

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ



УДК 57.017.647+616.053+612.133

Изменения регуляции церебральных вазоактивных реакций при старении: вклад H_2S в сGMP-индуцированную дилатацию

О.П. Горшкова , В.Н. Шуваева* 

*Институт физиологии имени И.П. Павлова, Российская академия наук,
Россия, 199034, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6
e-mail: shuvaevavn@infran.ru

Сигнальный каскад «NO (nitric oxide) → растворимая гуанилатциклаза (sGC, soluble guanylate cyclase) → циклический гуанозинмонофосфат (сGMP, cyclic guanosine monophosphate) → протеинкиназа G (PKG, protein kinase G)» играет значительную роль в дилатации сосудов, и его нарушения могут являться причиной цереброваскулярных заболеваний. Ключевым звеном сигнальной системы NO → PKG является сGMP, внутриклеточный уровень которого во многом регулируется расщепляющими его ферментами – сGMP-гидролизующими фосфодиэстеразами (PDE, phosphodiesterase). Старение сопровождается снижением скорости синтеза NO и уровня сGMP, а также повышением активности PDE. В этих условиях возможно увеличение вклада компенсаторных механизмов в активацию отдельных участков сигнального пути NO → PKG, в частности, с участием посредников, изменяющих уровень сGMP. В качестве одного из активаторов пути NO → PKG в настоящее время рассматривается сероводород (H_2S , hydrogen sulfide), который может повышать уровень сGMP в клетке путем ингибирования PDE или непосредственно взаимодействовать с сGMP, что сопровождается образованием биологически активных соединений, менее подверженных ферментативному разложению. H_2S -опосредованная активация сGMP показана в кардиомиоцитах и гладкомышечных клетках сосудов брыжейки и аорты, но в сосудах головного мозга этот механизм не изучен. Целью работы стало изучение вклада H_2S в регуляцию сGMP-индуцированной вазодилатации мозговых сосудов и изменения этого механизма регуляции вазоактивных реакций при старении. У крыс Sprague-Dawley в возрасте 4 мес. (молодые) и 18 мес. (взрослые) методом прижизненной микрофотосъемки проводили сравнительное исследование выраженности дилаторной реакции пилальных артерий на воздействие проникающего в клетки аналога сGMP – 8-Br-сGMP (8-bromine-cyclic guanosine monophosphate), а также оценивали влияние экзогенного (донор – NaHS, sodium hydrosulfide) и эндогенного H_2S на выраженность сGMP-индуцированной вазодилатации. В качестве блокатора эндогенного H_2S применяли пропаргилглицин (proprargylglycine). Показано, что у крыс в возрасте 4 мес. опосредованная H_2S регуляция индуцированной сGMP дилатации пилальных артерий выражена только у крупных артерий диаметром более 40 мкм. Старение приводит к усилению вклада эндогенного H_2S в индуцированную сGMP дилатацию пилальных артерий всех калибров и увеличению чувствительности сGMP-опосредованных реакций мелких пилальных артерий к экзогенному H_2S .

Ключевые слова: вазодилатация, оксид азота, циклический гуанозинмонофосфат, церебральные артерии, сероводород, возрастные изменения

DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-80-2-3

Введение

В функционировании сердечно-сосудистой системы (ССС) значительную роль играет сигнальный каскад NO (nitric oxide) → растворимая гуанилатциклаза (sGC, soluble guanylate cyclase) → циклический гуанозинмонофосфат (сGMP, cyclic guanosine monophosphate) → протеинкиназа G (PKG, protein kinase G) [1, 2]. Многочисленные исследования показывают, что активация этого пути в сосудистых

гладкомышечных клетках (ГМК) приводит к вазодилатации [3, 4]. Сосудистые ГМК – это сократительные клетки, которые регулируют кровоток, и их anomalies лежат в основе развития многих расстройств в ССС, в том числе и в возникновении цереброваскулярных заболеваний [4, 5]. Сигнальный путь NO → PKG – привлекательная мишень для разработки новых методов лечения заболеваний, приводящих к нарушению мозгового кровотока.

Одним из аспектов развития таких заболеваний является возникновение дисфункции эндотелия и связанное с ней нарушение синтеза и биодоступности NO [5]. В этих условиях наиболее простой способ активации пути NO→PKG видится в увеличении уровня NO, но клиническая значимость доноров NO ограничена [5, 6], что приводит к необходимости поиска других подходов и более детального изучения отдельных звеньев этого пути. В качестве одного из активаторов пути NO→sGC→cGMP→PKG в настоящее время рассматривается сероводород (H₂S, hydrogen sulfide) [7–9], который может воздействовать на все его участки. Ключевым звеном сигнальной системы NO→PKG является cGMP, уровень которого влияет на величину сосудистого тонуса, атеросклеротические процессы, функционирование сосудистых ГМК после ишемических нарушений [4, 10]. Внутриклеточное содержание cGMP в значительной степени регулируется расщепляющими его ферментами – cGMP-гидролизующими фосфодиэстеразами (PDE, phosphodiesterase). H₂S, ингибируя PDE, подавляет деградацию cGMP, повышая его уровень и усиливая активацию PKG [7, 9, 11]. Кроме того, взаимодействуя с cGMP, H₂S образует менее подверженное ферментативному разложению биологически активное соединение 8-SH-cGMP (8-thiol-cyclic guanosine monophosphate) [8], тем самым повышая содержание cGMP в клетке. Наконец, H₂S может увеличивать синтез cGMP за счет стимуляции работы растворимых гуанилатциклаз и фосфорилирования эндотелиальной NO-синтазы [8, 12]. Таким образом, H₂S разными путями может активировать cGMP и увеличивать его синтез. H₂S-опосредованная активация cGMP показана в кардиомиоцитах, ГМК сосудов брыжейки, аорты и кишечника [9, 11], но в сосудах головного мозга этот механизм не изучен.

Старение сопровождается развитием сосудистой эндотелиальной дисфункции, снижением синтеза NO, уровня cGMP [13, 14] и повышением активности PDE [15]. В этих условиях роль H₂S в активации cGMP может возрастать. Однако с возрастом в эндотелии и ГМК церебральных артерий снижается уровень экспрессии участвующих в синтезе H₂S ферментов – цистатионин-γ-лиазы (CSE, cystathionine-γ-lyase) и цистатионин-β-синтазы [16, 17], а также происходит повреждение ГМК в результате окислительного стресса [18]. Эти процессы могут приводить к изменению путей H₂S-опосредованной активации cGMP в ГМК сосудов головного мозга и к изменениям в передаче сигналов по цепи NO→sGC→cGMP→PKG. Целью данного исследования было изучение вклада H₂S в регуляцию cGMP-индуцированной вазодилатации мозговых сосудов и изменения этого механизма регуляции вазоактивных реакций при старении. Проводили сравнительное исследование выраженности дилаторной реакции пиальных артерий на

воздействие проникающего в клетки аналога cGMP – 8-Br-cGMP (8-bromine-cyclic guanosine monophosphate), а также оценку влияния экзогенного и эндогенного H₂S на выраженность cGMP-опосредованной вазодилатации у 4-месячных и 18-месячных крыс.

Материалы и методы

Эксперименты поставлены на самцах крыс Sprague-Dawley в возрасте 4 мес. (n = 13, масса 422 ± 10 г, АД = 122 ± 7 мм рт. ст.) и 18 мес. (n = 13, масса 700 ± 20 г, АД = 129 ± 5 мм рт. ст.) из центра коллективного пользования «Биоколлекция Института физиологии РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральной систем» (Институт физиологии имени И.П. Павлова РАН, г. Санкт-Петербург). Животные содержались по 6 особей в клетках Т4 в стандартных условиях (свободный доступ к воде и пище, стандартная диета, искусственное освещение 12 ч свет/12 ч темнота). Крыс наркотизировали золеилом (внутрибрюшинно, 20 мг/кг; Virbac, Франция), после чего катетеризировали бедренную артерию для измерения среднего артериального давления (АД) инвазивным способом (датчик DTXPlus™, Argon Critical Care Systems, Сингапур). В теменной области черепа делали отверстие, твердую мозговую оболочку в пределах трепанационного окна удаляли. Изучали прижизненные реакции пиальных артерий на орошение поверхности мозга растворами используемых в эксперименте веществ, термостатируемых при 37°C. В предварительных опытах были определены концентрации и продолжительность воздействия каждого из веществ для достижения максимального эффекта с учетом возраста животных. Возрастных отличий не обнаружено. Использовались: аналог cGMP – 8-Br-cGMP (8-bromo-cGMP, sodium salt, Sigma-Aldrich, США; 10⁻⁴ М), воздействие 10 мин; донор экзогенного H₂S – раствор гидросульфида натрия (NaHS, sodium hydrosulfide, Sigma-Aldrich; 30 мкМ), воздействие 2 мин; блокатор фермента CSE (cystathionine-γ-lyase) – пропаргилглицин (DL-propargylglycine, JNECHEM CO, LTD, Китай; 1 мМ), воздействие 10 мин.

В начале эксперимента поверхность мозга в течение 15 мин непрерывно орошали раствором Кребса, аэрированным карбогеном (в мМ: NaCl – 120,4; KCl – 5,9; NaHCO₃ – 15,5; MgCl₂ – 1,2; CaCl₂ – 2,5; NaH₂PO₄ – 1,2; глюкоза – 11,5; pH 7,4), после чего фиксировали фоновое изображение сосудов. В первой серии экспериментов после записи фонового изображения раствор Кребса заменяли раствором 8-Br-cGMP и регистрировали реакцию пиальных сосудов на это вещество. Затем к раствору 8-Br-cGMP добавляли раствор NaHS и на фоне введения экзогенного H₂S регистрировали реакцию на 8-Br-cGMP. Во второй серии

экспериментов вместо раствора NaHS использовали пропаргилглицин (propargylglycine), блокатор фермента CSE (cystathionine-γ-lyase), участвующего в продукции эндогенного H₂S. Регистрировали реакции пиальных артерий на воздействие 8-Br-cGMP до и после блокирования CSE. Из эксперимента животных выводили передозировкой раствора золетила.

Изображение пильной сосудистой сети получали на экране компьютера с помощью микроскопа MC-2-ZOOM (Микромед, Россия) со встроенной цветной камерой-видеоокуляром Basler acA 4600-10uc (Германия; разрешение 14 MP, 4608 × 3288 px). Увеличение изображения (×210) вычисляли с помощью стандартного объект-микрометра. По окончании эксперимента на статичных изображениях измеряли диаметр артериальных сосудов с использованием компьютерной программы «Blood Vessel Media Analyzer» (разработчик: Denis Chouvaev, Швеция) [19].

У каждой крысы был измерен диаметр от 50 до 70 сегментов пиальной артериальной сети, которые при дальнейшем анализе рассматривались как отдельные сосуды. Чтобы установить зависимость реакций артерий от их диаметра, сосуды разделили на 3 группы: диаметром менее 20 мкм (мелкие), от 20 до 40 мкм (средние) и более 40 мкм (крупные). О количестве расширившихся артерий судили по отношению их числа к общему числу артерий в группе, выражали это отношение в процентах. Для каждого сосуда определяли степень его расширения, относя величину изменения диаметра в ответ на воздействие исследуемого вещества к диаметру сосуда перед воздействием, выражая ее в процентах. Наши предыдущие исследования [19, 20] показывают, что основным критерием реактивности пиальной сосудистой сети является изменение числа тем или иным образом прореагировавших на воздействие сосудов за счет вовлечения новых участков сети в сосудистый ответ. Степень реакции изменяется не всегда. При анализе результатов в данной работе степень расширения рассматривалась нами и как самостоятельный критерий изменения сосудистого ответа, и совместно

с изменением числа расширившихся сосудов. В последнем случае увеличение степени расширения на фоне увеличения числа дилатаций оценивалось как более значительное усиление реакции.

Данные по отдельным группам сосудов рассчитывали для каждого животного, усредняли и затем анализировали, используя пакет статистических программ Microsoft Excel 2019 и программу InStat 3.02 (GraphPad Software Inc., США). С учетом дифференцировки сосудов по диаметрам длина каждой выборки составляла не менее 15 значений. Нормальность распределения выборки определяли с помощью теста Колмогорова-Смирнова. Во всех случаях полученные данные подчинялись нормальному закону распределения, поэтому их статистический анализ проводили с использованием параметрических методов. Сравнение средних значений двух независимых выборок проводили, используя непарный t-тест. Результаты анализа сосудистых реакций представлены как среднее значение параметра и стандартная ошибка среднего (M ± SEM). Статистически значимыми считали различия при p < 0,05.

Результаты

Воздействие 8-Br-cGMP у крыс в возрасте 4 мес. приводило к расширению пиальных артерий. Наибольшее число дилатаций (в среднем 95%, рисунок, А) отмечено в группе крупных артерий диаметром более 40 мкм. В остальных группах расширялось в среднем около 75% артерий (рисунок, А). Степень расширения всех исследованных артерий составила в среднем около 37% (рисунок, Б). Добавление в орошающий мозг раствор донора экзогенного H₂S, раствора NaHS, у крыс этой возрастной группы не изменяло значимо число и степень расширения артерий в ответ на воздействие 8-Br-cGMP (рисунок, А, Б). Блокада участвующего в синтезе H₂S фермента CSE пропаргилглицином в среднем на 20% уменьшила число расширившихся в ответ на воздействие 8-Br-cGMP артерий диаметром более 40 мкм. Степень дилатации всех исследованных артерий в этих условиях не изменялась (таблица).

Таблица

Влияние 8-Br-cGMP на церебральную дилатацию и вклад эндогенного H₂S в cGMP-индуцированную вазодилатацию у крыс разного возраста

Диаметр сосудов, мкм:		<20		20–40		>40	
Возраст крыс, мес:		4	18	4	18	4	18
N, %	8-Br-cGMP	78,2 ± 1,7	88,5 ± 3,5**	67,4 ± 2,5	76,6 ± 2,1*	94,9 ± 3,8	86,7 ± 4,3
	8-Br-cGMP + Propargylglycine	74,7 ± 2,1	86,2 ± 1,5	61,7 ± 3,3	72,1 ± 4,6	76,2 ± 1,4###	70,1 ± 4,4#
A, %	8-Br-cGMP	30,7 ± 4,2	50,2 ± 1,2*	28,3 ± 1,3	51,5 ± 4,4*	30,7 ± 4,8	25,4 ± 0,6
	8-Br-cGMP + Propargylglycine	34,8 ± 3,1	39,5 ± 2,1#	23,2 ± 4,3	27,7 ± 1,3###	25,11 ± 2,8	19,9 ± 2,2##

Примечание: N – число дилатированных артерий (%), A – степень расширения артерий (%). 8-Br-cGMP – до блокады эндогенного H₂S, 8-Br-cGMP + Propargylglycine – на фоне блокады эндогенного H₂S пропаргилглицином. Уровень значимости различий: * – p < 0,05, ** – p < 0,001 при сравнении показателей у 4- и 18-месячных крыс в каждой отдельной группе сосудов; #p – < 0,05, ## – p < 0,001 ### – p < 0,0001 при сравнении показателей до и на фоне блокады эндогенного H₂S в каждой отдельной группе сосудов у крыс одного возраста.

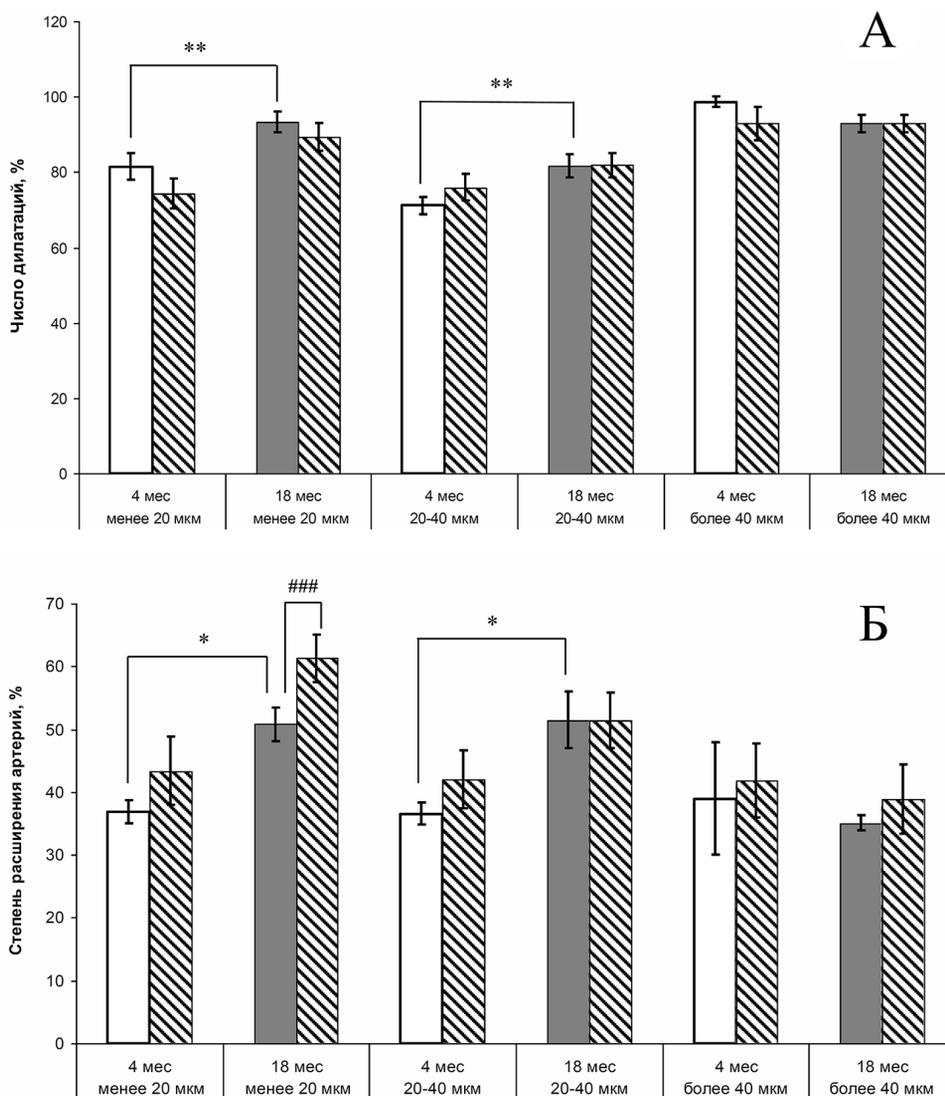


Рисунок. Влияние экзогенного H₂S на 8-Br-cGMP-опосредованную дилатацию церебральных артерий. **А** – число дилатированных артерий, % к числу артерий в группе, **Б** – степень их дилатации, % к диаметру сосуда до воздействия исследуемого вещества. 8-Br-cGMP-опосредованная дилатация у крыс в возрасте 4 мес. – белая заливка, у крыс в возрасте 18 мес. – темная заливка, 8-Br-cGMP-опосредованная дилатация на фоне введения экзогенного H₂S у крыс в возрасте 4 мес. и 18 мес. – косая штриховка. Уровень значимости различий: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ – при сравнении показателей у 4- и 18-месячных крыс в каждой отдельной группе сосудов; ### – $p < 0,001$ при сравнении показателей до и на фоне введения экзогенного H₂S

У 18-месячных крыс, по сравнению с 4-месячными, число расширившихся под воздействием 8-Br-cGMP артерий диаметром ≤ 40 мкм было больше в среднем на 15% (рисунок, А). Степень расширения этих артерий в среднем на 40% превышала аналогичный показатель у 4-месячных крыс (рисунок, Б). В ответ на добавление к орошающему поверхность мозга раствору NaHS дилататорная реакция на воздействие 8-Br-cGMP изменилась только у артерий диаметром менее 20 мкм – степень их расширения увеличилась на 55% (рисунок, Б), при этом число дилатированных артерий значимо не изменилось (рисунок, А). Блокада участвующего в продукции H₂S фермента CSE пропаргилглицином уменьшала степень расширения всех исследованных артерий под влия-

нием 8-Br-cGMP: на 20% – мелких и крупных, на 46% – артерий диаметром 20–40 мкм (таблица). Число расширившихся сосудов на фоне блокады уменьшилось только у артерий диаметром более 40 мкм – на 19% (таблица).

Обсуждение результатов

В результате исследования нами установлено, что в реакциях пиальных артерий разных диаметров на воздействие 8-Br-cGMP имеются определенные различия. У молодых крыс артерии диаметром более 40 мкм расширялись в среднем в 95% случаев, артерии меньших диаметров – примерно в 75% случаев (рисунок). Это соответствует имеющимся в литературе сведениям о преобладании сигнального пути

NO→sGC→cGMP→PKG в регуляции тонуса крупных артерий [21]. В физиологических условиях уровень cGMP в клетке и сосудистые реакции, опосредованные cGMP, регулируются преимущественно NO и натрийуретическими пептидами [8]. Но, помимо этого, регулятором cGMP-индуцированных реакций может служить и H₂S [9, 11, 22]. Повышение уровня cGMP в ответ на воздействие H₂S является результатом ингибирования PDE, расщепляющих cGMP, или его непосредственного взаимодействия с cGMP с образованием биологически активных соединений, способных активировать нижележащие звенья сигнальной цепи, в частности PKG, но более устойчивых к расщеплению фосфодиэстеразами [8]. В сосудистой системе H₂S синтезируется преимущественно с участием фермента CSE [23]. В наших экспериментах ингибитор CSE пропаргилглицин у 4-месячных крыс уменьшал число расширяющихся в ответ на воздействие 8-Br-cGMP крупных пиальных артерий. Число и амплитуда дилататорных реакций сосудов диаметром менее 40 мкм не изменялись. Полученные данные указывают на существенный вклад H₂S в cGMP-индуцированную дилатацию крупных пиальных артерий у молодых крыс.

Сравнение сосудистых реакций у 4- и 18-месячных крыс позволило выявить возрастное усиление cGMP-индуцированной дилатации пиальных артерий диаметром менее 40 мкм (рисунок). У 18-месячных крыс по сравнению с 4-месячными увеличилось как число расширившихся в ответ на воздействие 8-Br-cGMP артерий диаметром менее 40 мкм, так и степень их расширения (рисунок).

Как указывалось выше, у молодых крыс значительную роль в регуляции сосудистых реакций, индуцированных cGMP, играет NO. Старение сопровождается развитием окислительного стресса, в условиях которого снижаются выработка и биодоступность этого газотрансмиттера [8, 24]. Снижение вклада NO в дилататорные реакции пиальных артерий диаметром менее 40 мкм у крыс в возрасте 18 мес. показано нами в предыдущих экспериментах [25]. Наряду со снижением биодоступности NO при старении окислительный стресс способствует активации катализирующих гидролиз cGMP фосфодиэстераз и повышает их экспрессию [24, 26]. Мы полагаем, что усиление cGMP-индуцированной вазодилатации в данных условиях может быть связано с активацией компенсаторных механизмов сигнального пути cGMP с участием посредников, изменяющих уровень cGMP путем ингибирования PDE. В качестве такого посредника может выступать H₂S. Подтверждением этого служит тот факт, что в данном исследовании у 18-месячных крыс блокада фермента CSE, участвующего в продуцировании H₂S, уменьшала степень дилатации всех исследованных артерий на 20–40% и число дилатаций крупных артерий на 19% (таблица) в ответ

на воздействие 8-Br-cGMP. Наряду с этим у крыс в возрасте 18 мес. повышалась чувствительность сигнального пути cGMP к экзогенному H₂S. Введение в орошающий мозг раствор донора экзогенного H₂S в среднем в 1,5 раза увеличивало степень дилатации мелких пиальных артерий (диаметром менее 20 мкм) в ответ на воздействие 8-Br-cGMP (рисунок, Б), в то время как у 4-месячных крыс NaHS не изменял значимо cGMP-индуцированную дилатацию всех исследованных артерий.

Заключение

В представленной работе показано наличие механизма H₂S-опосредованной активации cGMP-индуцированных реакций в пиальных артериях крыс и его изменение при старении. У крыс в возрасте 4 мес. H₂S-опосредованная регуляция индуцированной 8-Br-cGMP дилатации пиальных артерий выражена только на уровне крупных артерий диаметром более 40 мкм. Старение приводит к усилению вклада эндогенного H₂S в индуцированную cGMP дилатацию пиальных артерий всех калибров. Наряду с этим с возрастом увеличивается чувствительность cGMP-индуцированных реакций мелких пиальных артерий к экзогенному H₂S. Исследования с использованием лабораторных крыс ограничивают прямую экстраполяцию полученных результатов на целостный организм человека. Однако, учитывая сопоставимость анатомического строения и организации кровообращения головного мозга [27] и принимая во внимание схожесть метаболизма [28] у лабораторных крыс и человека, результаты работы с высокой степенью вероятности могут быть экстраполированы на кровообращение в головном мозге человека. Обнаруженные изменения регуляции сосудистых реакций открывают возможность использования доноров экзогенного H₂S для проведения доклинических исследований по разработке методов коррекции возрастных изменений сигнального пути cGMP в мозговом кровотоке.

Работа поддержана средствами федерального бюджета в рамках государственного задания Института физиологии имени И.П. Павлова РАН (№124020100111-7). Все процедуры, выполненные на животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и одобрены Комиссией по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных при Институте физиологии имени И.П. Павлова РАН (протокол № 12/26 от 26.12.2022 г.). Все международные, национальные и/или институциональные принципы содержания и использования животных были соблюдены. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mazuryk O., Gurgul I., Oszajca M., Polaczek J., Kieca K., Bieszczad-Żak E., Martyka T., Stochel G. Nitric Oxide signaling and sensing in age-related diseases. *Antioxidants (Basel)*. 2024;13(10):1213.
2. Cai Z., Wu C., Xu Y., Cai J., Zhao M., Zu L. The NO-cGMP-PKG axis in HFpEF: From pathological mechanisms to potential therapies. *Aging Dis.* 2023;14(1):46–62.
3. Feil R., Lohmann S.M., de Jonge H., Walter U., Hofmann F. Cyclic GMP-dependent protein kinases and the cardiovascular system: Insights from genetically modified mice. *Circ. Res.* 2003;93(10):907–916.
4. Lehnert M., Dobrowinski H., Feil S., Feil R. cGMP signaling and vascular smooth muscle cell plasticity. *J. Cardiovasc. Dev. Dis.* 2018;5(2):20.
5. Kraehling J.R., Sessa W.C. Contemporary approaches to modulating the nitric oxide-cGMP pathway in cardiovascular disease. *Circ. Res.* 2017;120(7):1174–1182.
6. Grzešek G., Witczyńska A., Węglarz M., Wołowicz Ł., Nowaczyk J., Grzešek E., Nowaczyk A. Soluble guanylyl cyclase activators-promising therapeutic option in the pharmacotherapy of heart failure and pulmonary. *Hypertension. Molecules*. 2023;28(2):861.
7. Munteanu C., Popescu C., Vlădulescu-Trandafir A.I., Onose G. Signaling paradigms of H₂S-induced vasodilation: A comprehensive review. *Antioxidants (Basel)*. 2024;13(10):1158.
8. Szabo C. Hydrogen sulfide, an enhancer of vascular nitric oxide signaling: mechanisms and implications. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2017;312(1):C3–C15.
9. Nalli A.D., Bhattacharya S., Wang H., Kendig D.M., Grider J.R., Murthy K.S. Augmentation of cGMP/PKG pathway and colonic motility by hydrogen sulfide. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2017;313(4):G330–G341.
10. Fu Q., Wang Y., Yan C., Xiang Y.K. Phosphodiesterase in heart and vessels: from physiology to diseases. *Physiol. Rev.* 2024;104(2):765–834.
11. Schlossmann J., Schinner E. cGMP becomes a drug target. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 2012;385(3):243–252.
12. Lee H.J., Feliars D., Mariappan M.M., Sataranatarajan K., Choudhury G.G., Gorin Y., Kasinath B.S. Tadalafil integrates nitric oxide-hydrogen sulfide signaling to inhibit high glucose-induced matrix protein synthesis in podocytes. *J. Biol. Chem.* 2015;290(19):12014–12026.
13. Pourbagher-Shahri A.M., Farkhondeh T., Talebi M., Kopustinskiene D.M., Samarghandian S., Bernatoniene J. An overview of NO signaling pathways in aging. *Molecules*. 2021;26(15):4533.
14. Willkie S.E., Borland G., Carter R.N., Morton N.M., Selman C. Hydrogen sulfide in ageing, longevity and disease. *Biochem. J.* 2021;478(19):3485–3504.
15. Cesarini V., Guida E., Campolo F., Crescioli C., Di Baldassarre A., Pisano C., Balistreri C.R., Ruvo G., Jannini E.A., Dolci S. Type 5 phosphodiesterase (PDE5) and the vascular tree: From embryogenesis to aging and disease. *Mech. Ageing Dev.* 2020;190:111–311.
16. Calabrese V., Scuto M., Salinaro A.T., Dionisio G., Modafferi S., Ontario M.L., Greco V., Sciuto S., Schmitt C.P., Calabrese E.J., Peters V. Hydrogen sulfide and carnosine: modulation of oxidative stress and inflammation in kidney and brain axis. *Antioxidants (Basel)*. 2020;9(12):1303.
17. Hine C., Zhu Y., Hollenberg A.N., Mitchell J.R. Dietary and endocrine regulation of endogenous hydrogen sulfide production: implications for longevity. *Antioxid. Redox Signal.* 2018;28(16):1483–1502.
18. Predmore B.L., Alendy M.J., Ahmed K.I., Leeuwenburgh C., Julian D. The hydrogen sulfide signaling system: changes during aging and the benefits of caloric restriction. *Age (Dordr.)*. 2010;32(4):467–481.
19. Gorshkova O.P. The contribution of BK channels to ischemic/reperfusion changes in cerebral blood flow. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2024;60(Suppl. 1):S125–S134.
20. Shuvaeva V.N., Gorshkova O.P. Role of BK_{Ca} channels in pial-vessel dilation in rats of different ages. *Adv. Gerontol.* 2023;13(4):188–195.
21. Koeppen M., Feil R., Siegl D., Feil S., Hofmann F., Pohl U., de Wit C. cGMP-dependent protein kinase mediates NO- but not acetylcholine-induced dilations in resistance vessels *in vivo*. *Hypertension*. 2004;44(6):952–955.
22. Bucci M., Papapetropoulos A., Vellecco V., Zhou Z., Zaid A., Giannogonas P., Cantalupo A., Dhayade S., Karalis K.P., Wang R., Feil R., Cirino G. cGMP-dependent protein kinase contributes to hydrogen sulfide-stimulated vasorelaxation. *PLoS One*. 2012;7(12):e53319.
23. Chen S., Guo F., Liu X., Xi J., Xue M., Guo Y., Wen J., Dong L., Chen Z. Roles of the RhoA-ROCK signaling pathway in the endothelial H₂S production and vasodilation in rat cerebral arteries. *ACS Omega*. 2022;7(22):18498–18508.
24. Van der Linden J., Trap L., Scherer C.V., Roks A.J.M., Danser A.H.J., van der Pluijm I., Cheng C. Model systems to study the mechanism of vascular aging. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(20):15379.
25. Горшкова О.П. Особенности механизмов NO-опосредованной дилатации пимальных артерий на воздействие ацетилхолина у стареющих крыс. *Интегративная физиология*. 2022;3(3):367–377.
26. Wang J., Peng X., Lassance-Soares R.M., Najafi A.H., Alderman L.O., Sood S., Xue Z., Chan R., Faber J.E., Epstein S.E., Burnett M.S. Aging-induced collateral dysfunction: impaired responsiveness of collaterals and susceptibility to apoptosis via dysfunctional eNOS signaling. *J. Cardiovasc. Transl. Res.* 2011;4(6):779–789.
27. Бонь Л.И., Максимович Н.Е. Морфологические представления о кровообращении головного мозга крысы. *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. 2018;17(2):30–36.
28. Привалова И.Л., Горпинич А.Б., Озерова И.Ю., Глотова И.В., Богданова Е.И. Анализ функциональной значимости изменений ионного состава плазмы крови в экспериментальных исследованиях с использованием крыс в качестве биологических тест-систем. *Современные проблемы науки и образования*. 2018;(4):195.

Поступила в редакцию 20.02.2025

После доработки 15.05.2025

Принята в печать 07.06.2025

RESEARCH ARTICLE

Changes in the regulation of cerebral vasoactive reactions and aging: the contribution of H₂S to cGMP-induced dilation

O.P. Gorshkova , V.N. Shuvaeva* 

Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, Makarov emb., 6, St. Petersburg, 199034, Russia

*e-mail: shuvaevavn@infran.ru

Signal cascade NO→soluble guanylate cyclase (sGC)→cyclic guanosine monophosphate (cGMP)→protein kinase G (PKG) plays a significant role in vascular dilation. Its disorders can cause the development of cerebrovascular diseases. The key unit in the NO→PKG signaling system is cGMP. Intracellular cGMP levels are largely regulated by cGMP-hydrolyzing phosphodiesterase (PDE) enzymes that break down cGMP. Aging is accompanied by a decrease in NO synthesis and cGMP levels and an increase in PDE activity. Under these conditions, it is possible to increase the contribution of compensatory mechanisms of activation of individual sections of the NO→PKG signaling pathway, in particular with the participation of intermediaries that change the cGMP level. Hydrogen sulfide (H₂S) is currently considered as one of the activators of the NO→PKG pathway, which can increase cGMP levels in cells by inhibiting PDE or its direct interaction with cGMP to form biologically active compounds that are less susceptible to enzymatic break down. H₂S-mediated cGMP activation has been shown in cardiomyocytes and smooth muscle cells of mesenteric and aortic vessels, but this mechanism has not been studied in cerebral vessels. The aim of the work was to study the contribution of H₂S to the regulation of cGMP-induced vasodilation of cerebral vessels and changes in this mechanism of regulation of vasoactive reactions during aging. In Sprague-Dawley 4 (young) and 18-month-old (aging) rats, a comparative study of the pial arteries dilatation to the effect of the penetrating into cells analog cGMP – 8-Br-cGMP was performed using intravital microphotography, and an assessment of the effect of exogenous (donor – NaHS) and endogenous H₂S on the cGMP-induced vasodilation. Propargylglycine was used as a blocker of endogenous H₂S. It was shown that in 4-month-old rats, the H₂S-mediated regulation of cGMP-induced dilation of the pial arteries was expressed only at the level of large arteries with a diameter of more than 40 microns. Aging leads to an increased contribution of endogenous H₂S to cGMP-induced dilation of the pial arteries of all calibers and an increased sensitivity of cGMP-mediated reactions of small pial arteries to exogenous H₂S.

Keywords: *vasodilation, nitric oxide, cyclic guanosine monophosphate, cerebral arteries, hydrogen sulfide, age-related changes*

Funding: This study was supported by the State funding allocated to the Pavlov Institute of Physiology Russian Academy of Sciences (No. 124020100111-7).

Сведения об авторах

Горшкова Оксана Петровна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. Тел.: 8-813-707-25-53; e-mail: gorshkovao@infran.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8026-6161>

Шуваева Вера Николаевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. Тел.: 8-813-707-25-53; e-mail: shuvaevavn@infran.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8517-7467>