

Петухов В.И.^{1,2}, Шуков А.Н.²¹Балтийский институт психологии, Рига, Латвия
E-mail: vip-val@yandex.ru²Владимирский гос. университет, г. Владимир
E-mail: shchukovdoc@gmail.com

ОБ ОПРАВДАНОСТИ ЭКСТРАПОЛЯЦИЙ ДАННЫХ ЭЛЕМЕНТНОГО АНАЛИЗА ВОЛОС ЧЕЛОВЕКА НА ВЕСЬ ОРГАНИЗМ

В последние годы для определения элементного статуса человека приобрёл популярность метод количественной спектрометрии такого биосубстрата, как волосы. В появившихся публикациях на эту тему элементный состав волос нередко выступает как некий интегральный показатель обеспеченности минералами всего организма, что выглядит спорным и требует специального обсуждения. Одна из попыток такого обсуждения представлена в данной статье.

По данным атомно-эмиссионной спектрометрии концентрационные значения содержащихся в волосах химических элементов (не только металлов) имеют выраженный индивидуальный разброс. Уже сам этот факт наводит на мысль, что причиной наблюдаемых сдвигов может быть отнюдь не «гипо- или гиперэлементоз», а перераспределение химических элементов с участием внутри- и внеклеточных регуляторов трансмембранного трафика минералов, практически не влияющего на элементный состав организма в целом.

Существует множество факторов, которые могут рассматриваться в качестве наиболее вероятных причин, вызывающих количественные сдвиги в металло-лигандном гомеостазе (МЛГ). Их отличительная черта – способность активировать или деактивировать (вплоть до полной блокады) ионные каналы – водные поры трансмембранных белков, ведающих трафиком металлов. Активация лиганд-активируемых каналов может происходить за счёт редокс-модификации тиоловых групп цистеина в молекуле белков-транспортёров активными формами кислорода (АФК) и азота (АФА), продукция которых заметно возрастает в условиях окислительного/нитрозативного стресса.

Нельзя исключить, что окислительный/нитрозативный стресс способен приводить к активации АТРаз Р-типа. Поэтому мы вправе ожидать в эпидермальных клетках количественные сдвиги внутриклеточных концентраций не только электрогенных (K, Na, Ca), но и других металлов (Cd, Zn, Pb, Cu, Co, Ag), трафик которых через наружную мембрану осуществляет Р1В-типе-помпа из суперсемейства АТРаз (Р-type).

Волосы можно использовать в качестве биосубстрата для количественной оценки МЛГ, но, следует сказать, что проблема не в субстрате, а в трактовке результатов спектрометрии при анализе МЛГ эпидермальных клеток.

Ключевые слова: металло-лигандный гомеостаз, эпидермис, редокс-статус.

Представление о металло-лигандном гомеостазе (МЛГ) возникло с появлением первых сообщений о существующем «запрете» для металлов находиться в живом организме вне связи с лигандами.

Функцию последних выполняют транспортные и депонирующие белки, металлоэнзимы, пептиды, аминокислоты или более сложные молекулы (например, гемоглобины).

Без риска необратимых повреждений допустимы лишь «следовые» концентрации (пикограммы) «свободных», не связанных с лигандами, металлов. Это касается как эссенциальных – железо (Fe), медь (Cu), цинк (Zn) и др., так и «токсичных» металлов – кадмий (Cd), свинец (Pb), ртуть (Hg) и др.

Хотя определение «токсичные», которое относят лишь к небольшой группе металлов, вряд ли оправданно, поскольку свободные ионы эссенциальных металлов (Fe^{2+} , Zn^{2+} и др.) не менее токсичны для клетки.

Непременное условие для биологического цикла металлов – вступать в постоянные или временные связи с другими (в первую очередь, белковыми) молекулами, диктуется не только «соображениями безопасности».

Трудно переоценить роль таких связей в нормальном функционировании металлоэнзимов, в активный центр которых (кроме уже упомянутых – Fe, Zn, Cu) могут входить кобальт (Co), селен (Se) и другие жизненно важные металлы. От их присутствия в активном центре зависит каталитическая активность этих энзимов.

Одна из важнейших характеристик МЛГ – его динамичность, основу которой составляют постоянные внутри- и межклеточные перемещения металлов, взаимообмен между тканевыми (клеточными) и внеклеточными (плазма, лимфа, тканевая жидкость) пулами, непрерывное поступление и выход наружу через желудочно-кишечный тракт, а также потери

металлов с отмирающим эпидермисом и его придатками.

Динамичность МЛГ можно обнаружить даже, если тот или иной металл, например, кальций (Ca), проявляет явные тканевые (локальные) «предпочтения». Так, ~25000 ммоль Ca (99 % от его содержания в организме) содержится в костной ткани.

В межклеточной жидкости – приблизительно 22,5 ммоль, в том числе ~9 ммоль в плазме крови. При этом весьма интенсивно (~500 ммоль/сутки) происходит обмен между клеточным (костным) и внеклеточным кальцием (тканевая жидкость, плазма).

Ежесуточные потери Ca через почки (~ от 2,5 до 7,5 моль), кишечник и кожу с её придатками, наряду с поступлением ~12,5 ммоль Ca в сутки (необходимый минимум, который увеличивается в период роста, беременности, лактации), приводят к тому, что внеклеточный пул Ca обновляется за сутки примерно 33 раза (!). Понятно, что столь интенсивный «кругооборот» усложняет оценку истинного содержания этого металла в организме, особенно в тех случаях, когда критерием служит лишь один показатель, например, уровень кальция в плазме, который может расти при массивном остеоллизе (плазмцитоме, множественные метастазы рака в кости скелета), но при этом никак не свидетельствовать о кальциевом гиперэлементозе.

Гипохромная анемия без кровопотерь, ассоциированная с воспалением и/или злокачественным ростом, обязана своим появлением не дефициту железа в организме, (не Fe-гипозэлементозу), а сдвигам в МЛГ перераспределительного характера: уменьшение гемового или костномозгового пула железа за счёт увеличенного резерва ферритинового Fe в макрофагах. Способствует такому перераспределению повышенная продукция гепсидина, которая характерна для этих синдромов.

Участвующий в синтезе коллагена Cu-зависимый фермент лизилоксидаза у так называемых «медленных ацетиляторов» (лиц с низкой активностью N-ацетилтрансферазы) может испытывать «нужду» в меди при нормальном содержании этого металла в организме. Перехватчиками Cu оказываются неацетилированные молекулы D-глюкозамина и D-галактозамина – активные хелаторы меди.

Эти примеры убеждают нас в том, что представление о МЛГ не сводится к количественной оценке содержания металлов в том или ином биосубстрате (что, кстати, нередко служит поводом для неоправданных экстраполяций результатов измерения на весь организм), но обязательно включает уже известную (или предполагаемую) цепь внутри- и межклеточных событий с участием металлов. Количественные оценки, сделанные на разных участках этой цепи, могут заметно варьировать в силу множества факторов, конкретная роль которых нуждается в уточнении.

В последние годы для определения элементного статуса человека приобрёл популярность метод количественной спектрометрии такого биосубстрата, как волосы. Неинвазивный способ забора проб, пригодность для проведения массовых исследований, возможность длительного хранения образцов в обычных условиях, удобство и простота их транспортировки – всё это не могло не привлечь внимание исследователей. Однако в появившихся публикациях на эту тему элементный состав волос нередко выступает как некий интегральный показатель обеспеченности минералами всего организма, что выглядит спорным и требует специального обсуждения.

Во-первых, концентрационные значения содержащихся в волосах химических элементов (не только металлов) имеют, по данным атомно-эмиссионной спектрометрии, выраженный индивидуальный разброс (коэффициент вариации CV > 100 %) [1]. Уже сам этот факт наводит на мысль, что причиной наблюдаемых сдвигов может быть отнюдь не «гипо- или гиперэлементоз», а перераспределение химических элементов с участием внутри- и внеклеточных регуляторов трансмембранного трафика минералов, практически не влияющего на элементный состав организма в целом.

Во-вторых, в диагностике нарушений металло-лигандного гомеостаза (МЛГ) на уровне всего организма оценка элементного статуса кожи и её придатков (как части выделительной системы) требует осторожности. Последняя необходима и во всех других случаях, когда объектом исследования оказываются продукты выделения (например, моча). Неоднозначность трактовки результатов элементного анализа по

биосубстратам выделительной системы (пот, моча, выдыхаемый воздух, эпидермис и его дериваты) может возникнуть при сбоях в работе систем по удерживанию в организме эссенциальных металлов.

При хроническом (и зачастую латентном) гемолизе железо гемоглобина выделяется с мочой в виде гемосидерина (свинцовая интоксикация, болезнь Маркиафавы-Микели). Но будет ли это свидетельствовать о повышении уровня Fe в организме? Очевидно, нет. Скорее, о неизбежном снижении, из-за постоянной гемосидеринурии, общего пула железа.

Существует множество факторов, которые могут рассматриваться в качестве наиболее вероятных причин, вызывающих количественные сдвиги в МЛГ. Их отличительная черта – способность активировать или деактивировать (вплоть до полной блокады) ионные каналы – водные поры трансмембранных белков, ведающих трафиком металлов. По способу активирования ионные каналы можно разделить на механо-чувствительные, потенциал-активируемые и лиганд-активируемые.

Активация лиганд-активируемых каналов может происходить за счёт редокс-модификации тиоловых групп цистеина в молекуле белков-транспортёров активными формами кислорода (АФК) и азота (АФА), продукция которых заметно возрастает в условиях окислительного/нитрозативного стресса: супероксид анион-радикал (O_2^-), нитроксид (NO), пероксинитрит (NOOO-) и др.

Реальность таких событий можно подтвердить (или отвергнуть), исследуя МЛГ на фоне окислительного/нитрозативного стресса, например, у ликвидаторов Чернобыльской аварии. Основным отличительным признаком биохимических процессов в организме «чернобыльцев» является повышенная, по сравнению с нормой, активность кислородных и азотных радикалов (хронический окислительный/нитрозативный стресс), имеющий, как показывают наши наблюдения [2], непосредственное отношение к событиям в МЛГ.

Но можно ли по сдвигам в МЛГ (хотя бы косвенно) судить о тех или иных нарушениях в слаженной работе мембранных транспортёров? И как объяснить наблюдаемый при спектрометрии волос популяционный разброс измеряе-

мых значений для абсолютного большинства химических элементов, который некоторые исследователи склонны связывать с «дисэлементозом» на уровне всего организма?

Нельзя исключить, что решение этой проблемы связано с трансмембранным переносом металлов и, как следствие, если речь идёт об ионах электрогенных металлов (Ca^{2+} , K^+ , Na^+), с генерацией электрического потенциала (ЭП) клетки.

Среди известных способов распространения ЭП представляет интерес «горизонтальное» проведение электрических импульсов (как локальных, так и потенциалов действия) от клетки к клетке через межклеточные синапсы (gap junctions), обеспечивающие транзит не только мембранного потенциала [3], но и ионов электрогенных металлов (Ca^{2+}). Показательно, что такой способ передачи электрического сигнала можно обнаружить не только у нейронов, но и у миоцитов сердца, кишечника, артерий, а также у эпителио- и эндотелиоцитов. При этом передача ЭП происходит не только гомоцеллюлярно (миоцит-миоцит), но и гетероцеллюлярно (миоцит-эндотелиоцит) [4].

Эти события лежат в основе феномена вазомоции (перистальтики сосудов), механизм которой во многом остаётся не расшифрованным [5].

Так, в реализации указанного феномена не очень понятна роль эндотелия и его производных: NO и эндотелиального гиперполяризующего фактора, на роль которого претендует гидропероксид [29, 30]. По мнению одних авторов, участие эндотелия является обязательным [6, 7]. По мнению других, вазомоция может происходить и в отсутствие эндотелия [8, 9]. Неоднозначной выглядит и динамика внутриклеточного кальция: вазомоция имеет место лишь при среднем уровне Ca^{2+} в цитозоле, тогда как при низком и высоком уровне – она отсутствует [10–12].

Генерацию ЭП, как известно, вызывает движение ионов через клеточную мембрану по так называемым ионным каналам (водным порам трансмембранных белков), способным активироваться (открываться) и деактивироваться, когда вероятность их открытия резко снижена вплоть до полной блокады. Участвующие в трансмембранном трафике ионы: Ca^{2+} , K^+ , Na^+ , Cl^- ,

H⁺ имеют непосредственное отношение к генерации ЭП. Существенно, что электрические или химические сигналы, вызывающие активацию (деактивацию) ионных каналов, определяют лишь вероятность их открытия (закрытия), но не длительность пребывания в открытом или закрытом состоянии.

Пассивное движение ионов по каналам происходит в соответствии с градиентом концентрации и электрическим градиентом мембраны. При этом противоположно направленный электрический градиент, снижающий до нуля конечный ток того или иного иона, является равновесным потенциалом данного иона.

Для генерации ЭП и поддержания на постоянном уровне внутриклеточной концентрации ионов клетка запускает активные транспортные механизмы противодействия электрохимическому градиенту (первичный и вторичный активный транспорт), что позволяет сохранять неизменным потенциал покоя.

Первичный транспорт использует энергию гидролиза АТР, например, Na/K-помпа (Na/K-АТРаз), которая за счёт энергии расщепления одной молекулы АТР переносит три иона Na наружу и два иона K внутрь клетки, меняя тем самым суммарный трансмембранный заряд на единицу при каждом таком переносе. К первичным системам активного транспорта ионов относятся Ca-АТРазы плазматической мембраны, выводящие Ca из клетки, и семейство Ca-АТРаз эндо- и саркоплазматического ретикулумов (SERCA), закачивающие Ca²⁺ во внутриклеточные структуры.

Вторичный активный транспорт ионов осуществляется за счёт энергии передвижения Na⁺ в направлении его электрохимического градиента и зависит от эффективной работы Na/K-насоса, обеспечивающего существование этого градиента. Примером вторичного транспорта является Na/Ca-обменник, который выводит один ион кальция (Ca²⁺) за счёт входа в клетку трёх ионов натрия (Na⁺). Na/K-насос, Ca-АТРазы и H⁺/K-АТРазы образуют суперсемейство АТРаз P-типа (P-type), которое интенсивно изучается в последние годы [13–15].

Важная роль в регуляции трансмембранного транспорта Ca²⁺ в кардиомиоцитах принадлежит редокс-процессам с участием АФК и АФА. Белок RyR2 (рианодиновый рецептор-2)

с молекулярной массой 565 кДа, который проводит Ca²⁺ через мембрану саркоплазматического ретикулума (СР) и ионные каналы которого отвечают на редокс-регулирование, имеет тетрамерную структуру и ~90 цистеиновых остатков в каждом из мономеров [16–19]. По мнению исследователей, именно состояние тиоловых групп цистеина на цитозольной стороне мембраны СР, легко подвергающихся редокс-модификации (окисление с образованием дисульфидных связей, S-нитрозилирование, S-глутатионилирование), определяет проводимость каналов АТРаз в кардиомиоците [24]. В роли окислителей (редокс-модификаторов) наряду с нитроксидом выступают супероксид анион-радикал (O₂⁻), постоянно продуцируемый в клетке, и пероксинитрит (NOOO⁻).

Нельзя исключить, что увеличение продукции O₂⁻ и NO способно приводить к ещё большей активации АТРаз P-типа за счёт вовлечения в этот процесс большего числа белковых молекул и/или участия в качестве редокс-модификаторов более агрессивных АФА (ONOO⁻, NO₂[·], N₂O₃). Поэтому в эпидермальных клетках при наличии окислительного/нитрозативного стресса мы вправе ожидать количественные сдвиги внутриклеточных концентраций не только электрогенных (K, Na, Ca), но и других, в частности, тяжёлых металлов (Cd, Zn, Pb, Cu, Co, Ag), трафик которых через наружную мембрану осуществляет P_{1B-type}-помпа из суперсемейства АТРаз (P-type) [14].

Активирующее действие NO на АТР-зависимые калиевые каналы (КАТР-каналы) обнаружено в эксперименте на крысах [20], морских свинках [21], кроликах [22]. При этом на роль активатора, по мнению авторов, претендует как сам нитроксид и/или его дериваты (ONOO⁻, NO₂[·], N₂O₃) [21, 23], так и циклический гуанозин-монофосфат (сGMP) с протеинкиназой G (PKG). Участие PKG в фосфорилировании и последующем активировании АТРаз становится возможным при действии нитроксида на растворимую гуанилил-циклазу (sGC) в метаболической цепи: NO→sGC→сGMP→PKG [22]. Возможно, в условиях *in vivo* оба упомянутых способа открытия АТР-каналов могут быть востребованы.

Трансмембранный трафик электрогенных металлов (Ca, Na, K) с участием соответствующего

щих АТРаз (Ca^{2+} -аза и Na^+/K^+ -аза) отличается по своему механизму от трафика тяжёлых металлов (например, меди с помощью Cu^+ -азы). Если первым (Ca, Na, K) для продвижения по каналу (после взаимодействия с металлсвязывающими участками АТР-помп, так называемыми трансмембранными сайтами – ТМ-МБС) достаточно присутствовать в цитоплазме в виде гидратированных ионов (Ca^{2+} , Na^+ , K^+), то перенос тяжёлых металлов возможен лишь в форме металло-лигандных комплексов, где лигандами служат белки-шапероны, без которых не происходит связывание металлов с ТМ-МБС [24, 25]. Наиболее известные шапероны для внутриклеточного транспорта меди – Atox1, CCS, Cox17 [26].

Способность активировать АТР-зависимые калиевые каналы ($\text{K}_{\text{АТР}}$) присуща не только АФА, но и АФК. Известно, что супероксид анион радикал (O_2^-) может индуцировать открытие $\text{K}_{\text{АТР}}$ -каналов в митохондриях кардиомиоцитов [27].

Аналогичным эффектом на митохондриальные КАТР-каналы в экспериментах на культуре кардиомиоцитов куриных эмбрионов обладают гипоксия и H_2O_2 [28]. В опытах с гладкомышечными клетками крыс [31] и собак [32] было показано, что окислительная модификация гидропероксидом тиоловых групп в калиевых потенциалзависимых каналах (K_v) вызывала их открытие. Интересно, что само открытие митохондриальных $\text{K}_{\text{АТР}}$ -каналов, как было показано на крысиных кардиомиоцитах, стимулировало в клетке продукцию АФК в такой последовательности: $\text{NO} \rightarrow \text{sGC} \rightarrow \text{cGMP} \rightarrow \text{PKG} \rightarrow$ открытие $\text{K}_{\text{АТР}}$ -каналов \rightarrow продукция АФК [33]. Модулирующий эффект АФА и АФК по отношению к K^+ -каналам с двумя Р-доменами ($\text{K}_{2\text{P}}$ -каналы), вызывающий открытие последних, был показан на экзокринных клетках человеческой поджелудочной железы [34].

На культурах клеток гипокампа 19-дневных крысиных эмбрионов в условиях гипоксии и генерации NO наблюдали сGMP-независимую активацию $\text{K}_{\text{АТР}}$ -каналов, которая происходила с участием Ras/MAPK (mitogen-activated protein kinase) сигнального каскада [35]. Однако результаты экспериментов с кардиомиоцитами кролика указывают на ключевое значение PKG в сGMP/PKG-цепи для фосфорилирования и активации $\text{K}_{\text{АТР}}$ -каналов [36].

NO-модификация потенциалзависимых Ca^{2+} -каналов в волосковых клетках вестибулярного органа у крыс приводила к снижению Ca^{2+} -потока [37]. Этот эффект, как считают авторы, связан с активацией сGMP/PKG-сигнального пути и S-нитрозилированием нитроксидом белков Ca^{2+} -помпы. О способности NO препятствовать поступлению кальция в клетку ($[\text{Ca}^{2+}]_i$ -ингибирование) сообщают и другие исследователи [38–41].

Заметим, что связь NO с функционированием мембранных насосов не всегда носит однонаправленный характер. Известно, что активизация работы $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменника ведёт к увеличению продукции NO нейрональной NO-синтазой (nNOS) [42].

Таким образом, при анализе данных о влиянии АФА и АФК на трансмембранный трафик электрогенных (Ca, K, Na) и других металлов, можно прийти к заключению, что в клетке на фоне окислительного/нитрозативного стресса должны происходить неоднозначные изменения их МЛГ: уровень калия и натрия будет расти, а кальция – снижаться.

Реальность таких событий подтверждается в наших наблюдениях: внутриклеточный уровень K и Na в эпидермисе черныбыльцев достоверно выше, а Ca – ниже нормальных показателей [2].

Вместе с тем сдвиги в МЛГ тяжёлых металлов (Zn, Cu, Cd, Pb, Fe), в отличие от электрогенных, зависят от свойств и наличия в организме достаточного количества белков-переносчиков, входящих в состав металло-лигандных комплексов, – безопасной для организма формы существования тяжёлых металлов в клетке и межклеточном пространстве.

Основными металлсвязывающими белками для Fe являются ферритин и трансферрин, а для Zn, Cu, Cd и Pb – металлотионеины. Их роль и значимость для МЛГ требуют отдельного обсуждения, которое выходит за рамки данной статьи. Заметим только, что окислительный/нитрозативный стресс, по нашим данным, оказывал достоверное влияние на уровень этих и других металлов в клетках эпидермиса [2]. Поэтому, отвечая на вынесенный в заглавие вопрос – можно ли использовать волосы в качестве субстрата для количественной оценки содержания металлов в организме, хотелось

бы пояснить следующее. Если быть объективным, то проблема здесь не в «доверии» к био-субстрату, а в оправданности экстраполяции данных микроэлементного анализа волос на весь организм. Другими словами, претензии не к субстрату, а к трактовке изменений МЛГ в клетках эпидермиса, регистрируемых с помощью спектрометрии.

Необходимость количественного определения тех или иных металлов *in toto* (в целом ор-

ганизме) при ближайшем рассмотрении может оказаться сомнительной для большого (если не большего) числа исследовательских задач.

Обобщённые показатели такого рода (если учитывать тканевую и органную динамичность МЛГ) становятся похожими на «среднебольшую температуру пациентов» с минимальным количеством достоверной и действительно нужной информации по конкретной изучаемой проблеме.

10.05.2015

Список литературы:

1. Петухов В.И., Дмитриев Е.В., Шкестерс А.П., Скальный А.В. Проблемы интегральной оценки элементного статуса человека по данным спектрометрии волос. Микроэлементы в медицине. № 7, С.7-14, 2006.
2. Petukhov V.I., Baumann L., Dmitriev E.V., Vanin A.F. Nitric oxide and electrogenic metals (Ca, Na, K) in epidermal cells. *Biochemistry (Moscow) Supplement Series B Biomedical Chemistry*. V. 8, No 4, pp. 343-348, 2014.
3. Nilius B. and Droogmans G. Ion channels and their functional role in vascular endothelium. *Physiol Rev* 81: 1415–1459, 2001.
4. Marchenko S.M. and Sage SO. Smooth muscle cells affect endothelial membrane potential in rat aorta. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 267: H804–H811, 1994.
5. Aalkjaer C. and Nilsson H. Vasomotion: cellular background for the oscillator and for the synchronization of smooth muscle cells. *Br J Pharmacol* 144: 605–616, 2005.
6. Mauban J.R. and Wier W.G. Essential role of EDHF in the initiation and maintenance of adrenergic vasomotion in rat mesenteric arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 287:H608–H616, 2004.
7. Okazaki K., Seki S., Kanaya N., Hattori J., Tohse N., and Namiki A. Role of endothelium-derived hyperpolarizing factor in phenylephrine-induced oscillatory vasomotion in rat small mesenteric artery. *Anesthesiology* 98:1164–1171, 2003.
8. Haddock R.E., Hirst G.D., and Hill C.E. Voltage independence of vasomotion in isolated irideal arterioles of the rat. *J Physiol* 540: 219–229, 2002.
9. Lamboley M., Schuster A., Be'ny J.L., and Meister J.J. Recruitment of smooth muscle cells and arterial vasomotion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 285: H562–H569, 2003.
10. Koenigsberger M., Sauser R., Be'ny J.L., and Meister J.J. Effects of arterial wall stress on vasomotion. *Biophys J* 91: 1663–1674, 2006.
11. Koenigsberger M., Sauser R., Be'ny J.L., and Meister J.J. Role of the endothelium on arterial vasomotion. *Biophys J* 88: 3845–3854, 2005.
12. Koenigsberger M., Sauser R., Lamboley M., Be'ny J.L., and Meister J.J. Ca²⁺ dynamics in a population of smooth muscle cells: modeling the recruitment and synchronization. *Biophys J*. 87: 92–104, 2004.
13. Axelsen, K.B., Palmgren, M.G. *J. Mol. Evol.* 46: 84-101, 1998.
14. Argüello, J.M. *J. Membrane Biol.* 195: 93-108, 2003.
15. Argüello, J.M., Eren, E. *Biomaterials*. 20: 233-248, 2007.
16. Yano, M. *Circ.J.* 72: 509-514, 2008.
17. Sun, J., Yamaguchi, N., Xu, L., Eu, J.P., Stamler, J.S., and Meissner, G. *Biochemistry*. 47: 13985-13990, 2008.
18. Yan, Y., Liu, J., Weil, C., Li, K., Xie, W., Wang, Y., and Cheng, H. *Cardiovasc. Res.* 77: 432-441, 2008.
19. Gyorke, S., and Terentyev, D. *Cardiovasc. Res.* 77, 245-255, 2008.
20. Southam E., and Garthwaite J. Comparative effects of some nitric oxide donors on cyclic GMP levels in rat cerebellar slices. *Neurosci Lett* 130: 107-111, 1991.
21. Shinbo A., and Iijima T. Potentiation by nitric oxide of the ATP-sensitive K⁺ current induced by K⁺ channel openers in guinea-pig ventricular cells. *Br J Pharmacol* 120: 1568-1574, 1997.
22. Han J., Kim N., Joo H., Kim E., and Earm Y.E. ATP-sensitive K⁺ channel activation by nitric oxide and protein kinase G in rabbit ventricular myocytes. *Am J Physiol* 283: H1545-H1554, 2002.
23. Ahern G.P., Hsu S-F., and Jackson M.B. Direct actions of nitric oxide on rat neurohypophysial K⁺ channels. *Journal of Physiology*. 520.1: 165-176, 1999.
24. Banci L, Bertini I, Del Conte R, Markey J, Ruiz-Duen~ as FJ. Copper trafficking: The solution structure of Bacillus subtilis CopZ. *Biochemistry*. 40:15660–15668, 2001.
25. Wernimont AK, Huffman DL, LambAL, O'Halloran TV, Rosenzweig AC. Structural basis for copper transfer by the metallochaperone for the Menkes/Wilson disease proteins. *Nat Struct Biol.* 7:766–771, 2000.
26. Prohaska J.R. and Gybina A.A. Intracellular copper transport in mammals. *Journal of Nutrition*. 134: 1003-1006, 2004.
27. Zhang D.X., Chen Y.F., Campbell W.B., Zou A.P., Gross G.J., and Li P.L. Characteristics and superoxide-induced activation of reconstituted myocardial mitochondrial ATP-sensitive potassium channels. *Circ Res.* 89: 1177-1183, 2001.
28. Lebuffe G., Schumacker P.T., Shao Z.-H., Anderson T., Iwase H., and Vanden Hoek T.L. ROS and NO trigger early preconditioning: relationship to mitochondrial KATP channel. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 284: H299– H308, 2003.
29. Matoba T., Shimokawa H., Morikawa K., Kubota H., Kunihiro I., Urakami-Harasawa I., Mukai Y., Hirakawa Y., Akaike T., and Takeshita A. Electron spin resonance detection of hydrogen peroxide as an endothelium-derived hyperpolarizing factor in porcine coronary microvessels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 23: 1224-1230, 2003.
30. Yada T., Shimokawa H., Hiramatsu O., Kajita T., Shigetou F., Goto M., Ogasawara Y., Kajiya F. Hydrogen peroxide, an endogenous endothelium-derived hyperpolarizing factor, plays an important role in coronary autoregulation in vivo. *Circulation*. 107: 1040-1045, 2003.
31. Gao Y. J., Hirota S., Zhang D.W., Janssen L.J., Lee R.M. Mechanisms of hydrogen-peroxide-induced biphasic response in rat mesenteric artery. *Br J Pharmacol* 138: 1085-1092, 2003.

32. Rogers P.A., Chilian W.M., Bratz I.N., Bryan R.M. Jr., Dick G.M. H₂O₂ activates redox- and 4-aminopyridine-sensitive K_v channels in coronary vascular smooth muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 292: H1404-H1411, 2007.
33. Xu Z., Ji X., Boysen P.G. Exogenous nitric oxide generates ROS and induces cardioprotection: involvement of PKG, mitochondrial K_{ATP} channels, and ERK. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 286: H1433-H1440, 2004.
34. Duprat E., Girard C., Jarretou G., Lazdunski M. Pancreatic two P domain K⁺ channels TALK-1 and TALK-2 are activated by nitric oxide and reactive oxygen species. *J Physiol* 562. 1: 235-244, 2005.
35. Lin Y.F., Raab-Graham K., Jan Y.N., Jan L.Y. NO stimulation of ATP-sensitive potassium channels: involvement of Ras/mitogen-activated protein kinase pathway and contribution to neuroprotection. *PNAS* 101(no.20): 7799-7804, 2004.
36. Han J., Kim N., Kim E., Ho W.K., and Earm Y.E. Modulation of ATP-sensitive potassium channels by cGMP-dependent protein kinase in rabbit ventricular myocytes. *Journal of Biological Chemistry* Vol. 276, No. 25, Issue of June 22, pp. 22140-22147, 2001.
37. Almansa A., Navarrete F., Vega R., and Soto E. Modulation of voltage-gated Ca²⁺ current in vestibular hair cells by nitric oxide. *J Neurophysiol* 97: 1188-1195, 2007.
38. Blatter L.A., Wier W.G. Nitric oxide decreases [Ca²⁺]_i in vascular smooth muscle by inhibition of the calcium current. *Cell Calcium* 15: 122-131, 1994.
39. Yoshimura N., Seki S., de Groat W.C. Nitric oxide modulates Ca²⁺ channels in dorsal root ganglion neurons innervating rat urinary bladder. *J Neurophysiol* 86: 304-311, 2001.
40. D'Ascenzo M., Martinotti G., Azzena G.B., Grassi C. cGMP/protein kinase G-dependent inhibition of N-type Ca²⁺ channels induced by nitric oxide in human neuroblastoma IMR32 cells. *J Neurosci* 22: 7485-7492, 2002.
41. Carabelli V., D'Ascenzo M., Carbone E., Grassi C. Nitric oxide inhibits neuroendocrine Cav1 L-channel gating via cGMP-dependent protein kinase in cell attached patches of bovine chromaffin cells. *J Physiol* 541: 351-366, 2002.
42. Bauser-Heaton H.D., Song J., Bohlen H.G. Cerebral microvascular nNOS responds to lowered oxygen tension through a bumetanide-sensitive cotransporter and sodium-calcium exchanger. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 294: H2166-H2173, 2008.

Сведения об авторах:

Петухов Валерий Иванович, профессор кафедры психологии Балтийской международной академии (Рига, Латвия); профессор Балтийского института психологии, доктор медицинских наук
Riga, Latvia; LV-1003, tel.: (+371) 67100608; fax: (+371) 67100219, e-mail: vip-val@yandex.ru

Щуков Артемий Николаевич, старший преподаватель кафедры теоретических и медико-биологических основ физической культуры Владимирского государственного университета, e-mail: shchukovdoc@gmail.com