (n = 10; p < 0,001) от контрольного уровня (рисунок 4). На фоне ингибирования К-каналов ТЭА отрицательный инотропный эффект NaHS сохранялся и составил 36,81 ± 6,41% (n = 10; p < 0,01) (рисунок 4 ).

Одним из известных механизмов действия $H_2S$ в гладких мышцах сосудов и кардиомиоцитах крысы является активация К(АТФ)-каналов [Cheng, 2004, Zhao, 2001].

Для ингибирования К(АТФ)-каналов использовали блокатор глибенкламид в концентрации 50 мкМ. Глибенкламид приводил к недостоверному увеличению силы напряжения желудочкового миокарда до

117,29 ± 4,46% (n = 5; p > 0,05) относительно базовых показателей. На фоне блокирования К(АТФ)-каналов отрицательный инотропный эффект NaHS сохранился и сила напряжения составила 33,73 ± 7,31% (n = 5; p < 0,05) относительно базового уровня (рисунок 4 ).

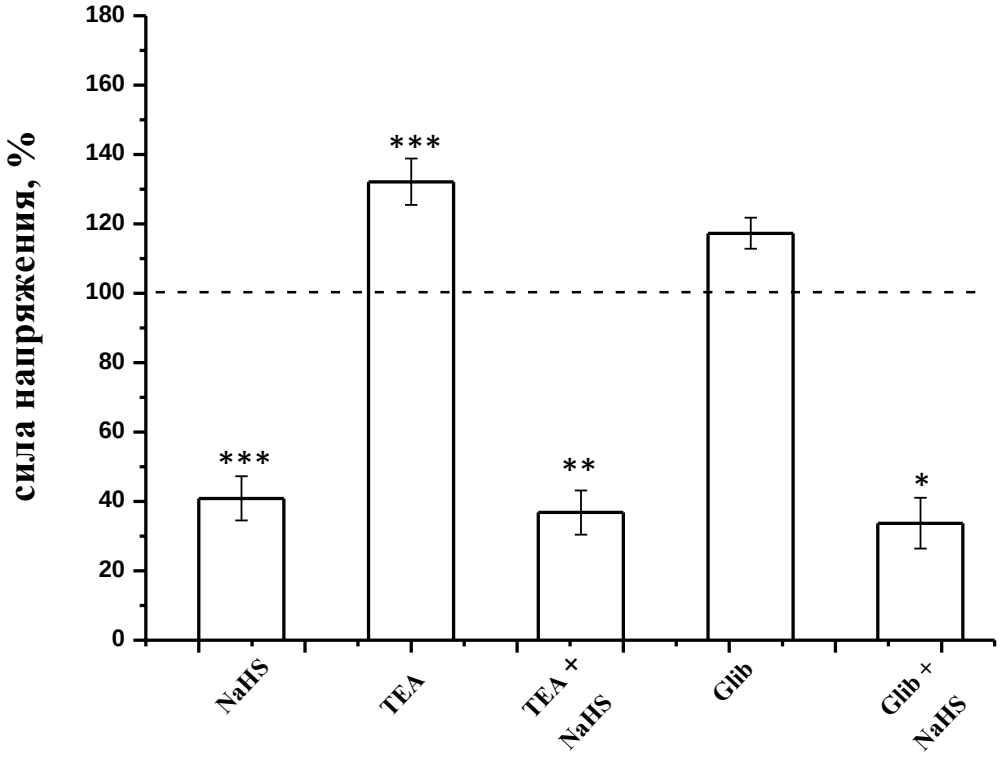


Рисунок 4 - Роль калиевых каналов в эффектах сероводорода на сократимость миокарда желудочка.

TEA 15мМ (тетраэтиламмоний - неспецифический блокатор К-каналов),

Glib 50мкМ (глибенкламид-блокатор К(АТФ)-каналов)

– – – — контрольные значения

(*** – p < 0,001; ** – p < 0,01; * – p < 0,05)

Известно, что роль К(АТФ)-каналов в физиологических условиях незначительна. И их активация происходит только при патологических состояниях, при нарушении нормального функционирования ССС как механизм защиты от повреждения. Действительно, глибенкламид восстанавливал силу напряжения полоски миокарда в условиях ее снижения

в ответ на аппликацию NaHS. При этом происходило достоверное увеличение амплитуды напряжения полоски миокарда до 156,56 ± 9,34% (n = 5; p < 0,01) относительно контрольных значений (рисунок 5 ).

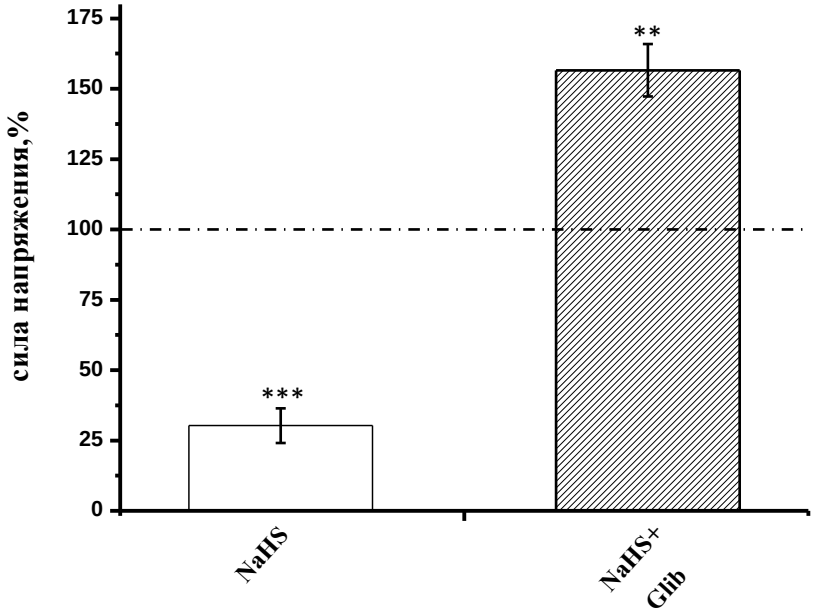


Рисунок 5 - Роль АТФ - зависимых К- каналов в эффектах сероводорода на сократимость миокарда правого желудочка крысы.

Glib 50мкМ (глибенкламид - блокатор К(АТФ)-каналов)

— - — - — – контрольные значения

(*** – p < 0,001; ** – p < 0,01)

Полученные данные указывают, что К(АТФ)-каналы участвуют в реализации отрицательного инотропного эффекта газомедиатора в миокарде крысы и что $H_2S$ может выступать в роли сигнальной молекулы, запускающей этот процесс.

### 3.3 Роль NO в эффектах $H_2S$ на сократимость миокарда

Известно, что оксид азота является важным регулятором деятельности ССС. Исходя из данных о взаимодействии NO и $H_2S$ в регуляции сосудистого

тонуса, нами был проведен анализ эффектов донора $H_2S$ в условиях ингибирования синтеза NO и повышения его эндогенной концентрации.

Блокатор NO-синтаз L-NAME в концентрации 100мкМ приводил к достоверно значимому повышению силы напряжения полоски миокарда правого желудочка до 122,42± 3,1% (n = 7; p < 0,01) относительно контроля. При условии блокирования синтеза NO донор $H_2S$ 200мкМ достоверно понижал силу напряжения миокарда до 31,54± 4,6% (n = 8; p < 0,01), эффект был сопоставим с контрольными значениями (рисунок 6 ).

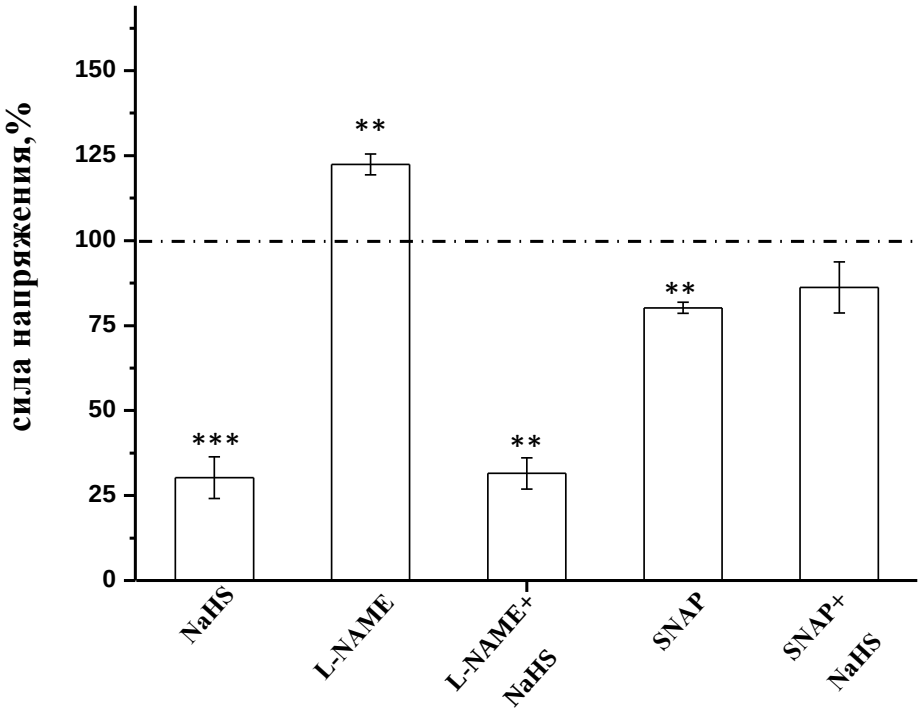


Рисунок 6 - Роль системы оксида азота в эффектах донора сероводорода-гидросульфида натрия.

L-NAME 100мкМ (блокатор NO-синтаз), SNAP 80мкМ (донор NO)

—·—·— - контрольные значения

(*** – p < 0,001; ** – p < 0,01)

Для изучения эффектов NaHS на фоне NO использовали донор SNAP в концентрации 80мкМ. Донор NO достоверно уменьшал силу напряжения

полоски желудочкового миокарда до 80,21± 1,64% (n = 6; p < 0,01) относительно базового уровня. На фоне действия SNAP 80мкМ отрицательный инотропный эффект NaHS проявлялся значительно меньше, чем в контроле, сила напряжения составила 86,56± 7,5% (n = 5; p >0,05) и не отличалась достоверно от базовых значений (рисунок 6).

### 3.4 Обсуждение результатов

Полученные нами данные свидетельствуют, что экзогенный $H_2S$ в зависимости от концентрации может оказывать как положительное (в низких концентрациях), так и отрицательное инотропное действие (в высоких концентрациях). Подобное действие наблюдалось и в гладкомышечных клетках сосудов, где низкие дозы $H_2S$ вызывали вазоконстрикцию, что, по-видимому, опосредуется изменением уровня эндотелиального NO. Так, при смешивании NaHS и NO показано угнетение сосудорасширяющих эффектов последнего *in vitro* и *in vivo* [Ali, 2006]. Угнетение силы напряжения полосок желудочкового миокарда крысы было также показано в исследованиях на миокарде холоднокровных животных [Ситдикова, Хаертдинов, Зефиров, 2011].

Известно, что целый ряд К-токов участвует в реполяризации мембраны кардиомиоцитов в различные фазы ПД [Nerbonne, 2003]. На фоне блокирования К-каналов, при помощи неселективного блокатора ТЭА, эффекты донора $H_2S$ полностью сохранялись. Одним из известных механизмов действия $H_2S$ в гладких мышцах сосудов и кардиомиоцитах крысы является активация К(АТФ)-каналов [Geng et al., 2004]. На фоне блокирования этих каналов отрицательные эффекты донора на сократимость миокарда сохранялись. При этом глибенкламид восстанавливал и даже вызывал увеличение силы напряжения желудочкового миокарда, сниженного предварительной аппликацией NaHS. По-видимому, в контрольных условиях активность К(АТФ)-каналов незначительна, а $H_2S$ вызывает активацию

данного типа каналов, что приводит к гиперполяризации и снижению длительности входящего Са-тока и уменьшению силы сокращения. В этих условиях проявляется ингибирующий эффект глибенкламида, который сопровождается деполяризацией мембраны и усилением сократимости.

В сосудистой ткани теплокровных животных показана взаимосвязь функции $H_2S$ и NO. Так в аорте крысы нитропруссид натрия усиливал сосудорасширяющий эффект $H_2S$ [Hosoki, Matsuki, Kimura, 1997], а $H_2S$ уменьшал расслабляющий эффект NO [Zhao, Wang, 2002] . Полученные нами данные также указывают на взаимодействие двух систем газообразных посредников – $H_2S$ и NO. Так, на фоне предварительной аппликации донора NO - SNAP эффект NaHS был выражен в меньшей степени, чем в контроле. При этом SNAP вызывал снижение силы сокращения, что согласуется с литературными данными [Méry et al., 1996].

Такое взаимодействие может осуществляться как на уровне регуляции активности ферментов, синтезирующих NO и $H_2S$, так и сигнальных путей, запускаемых этими газами. Так, в сосудистой ткани $H_2S$ снижал активность NO-синтазы [Kubo et al., 2007], а донор NO – нитропруссид натрия усиливал экспрессию цистатионин γ-лиазы и цистатионин β-синтазы [Zhao, Wang, 2002].

Исследование взаимодействия двух систем газообразных посредников - $H_2S$ и NO показало, что на фоне предварительной аппликации донора NO-SNAP инотропный эффект NaHS был выражен в меньшей степени, чем в контроле. На фоне же блокирования NO-синтаз при помощи L-NAME отрицательный инотропный эффект NaHS полностью сохранялся. Это может быть связано с участием сигнальных путей, активируемых NO в эффектах $H_2S$.

Кроме того, нельзя исключить возможность химического взаимодействия между NO и $H_2S$ с образованием нитрозотиолов, что будет влиять на концентрацию и эффекты обоих газов [Whiteman et al., 2005].

# ВЫВОДЫ

1) Донор сероводорода NaHS оказывал дозозависимый эффект на сократимость миокарда. Усиливал напряжение при низких концентрациях и угнетал при высоких.
2) К(АТФ)-каналы принимают участие в отрицательном инотропном эффекте донора сероводорода.
3) Отрицательный инотропный эффект NaHS не менялся в условиях блокирования синтеза оксида азота (L-NAME). Уменьшался на фоне аппликации оксида азота (SNAP), что, видимо, связано с участием одних и тех же сигнальных путей и мишеней для обоих газотрансмиттеров.

# СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ


1. **Абрамов, А.А.** Изучение кардиотропных эффектов сероводорода ($H_2S$) при перфузии изолированного сердца крысы [Текст] / А.А. Абрамов, Д.В. Абрамочкин, В.С. Кузьмин, А.А. Абрамов, Д.В. Абрамочкин, В.С. Кузьмин // Bioscience Blog.-2010.
2. **Герасимова, Е.В.** Сероводород как эндогенный модулятор освобождения медиатора в нервно-мышечном синапсе лягушки [Текст] / Е.В. Герасимова, Г.Ф. Ситдикова, А.Л. Зефиров // Нейрохимия.- 2008, Т.- 25.- № 1.- С. 138-145.
3. **Розенштраух, Л.В.** Эффективность и безопасность нибентана при медикаментозной кардиоверсии у больных с персистирующей формой фибрилляции и трепетания предсердий: роль ограничения доз препарата и применения магния сульфата [Текст] / Л.В. Розенштраух // Кардиология.- 2007.- Т. 47.- № 3.- С. 48-55.
4. **Ситдикова, Г.Ф.** Газообразные посредники в нервной системе [Текст] / Г.Ф. Ситдикова, А.Л. Зефиров // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.– Т. 97.- №7.– 2006.– С. 872-882.
5. **Ситдикова, Г.Ф.** Роль циклических нуклеотидов в эффектах сероводорода на освобождение медиатора в нервно-мышечном синапсе лягушки [Текст] / Г.Ф. Ситдикова, Е.В. Герасимова, Н.Н. Хаертдинов, А.Л. Зефиров // Нейрохимия.- 2009.- Т. 26.- № 4.- С. 1-7.
6. **Ситдикова, Г.Ф.** Сероводород: от канализаций Парижа к сигнальной молекуле [Текст] / Г.Ф. Ситдикова, А.Л.Зефиров // Природа.- 2010.- № 9.- С. 29-37.
7. **Ситдикова, Г.Ф.** Влияние сероводорода на процессы экзо- и эндоцитоза синаптических везикул в двигательном нервном окончании лягушки [Текст] / Г.Ф. Ситдикова, А.В. Яковлев, Ю.Г. Одношивкина, А.Л. Зефиров // Нейрохимия.- 2011.- Т. 28.- № 4.- С. 1–7.

8. **Ситдикова, Г.Ф.** [Текст] /Ситдикова Г.Ф., Хаертдинов Н.Н., Зефиров А.Л.// Бюлл. Эксп. Биол. Мед. -2011. Т. 151. № 2. С.124-8.
9. **Ярилин, А.А.** Апоптоз: природа феномена и его роль в норме и при патологии [Текст] / Ярилин А.А., Мороз Б.Б., редактор // Актуальные проблемы патофизиологии. М.: Медицина; 2001. С. 13-56.
10. **Abe, K.** The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator [Text] / K. Abe, H. Kimura // J. Neurosci.-1996.-V.- 16.- P.1066–1071.
11. **Abel, T.** Genetic demonstration of a role for PKA in the late phase of LTP and in hippocampus-based long-term memory [Text] / Abel T., Nguyen P.V., Barad M. et al. // Cell. 1997. Vol. 88. P. 615–626.
12. **Abi-Gerges, N.** Sequential changes in autonomic regulation of cardiac myocytes after in vivo endotoxin injection in rat [Text] / N. Abi-Gerges, B. Tavernier, A. Mebazaa, V. Faivre, X. Paqueron, D. Payen, R. Fischmeister, P.-F. Méry// American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.-1999.-V. 160.-P.1196–1204.
13. **Aggarwal, B.B.** Signal transducer and activator of transcription-3, inflammation, and cancer: How intimate is the relationship? [Text] / Aggarwal B.B., Kunnumakkara A.B., Harikumar K.B. ,Gupta S.R. , Tharakan S.T. , et al. //Ann. NY Acad. Sci. - 2009. 1171:59–76.
14. **Aguilar-Bryan, L.** Towards understanding the assembly and structure of $K_{ATP}$ channels [Text] / L. Aguilar-Bryan, J.P. Clement, G. González, K. Kunjilwar, A. Babenko, J. Bryan // Physiol Rev.- 1998.- V. 78.- P. 227–245.
15. **Ali, M.Y.** Regulation of vascular nitric oxide in vitro and in vivo; a new role for endogenous hydrogen sulphide? [Text] / Ali M.Y., Ping C.Y. , Mok Y.Y.P. , Ling L. , Whiteman M. , et al. //Br. J. Pharmacol. - 2006. 149:625–34.

16. **Ashley, C.C.** $Ca^{2+}$ and activationmechanisms in skeletal muscle [Text] / C.C. Ashley, I.P. Mulligan, T.J. Lea // Q Rev Biophys.- 1991.-V. 24.-P. 1–73.

17. **Babenko, A.P.** A view of sur / KIR6.X, KATP channels [Text] / A.P. Babenko, L. Aguilar-Bryan, J. Bryan // Annu Rev Physiol.- 1998.- V. 60.- P. 667-687.

18. **Balligand, J. L.** eNOS activation by physical forces: from short-term regulation of contraction to chronic remodeling of cardiovascular tissues [Text] / J. L. Balligand, O. Feron, C. Dessy // Physiol. Rev.- 2009.-V. 89.-№. 2.-P. 481-534.

19. **Bassani, J.W.M.** Ca release is regulated by trigger Ca and SR Ca content in cardiac myocytes [Text] / J.W.M. Bassani, W. Yuan, D.M. Bers, S.R. Fractional // Am. J. Physiol.- 1995.- V. 268.- P. 1313-1319.

20. **Bannenberg, G.L**. Therapeutic applications of the gaseous mediators carbon monoxide and hydrogen sulfide [Text] / Bannenberg G.L., Vieira H.L. 2009. //Expert Opin. Ther. Pat. 19:663–82.

21. **Bers, D.M.** Cardiac excitation–contraction coupling [Text] / D.M. Bers // Nature.- Calcium and Cardiac Rhythms Physiological and Pathophysiologica.- 2002.- V. 415.- P.198-205.

22. **Bers, D.M.** Digitalis and Na/Ca exchange: old dog learns new mitochondrial tricks [Text] / D.M. Bers // Journal of molecular and cellular cardiology.- 2010.- P. 49.- I. 5.- P. 713-714.

23. **Benavides, G.A.** Hydrogen sulfide mediates the vasoactivity of garlic [Text] / Benavides G.A., Squadrito G.L., Mills R.W., Patel H.D. , Isbell T. S. , et al.// - 2007. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 104:17977–82.

24. **Bhatia, M.** Role of hydrogen sulfide in acute pancreatitis and associated lung injury [Text] / Bhatia M., Wong F.L., Fu D., Lau H.Y., Moochhala S.M., Moore P.K. //FASEB J. - 2005. 19:623–25.

25. **Bian, J.S.** Role of hydrogen sulfide in the cardioprotection caused by ischemic preconditioning in the rat heart and cardiac myocytes [Text] / Bian J.S., Yong Q.C., Pan T.T., Feng Z.N., Ali M.Y., Zhou S. & Moore P.K.// J Pharmacol Exp Ther, - 2006. 316, 670–678.
26. **Bokoch, M.P.** Ligand-specific regulation of the extracellular surface of a G-protein-coupled receptor [Text] / M.P. Bokoch, Y. Zou, S.G. Rasmussen, C.W. Liu, R. Nygaard, D.M. Rosenbaum, J.J. Fung, H.J. Choi, F.S. Thian, T.S. Kobilka, J.D. Puglisi, W.I. Weis, L. Pardo, R.S. Prosser, L. Mueller, B.K. Kobilka // Nature.- 2010.- V. 463.- P. 108-112.
27. **Brandes, R.** Intracellular $Ca^{2+}$ increases the mitochondrial NADH concentration during elevated work in intact cardiac muscle [Text] / R. Brandes, D.M. Bers // Circ. Res.- 1997.- V. 80.-P. 82-87.
28. **Brittsan, R.** Hydrogen sulfide increases calcium-activated potassium (BK) channel activity of rat pituitary tumor cells [Text] / G.F. Sitdikova, T.M. Weiger, A. Hermann // Pflugers Arch.- 2010.- V. 459.- I. 3.- P. 389-397.
29. **Bucci, M.** Hydrogen sulphide is involved in testosterone vascular effect [Text] / Bucci M., Mirone V., Di Lorenzo A. et al. // Eur. Urol. - 2009. Vol. 56. P. 378–383.
30. **Budde, M.W**. Hydrogen sulfide increases hypoxia-inducible factor-1 activity independently of von Hippel–Lindau tumor suppressor-1 in C. elegans [Text] / Budde M.W., Roth M.B. // Mol. Biol. Cell, - 2010. 21:212–17.
31. **Calvert, J.W.**Hydrogen sulfide mediates cardioprotection through Nrf2 signalingм [Text] / Calvert J.W., Jha S., Gundewar S., Elrod J.W., Ramachandran A., et al. //Circ. Res. - 2009. 105:365–74.
32. **Cai, W.J.** The novel proangiogenic effect of hydrogen sulfide is dependent on Akt phosphorylation [Text] / Cai W.J., Wang M.J., Moore P.K., Jin H.M., Yao T., Zhu Y.C.// Cardiovasc. Res. - 2007. 76:29–34.

33. **Cai, W.J.** Hydrogen sulfide induces human colon cancer cell proliferation: role of Akt, ERK and p21[Text] / Cai W.J., Wang M.J., Ju L.H., Wang C., Zhu Y.C. // Cell Biol. Int. -2010. 34(6):565–72.

34. **Cannell, M.B.** The control of calcium release in heart muscle [Text] / M.B. Cannell, H. Cheng, W.J. Lederer // Science.- 1995.- V. 268.- P. 1045-1049.

35. **Chang, L.** Hydrogen sulfide inhibits myocardial injury induced by homocysteine in rats [Text] / Chang L., Geng B., Yu F., Zhao J., Jiang H., et al. // Amino Acids, -2008. 34:573–85.

36. **Cherezov, V.** High-resolution crystal structure of an engineered human beta2-adrenergic G protein-coupled receptor [Text] / V. Cherezov, D.M. Rosenbaum, M.A. Hanson, S.G. Rasmussen, F.S. Thian, T.S. Kobilka, H.J. Choi, P. Kuhn, W.I. Weis, B.K. Kobilka, R.C. Stevens // Science.- 2007.- V. 318.- P. 1253-1254.

1. **Chen, X.** Rab27b localizes to ZG membrane and regulates acinar secretion [Text] / X. Chen, C. Li, T. Izumi, S.A. Ernst, P.C. Andrews, J.A. Williams // Biochem. Biophys. Res. Commun.- 2004.- V. 323.- P. 1156-1161.

37. **Cheng, Y.**Hydrogen sulfide-induced relaxation of resistance mesenteric artery beds of rats [Text] / Cheng Y., Ndisang J.F., Tang G., Cao K., Wang R. //-2004. Am. J.

38. **Chunyu, Z.** The regulatory effect of hydrogen sulfide on hypoxic pulmonary hypertension in rats [Text] / Chunyu Z., Du J., Dingfang B., Hui Y., Xiuying T., Tang C. // Biochem. Biophys. Res. Commun. - 2003. 302:810–16.

39. **Coetzee, W.A.** Molecular diversity of $K^+$ channels [Text] / W.A. Coetzee, Y. Amarillo, J. Chiu// Ann N Y Acad Sci.- 1999.- V. 868.- P. 233–285.

40. **Cole, W.C.** ATP-regulated K+ channels protect the myocardium against ischemia/reperfusion damage [Text] / W.C. Cole, C.D. McPherson, D. Sontag.// Circ Res. - 1991.- V. 69.- №3.- P. 571-581.

41. **Cooper, C.E.** The inhibition of mitochondrial cytochrome oxidase by the gases carbon monoxide, nitric oxide, hydrogen cyanide and hydrogen sulfide: chemical mechanism and physiological significance [Text] / Cooper C.E., Brown G.C.// J. Bioenerg. Biomembr. -2008. 40:533–39.
42. **Coronado, R.** Structure and function of ryanodine receptors [Text] / R. Coronado, J. Morrissette, M. Sukhareva, D.M. Vaughan // Am. J. Physiol.- 1994.- V. 266.- P. 1485–1504.
43. **Damy, T.** Increased neuronal nitric oxide synthasederived NO production in the failing human heart [Text] / T. Damy, P. Ratajczak, A.M. Shah, E. Camors, I. Marty, G. Hasenfuss // Lancet.- 2004.- V. 363.- P.- 1365-1367.
44. **Dawe, G.S.** Hydrogen sulphide in the hypothalamus causes an ATP sensitive K + channel-dependent decrease in blood pressure in freelymoving rats [Text] / Dawe G.S., Han S.P., Bian J.S., Moore P.K.// - 2008. Neuroscience 152:169–77.
45. **Dhaese, I**. Mechanisms of action of hydrogen sulfide in relaxation of mouse distal colonic smooth muscle [Text] / Dhaese I., Van Colen I., Lefebvre R.A.// -2010. Eur. J. Pharmacol. 628:179–86.
46. **Dhalla, N.S.** Status of myocardial antioxidants in ischemia-reperfusion injury [Text] / Dhalla N.S., Elmoselhi A. B., Hata T., and Makino N.// Cardiovascular Research, - 2000. vol. 47, no. 3, pp. 446–456.
47. **Di-Pilato, L.M.** FRETting mice shed light on cardiac adrenergic signaling [Text] / L.M. DiPilato, J. Zhang // Circ. Res.- 2006.- V. 99.- №10.- P. 1021-1023.
48. **Distrutti, E.** Evidence that hydrogen sulfide exerts antinociceptive effects in the gastrointestinal tract by activating KATP channels [Text] / Distrutti E., Sediari L., Mencarelli A., Renga B., Orlandi S., et al.// -2006. J. Pharmacol. Exp. Ther. 316:325–35.
49. **Dombkowski, R.A.** Hydrogen sulfide as an endogenous regulator of vascular smooth muscle tone in trout [Text] / Dombkowski R.A., Russell

M.J., Olson K.R. // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2004. Vol. 286. P. R678–R685.

50. **Dombkowski, R.A.,** Vertebrate phylogeny of hydrogen sulfide vasoactivity [Text] / Dombkowski R.A., Russell M.J., Schulman A.A. et al. // Am. J. Physiol. Regul. Integ.r Comp. Physiol. - 2005. Vol. 288. P. R243–R252.
51. **Du, J.** The possible role of hydrogen sulfide as a smooth muscle cell proliferation inhibitor in rat cultured cells [Text] / Du J., Hui Y., Cheung Y., Bin G., Jiang H., et al.//- 2004. Heart Vessels 19:75–80.
52. **Egger, M.** Paradoxical block of the $Na^{+}$-$Ca^{2+}$ exchanger by extracellular protons in guinea-pig ventricular myocytes [Text] / M. Egger, E. Niggli // J. Physiol.- 2000.- V. 523.- P. 353-366.
53. **Elsey, D.J.** Regulation of cardiovascular cell function by hydrogen sulfide (H2S) [Text] / Elsey D.J., Fowkes R.C., Baxter G.F.//Cell Biochem. Funct. - 2010. 28:95–106.
54. **Elrod, J.W.** Hydrogen sulfide attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by preservation of mitochondrial function [Text] / Elrod J.W., Calvert J.W., Morrison J., Doeller J.E., Kraus D.W., et al. //Proc. Natl. Acad. Sci. - 2007. USA 104:15560–65.
55. **d'Emmanuele di Villa Bianca, R.** Hydrogen sulfide as a mediator of human corpus cavernosum smooth-muscle relaxation [Text] / d'Emmanuele di Villa Bianca R., Sorrentino R., Maffia P., Mirone V., Imbimbo C., et al. // -2009. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 106:4513–18.
56. **Feron, O.** Muscarinic cholinergic signaling in cardiac myocytes: dynamic targeting of M2AchR to sarcolemmal caveolae and eNOS activation [Text] / O. Feron, X. Han, R.A. Kelly // Life Sciences.- 1999.- V. 64.- P. 471—477.
57. **Figueroa, X.F.** NO production and eNOS phosphorylation induced by epinephrine through the activation of beta-adrenoceptors [Text] / X.F. Figueroa, I. Poblete, R. Fernández, C. Pedemonte, V. Cortés, J.P. Huidobro-

Toro // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.- 2009.- V. 297.- №1.- P. 134–143.

58. **Fiorucci, S.** The third gas: H2S regulates perfusion pressure in both the isolated and perfused normal rat liver and in cirrhosis [Text] / Fiorucci S., Antonelli E., Mencarelli A., Orlandi S., Renga B., et al.// Hepatology -2005. 42:539–48.
59. **Fiorucci, S.** Inhibition of hydrogen sulfide generation contributes to gastric injury caused by anti-inflammatory nonsteroidal drugs [Text] / Fiorucci S., Antonelli E., Distrutti E., Rizzo G., Mencarelli A., et al.// Gastroenterology -2005. 129:1210–24.
60. **Fiorucci, S.** The emerging roles of hydrogen sulfide in the gastrointestinal tract and liver [Text] / Fiorucci S., Distrutti E., Cirino G., Wallace J.L. // Gastroenterology. -2006. Vol. 131. P. 259–271.
61. **Fiorucci, S.** Enhanced activity of a hydrogen sulphide–releasing derivative of mesalamine (ATB-429) in a mouse model of colitis [Text] / Fiorucci S., Orlandi S., Mencarelli A., Caliendo G., Santagada V., et al. // Br. J. Pharmacol.- 2007. 150:996–1002.
62. **Fischmeister, R.** The mechanism of action of norepinephrine and acetylcholine on the heart: role of protein phosphorylation [Text] / R. Fischmeister, H.C. Hartzel. // In Neurobiology of Acetylcholine.- 1987.
63. **Fozzard, H.A.** Excitation-contraction coupling in the heart [Text] / H.A. Fozzard // Adv Exp Med Biol.- 1991.- V. 308.- P. 135–142.
64. **Franzini-Armstrong C.** Ryanodine receptors of striated muscles: a complex channel capable of multiple interactions [Text] / C. Franzini-Armstrong, F. Protasi // Physiol. Rev.- 1997.- V. 3.- P. 699–729.
65. **Fulton, D.** Venema Src kinase activates endothelial nitric-oxide synthase by phosphorylating Tyr-83 [Text] / D. Fulton, J.E. Church, L. Ruan, C. Li, S.G. Sood, B.E. Kemp, I.G. Jennings, R.C. // J. Biol. Chem.- 2005.- V. 280.- № 43.- P. 35943–35952.

66. **Fujioka, Y.** Stoichiometry of Na+-Ca2+ exchange in inside-out patches excised from guinea-pig ventricular myocytes [Text] / Y. Fujioka, M. Komeda, S. Matsuoka // J. Physiol.- 2000.- V. 523.- P. 339-351.

67. **Furne, J.** Oxidation of hydrogen sulfide and methanethiol to thiosulfate by rat tissues: a specialized function of the colonic mucosa [Text] /Furne J., Springfield J., Koenig T., DeMaster E., and Levitt M. D.// Biochemical Pharmacology -2001., vol. 62, no. 2, pp. 255– 259.

68. **Furne, J.** Whole tissue hydrogen sulfide concentrations are orders of magnitude lower than presently accepted values [Text] / Furne J., Saeed A., Levitt M.D. // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.-2008. 295:R1479–85.

69. **Gadalla, M.M**. Hydrogen sulfide as a gasotransmitter [Text] / Gadalla M.M., Snyder S.H.// J. Neurochem. -2010. 113(1):14–26.

70. **Geng, B**. H2S generated by heart in rat and its effects on cardiac function [Text] / Geng B., Yang J., Qi Y., Zhao J., Pang Y., et al.// Biochem. Biophys. Res. Commun. -2004. 313:362–68.

71. **Glass, D.C.** A review of the health effects of hydrogen sulphide exposure [Text] / Glass D.C. // Ann. Occup. Hyg. -1990. 34:323–27.

72. **Gobbi, G.** Hydrogen sulfide impairs keratinocyte cell growth and adhesion inhibiting mitogen-activated protein kinase signaling [Text] / Gobbi G., Ricci F., Malinverno C., Carubbi C., Pambianco M., et al.// Lab. Investig. -2009. 89:994–1006.

2. **Grover, G.J.** ATP-Sensitive potassium channels: a review of their cardioprotective pharmacology [Text] / G.J. Grover, K.D. Garlid // J Mol Cell Cardiol.- 2000.- V. 32.- 677– 695.

73. **Guzman, M.A**. Cystathionine β-synthase is essential for female reproductive function [Text] / Guzman M.A., Navarro M.A., Carnicer R. et al. // Human Molecular Genetics.- 2006. Vol. 15. P. 3168–3176.

74. **Hall, R.A.** The beta2-adrenergic receptor interacts with the $Na^+/H^+$-exchanger regulatory factor to control $Na^+/H^+$ exchange [Text] / R.A. Hall, R.T. Premont, C.W. Chow, J.T. Blitzer, J.A. Pitcher, A. Claing, R.H. Stoffel, L.S. Barak, S. Shenolikar, E.J. Weinman, S. Grinstein, R.J. Lefkowitz // Nature.- 1998.- V. 392.- №6676.- P. 626-630.

75. **Haase, H.** Ahnak, a new player in beta-adrenergic regulation of the cardiac L-type $Ca^{2+}$ channel [Text] / H. Haase // Cardiovasc. Res.- 2007.- V. 73.- №1.- P. 19-25

76. **Hall, C.N.** What is the real physiological NO concentration in vivo? [Text] / Hall C.N., Garthwaite J.// Nitric Oxide - 2009. 21:92–103.

77. **Han, X.** Characteristics of nitric oxide -mediated cholinergic modulation of calcium current in rabbit sino-atrial node [Text] / X. Han, L. Kobzik, D. Severson, Y. Shimoni // J. Phusiology 1998.- V. 509.- № 3.- P. 741-754.

78. **Hartzell, H.C.** [Text] / H.C. Hartzell, D. Budnitz // Biophys. J.- 1991.- V. 59.- P. 551.

79. **Hosoki, R.** The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide [Text] / Hosoki R., Matsuki N., Kimura H. // Biochem. Biophys. Res. Commun. -1997. 237:527–31.

80. **Hu, L.F.** Hydrogen sulfide attenuates lipopolysaccharide-induced inflammation by inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase inmicroglia [Text] / Hu L.F., Wong P.T., Moore P.K., Bian J.S.// J. Neurochem.-2007. 100:1121–28.

81. **Hughes, M.N.** Making and working with hydrogen sulfide: The chemistry and generation of hydrogen sulfide in vitro and its measurement in vivo: a review [Text] / Hughes M.N., Centelles M.N., Moore K.P.// Free Radic. Biol. Med. -2009. 47:1346–53.

82. **Ishigami, M.** A source of hydrogen sulfide and a mechanism of its release in the brain [Text] / Ishigami M., Hiraki K., Umemura K., Ogasawara Y., Ishii K, Kimura H. // Antioxid. Redox Signal.-2009. 11:205–14.

83. **Webb, G.** Direct stimulation of KATP channels by exogenous and endogenous hydrogen sulfide in vascular smooth muscle cells [Text] **/** Webb, G , Jang G., Wu L., Liang W., Wang R. // Mol. Pharmacol. -2005. № 68. P. 1757—1764.

84. **Jeong, S.O**. Hydrogen sulfide potentiates interleukin- 1β-induced nitric oxide production via enhancement of extracellular signal-regulated kinase activation in rat vascular smooth muscle cells [Text] / Jeong S.O., Pae H.O., Oh G.S., Jeong G.S., Lee B.S., et al.// Biochem. Biophys. Res. Commun. -2006. 345:938–44.

85. **Jeney, V.** Suppression of hemin-mediated oxidation of low-density lipoprotein and subsequent endothelial reactions by hydrogen sulfide (H2S) [Text] / Jeney V., Komrodi E., Nagy E., Zarjou A., Vercellotti G.M., et al. // Free Radic. Biol. Med. -2009. 46:616–23.

86. **Jiang, B.** Molecular mechanism for H2S-induced activation of KATP channels [Text] / Jiang B., Tang G., Cao K., Wu L., Wang R.// Antioxid. Redox Signal. -2010. 12:1167–78.

87. **Jiang, H.L.** Changes of the new gaseous transmitter H2S in patients with coronary heart disease [Text] / Jiang H.L., Wu H.C., Li Z.-L, Geng B. and Tang C.-S. // Academic Journal of the First Medical College of PLA. - 2005. vol. 25, no. 8, pp. 951–954,.

88. **Ji, Y.** Regulated antisense RNA eliminates alpha-toxin virulence in Staphylococcus aureus infection [Text] / Y. Ji, A. Marra, M. Rosenberg, G. Woodnutt // J Bacteriol.- 1999.-V. 181.-P. 6585–6590.

89. **Ji, Y.** Exogenous hydrogen sulfide postconditioning protects isolated rat hearts against ischemia-reperfusion injury [Text] / Ji Y, Pang QF, Xu G, Wang L, Wang JK, Zeng YM. // Eur J Pharmacol.- 2008.- V. 587.- №1-3.- P. 1-7.

90. **Jin, H.F.** Hypotensive effects of hydrogen sulfide via attenuating vascular inflammation in spontaneously hypertensive rats [Text] / Jin H.F., Sun Y.,

Liang J.M., Tang C.S., Du J.B.// Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi, -2008. 36:541–45 (In Chinese).

91. **Jha, S.** Hydrogen sulfide attenuates hepatic ischemia-reperfusion injury: role of antioxidant and antiapoptotic signaling [Text] / Jha S., Calvert J.W., Duranski M.R., Ramachandran A., Lefer D.J.// Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. -2008. 295:H801–6.
92. **Johansen, D.** Exogenous hydrogen sulfide (H2S) protects against regional myocardial ischemia-reperfusion injury—evidence for a role ofKATP channels. Basic Res [Text] / Johansen D., Ytrehus K., Baxter G.F.// Cardiol. -2006101:53–60.
93. **Jozwiak, K.** Comparative molecular field analysis of fenoterol derivatives: A platform towards highly selective and effective beta(2)-adrenergic receptor agonists [Text] / K. Jozwiak, A.Y. Woo, M.J. Tanga, L. Toll, L. Jimenez, J.A. Kozocas, A. Plazinska, R.P. Xiao, I.W. Wainer // Bioorg. Med. Chem.-2010.- V. 18.- №2.- P. 728-736.
94. **Kamp, T.** Regulation of Cardiac L-Type Calcium Channels by Protein Kinase A and Protein Kinase C [Text] / T. Kamp, J. Hell // Circ. Res .-2000.- V. 87.- P. 1095-1102.
95. **Kapoor, A**. Hydrogen sulfide, neurogenic inflammation, and cardioprotection: a tale of rotten eggs and vanilloid receptors [Text] / Kapoor A., Thiemermann C.// Crit. Care Med.-2010. 38:728–30.
96. **Kimura, H**. Hydrogen sulfide: its production, release and functions [Text]/ Kimura H. // Amino Acids. - 2010. In press, doi:10.1007/s00726-010-0510-x.
97. **Kimura, H.** Hydrogen sulfide: from brain to gut [Text]/ Kimura H. //Antioxidants and Redox Signaling, vol. 12, no. 9, pp. 1111–1123, 2010.
98. **Kimura, Y.** Hydrogen sulfide protects neurons from oxidative stress [Text]/ Kimura Y., Kimura H. // FASEB J. -2004. 18:1165– 67.

99. **Kimura, Y.** Hydrogen sulfide protects HT22 neuronal cells from oxidative stress [Text]/ Kimura Y., Dargusch R., Schubert D., Kimura H. // Antioxid. Redox Signal.-2006. 8:661–70.

100. **Kimura, Y.** Hydrogen sulfide increases glutathione production and suppresses oxidative stress in mitochondria [Text]/ Kimura Y., Goto Y., Kimura H. // Antioxid. Redox Signal. -2010. 12:1–13.

101. **Kiss, L.** Hydrogen sulfide decreases adenosine triphosphate levels in aortic rings and leads to vasorelaxation via metabolic inhibition [Text]/ Kiss L., Deitch E.A., Szabo C. // Life Sci. -2008. 24:589–94.

102. **Kirstein, M.** Nitric oxide regulates the calcium current in isolated human atrial myocytes [Text]/ M. Kirstein, M. Rivet-Bastide, Hatem, A. Bernardeal, J.J. Mercadier, R. Fichmeister // J. Clin. Invest.- 1995 -V. 95.- P. 794-802.

103. **Kubo, S.** Dual modulation of the tension of isolated gastric artery and gastric mucosal circulation by hydrogen sulfide in rats [Text]/ Kubo S., Kajiwara M., Kawabata A. // Inflammopharmacology. -2008. 15:288–92.

104. **Kubo, S.** Direct inhibition of en-dothelial nitric oxide synthase by hydrogen sulfide: contribu-tion to dual modulation of vascular tension [Text] / Kubo S., Doc I., Kurokawa Y. et al. // Toxicology. - 2007. № 232. P. 132—146.

105. **Lavu, M.** Hydrogen sulfidemediated cardioprotection: mechanisms and therapeutic potential [Text]/ Lavu M., Bhushan S., and Lefer D. J. // Clinical Science, - 2011. vol. 120, no. 6, pp. 219–229.

106. **Lee, M.** Astrocytes produce the antiinflammatory and neuroprotective agent hydrogen sulfide [Text]/ Lee M., Schwab C., Yu S., McGeer E., McGeer P.L. // Neurobiol. Aging - 2009. 30:1523–34.

107. **Leffler, C.W.** Carbon monoxide and hydrogen sulfide: gaseous messengers in cerebrovascular circulation [Text]/ Leffler C.W., Parfenova H., Jaggar J.H., Wang R. // J. Appl. Physiol.-2006. 100:1065–76.

108. **Levi, A.Y.** Towards efficient information gathering agents [Text]/ A.Y. Levy, Y. Sagiv, D. Srivastava // In Etzioni, O., editor, Software Agents - Papers from the.- 1994.- Spring Symposium.- P. 64-70.

109. **Liang, R.** Localization of cystathionine beta synthase in mice ovaries and its expression profile during follicular development [Text]/ Liang R., Yu W.D., Du J.B. et al. // Chin. Med. J. - 2006. Vol. 119. P. 1877–1883.

110. **Liang, R.** Cystathionine beta synthase participates in murine oocyte maturatione mediated by homocysteine [Text]/ Liang R., Yu W.D., Du J.B. et al. // Reprod. Toxicol. - 2007. Vol. 24. P. 89–96.

111. **Li, L.** Hydrogen sulfide is a novel mediator of lipopolysaccharide-induced inflammation in the mouse [Text]/ Li L., Bhatia M., Zhu Y.Z., Zhu Y.C., Ramnath R.D., et al.// FASEB J. -2005. 19:1196–98.

112. **Li, L**. Anti-inflammatory and gastrointestinal effects of a novel diclofenac derivative [Text]/ Li L., Rossoni G., Sparatore A., Lee L.C., Del Soldato P., Moore P.K. // Free Radic. Biol. Med. -2007. 42:706–19.

113. **Li, L**. An overview of the biological significance of endogenous gases: new roles for old molecules [Text]/ Li L., Moore P.K. // Biochem. Soc. Trans. -2007. 35:1138–41.

114. **Li, L.** Putative biological roles of hydrogen sulfide in health and disease: a breath of not so fresh air? [Text]/ Li L., Moore P.K. // Trends Pharmacol. Sci, -2008. . 29:84–90.

115. **Li, L.** Characterization of a novel, water-soluble hydrogen sulfide–releasing molecule (GYY4137): new insights into the biology of hydrogen sulfide [Text]/ Li L., Whiteman M., Guan Y.Y., Neo K.L., Cheng Y., et al.//Circulation -2008. 117:2351–6.

116. **Li, L.** Actions and interactions of nitric oxide, carbon monoxide and hydrogen sulphide in the cardiovascular system and in inflammation—a tale of three gases [Text]/ Li L., Hsu A., Moore P.K.// Pharmacol. Ther. -2009. 123:386–400.

117. **Li, L.** GYY4137, a novel hydrogen sulfide–releasing molecule, protects against endotoxic shock in the rat [Text] / Li L., Salto-Tellez M., Tan C-H., Whiteman M., Moore P.K.// Free Radic. Biol. Med. -2009. 47:103–13.

118. **Lim, J.J.** Vasoconstric-tive effect of hydrogen sulfide involves downregulation of cAMP in vascular smooth muscle cells [Text] / Lim J.J., Liu Y.-H., Win Khin E.S., Bian J.-S. // Am. J. Physiol. Cell. Physiol. - 2008. № 295. P. 1261—1270.

119. **Linden, D.R.** Endogenous production of H2S in the gastrointestinal tract: still in search of a physiologic function [Text] / Linden D.R., Levitt M.D., Farrugia G., Szurszewski J.H. 2010. // Antioxid. Redox Signal. -2010. 12(9):1135–46.

120. **Ling, Li.** Hydrogen Sulfide and Cell Signaling [Text] / Ling Li., Peter R. and Philip K. M.// Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. - 2011. P. 169-187).

121. **Liu, H.** Hydrogen sulfide protects from intestinal ischaemia-reperfusion injury in rats [Text] / Liu H., Bai X.B., Shi S., Cao Y.X. // J. Pharm. Pharmacol. -2009. 61:207–12.

122. **Liu, Y. H.** Hydrogen sulfide in the mammalian cardiovascular system [Text] / Liu Y. H., Lu M., Hu L. F.,. Wong P. T. H, Webb G. D., and Bian J. S. // Antioxidants & Redox Signaling, -2012. vol. 17, no. 1, pp. 141–185.

123. **Lowicka E.**Hydrogen sulfide — the third gas of interest for pharmacologists [Text] / Lowicka E., Beltowski J // Pharmacol. Reports. - 2007. № 59. P. 4—24.

124. **Luan, H.-F.** Hydrogen sulfide postconditioning protects isolated rat hearts against ischemia and reperfusion injury mediated by the JAK2/STAT3 survival pathway [Text] / Luan H.-F., Zhao Z.-B., Zhao Q.-H., Zhu P., Xiu

M.-Y., and Ji Y., // Brazilian Journal ofMedical and Biological Research,-2012. vol. 45, no. 10, pp. 898–905.

125. **Luberda, Z.** The role of glutathione in mammalian gametes [Text] / Luberda Z. // Reprod. Biol. 2005. Vol. 5. P. 5–17.

126. **Lukyanenko, V.** Regulation of calcium release by calcium inside the sarcoplasmic reticulum in ventricular myocytes [Text] / V. Lukyanenko, I. Györke, S. Györke // Pflügers Arch.- 1996.- V. 432.- P. 1047-1054.

127. **Matsunami, M.** Luminal hydrogen sulfide plays a pronociceptive role in mouse colon [Text] / Matsunami M., Tarui T., Mitani K., Nagasawa K., Fukushima O., et al. // Gut, -2009. 58:751–61.

128. **Malekova, L.** H2S and HS− donor NaHS inhibits intracellular chloride channels [Text] / Malekova L., Krizanova O., Ondrias K. // Gen. Physiol. Biophys. -2009.28:190–94.

129. **Martin, G. R.** Hydrogen sulphide synthesis in the rat and mouse gastrointestinal tract [Text] / Martin G. R., McKnight G. W., Dicay M. S., Coffin C. S., Ferraz J. G. P., and Wallace J. L.// Digestive and Liver Disease, -2010. vol. 42, no. 2, pp. 103–109.

130. **Meissner, G.** Adenine nucleotide stimulation of $Ca^{2+}$-induced $Ca^{2+}$ release in sarcoplasmic reticulum [Text] / G. Meissner // J. Biol. Chem. 1994.- V. 259.- P. 2365–2374.

131. **Méry, P.-F**. Comparative analysis of the time course of cardiac $Ca^{2+}$ current response to rapid applications of β-adrenergic and dihydropyridine agonists [Text] / P.-F. Méry, A.M. Frace, H.C. Hartzell, R.A. Fischmeister // Nauyn-Schmeideberg's Archives of Pharmacology.- 1993.- V. 348.- P. 197-206.

132. **Méry, P-F.** Nitric oxide synthase does not participate in the negative inotropic effect of acetylcholine in the frog heart [Text] / P-F. Méry, L. Hove-Madsen, J.-M. Chesnais, H.C. Hartzell, R. Fischmeister // Am. J. Physiol.- 1996.- V. 270.- P. 1178-1188.

133. **Monjok, E.M.** Inhibitory action of hydrogen sulfide on muscarinic receptor-induced contraction of isolated porcine irides [Text] / Monjok E.M., Kulkarni K.H., Kouamou G., McKoy M., Opere C.A., et al. // Exp. Eye Res. -2008. 87:612–16.

134. **Moore, P.K.** Hydrogen sulfide: from the smell of the past to the mediator of the future? [Text] / Moore P.K., Bhatia M., Moochhala S. // Trends Pharmacol. Sci. - 2003. Vol. 24. P. 609–611.

135. **Mok, Y.Y.P.** Role of hydrogen sulphide in haemorrhagic shock in the rat: protective effect of inhibitors of hydrogen sulphide biosynthesis [Text] / Mok Y.Y.P., Atan M.S , Ping C.Y , Jing W.Z., Bhatia M , et al.. // Br. J. Pharmacol. -2004. 143:881–89.

136. **Murata, M.** Mitochondrial ATP-sensitive potassium channels attenuate matrix Ca2+ overload during simulated ischemia and reperfusion: possible mechanism of cardioprotection [Text] / Murata M., Akao M., O'Rourke B. & Marban E. // Circ Res - 2001. 89, 891–898.

137. **Nerbonne, J.M.** Physiology and molecular biology of ion channels contributing to ventricular repolarization [Text] / J.M. Nerbonne, R.S. Kass // Humana.- 2003.- V. 3.- P. 25–62.

138. **Niedergerke, R.** Two physiological agents that appear to facilitate calcium discharge from the sarcoplasmic reticulum in frog heart cells: adrenaline and ATP [Text] / R. Niedergerke, S. Page // Proc. R. Soc. Lond.- 1981b.- V. 213.- P. 325–344.

139. **Mackenzie, A.** Rapid secretion of interleukin-1beta by microvesicle shedding [Text] / A. MacKenzie, H.L. Wilson, E. Kiss-Toth, S.K. Dower, R.A. North, A. Surprenant // Immunity.- 2001.- V. 15.- P. 825–835.

140. **Massion, C.A.** Impacting re-offense rates among youth sentenced in adult court: An epidemiological examination of the Juvenile Sentencing Alternatives Project [Text] / C.A. Mason, D.A. Chapman, S. Chang, J.

Simons // Journal of Clinical Child and Adolescent Psychology.- 2003.- V. 32.- P. 205-214.

141. **Molenaar, M.** Differential expression of the Groucho-related genes 4 and 5 during early development of Xenopus laevis [Text] / M. Molenaar, E. Brian, J. Roose, H. Clevers, O. Destrée // Mech Dev.- 2000.- V. 91.- №1-2.- P. 311-315.

142. **Mustafa, A.K**.H2S signals through protein S-sulfhydration [Text] / Mustafa A.K., Gadalla M.M., Sen N., Kim S.,Mu W.,et al. // Sci. Signal.- 2009. 2:ra72.

143. **Oh, G.S.** Hydrogen sulfide inhibits nitric oxide production and nuclear factor-κB via heme oxygenase-1 expression in RAW264.7 macrophages stimulated with lipopolysaccharide [Text] / Oh G.S., Pae H.O., Lee B.S., Kim B.N., Kim J.M., et al. // Free Radic. Biol. Med.- 2006. 41:106–19.

144. **Olson, K.R.** Hydrogen sulfide as an oxygen sensor/transducer in vertebrate hypoxic vasoconstriction and hypoxic vasodilation [Text] / Olson K.R., Dombkowski R.A., Russell M.J., Doellman M.M,. Head S.K., et al.// J. Exp. Biol. - 2006. 209:4011–23.

145. **Olson, K.R.** Hydrogen sulfide and oxygen sensing: implications in cardiorespiratory control [Text] / Olson K.R. // J. Exp. Biol. -2008. 211:2727–34.

146. **Ono, K.** Potentiation by cyclic GMP of /3-adrenergic effect on Ca2" current in guinea-pig ventricular cells [Text] / K. Ono, W. Trautwein // Journal of Physiology 1991.- V. 443.- P. 387-404.

147. **Osborne, N.N.** ACS67, a hydrogen sulfide–releasing derivative of latanoprost acid, attenuates retinal ischemia and oxidative stress to RGC-5 cells in culture [Text] / Osborne N.N., Ji D., Abdul Majid A.S., Fawcett R.J., Sparatore A., Del Soldato P. // Investig. Ophthalmol. Vis. Sci. - Jang 2010. 51:284–94.

148. **Osipov, R.M.** Effect of hydrogen sulfide on myocardial protection in the setting of cardioplegia and cardiopulmonary bypass [Text] / Osipov R.M., Robich M.P., Feng J., Chan V., Clements R.T., et al. // Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg. - 2010. 10:506–12.

149. **Ozawa, K.** S-nitrosylation of beta-arrestin regulates beta-adrenergic receptor trafficking [Text] / K. Ozawa, E.J. Whalen, C.D. Nelson, Y. Mu, D.T. Hess, R.J. Lefkowitz, J.S. Stamler // Mol. Cell.- 2008.- V. 31.- №3.- P. 395–405.

150. **Papapetropoulos, A.** Hydrogen sulfide is an endogenous stimulator of angiogenesis [Text] / Papapetropoulos A., Pyriochou A., Altaany Z., Yang G., Marazioti A., et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 2009. 106:21972–77.

151. **Pashkov, O.L**. The study of the levels of soluble TNF receptorp55 and IL-8 in blood and urine of patients with bladder cancer [Text] / Pashkov O.L., Shishlo L.M., Prokhorov V.I. // Siberian Journal of Oncology, - 2008.Suppl 1: 104-105. Russian].

152. **Paulus, W.J.** Nitric oxide's role in the heart: control of beating or breathing? [Text] / W.J. Paulus, J.G. Bronzwaer.// Am J Physiol Heart Circ Physiol.- 2004.- V. 287.- №1.- P. 8-13.

153. **Peleg, G.** Single-molecule spectroscopy of the beta(2) adrenergic receptor: observation of conformational substates in a membrane protein [Text] / G. Peleg, P. Ghanouni, B.K. Kobilka, R.N. Zare // Proc. Natl. Acad. Sci.- USA.- 2001.- V. 98.- №15.- P. 8469-8474.

154. **Perrino, E.** New prostaglandin derivative for glaucoma treatment [Text] / Perrino E., Uliva C., Lanzi C., Del Soldato P., Masini E., Sparatore A. // Bioorg. Med. Chem. Lett. - 2009. 19:1639–42.

155. **Pietri, R.** Factors controlling the reactivity of hydrogen sulfide with hemeproteins [Text] / R. Pietri, A. Lewis, R.G. Leon // Biochemistry.- 2009.- V. 48.- P. 4881-4894.

156. **Polhemus, D.J.** The cardioprotective actions of hydrogen sulfide in acute myocardial infarction and heart failure [Text] / Polhemus D.J., Calvert J. W., Butler J., and Lefer D. J., //Scientifica, vol. - 2014, Article ID 768607, 8 pages, 2014.

157. **Polunin, I.N**. Toxic pulmonary edema in acute poisoning with hydrogen sulfide gas [Text] / Polunin, I.N., Asfandiyarov R.I., Trizna N.N. // Astrakhan: AGMA, - 1999. Russian.

158. **Pushchina, E.V**. Cystathionine β-synthase in the CNS of masu salmon Oncorhynchus masou (Salmonidae) and carp Cyprinus carpio (Cyprinidae) [Text] / Pushchina E.V., Varaksin A.A., Obukhov D.K. // Neurochem. J. - 2011. Vol. 5. No. 1. P. 24–34.

159. **Qu, K.** Hydrogen sulfide: neurochemistry and neurobiology. Neurochem [Text] / Qu K., Lee S.W., Bian J.S., Low C.M., Wong P.T.H. // Int.- 2008. 52:155–65.

160. **Rapundalo, S.T.** Cardiac protein phosphorylation: functional and pathophysiological correlates [Text] / S.T. Rapundalo // Cardiovasc Res 1998.- V. 38.- P. 559–588.

161. **Rinaldi, L**. Hydrogen sulfide prevents apoptosis of human PMN via inhibition of p38 and caspase 3 [Text] / Rinaldi L., Gobbi G., Pambianco M., Micheloni C., Mirandola P., Vitale M. // Lab. Investig. -2006. 86:391–97.

162. **Rossoni G.,**The hydrogen sulphide–releasing derivative of diclofenac protects against ischaemia–reperfusion injury in the isolated rabbit heart [Text] / Rossoni G., Sparatore A., Tazzari V., Manfredi B., Del Soldato P., Berti F. 2008. // Br. J. Pharmacol. -2008. 153:100–9.

163. **Rosenbaum, D.M.** Structure and function of an irreversible agonist-β(2) adrenoceptor complex [Text] / D.M. Rosenbaum, C. Zhang, J.A. Lyons, R. Holl, D. Aragao, D.H. Arlow, S.G. Rasmussen, H.J. Choi, B.T. Devree, R.K. Sunahara, P.S. Chae, S.H. Gellman, R.O. Dror, D.E. Shaw, W.I. Weis, Caffrey M., P. Gmeiner, B.K. Kobilka // Nature.- 2011.- V. 469.- P. 236-240.

164. **Salloum, F.N.** Phosphodiesterase-5 inhibitor, tadalafil, protects against myocardial ischemia/reperfusion through protein-kinase G–dependent generation of hydrogen sulfide [Text] / Salloum F.N., Chau V.Q., Hoke N.N., Abbate A., Varma A., et al. // Circulation, -2009.120:S31–36.

165. **Scriven, D.R.L.** Distribution of proteins implicated in excitation-contraction coupling in rat ventricular myocytes / D.R.L. Scriven, P. Dan, E.D.W. Moore // Biophys. J.- 2000.- V. 79.- P. 2682-2691.

166. **Searcy, D.G.** Sulfur reduction by human erythrocytes/ D.G. Searcy, S.H. Lee// J.Exp. Zool. – 1998.– V. 282.– P.310-322.

167. **Seino, S.** Physiological and pathophysiological roles of ATP-sensitive K+ channels [Text] / Seino S. & Miki T.// Prog Biophys Mol Biol. -2003. 81, 133–176.

168. **Sen, U.** Hydrogen sulfide ameliorates hyperhomocysteinemia-associated chronic renal failure [Text] / Sen U., Basu P., Abe O.A., Givvimani S., Tyagi N. et al. // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. -2009. 297:F410–19.

169. **Shannon, T.R.** Potentiation of fractional SR Ca release by total and free intra-SR Ca concentration [Text] / T.R. Shannon, K.S. Ginsburg, D.M. Bers // Biophys. J.- 2000.- V. 78.- P. 334-343.

170. **Shi, Y.X.** Chronic sodium hydrosulfide treatment decreases medial thickening of intramyocardial coronary arteries, interstitial fibrosis, and ROS production in spontaneously hypertensive rats [Text] / Shi Y.X., Chen Y., Zhu Y.Z., Huang G.Y., Moore P.K., et al. // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. -2007. 293:H2093–100.

171. **Schicho, R.** Hydrogen sulfide is a novel prosecretory neuromodulator in the Guinea-pig and human colon [Text] / Schicho R., Krueger D., Zeller F. et al. // Gastroenterology. - 2006. Vol. 131. P. 1542–1552.

172. **Shymans'ka, T.V.** Effect of hydrogen sulfideonisolatedrat heart reaction under volume load and ischemia-reperfusion [Text] / Shymans'ka

T.V., Hoshovs'ka I.V., Semenikhina O. M., and Sahach V. F.// Fiziolohichnyˇı Zhurnal, -2012. vol. 58, no. 6, pp. 57–66.

173. **Siebert, N.** H2S contributes to the hepatic arterial buffer response and mediates vasorelaxation of the hepatic artery via activation of KATP channels [Text] / Siebert N., Cantrre D., Eipel C., Vollmar B.// Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. -2008. 295:G1266–73.

174. **Sivarajah, A.** Anti-apoptotic and anti-inflammatory effects of hydrogen sulfide in a rat model of regional myocardial I/R [Text] / Sivarajah A., Collino M., Yasin M., Benetti E., Gallicchio M., Mazzon E., Cuzzocrea S., Fantozzi R. & Thiemermann C.// Shock -2009. 31, 267–274.

175. **Sivarajah, A.** The production of hydrogen sulfide limitsmyocardial ischemia and reperfusion injury and contributes to the cardioprotective effects of preconditioning with endotoxin, but not ischemia in the rat [Text] / Sivarajah A., McDonald M.C., Thiemermann C. // Shock, -2006. 26:154–61.

176. **Sitsapesan, R.** Regulation of the gating of the sheep cardiac sarcoplasmic reticulum $Ca^{2+}$-release channel by luminal $Ca^{2+}$ [Text] / R. Sitsapesan, A.J. Williams // J. Membr. Biol.- 1994.- V. 137.- P. 215-226.

177. **Sitdikova G.F.** Hydrogen sulfide increases calcium-activated potassium (BK) channel activity of rat pituitary tumor cells [Text] / Sitdikova G.F., Weiger T.M., Hermann A. // PflË ug. Arch. -2010. 459:389–97.

178. **Skeberdis, V.A.** b2 adrenergic activation of L-type $Ca^{2+}$ current in cardiac myocytes [Text] / V.A. Skeberdis, J. Jurevicius, R. Fischmeister // J Pharmacol Exp Ther.- 1997b.- V. 283.- P. 452–461.

179. **Sommer J.R.** To exite a heart: a bird's view [Text] / J.R. Sommer, E. Bossen, H. Dalen, P. Dolber, T. High, P. Jewett, J. Jonson, J. Junker, S. Leonard, R. Nassar, B. Scherer, M. Spach, T. Spray, I. Taylor, N.R. Wallace, R. Waugh // Acta Physiol. Scand.- 1991.-V.-159.-P. 5-21.

180. **Srilatha, B.** Possible role for the novel gasotransmitter hydrogen sulphide in erectile dysfunction - a pilot study [Text] / Srilatha B., Adaikan P.G., Moore P.K. // Eur. J. Pharmacol.- 2006. Vol. 535. P. 280–282.

181. **Steinberg, S.F.** Compartmentation of G protein coupled signaling pathways in cardiac myocytes [Text] / S.F. Steinberg, L.L. Brunton // Annu Rev Pharmacol Toxicol.– 2001.– V. 41.– P. 751–773.

182. **Snyder, S.** Protein modifications involved in neurotransmitter and gasotransmitter signaling [Text] / S. Snyder // Trends in Neurosciences.- 2010.- V. 33.- №.11.

183. **Sumii, K.** cGMPdependent protein kinase regulation of the Ltype Ca. current in rat ventricular myocytes [Text] / K. Sumii, N. Sperelakis // Circulation Research.- 1995.- V. 77.- P. 803—812.

184. **Sun, Y.** Dosage-dependent switch from G protein-coupled to G protein-independent signaling by a GPCR [Text] / Y. Sun, J. Huang, Y. Xiang, M. Bastepe, H. Jüppner, B.K. Kobilka, J.J. Zhang, X.Y. Huang // EMBO J.- 2007.- V. 26.- №1.- P. 53-64.

185. **Sun, Y.G.** Hydrogen sulphide is an inhibitor of L-type calcium channels and mechanical contraction in rat cardiomyocytes [Text] / Sun Y.G., Cao Y.X., Wang W.W., Ma S.F., Yao T., Zhu Y.C. // Cardiovasc. Res. -2008.79:632–41.

186. **Sutko, J.L.** Ryanodine receptor Ca21 release channel: does diversity in form equal diversity in function? [Text] / J.L. Sutko, J.A. Airey // Phys. Rev.- 1997.- V. 76.- P. 1027–1071.

187. **Srilatha, B.** Possible role for the novel gasotransmitter hydrogen sulphide in erectile dysfunction—a pilot study [Text] /Srilatha B., Adaikan P.G., Moore P.K.// Eur. J. Pharmacol.-2006. 535:280–82.

188. **Stern, M.D.** Excitation-contraction in the heart: the state of the question / M.D. Stern, E. Lakatta // FASEB Journal.- 1992.- V. 6. P. 3092—3100.

189. **Streng, T.** Distribution and function of the hydrogen sulfide–sensitive TRPA1 ion channel in rat urinary bladder [Text] / Streng T., Axelsson H.E., Hedlund P., Andersson D.A., Jordt S.E., et al.// Eur. Urol. -2008. 53:391–99.

190. **Stipanuk, M.H.** Dealing with methionine/homocysteine sulfur: cysteine metabolism to taurine and inorganic sulfur [Text] / Stipanuk M.H., Ueki I. // J. Inherit. Metab. Dis. -2010. In press, doi:10.1007/s10545-009-9006-9.

191. **Stuhlmeier, K.M.** NF-κB independent activation of a series of proinflammatory genes by hydrogen sulfide [Text] / Stuhlmeier K.M., Broll J., Iliev B. // Exp. Biol. Med. -2009.234:1327–38.

192. **Sun, Y.G.** Hydrogen sulphide is an inhibitor of L-type calcium channels and mechanical contraction in rat cardiomyocytes [Text] / Sun Y.G., Cao Y.X., Wang W.W., Ma S.F., Yao T. & Zhu Y.C.// Cardiovasc Res. -2008. 79, 632–641.

193. **Szabo, C.** Hydrogen sulphide and its therapeutic potential [Text] / Szabo C. // Nat. Rev. Drug Discov.- 2007. 6:917–35.

194. **Tamizhselvi, R.** Inhibition of hydrogen sulfide synthesis attenuates chemokine production and protects mice against acute pancreatitis and associated lung injury [Text] / Tamizhselvi R., Moore P.K., Bhatia M.// Pancreas, -2008. 36:e24–31.

195. **Tangerman, A.** Measurement and biological significance of the volatile sulfur compounds hydrogen sulfide, methanethiol and dimethyl sulfide in various biological matrices [Text] / Tangerman A. // J. Chromatogr. B, -2009. 877:3366–77.

196. **Telezhkin, V**. [Text] / Telezhkin V., Brazier S.P., Cayzac S., Muller C.T., Riccardi D.// Kemp P.J. - 2009.

197. **Trafford, A.W.** Integrative analysis of calcium signalling in cardiac muscle [Text] / A.W. Trafford, M.E. Diaz, S.C. O'Neill, D.A. Eisner // Front Biosci. - 2002.- V. 7.- P. 843–852.

198. **Trevisani, M.** Hydrogen sulfide causes vanilloid receptor 1-mediated neurogenic inflammation in the airways [Text] / Trevisani M., Patacchini R., Nicoletti P., Gatti R., Gazzieri D., et al.// Br. J. Pharmacol. -2005.145:1123–31Hydrogen sulfide inhibits human BKCa channels. Adv. Exp. Med. Biol. 648:65–72.

199. **Tripatara, P.** Generation of endogenous hydrogen sulfide by cystathionine γ-lyase limits renal ischemia/reperfusion injury and dysfunction [Text] / Tripatara P., Patel N.S., Collino M., Gallicchio M., Kieswich J., et al.// Lab. Investig.- 2008 88:1038–48.

200. **Tyagi, N.** H2S protects against methionine-induced oxidative stress in brain endothelial cells [Text] / Tyagi N., Moshal K.S., Sen U., Vacek T.P., Kumar M., et al.// Antioxid. Redox Signal. -2009. 11:25–33.

201. **Vinogradova, T.M.** β-Adrenergic stimulation modulates ryanodine receptor $Ca^{2+}$ release during diastolic depolarization to accelerate pacemaker activity in rabbit sinoatrial nodal cells [Text] / T.M. Vinogradova, K.Y. Bogdanov, E.G. Lakatta // Circ Res.- 2002.- V. 90.- P. 73-79.

202. **Wahler, G.M.** Nitric oxide donor SIN-1 inhibits mammalian cardiac calcium current through cGMP-dependent protein kinase [Text] / G.M. Wahler, S.J. Dollinger // American Journal of Physiology.- 1995.- V. 37.- P. 45–54.

203. **Wallace, J.L.** Gastrointestinal safety and anti-inflammatory effects of a hydrogen sulfide–releasing diclofenac derivative in the rat [Text] / Wallace J.L., Caliendo G., Santagada V., Cirino G., Fiorucci S.// Gastroenterology, -2007. 132:261–71.

204. **Wallace, J.L.** Hydrogen sulfide enhances ulcer healing in rats [Text] / Wallace J.L., Dicay M., McKnight W., Martin G.R. //FASEB J. -2007. 21:4070–76.

205. **Wang, R.** Hydrogen sulfide: a new EDRF [Text] / Wang R. //. Kidney Int. -2009.76:700–4.

206. **Wang, R.** Two's company, three's a crowd: can H2S be the third endogenous gaseous transmitter? [Text] / Wang R. // FASEB J. - 2002. Vol. 16. P. 1792–1798.

207. **Wang, R.** Signal transduction and the gasotransmitters: NO,CO and H2S in biology and medicine [Text] / R. Wang // Humana Press.- 2004.- P. 392.

208. **Wang, L.** Preconditioning limits mitochondrial Ca2+ during ischemia in rat hearts: role of KATP channels [Text] / Wang L., Cherednichenko G., Hernandez L., Halow J., Camacho S.A., Figueredo V & Schaefer S. // Am J Physiol Heart Circ Physiol,- 2001. 280, H2321–H2328.

209. **Wang, Y.** Role of hydrogen sulfide in the development of atherosclerotic lesions in apolipoprotein E knockout mice [Text] / Wang Y., Zhao X., Jin H., Wei H., Li W., et al.// Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. -2009. 29:173–79.

210. **Webb, G.D.** Contractile and vasorelaxant effects of hydrogen sulfide and its biosynthesis in the human internal mammary artery [Text] / Webb G.D., Lim L.H., Oh V.M.S., Yeo S.B., Cheong Y.P., et al.// J. Pharmacol. Exp. Ther. - 2008. 324:876–82.

211. **Whitfield, N.L.** Reappraisal of $H_2S$/sulfide concentration in vertebrate blood and its potential significance in ischemic preconditioning and vascular signaling [Text] / Whitfield N.L., Kreimier E.L., Verdial F.C., Skovgaard N., Olson K.R. // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. - 2008. 294:R1930–37 .

212. **Whiteman, M.** The effect of hydrogen sulfide donors on lipopolysaccharide-induced formation of inflammatory mediators in macrophages [Text] / Whiteman M., Li L., Rose P., Tan C.H., Parkinson D.B., Moore P.K.// Antioxid. Redox Signal.- 2010. 12(10):1147–54.

213. **Whiteman, M.** Hydrogen sulfide and the vasculature: a novel vasculoprotective entity and regulator of nitric oxide bioavailability? [Text] / Whiteman M., Moore P.K.// J. Cell. Mol. Med. -2009.13:488–507.

214. **Whiteman, M.** The novel neuromodulator hydrogen sulfide: an endogenous peroxynitrite 'scavenger'? [Text] / Whiteman M., Armstrong J.S., Chu S.H., Jia-Ling S., Wong B.S., et al.// J. Neurochem.- 2004. 90:765–68.

215. **Wang, M.J.** The hydrogen sulfide donor NaHS promotes angiogenesis in a rat model of hind limb ischemia [Text] / Wang M.J., Cai W.J., Li N., Ding Y.J., Chen Y., Zhu Y.C..// Antioxid. Redox Signal. -2010. 12(9):1065–77.

216. **Xiao, R.P.** Beta 1-adrenoceptor stimulation and beta 2-adrenoceptor stimulation differ in their effects on contraction, cytosolic $Ca^{2+}$, and $Ca^{2+}$ current in single rat ventricular cells [Text] / R.P. Xiao, E.G. Lakatta // Circ Res.- 1993.- V. 73.- №2.- P. 286-300.

217. **Xiang, Y.** The PDZ-binding motif of the beta2-adrenoceptor is essential for physiologic signaling and trafficking in cardiac myocytes [Text] / Y. Xiang, B. Kobilka // Proc. Natl. Acad. Sci.- USA.- 2003.- V. 100.- №19.- P. 10776–10781

218. **Xu, M.** Electrophysiological effects of hydrogen sulfide on guinea pig papillary muscles [Text] / M. Xu, Y.M. Wu, Q. Li, F.W. Wang, R.R. He // Acta Physiol. Sin.- 2007.- V. 59.-P. 215-220.

219. **Yan, H.** The possible role of hydrogen sulfide on the pathogenesis of spontaneous hypertension in rats [Text] / Yan H., Du J., Tang C. // Biochem. Biophys. Res. Commun. - 2004. 313:22–27.

220. **Yan, S.K.** Effects of hydrogen sulfide on homocysteine-induced oxidative stress in vascular smooth muscle cells [Text] / Yan S.K., Chang T., Wang H., Wu L., Wang R., Meng Q.H. // Biochem. Biophys. Res. Commun. -2006. 351:485–91.

221. **Yang, G.** H2S as a physiologic vasorelaxant: hypertension in mice with deletion of cystathionine γ-lyase [Text] / Yang G., Wu L., Jiang B., Yang W., Qi J., et al. // Science, -2008. 322:587–90.

222. **Yanfei, W.** Impact of L-arginine on hydrogen sulfide/cystathionine-γ-lyase pathway in rats with high blood flow–induced pulmonary hypertension [Text] / Yanfei W., Lin S., Du J., Tang C. //Biochem. Biophys. Res. Commun. - 2006. 345:851–57.

223. **Yang, G.** Hydrogen sulfide-induced apoptosis of human aorta smooth muscle cells via the activation of mitogen-activated protein kinases and caspase-3 [Text] / Yang G., Sun X., Wang R. // FASEB J.- 2004. 18:782–84.

224. **Yang, G.** Pro-apoptotic effect of endogenousH2S on human aorta smooth muscle cells [Text] / Yang G., Wu L., Wang R. // FASEB J. - 2006.20:553–55.

225. **Yellen, G.** The voltage-gated potassium channels and their relatives [Text] / G. Yellen // Nature.- 2002.- V. 419.- P. 35-42.

226. **Yokoshiki, H.** ATP-sensitive $K^+$ channels in pancreatic, cardiac, and vascular smooth muscle cells [Text] / H. Yokoshiki, M. Sunagawa, T. Seki // Am J Physiol.- 1998.- V. 274.- P. 25-37.

227. **Yonezawa, D.**A protective role of hydrogen sulfide against oxidative stress in rat gastric mucosal epithelium [Text] / Yonezawa D., Sekiguchi F., Miyamoto M., Taniguchi E., Honjo M., et al.// Toxicology, -2009.241:11–18.

228. **Yong, Q.C.** Endogenous hydrogen sulphide mediates the cardioprotection induced by ischemic postconditioning [Text] / Yong Q.C., Lee S.W., Foo C.S., Neo K.L., Chen X., Bian J.S. // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. - 2008. 295:H1330–40.

229. **Yuan, Q.** Preconditioning with physiological levels of ethanol protect kidney against ischemia/reperfusion injury by modulating oxidative stress

[Text] / Yuan Q., Hong S., Han S. et al.// Plos One, -2011. vol. 6, no. 10, article e25811.

230. **Yusof, M.** Hydrogen sulfide triggers late-phase preconditioning in postischemic small intestine by an NO- and p38 MAPK-dependent mechanism [Text] / Yusof M., Kamada K., Kalogeris T., Gaskin F.S., Korthuis R.J.// Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.- 2009. 296:H868–76.

231. **Zhao, W.** The vasorelaxant effect of H2S as a novel endogenous gaseous KATP channel opener [Text] / Zhao W., Zhang J., Lu Y., Wang R.// EMBO J.- 2001. 20:6008–16.

232. **Zhong, G.** The role of hydrogen sulfide generation in the pathogenesis of hypertension in rats induced by inhibition of nitric oxide synthase [Text] / Zhong G., Chen F., Cheng Y., Tang C., Du J.// J. Hypertens.- 2003. 21:1879–85.

233. **Zhao, X.** Regulatory effect of hydrogen sulfide on vascular collagen content in spontaneously hypertensive rats [Text] / Zhao X., Zhang L.K., Zhang C.Y., Zeng X.J., Yan H., et al.// Hypertens. Res. -. 2008. 31:1619–30.

234. **Zagli, G.** Hydrogen sulfide inhibits human platelet aggregation [Text] / Zagli G., Patacchini R., Trevisani M., Abbate R., Cinotti S., et al. // Eur. J. Pharmacol. - 2007. 559:65–68.

235. **Zanardo, R.C.O.** Hydrogen sulfide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation [Text] / Zanardo R.C.O., Brancaleone V., Distrutti E., Fiorucci S., Cirino G., Wallace J.L. // FASEB J. - 2006.20:2118–20.

236. **Zhang, H.** The role of hydrogen sulfide in cecal ligation and punctureinduced sepsis in the mouse [Text] / Zhang H., Zhi L., Moore P.K., Bhatia M. // Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.- 2006. 290:L1193–201.

237. **Zhang, Z.** Hydrogen sulfide contributes to cardioprotection during ischemia-reperfusion injury by opening KATP channels [Text] / Zhang Z.,

Huang H., Liu P., Tang C., Wang J. // Can J. Physiol. Pharmacol.- 2007. 85:1248–53.

238. **Zhi, L.** Hydrogen sulfide induces the synthesis of proinflammatory cytokines in human monocyte cell line U937 via the ERK-NF-κB pathway [Text] / Zhi L., Ang A.D., Zhang H., Moore P.K., Bhatia M. // J. Leukoc. Biol.- 2007. 81:1322–32.

239. **Zhu, Y.Z.** Hydrogen sulfide and its possible roles in myocardial ischemia in experimental rats [Text] / Zhu Y.Z., Wang Z.J., Ho P., Loke Y.Y., Zhu Y.C., et al. // J. Appl. Physiol.- 2007. 102:261–68.

240. **Zhuo, Y.** Cardioprotective effect of hydrogen sulfide in ischemic reperfusion experimental rats and its influence on expression of survivin gene [Text] / Zhuo Y., Chen P. F., Zhang A. Z., Zhong H., Chen C.Q., and Zhu Y. Z.//Biological and Pharmaceutical Bulletin, -2009.vol. 32, no. 8, pp. 1406–1410.