

## СЕРОВОДОРОД КАК РЕГУЛЯТОР СИСТЕМНЫХ ФУНКЦИЙ У ПОЗВОНОЧНЫХ

Поступила 23.01.11

В обзоре рассматриваются новые данные литературы и ряд результатов собственных исследований, касающиеся физиологических и патологических эффектов сероводорода – газотрансмиттера, который в последнее время привлекает усиленное внимание. Сероводород в организме синтезируется из цистеина с помощью пиридоксаль-5'-фосфатзависимых ферментов цистатионин β-синтазы (CBS) или цистатионин γ-лиазы (CSE). Под его воздействием активируются АТФ-зависимые калиевые каналы ( $K_{ATP}$ ) в гладкомышечных клетках сосудов, нейронах, кардиомиоцитах и β-клетках поджелудочной железы, что определяет существенную роль данного агента в регуляции сосудистого тонуса и сократительной активности кардиомиоцитов, в процессах нейропередачи и секреции инсулина. Рассматривается возможная роль  $H_2S$ -продуцирующих систем в патогенезе артериальной и легочной гипертензии, болезни Альцгеймера, цирроза печени. Описание некоторых аспектов действия сероводорода «вне нервной системы», возможно, также вызовет интерес у читателя, поскольку позволит полнее представить роль этого газотрансмиттера в контроле системных функций.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** сероводород, газотрансмиттеры, висцеральные системы.

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время появляется все больше свидетельств того, что пути передачи сигналов в процессе регуляции гомеостаза у наиболее высокоорганизованных животных – позвоночных – многочисленны и разнообразны. Существенную роль в данном аспекте играют монооксид (оксид) азота (NO), монооксид углерода (CO) и сульфид водорода (сероводород,  $H_2S$ ). Эти газообразные (в нерастворенном состоянии) посредники, квалифицируемые как газотрансмиттеры [1], в то же время могут являться весьма высокотоксичными агентами. Сформулированы ряд критериев, которым должны соответствовать газотрансмиттеры. В свободном состоянии они существуют в виде газов, их молекулы свободно проникают сквозь биологические мембраны, указанные соединения вырабатываются эндогенно, их синтез регулируется ферментами, они осуществляют определенные функции, будучи в физиологических концентрациях, и имеют специфические кле-

точные и молекулярные мишени [1]. В отличие от традиционных исследований процессов сигнализации при нейро- и эндокринных взаимодействиях, изучение межклеточных коммуникаций, обеспечиваемых газообразными посредниками, началось сравнительно недавно. NO стал первым газотрансмиттером, идентифицированным в пионерных исследованиях на изолированных кровеносных сосудах [2].  $H_2S$  первоначально был описан как фактор, участвующий в модуляции нейронной активности [3]; позднее были установлены его вазорелаксационные свойства [4]. Несмотря на несколько запоздалое начало изучения физиологии газотрансмиттеров, сейчас они безоговорочно признаются как биологически высокозначимые и клинически важные посредники [5].

### МЕТАБОЛИЗМ $H_2S$ В ОРГАНИЗМЕ

Субстратом синтеза эндогенного  $H_2S$  является серосодержащая аминокислота L-цистеин, извлекаемая из пищи или синтезируемая из L-метионина путем так называемой транссульфурации с образованием гомоцистеина в качестве промежуточного

---

<sup>1</sup>Институт биологии моря им. А. В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток (РФ).

Эл. почта: anvaraksin@mail.ru (А. А. Вараксин);  
puschina@mail.ru (Е. В. Пущина).

продукта. Существуют два главных пути катаболизма цистеина [6]. Одним из них является окисление SH-группы диоксигеназой цистеина в цистеинсульфинат, который может декарбоксилироваться, трансформируясь в гипотаурин, или превращаться в пируват и сульфит. Последний затем окисляется сульфитоксидазой до сульфата. Второй путь связан с удалением атома серы из молекулы цистеина без окисления этого атома с последующим его включением в синтез  $H_2S$ . Данные процессы катализируются цистатионин- $\beta$ -синтазой (CBS, НФ 4.2.1.22) и цистатионин- $\gamma$ -лиазой (CSE, НФ 4.4.1.1). Оба фермента зависимы от пиридоксаль 5'-фосфата (витамина  $B_6$ ), но механизмы синтеза  $H_2S$  с их участием различаются. CSE катализирует превращение цистеина в тиоцистеин, пируват и аммоний; тиоцистеин затем неферментным путем разлагается на цистеин и  $H_2S$  [7]. Основным механизмом образования  $H_2S$  с участием CBS связан с конденсацией гомоцистеина и цистеина, что приводит к образованию цистатионина; при этой реакции высвобождается  $H_2S$ . CBS и CSE широко распространены в тканях, однако CBS является главным источником  $H_2S$  в ЦНС, а CSE является основным  $H_2S$ -продуцирующим ферментом в сердечно-сосудистой системе (ССС). В некоторых органах, таких как печень и почки, в синтезе  $H_2S$  принимают участие оба фермента.

В мозгу позвоночных активность CBS под действием электрической стимуляции и глутамата быстро повышается [8]. S-аденозилметионин, промежуточный продукт метаболизма метионина и основной донор метильных групп, является аллостерическим активатором CBS. По-видимому, в регуляции образования  $H_2S$  в мозгу участвуют половые стероидные гормоны: активность CBS и уровень  $H_2S$  у самцов крыс выше, чем у самок, а кастрация мышей приводит к снижению образования  $H_2S$  [8, 9].

Катаболизм  $H_2S$  мало исследован, и большая часть данных в этом аспекте получена с использованием экзогенного  $H_2S$ .  $H_2S$  быстро окисляется в митохондриях в тиосульфат, который далее превращается в сульфит и сульфат. Окисление  $H_2S$  в тиосульфат, очевидно, связано с транспортом электронов в процессе митохондриального дыхания [10]. Превращение тиосульфата в сульфит катализируется роданезой (НФ 2.8.1.1), которая переносит серу с тиосульфата на цианид или другие акцепторы. Образующийся при этой реакции сульфит быстро окисляется в сульфат сульфитоксидазой. Таким образом, в организме основным конечным продуктом

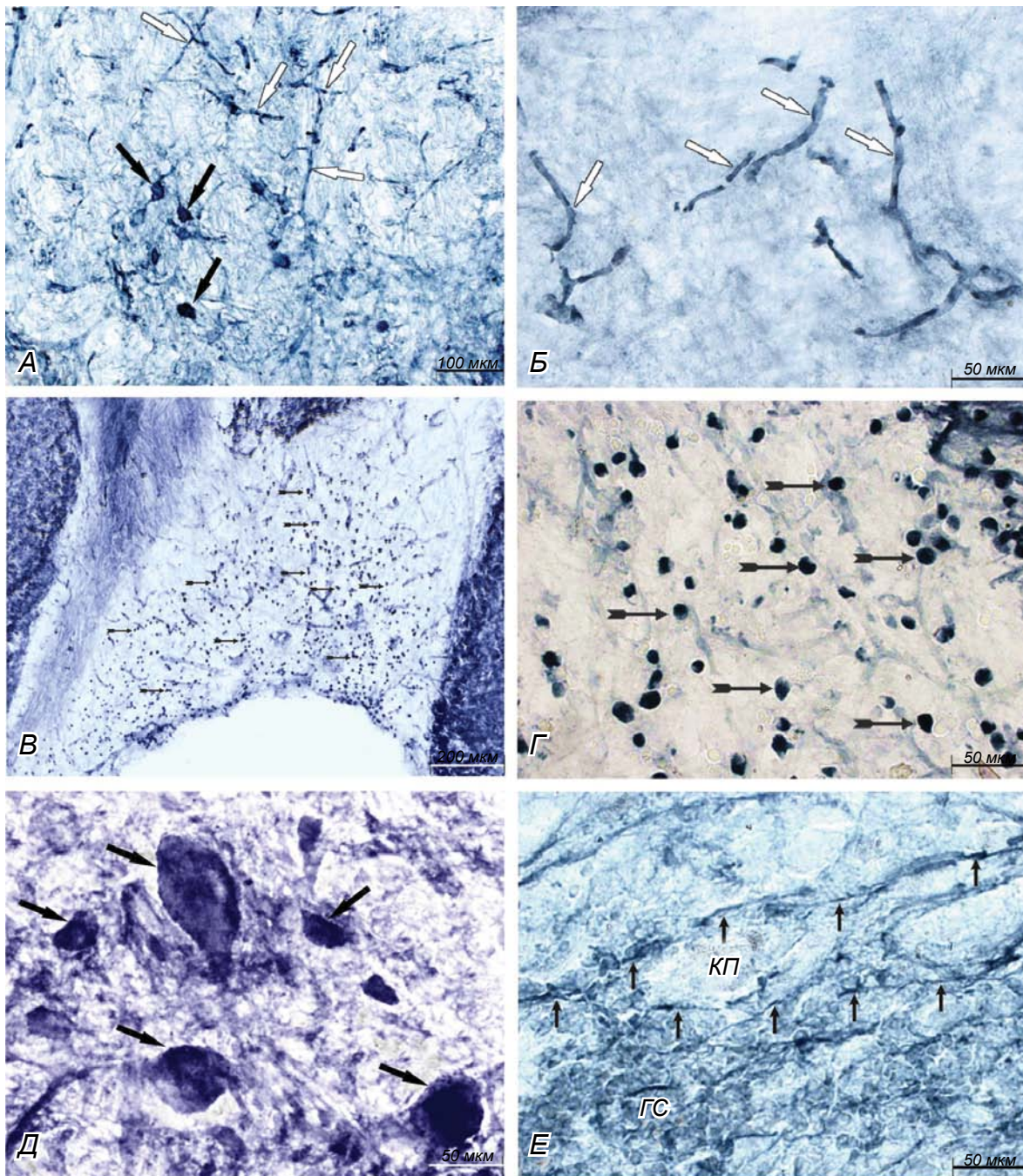
метаболизма  $H_2S$  является сульфат. Тиосульфат в моче считается специфическим маркером  $H_2S$ , поскольку известно, что большая часть сульфата в моче образуется при окислении цистеина цистеиндиоксигеназой [11]. Другой путь метаболизма  $H_2S$  основывается на его метилировании тиол-S-метилтрансферазой с продукцией метилмеркаптана и диметилсульфида [12]. Эта реакция протекает главным образом в цитозоле. Кроме того,  $H_2S$  может связываться с метгемоглобином с формированием сульфгемоглобина.

## $H_2S$ В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ

Показано, что гомогенаты мозга *in vitro* способны продуцировать  $H_2S$  [3]. В гиппокампе и мозжечке крыс и рыб был обнаружен высокий уровень экспрессии CBS. В наших исследованиях было установлено, что у лосося-симы *Oncorhynchus masou* CBS маркирует нейроны ретикулярной формации (см. рисунок, А), сосуды (Б), нейроны вентрального спинального столба (Д) и лиановидные волокна в мозжечке (Е). Показано, что эндогенный  $H_2S$  повышает чувствительность НМДА-рецепторов к глутамату [13]. Подобная активация данных рецепторов обуславливает долговременную потенциацию (ДВП) в гиппокампе. Механизмы, посредством которых  $H_2S$  стимулирует функцию НМДА-рецепторов, пока неизвестны. Предполагается, что  $H_2S$  модулирует редокспотенциал тиоловых групп на внеклеточных доменах НМДА-рецепторов и активирует их за счет своих восстанавливающих свойств.

Внутриклеточно  $H_2S$  формирует ответ, опосредованный НМДА-рецепторами, путем усиления продукции цАМФ [14]. Экзогенный  $H_2S$  повышает продукцию цАМФ в первичной культуре нейронов мозга, в мозжечке и глиальных клетках [13]. При развитии феномена ДВП цАМФ активирует цАМФ-зависимую протеинкиназу [15].

Показано, что  $H_2S$  способен регулировать активность ГАМК<sub>B</sub>-рецепторов, расположенных пре- и постсинаптически [16]. Стимуляция постсинаптических рецепторов ГАМК индуцирует долговременную депрессию постсинаптической передачи. Это связано с повышением уровня  $K^+$  и является существенным фактором в тонкой настройке тормозной нейротрансмиссии. В нейронах дорсального ядра шва и зоне CA1 гиппокампа  $H_2S$  участвует в индукции гиперполяризации, увеличивая приток  $K^+$  через АТФ-зависимые калиевые каналы ( $K_{ATP}$ ).



Иммуногистохимическое выявление цистатионин-β-синтазы (CBS) в ЦНС и сосудах головного мозга лосося-сима *Oncorhynchus masou* и карпа *Cyprinus carpio*.

*A* – CBS-иммунопозитивные клетки (указаны черными стрелками) и капилляры (указаны белыми стрелками) в крупноклеточной ретикулярной формации продолговатого мозга сима; *B* – CBS-иммунопозитивные сайты в сосудах мозга сима (указаны белыми стрелками); *C* – CBS-иммунопозитивные глиоциты в перивентрикулярной области мозга карпа (клетки указаны мелкими стрелками); *D* – CBS-иммунопозитивные нейроны спинного мозга сима (указаны черными стрелками); *E* – CBS-иммунопозитивные лиановидные волокна в коре мозжечка сима (указаны мелкими стрелками). *KП* – клетка Пуркинье, *ГС* – гранулярный слой мозжечка. На рисунке приведены результаты собственных исследований.

Імуногістохімічне виявлення цистатіонін-β-синтази (CBS) у ЦНС та судинах головного мозку лосося-сіми *Oncorhynchus masou* й коропа *Cyprinus carpio*.

$H_2S$  также участвует в регуляции кровяного давления посредством влияния на  $K_{ATP}$ -каналы в нейронах гипоталамуса [17].

В пресинаптических сайтах ГАМК<sub>B</sub>-рецепторы регулируют высвобождение ГАМК и L-глутамата путем блокирования потенциалзависимых кальциевых каналов. Таким образом,  $H_2S$ , активируя ГАМК<sub>B</sub>-рецепторы, в существенной степени задействован в поддержание равновесия между процессами возбуждения и торможения в мозгу. Ряд авторов считают, что  $H_2S$  является основным модулятором кальциевого гомеостаза в нейронах, активируя поступление кальция в цитозоль через кальциевые каналы L-типа [18].

Кроме участия в процессах нейромодуляции,  $H_2S$  вовлечен в защиту нейронов от окислительного стресса. Известно, что восстановленный глутатион выполняет роль одного из основных антиоксидантных протекторов мозга. Эта протективная функция реализуется путем интенсивного захвата свободных радикалов и других реактивных групп, удаления пероксида водорода и липидных пероксидов; данные процессы предотвращают окисление других биомолекул [19]. В условиях *in vitro*  $H_2S$  проявляет нейропротективные свойства, сходные с таковыми глутамата. В условиях эксперимента введение донора  $H_2S$  NaHS приводит к увеличению количества глутатиона в результате повышения активности  $\gamma$ -глутамилцистеинсинтазы и скорости транспорта цистеина. Показано, что увеличение содержания глутатиона защищает нейроны от программируемой клеточной смерти (апоптоза) в условиях окислительного стресса, запускаемого аномальным повышением концентрации L-глутамата.

$H_2S$  играет важную нейромодуляторную роль в глиальных клетках. Астроциты необходимы для поддержания нормальных физиологических свойств нейронов, поскольку эти глиальные элементы способны регулировать кислотно-щелочной гомеостаз и поглощать различные нейротрансмиттеры, включая L-глутамат [20]. В отличие от нейронов, передающих сигналы в основном путем генерации потенциалов действия (ПД), астроциты и другие глиальные клетки «общаются» друг с другом посредством кальциевой сигнализации. На данном феномене в значительной мере базируется модуляция состояний нейронов и сосудов [20, 21]. Показано, что экзогенный  $H_2S$  вызывает кальциевые волны в первичной культуре астроцитов и перекрывающихся срезах гиппокампа.

Микроглиальные клетки, как известно, могут

быть активированы многими внешними воздействиями [22]. Предполагается, что изменения состояния микроглии являются существенными патогенетическими факторами развития болезней Альцгеймера [23] и Паркинсона [24]. Экзогенный  $H_2S$  обратимо увеличивает содержание внутриклеточного кальция ( $[Ca^{2+}]_i$ ) в микроглиальных клетках за счет высвобождения его из внутриклеточных депо и поступления в клетку через плазматическую мембрану [25]. Поскольку  $H_2S$ , как и другие газотрансмиттеры, способен к быстрой диффузии, предполагается, что он может играть важную роль в активации обширных популяций микроглиоцитов, повышая в соседствующих клетках внутриклеточный уровень кальция.

Известно, что при многих нейропатологических состояниях формируются воспалительные ответы, опосредуемые активацией иммунных, нервных и глиальных клеток. Активированные глиальные клетки, выделяющие различные про- и противовоспалительные хемокины, ответственны за инициацию активности иммунных клеток, их инфильтрацию и координацию их активности в мозгу [26]. Активированные микроглиальные клетки продуцируют и выделяют провоспалительные факторы, такие как NO, фактор некроза опухолей (TNF) и интерлейкин-1 $\beta$ , которые впоследствии способны повышать степень повреждения тканей и вызывать гибель клеток [23].

## УЧАСТИЕ $H_2S$ В ПОСТНАТАЛЬНОМ МОРФОГЕНЕЗЕ ЦНС

В перивентрикулярной области продолговатого мозга, вентральной и латеральной зонах мозжечка карпа *Cyprinus carpio* были выявлены клетки, лишенные отростков (очевидно, глиальные), которые оказались высокоиммунореактивными по отношению к важнейшему ферменту, задействованному в синтез  $H_2S$  – CBS (см. рисунок, B, Г). CBS-иммунореактивные клетки в ЦНС карпа расположены в перивентрикулярной зоне, соответствующей области первичной пролиферации. Размеры таких клеток, их местоположение в мозгу и взаимоотношение с  $H_2S$ -продуцирующими нейронами указывают на то, что в перивентрикулярной зоне мозга присутствует  $H_2S$ -продуцирующая глия [27]. Поскольку в настоящее время установлено [28], что некоторые нейротрансмиттеры, локализованные в клетках-предшественницах пери-

вентрикулярной области мозга, могут выступать в качестве регуляторов процесса незембрионального нейрогенеза (adult neurogenesis), предположение о том, что  $H_2S$ , подобно  $NO$ , может также выступать в качестве регулятора постнатального нейрогенеза, представляется вполне уместным [27].

Результаты недавних исследований показали, что нейроны вскоре после их образования из клеток-предшественниц и задолго до формирования межнейронных связей и начала синаптогенеза начинают секретировать характерные сигнальные молекулы [29]. В качестве таких молекул могут выступать нейропептиды, ферменты синтеза «классических» нейромедиаторов и  $NO$ , трансмембранные и везикулярные транспортеры. Большая часть сигнальных молекул участвуют в аутокринной и паракринной регуляции дифференцировки нейронов-мишеней, выступая в качестве морфогенетических или транскрипционных факторов [29]. Показано, что  $NO$  играет роль сигнального агента, регулирующего процессы направленного роста аксонов и дендритов, а также миграцию дифференцирующихся нейронов [30]. У млекопитающих время действия сигнальных молекул ограничивается определенными периодами онтогенеза, во время которых реализуется долгосрочное морфогенетическое влияние на дифференцировку нейронов-мишеней и экспрессию специфического фенотипа [31]. У рыб же процессы постнатального нейро- и глиогенеза в перивентрикулярной области идут и во взрослом состоянии [32]. Результаты проведенных ранее исследований показали наличие NADPH-положительных и NOS-иммунореактивных клеток в перивентрикулярных областях мозга тихоокеанского лосося-симы (*Oncorhynchus masou*). У карпообразных в перивентрикулярной области активность NADPH-NOS не выявляется; по-видимому, в данной области мозга карпа в качестве сигнальной молекулы может выступать  $H_2S$  [33].

## $H_2S$ И РАЗМНОЖЕНИЕ

С использованием иммуногистохимических методов было обнаружено, что распределение CBS и CSE в семеннике крысы различно. CBS выявляется преимущественно в клетках Лейдига, а также в клетках Сертоли и половых клетках, находящихся на разных стадиях развития, в то время как CSE – в клетках Сертоли и сперматогониях [34]. В яичнике мышцы CBS экспрессируется в фолликулярных клет-

ках на всех стадиях развития фолликула. В поздних антральных фолликулах CBS-иммунореактивный белок отмечается в гранулезных клетках, примыкающих к антруму, и в кулумусных клетках, расположенных вокруг ооцита, в котором экспрессии CBS не наблюдается [35].

Предполагается, что высокий уровень экспрессии CBS в клетках кулумуса интенсифицирует синтез глутатиона, защищающего данные клеточные элементы от действия свободных радикалов. Снижение экспрессии CBS при культивировании закончивших рост ооцитов *in vitro* вызывает задержку созревания последних [36]. В ходе процесса оплодотворения глутатион принимает участие в деконденсации ядерного материала сперматозоида, что является необходимым условием формирования мужского пронуклеуса [37].

Как и  $NO$ ,  $H_2S$  участвует в регуляции эрекции. Интракавернозное введение  $NaHS$  вызывает значительное увеличение размеров полового члена у крыс и повышение давления внутри кавернозных тел, а пропаргилглицин значительно подавляет эти процессы [38]. Позднее было показано, что гладкие мышцы *corpus cavernosum* способны эндогенно синтезировать  $H_2S$ , который демонстрирует проэректильный фармакологический эффект. Ингибиторы CBS значительно усиливают вызванное норадреналином сокращение гладких мышц *corpus cavernosum* и не оказывают заметного действия на  $NO$ -эргическую релаксацию в препаратах этих мышц, сокращение которых было предварительно вызвано норадреналином. Предполагается, что действие  $H_2S$  на эректильную функцию у млекопитающих протекает с участием цАМФ [39]. Результаты исследования гладких мышц матки беременных крыс свидетельствуют о том, что под действием донора  $H_2S$  гидросульфида натрия ( $NaHS$ ) спонтанные сокращения миометрия ослабляются.

## $H_2S$ И РЕГУЛЯЦИЯ ФУНКЦИЙ ССС

Основным  $H_2S$ -продуцирующим ферментом в пределах ССС является CSE. Результаты иммуногистохимических исследований и применения обратной полимеразной цепной реакции показали, что CSE экспрессируется в гладкомышечных клетках сосудов и не обнаруживается в эндотелиальных клетках [40].

Блокатор каналов  $K_{ATP}$  глибенкламид ослабляет гипотензивное действие  $H_2S$  *in vivo* и сосудорасширяющее действие *in vitro* [40]. Согласно данным

электрофизиологических исследований с применением метода “patch-clamp”,  $H_2S$  увеличивает  $K_{ATP}$ -опосредуемый ток и индуцирует гиперполяризацию в изолированных гладкомышечных клетках сосудов [41, 42]. Ингибиторы CSE снижают проводимость  $K_{ATP}$ -каналов, что служит подтверждением участия эндогенного  $H_2S$  в поддержании функционирования калиевых каналов на базисном уровне. Таким образом,  $H_2S$  обеспечивает релаксацию стенок кровеносных сосудов в результате открывания АТФ-зависимых калиевых каналов в гладкомышечных клетках этих сосудов.

В отличие от прямого действия на гладкомышечные клетки,  $H_2S$ -индуцированная вазорелаксация, зависящая от эндотелия, не связана с влияниями на  $K_{ATP}$ -каналы [41]. NO также активирует  $K_{ATP}$ -каналы, но этот эффект опосредован циклическим гуанозинмонофосфатом (цГМФ) [43]. Таким образом, для  $H_2S$ , очевидно, характерен уникальный механизм действия на сосуды, не свойственный другим известным газовым трансммиттерам – NO и CO.

Образование эндогенного  $H_2S$  из цистеина усиливается под влиянием тестостерона. Этот гормон *in vitro* вызывает дозозависимую вазодилатацию аорты у крысы. Предполагается, что его действие связано с модуляцией ферментативной активности CSE [44]. Интересно, что синтез  $H_2S$  в гладкомышечных клетках сосудов и вазорелаксирующие свойства данного агента характерны для всех исследованных к настоящему времени позвоночных – рыб, амфибий, рептилий, птиц и млекопитающих. Очевидно,  $H_2S$  является физиологически более древним сигнальным агентом, чем NO; вазорелаксирующие свойства последнего впервые проявляются лишь на стадии эволюции, соответствующей амфибиям [45, 46]. Как предполагается,  $H_2S$  даже в низких дозах может индуцировать вазоконстрикцию, что связано с изменением уровня эндотелиального NO. В условиях параллельного действия доноров  $H_2S$  и NO показано, что при этом угнетаются сосудорасширяющие эффекты NO *in vitro* и его гипотензивное действие *in vivo*. Донор  $H_2S$  (NaHS) в низких концентрациях модулирует NO-зависимые эффекты ацетилхолина и гистамина, не оказывая влияния на сосудорасширяющее действие изопrenalина [47]. Таким образом,  $H_2S$  в пределах ССС в целом противодействует влияниям NO. Предполагается, что  $H_2S$  участвует в регуляции гемодинамики, воздействуя на барорецепторные рефлексы. В миокарде экспрессируется мРНК

CBS; таким образом,  $H_2S$  может эндогенно продуцироваться в сердце. Влияние NaHS подавляет сократительную способность сердечной мышцы и снижает частоту сердечных сокращений *in vitro* и *in vivo*. Эти эффекты уменьшаются, но полностью не устраняются под воздействием ингибитора  $K_{ATP}$ -каналов глибенкламида [48]. При экспериментальном моделировании инфаркта миокарда у крыс CBS-иммунореактивный белок выявляется в области ишемии. В условиях гипоксии количество погибающих гладкомышечных клеток в желудочках сердца проградентно возрастает. Предварительная обработка миокарда раствором NaHS повышала жизнеспособность таких клеток, тогда как пропаргилглицин оказывал противоположный эффект. По мнению Жу и соавт. [49], у крыс с экспериментальным инфарктом миокарда эндогенный  $H_2S$  обладает явным кардиопротективным действием.

## $H_2S$ В ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЕ

CBS и CSE экспрессируются в слизистой оболочке желудка; эндогенный  $H_2S$ , очевидно, является протективным фактором при повреждениях этой оболочки. Ацетилсалициловая кислота и нестероидные противовоспалительные препараты обуславливают снижение экспрессии гена CSE и подавление продукции  $H_2S$  в слизистой оболочке желудка. Замедление кровотока в сосудах желудка, вызываемое у крыс ацетилсалициловой кислотой и нестероидными противовоспалительными препаратами, устраняется после введения NaHS [50]. NaHS снижает адгезию лейкоцитов к клеткам эндотелия сосудов и инфильтрацию слизистой оболочки лейкоцитами, нормализует повышенную экспрессию TNF- $\alpha$  и усиливает синтез простагландина  $E_2$  [50]. Показано, что  $H_2S$  подавляет спонтанные или индуцированные ацетилхолином сокращения стенки подвздошной кишки у различных видов животных, и это влияние устраняется глибенкламидом – блокатром  $K_{ATP}$ -каналов [4, 51, 52].

CBS и CSE были выявлены с помощью иммуногистохимических методик в подслизистом и межмышечном нервных сплетениях толстой кишки у морской свинки и человека. Аппликации NaHS или L-цистеина стимулируют секрецию хлоридов тканями слизистой оболочки прямой кишки морской свинки и человека. Это влияние блокировалось под воздействием тетродотоксина, блокатора TRPV1-рецепторов капсазерина, а также в результате де-

сенситизации афферентных нервов капсаицином. Таким образом,  $H_2S$  генерируется в энтеральной нервной системе и действует на обладающие TRPV1-рецепторами сенсорные нервные окончания, что приводит к интенсификации секреторной и моторной функций кишечника [53].

При экспериментальной колоректальной дистензии NaHS дозозависимо снижал болевую чувствительность. Это действие, очевидно, не связано исключительно с релаксацией мышц ободочной и прямой кишки; антиноцицептивный эффект, вероятно, обусловливался влиянием  $H_2S$  на процессы нейротрансмиссии. Показано, что экспериментальные колиты сопровождаются повышенной экспрессией CBS и CSE в слизистой оболочке толстой кишки и увеличением экспрессии CSE в спинном мозгу. Воздействие NaHS заметно снижает гипералгезию у животных с колитами [52].

$H_2S$  снижает интенсивность вазоконстрикции, индуцированной норадреналином в печени, причем как у здоровых крыс, так и у животных с экспериментальным циррозом [54]. Было показано, что CSE экспрессируется в гепатоцитах и звездчатых клетках печени.  $H_2S$  влияет на изолированные звездчатые клетки, вызывая релаксацию стенок микрососудов печени. Экспериментальный цирроз, индуцированный перевязкой желчного протока или действием тетрахлорида углерода, связан с понижением экспрессии CSE, уменьшением продукции  $H_2S$  в гомогенатах ткани печени и снижением концентрации  $H_2S$  в плазме крови [54]. Релаксирующее действие экзогенного L-цистеина на печеночные звездчатые клетки и микрососуды печени у животных с экспериментальным циррозом ослаблено по сравнению с аналогичным эффектом у контрольных крыс [55]. У животных и людей с циррозом резистентность сосудов печени к действию  $H_2S$  повышена. Имеющиеся сведения позволяют предполагать, что дефицит  $H_2S$  может быть одним из факторов развития портальной гипертензии [56]. Введение NaHS снижает выделение желчи и экскрецию бикарбонатов, а блокирование продукции эндогенного  $H_2S$  пропаргилглицином приводит к противоположному эффекту [57].

Известно, что слизистая толстой кишки постоянно подвергается действию  $H_2S$ , производимого из сульфатов пищи бактериями-комменсалами. Предполагают, что избыток  $H_2S$  бактериального происхождения может вызывать различные заболевания толстой кишки, включая язвенный колит и колоректальный рак [58]. Было показано, что  $H_2S$  стиму-

лирует пролиферацию эпителиальных клеток кишечника крысы в культуре [59]. Слизистая толстой кишки способна метаболизировать  $H_2S$  (что обусловлено высоким уровнем экспрессии роданезы в энтероцитах) и в какой-то мере адаптироваться к избытку данного агента [48]. Экспрессия роданезы в кишке под влиянием  $H_2S$  усиливается; уровень этого фермента в кишечнике при развитии язвенного колита или колоректального рака ниже, чем у здоровых организмов [61].

$H_2S$  угнетает секрецию инсулина в поджелудочной железе. Считается, что в регуляции секреции инсулина главную роль играют  $K_{ATP}$ -каналы в мембранах панкреатических  $\beta$ -клеток [62]. Увеличение содержания глюкозы приводит к накоплению АТФ в этих клетках, блокированию  $K_{ATP}$ -каналов, деполяризации плазматической мембраны, повышению поступления кальция и усилению секреции инсулина. Введение в клетки инсулиномы INS-1E крысы аденовируса, содержащего в себе ген CSE, и экзогенного  $H_2S$  угнетает процесс выделения инсулина, индуцированный повышением уровня глюкозы. Снижение же концентрации эндогенного  $H_2S$  под действием пропаргилглицина оказывало противоположный эффект [63]. Таким образом, имеющиеся сведения позволяют полагать, что  $H_2S$  угнетает секрецию инсулина.

Известно, что концентрация цистеина в плазме и экспрессия CBS и CSE в различных тканях у пациентов с сахарным диабетом повышены [64]. Хотя содержание  $H_2S$  в плазме у крыс с диабетом не изменяется, в гомогенатах тканей поджелудочной железы и печени таких животных отмечается его усиленный синтез. Экспрессия CBS в поджелудочной железе у животных с диабетом относительно повышена [65].

## РОЛЬ $H_2S$ В ПАТОЛОГИИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

*Значение  $H_2S$  для патологии нервной системы.* Показано, что выделение тиосульфата с мочой у пациентов с синдромом Дауна повышено. Поскольку тиосульфат является конечным продуктом метаболизма  $H_2S$ , предполагается, что у пациентов с синдромом Дауна продукция  $H_2S$  усилена [66]. Весьма вероятно, что избыток  $H_2S$  оказывает токсическое влияние на нейроны за счет либо угнетения синтеза цитохромоксидазы, либо усиления активации НМДА-рецепторов; оба данных эффекта входят в

число факторов, обуславливающих задержку умственного развития у пациентов с трисомией по 21-й хромосоме [67].

Воздействия экзогенного цистеина и NaHS увеличивают, а введения ингибиторов CSE и CBS снижают объем инфаркта мозга, вызванного односторонним перекрытием средней мозговой артерии. Высокий уровень цистеина, связанный с повышенным содержанием  $H_2S$ , отрицательно влияет на состояние пациентов с ишемическим шоком [68].

Однако  $H_2S$  может проявлять и защитные свойства в отношении нейронов. В частности,  $H_2S$  в определенной степени защищает нейроны от нейротоксического действия глутамата. Повышенная продукция глутамата наблюдается при ишемии мозга, эпилептических припадках или травмах. Нейротоксический эффект избытка этого передатчика обычно проявляется в условиях длительной активации его рецепторов. Однако глутамат может вызывать и окситоз нейронов независимо от влияния на рецепторы данного трансмиттера. Этот механизм повреждения основывается на угнетении транспорта цистина в нейроны системой  $x_c^-$ . Внеклеточный глутамат блокирует такой обмен, что приводит к дефициту внутриклеточного цистеина и подавлению синтеза глутатиона; подобная ситуация делает клетку более чувствительной к окислительному стрессу. NaHS увеличивает внутриклеточную концентрацию восстановленного глутатиона и повышает концентрацию цистеина и  $\gamma$ -глутамилцистеина (предшественника глутатиона) в нейронах коры мозга крысы *in vitro* [69]. Механизм, посредством которого  $H_2S$  стимулирует транспортировку системой  $x_c^-$ , пока неизвестен. Показано, что протективный эффект  $H_2S$  устраняется блокаторами  $K_{ATP}$ -каналов [70].

Стимуляция афферентных сенсорных нервов может вызывать воспалительные процессы, связанные с выделением субстанции P, нейрокинина-A и пептида, связанного с геном кальцитонина (CGRP). Эти медиаторы, выделяемые в сердечно-сосудистой и дыхательной системах, индуцируют развитие серии воспалительных ответов, которая включает в себя вазодилатацию, бронхоконстрикцию, секрецию слизи и выход белков плазмы, приводящий к отеку. NaHS, подобно капсаицину, интенсифицирует выделение субстанции P и CGRP из сенсорных нервов в воздухоносных путях морской свинки [71]. Интересно, что интраперитонеальная инъекция NaHS здоровым мышам вызывает значительную воспалительную реакцию, сопровождающуюся

увеличением концентрации субстанции P, противовоспалительных цитокинов, TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$  [72]. Указанные эффекты устранялись специфическими антагонистами рецепторов субстанции P (NK1, CP-96,345). Воспалительный эффект  $H_2S$  снимался капсазерином и не выявлялся у мышей с дефицитом субстанции P и нейрокинина-A [73]. Эти данные указывают на то, что  $H_2S$  может самостоятельно индуцировать нейрогенное воспаление даже при отсутствии других повреждающих воздействий.

*Роль  $H_2S$  в патологии ССС.* При экспериментальном моделировании сердечно-сосудистой патологии дефицит  $H_2S$  обуславливает развитие артериальной гипертензии. В экспериментах на крысах с гипертензией было обнаружено, что экспрессия мРНК CSE в стенке аорты и концентрация  $H_2S$  в плазме крови в данных условиях снижены. Дефицит  $H_2S$ , пониженная активность CSE и гипотензивный эффект введения доноров  $H_2S$  выявляются при экспериментальной гипертензии, вызванной ингибированием NO-синтазы [74].

В условиях *in vivo* NaHS смягчает негативные функциональные и морфологические изменения сосудов у крыс в случае легочной гипертензии, вызванной гипоксией или хроническим блокированием NOS [75, 76]. Эти данные позволяют предполагать возможность прямого действия  $H_2S$  на стенки сосудов легких.  $H_2S$  ингибирует агрегацию тромбоцитов, подавляет пролиферацию гладкомышечных клеток аорты человека, индуцирует их апоптоз и, таким образом, может ограничивать атеросклеротические нарушения. Другой эффект  $H_2S$ , имеющий отношение к атерогенезу, связан с влиянием указанного агента на сосудистую воспалительную реакцию, которая существенно влияет на устойчивость кровяных бляшек и вероятность их отрыва [77–79].

У пациентов с гипертензией и/или атеросклерозом часто наблюдается кальцификация сосудов. Ее развитие снижает эластичность артерий, стимулирует тромбоз и делает более вероятным отрыв кровяных бляшек. Кальцификация связана с трансформацией гладкомышечных клеток в остеобластоподобные клетки. Этот процесс сопровождается экспрессией щелочной фосфатазы и так называемых белков костной ткани – остеопонтина, остеокальцина и остеоонектина. Экспериментальная кальцификация сосудов, индуцированная у крыс комбинированным введением витамина D и никотина, сопровождается снижениями экспрес-



сии CSE, ее активности и уровня  $H_2S$  в тканях стенки аорты. Экзогенный  $H_2S$  предотвращает процесс кальцификации; свидетельством этого являются пониженное содержание кальция в сосудах, а также уменьшение активности кислой фосфатазы и экспрессии остеоопонтина в условиях соответствующих опытов [80].

*Значение  $H_2S$  для процессов воспаления.* Септический шок, который часто сопровождается сепсисом, характеризуется генерализованной вазодилатацией и гипотензией. Усиление продукции NO и CO, опосредованное индуцибельной NO-синтазой и гемоксигеназой-1 соответственно, способствует вазодилатации в данных условиях [81]. У крыс с экспериментальным септическим шоком, индуцированным перевязкой слепой кишки или введением липополисахаридов, наблюдается повышенная продукция  $H_2S$  в тканях сосудов [82]. Концентрация  $H_2S$  в плазме отрицательно коррелирует с кровяным давлением и сократимостью миокарда, что предполагает определенную патогенную роль данного агента в гемодинамическом коллапсе. Индуцированная липополисахаридом гипотензия, очевидно, связана с активацией  $K_{ATP}$ -каналов, поскольку частично устраняется глибенкламидом [83]. Показано, что концентрация  $H_2S$  в плазме крови у крыс с геморрагическим шоком увеличена, а ингибиторы CSE и глибенкламид повышают артериальное давление у этих животных [84].

При септическом шоке, индуцированном перевязкой слепой кишки или введением липополисахаридов, наблюдаются повышенные экспрессия CSE и ее активность в печени и почках [85, 86]. Таким образом,  $H_2S$  не только способствует развитию гипотензии, но также усиливает воспалительный ответ и нарушения в органах, связанные с сепсисом. Воздействие пропаргилглицина уменьшает интенсивность воспалительного ответа в печени и снижает смертность мышей с экспериментальным сепсисом. Повышение уровня эндогенного  $H_2S$  увеличивает активность миелопероксидазы в тканях и концентрацию TNF- $\alpha$  в плазме [86].

Результаты упомянутых выше исследований показывают, что  $H_2S$  в целом является провоспалительным медиатором. Однако механизмы, посредством которых  $H_2S$  вызывает или усиливает воспаление, не выяснены. В экспериментах *in vitro*  $H_2S$  демонстрирует как про-, так и противовоспалительные эффекты.  $Na_2S$  ингибирует индуцированный хемотаксис и дегрануляцию полиморфноядерных лейкоцитов [87]. К тому же, доноры  $H_2S$  ингибируют

индуцированную аспирином адгезию лейкоцитов к эндотелию в венах брыжейки у крыс, а ингибиторы продукции  $H_2S$  усиливают адгезию лейкоцитов [88]. С другой стороны, NaHS ингибирует апоптоз изолированных нейтрофилов человека, не оказывая заметного влияния на их бактерицидные свойства. Интересно, что NaHS не влияет на жизнеспособность эозинофилов и усиливает апоптоз лимфоцитов [89]. Липополисахариды, как и провоспалительные цитокины, повышают экспрессию гена CSE, что, очевидно, является причиной возрастания уровня  $H_2S$  при различных воспалительных состояниях [90].

Показано, что увеличение продукции  $H_2S$  отмечается в условиях не только сепсиса, но и локализованных форм воспаления. Так, например, экспериментальный острый панкреатит у мышей, вызванный церулеином, связан с повышением уровня экспрессии мРНК CSE в поджелудочной железе. Пропаргилглицин снижает повреждение ацинозных клеток и инфильтрацию в поджелудочной железе, нормализуя активность амилазы в плазме крови, и подавляет воспалительные процессы в легких [73].

А. А. Вараксін<sup>1</sup>, С. В. Пуцина<sup>1</sup>

#### СІРКОВОДЕНЬ ЯК РЕГУЛЯТОР СИСТЕМНИХ ФУНКЦІЙ У ХРЕБЕТНИХ

<sup>1</sup> Інститут біології моря ім. А. В. Жирмунського ДСВ РАН, Владивосток (РФ).

#### Резюме

В огляді розглядаються нові дані літератури та низка результатів власних досліджень щодо фізіологічних і патологічних ефектів сірководню, котрий в останній час привертає посилену увагу. Сірководень в організмі синтезується із цистеїну за допомогою піридоксаль-5'-фосфатзалежних ферментів цистатіонін β-синтази (CBS) або цистатіонін-γ-ліази (CSE). Під його дією активуються АТФ-залежні калієві канали ( $K_{ATP}$ ) у гладеньком'язових клітинах судин, нейронах, кардіоміоцитах і β-клітинах підшлункової залози, що визначає істотну роль даного агента в регуляції судинного тонусу та скорочувальної активності кардіоміоцитів, у процесах нейропередачі та секреції інсуліну. Розглядається можлива роль  $H_2S$ -продукуючих систем у патогенезі артеріальної і легеневої гіпертензії, хвороби Альцгеймера, цирозу печінки. Опис деяких аспектів дії сірководню «поза нервової системи», можливо, також викличе інтерес у читачів, оскільки дозволить повніше визначити роль цього газотрансмітера в контролі системних функцій.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. R. Wang, "Two's company, three's a crowd: can H<sub>2</sub>S be the third endogenous gaseous transmitter?" *FASEB J.*, **16**, 1792-1798 (2002).
2. R. F. Furchgott and J. V. Zawadzki, "The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine," *Nature*, **288**, 373-376 (1980).
3. K. Abe and H. Kimura, "The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator," *J. Neurosci.*, **16**, 1066-1071 (1996).
4. R. Hosoki, N. Matsuki, and H. Kimura, "The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **237**, 527-531 (1997).
5. K. R. Olson and J. A. Donald, "Nervous control of circulation – the role of gasotransmitters, NO, CO, and H<sub>2</sub>S," *Acta Histochemical.*, **111**, 244-256 (2009).
6. M. H. Stipanuk, "Sulfur amino acid metabolism: pathways for production and removal of homocysteine and cysteine," *Annu. Rev. Nutr.*, **24**, 539-577 (2004).
7. X. Chen, K. H. Jhee, and W. D. Kruger, "Production of the neuromodulator H<sub>2</sub>S by cystathionine beta-synthase via the condensation of cysteine and homocysteine," *J. Biol. Chem.*, **279**, 52082-52086 (2004).
8. S. Awata, K. Nakayama, I. Suzuki, et al., "Changes in cystathionine gamma-lyase in various regions of rat brain during development," *Biochem. Mol. Biol. Int.*, **35**, 1331-1338 (1995).
9. K. Eto, T. Asada, K. Arima, et al., "Brain hydrogen sulfide is severely decreased in Alzheimer's disease," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **293**, 1485-1488 (2002).
10. D. G. Searcy, "HS-:O<sub>2</sub> oxidoreductase activity of Cu, Zn superoxide dismutase," *Arch. Biochem. Biophys.*, **334**, 50-58 (1996).
11. S. Kage, S. Kashimura, H. Ikeda, et al., "Fatal and nonfatal poisoning by hydrogen sulfide at an industrial waste site," *J. Forens. Sci.*, **47**, 652-655 (2002).
12. J. Furne, J. Springfield, T. Koenig, et al., "Oxidation of hydrogen sulfide and methanethiol to thiosulfate by rat tissues: a specialized function of the colonic mucosa," *Biochem. Pharmacol.*, **6**, 255-259 (2001).
13. H. Kimura, "Hydrogen sulfide induces cyclic AMP and modulates the NMDA receptor," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **267**, 129-133 (2000).
14. P. K. Moore, M. Bhatia, and S. Mochhala, "Hydrogen sulfide: from the smell of the past to the mediator of the future?" *Trends Pharmacol. Sci.*, **24**, 609-611 (2003).
15. T. Abel, P. V. Nguyen, M. Barad, et al., "Genetic demonstration of a role for PKA in the late phase of LTP and in hippocampus-based long-term memory," *Cell*, **88**, 615-626 (1997).
16. Y. Han, J. Qin, X. Chang, et al., "Modulating effect of hydrogen sulfide on gamma-aminobutyric acid B receptor in recurrent febrile seizures in rats," *Neurosci. Res.*, **53**, 216-219 (2005).
17. G. S. Dawe, S. P. Han, J. S. Bian, and P. K. Moore, "Hydrogen sulphide in the hypothalamus causes an ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel-dependent decrease in blood pressure in freely moving rats," *Neuroscience*, **152**, 169-177 (2008).
18. M. A. García-Bereguiaín, A. K. Samhan-Arias, F. J. Martín-Romero, and C. Gutiérrez-Merino, "Hydrogen sulfide raises cytosolic calcium in neurons through activation of L-type Ca<sup>2+</sup> channels," *Antioxid. Redox. Signal.*, **10**, 31-42 (2008).
19. G. Wu, Y. Z. Fang, S. Yang, et al., "Glutathione metabolism and its implications for health," *J. Nutr.*, **134**, 489-492 (2004).
20. R. C. Koehler, D. Gebremedhin, and D. R. Harder, "Role of astrocytes in cerebrovascular regulation," *J. Appl. Physiol.*, **100**, 307-317 (2006).
21. K. Braet, L. Cabooter, K. Paemeleire, and L. Leybaert, "Calcium signal communication in the central nervous system," *Biol. Cell*, **96**, 79-91 (2004).
22. K. Farber and H. Kettenmann, "Physiology of microglial cells," *Brain Res. – Brain Res. Rev.*, **48**, 133-143 (2005).
23. M. Wojtera, B. Sikorska, T. Sobow, and P. P. Liberski, "Microglial cells in neurodegenerative disorders," *Folia Neuropathol.*, **43**, 311-321 (2005).
24. Y. S. Kim and T. H. Joh, "Microglia, major player in the brain inflammation: their roles in the pathogenesis of Parkinson's disease," *Exp. Mol. Med.*, **38**, 333-347 (2006).
25. S.W. Lee, Y. S. Hu, L. F. Hu, et al., "Hydrogen sulphide regulates calcium homeostasis in microglial cells," *Glia*, **54**, 116-124 (2006).
26. M. C. Morale, P. A. Serra, F. L'Episcopo, et al., "Estrogen, neuroinflammation and neuroprotection in Parkinson's disease: glia dictates resistance versus vulnerability to neurodegeneration," *Neuroscience*, **138**, 869-878 (2006).
27. E. V. Pushchina, A. A. Varaksin, and D. K. Obukhov, "Cystathionine β-synthase in the CNS of masu salmon *Oncorhynchus masou* (Salmonidae) and carp *Cyprinus carpio* (Cyprinidae)," *Neurochem. J.*, **5**, 24-34 (2011).
28. J. C. Platel, S. Stambouljian, I. Nguyen, and A. Bordey, "Neurotransmitter signaling in postnatal neurogenesis: the first leg," *Brain Res. Rev.*, **63**, 60-71 (2010).
29. M. V. Ugrumov, "Developing brain as an endocrine organ: a paradoxical reality," *Neurochem. Res.*, **35**, 837-850 (2010).
30. G. Bicker, "STOP and GO with NO: nitric oxide as a regulator of cell motility in simple brains," *BioEssays*, **27**, 495-505 (2005).
31. M. V. Ugrumov, "Non-dopaminergic neurons partly expressing dopaminergic phenotype: distribution in the brain, development and functional significance," *J. Chem. Neuroanat.*, **38**, 241-256 (2009).
32. E. V. Pushchina, M. Yu. Fleishman, and S. S. Timoshin, "Proliferative zones in the brain of the Amur sturgeon fry. Interaction with neuromeres and migration of secondary matrix zones," *Rus. J. Dev. Biol.*, **38**, 286-293 (2007).
33. E. V. Pushchina and A. A. Karpenko, "The relationships between neurons containing dopamine and nitric oxide synthase in the encephalon of cyprinid teleost," in: *Proc. 11-th Multidiscipl. Intern. Neurosci. and Biol. Psychiat. Conf. "Stress and Behavior"*, St-Petersburg (2008), p. 62.
34. M. A. Guzmán, M. A. Navarro, R. Carnicer, et al., "Cystathionine β-synthase is essential for female reproductive function," *Human Mol. Genet.*, **15**, 3168-3176 (2006).
35. R. Liang, W. D. Yu, J. B. Du, et al., "Localization of cystathionine beta synthase in mice ovaries and its expression profile during follicular development," *Chin. Med. J.*, **119**, 1877-1883 (2006).
36. R. Liang, W. D. Yu, J. B. Du, et al., "Cystathionine beta synthase participates in murine oocyte maturation mediated by homocysteine," *Reprod. Toxicol.*, **24**, 89-96 (2007).
37. Z. Luberdá, "The role of glutathione in mammalian gametes," *Reprod. Biol.*, **5**, 5-17 (2005).
38. B. Sripatha, P. G. Adaikan, and P. K. Moore, "Possible role for the novel gasotransmitter hydrogen sulphide in erectile

- dysfunction - a pilot study," *Eur. J. Pharmacol.*, **535**, 280-282 (2006).
39. B. Srilatha, P. G. Adaikan, L. Li, and P. K. Moore, "Hydrogen sulphide: a novel endogenous gasotransmitter facilitates erectile function," *J. Sex. Med.*, **4**, 1304-1311 (2007).
  40. W. Zhao, J. Zhang, Y. Lu, and R. Wang, "The vasorelaxant effect of H<sub>2</sub>S as a novel endogenous gaseous K<sub>ATP</sub> channel opener," *EMBO J.*, **20**, 6008-6016 (2001).
  41. Y. Cheng, J. F. Ndisang, G. Tang, et al., "Hydrogen sulfide-induced relaxation of resistance mesenteric artery beds of rats," *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **287**, H2316-H2323 (2004).
  42. S. Fiorucci, E. Distrutti, G. Cirino, and J. L. Wallace, "The emerging roles of hydrogen sulfide in the gastrointestinal tract and liver," *Gastroenterology*, **131**, 259-271 (2006).
  43. M. E. Murphy and J. E. Brayden, "Nitric oxide hyperpolarizes rabbit mesenteric arteries via ATP-sensitive potassium channels," *J. Physiol.*, **486**, 47-58 (1995).
  44. M. Bucci, V. Mirone, A. Di Lorenzo, et al., "Hydrogen sulphide is involved in testosterone vascular effect," *Eur. Urol.*, **56**, 378-383 (2009).
  45. R. A. Dombkowski, M. J. Russell, and K. R. Olson, "Hydrogen sulfide as an endogenous regulator of vascular smooth muscle tone in trout," *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, **286**, R678-R685 (2004).
  46. R. A. Dombkowski, M. J. Russell, A. A. Schulman, et al., "Vertebrate phylogeny of hydrogen sulfide vasoactivity," *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, **288**, R243-R252 (2005).
  47. M. Y. Ali, C. Y. Ping, Y. Y. Mok, et al., "Regulation of vascular nitric oxide *in vitro* and *in vivo*; a new role for endogenous hydrogen sulphide?" *Br. J. Pharmacol.*, **149**, 625-634 (2006).
  48. B. Geng, J. Yang, Y. Qi, et al., "H<sub>2</sub>S generated by heart in rat and its effects on cardiac function," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **313**, 362-368 (2004).
  49. Y. Z. Zhu, Z. J. Wang, P. Ho, et al., "Hydrogen sulfide and its possible roles in myocardial ischemia in experimental rats," *J. Appl. Physiol.*, **102**, 261-268 (2007).
  50. S. Fiorucci, E. Antonelli, A. Mencarelli, et al., "The third gas: H<sub>2</sub>S regulates perfusion pressure in both the isolated and perfused normal rat liver and in cirrhosis," *Hepatology*, **42**, 539-548 (2005).
  51. B. Teague, S. Asiedu, and P. K. Moore, "The smooth muscle relaxant effect of hydrogen sulphide *in vitro*: evidence for a physiological role to control intestinal contractility," *Br. J. Pharmacol.*, **137**, 139-145 (2002).
  52. E. Distrutti, L. Sediari, A. Mencarelli, et al., "Evidence that hydrogen sulfide exerts antinociceptive effects in the gastrointestinal tract by activating K<sub>ATP</sub> channels," *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **316**, 325-335 (2006).
  53. R. Schicho, D. Krueger, F. Zeller, et al., "Hydrogen sulfide is a novel prosecretory neuromodulator in the Guinea-pig and human colon," *Gastroenterology*, **131**, 1542-1552 (2006).
  54. S. Fiorucci, E. Antonelli, E. Distrutti, et al., "Inhibition of hydrogen sulfide generation contributes to gastric injury caused by non-steroidal anti-inflammatory drugs," *Gastroenterology*, **129**, 1210-1224 (2005).
  55. E. R. García-Tevijano, C. Berasain, J. A. Rodríguez, et al., "Hyperhomocysteinemia in liver cirrhosis: mechanisms and role in vascular and hepatic fibrosis," *Hypertension*, **38**, 1217-1221 (2001).
  56. E. Distrutti, A. Mencarelli, L. Santucci, et al., "The methionine connection: homocysteine and hydrogen sulfide exert opposite effects on hepatic microcirculation in rats," *Hepatology*, **47**, 659-667 (2008).
  57. K. Fujii, T. Sakuragawa, M. Kashiba, et al., "Hydrogen sulfide as an endogenous modulator of biliary bicarbonate excretion in the rat liver," *Antioxid. Redox Signal.*, **7**, 788-794 (2005).
  58. M. M. Huycke and H. R. Gaskins, "Commensal bacteria, redox stress, and colorectal cancer: mechanisms and models," *Exp. Biol. Med.*, **229**, 586-597 (2004).
  59. B. Deplancke and H. R. Gaskins, "Hydrogen sulfide induces serum-independent cell cycle entry in nontransformed rat intestinal epithelial cells," *FASEB J.*, **17**, 1310-1312 (2003).
  60. X. Leschelle, M. Gubern, M. Andriamihaja, et al., "Adaptive metabolic response of human colonic epithelial cells to the adverse effects of the luminal compound sulfide," *Biochim. Biophys. Acta*, **1725**, 201-212 (2005).
  61. M. S. Attene-Ramos, E. D. Wagner, M. J. Plewa, and H. R. Gaskins, "Evidence that hydrogen sulfide is a genotoxic agent," *Mol. Cancer Res.*, **4**, 9-14 (2006).
  62. M. Y. Ali, M. Whiteman, C. M. Low, and P. K. Moore, "Hydrogen sulphide reduces insulin secretion from HIT-T15 cells by a KATP channel-dependent pathway," *J. Endocrinol.*, **19**, 105-112 (2007).
  63. W. Yang, G. Yang, X. Jia, et al., "Activation of K<sub>ATP</sub> channels by H<sub>2</sub>S in rat insulin-secreting cells and the underlying mechanisms," *J. Physiol.*, **569**, 519-531 (2005).
  64. R. L. Jacobs, J. D. House, M. E. Brosnan, and J. T. Brosnan, "Effects of streptozotocin-induced diabetes and of insulin treatment on homocysteine metabolism in the rat," *Diabetes*, **47**, 1967-1970 (1998).
  65. M. Yusuf, B. T. Kwong Huat, A. Hsu, et al., "Streptozotocin-induced diabetes in the rat is associated with enhanced tissue hydrogen sulfide biosynthesis," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **333**, 1146-1152 (2005).
  66. P. Kamoun, M. C. Belardinelli, A. Chabli, et al., "Endogenous hydrogen sulfide overproduction in Down syndrome," *Am. J. Med. Genet.*, **116**, 310-311 (2003).
  67. P. Kamoun, "Mental retardation in Down syndrome: a hydrogen sulfide hypothesis," *Med. Hypoth.*, **57**, 389-392 (2001).
  68. P. T. Wong, K. Qu, G. N. Chimon, et al., "High plasma cysteine level may indicate poor clinical outcome in patients with acute stroke: possible involvement of hydrogen sulfide," *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, **65**, 109-115 (2006).
  69. Y. Kimura and H. Kimura, "Hydrogen sulfide protects neurons from oxidative stress," *FASEB J.*, **18**, 1165-1167 (2004).
  70. Y. Kimura, R. Dargusch, D. Schubert, and H. Kimura, "Hydrogen sulfide protects HT22 neuronal cells from oxidative stress," *Antioxid. Redox Signal.*, **8**, 661-670 (2006).
  71. M. Trevisani, R. Patacchini, P. Nicoletti, et al., "Hydrogen sulfide causes vanilloid receptor 1-mediated neurogenic inflammation in the airways," *Br. J. Pharmacol.*, **145**, 1123-1131 (2005).
  72. M. Bhatia, L. Zhi, H. Zhang, et al., "Role of substance P in hydrogen sulfide-induced pulmonary inflammation in mice," *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, **291**, 896-904 (2006).
  73. M. Bhatia, J. Sidhapuriwala, S. M. Moochhala, and P. K. Moore, "Hydrogen sulphide is a mediator of carrageenan-induced hindpaw oedema in the rat," *Br. J. Pharmacol.*, **145**, 141-144 (2005).
  74. G. Zhong, F. Chen, Y. Cheng, et al., "The role of hydrogen sulfide generation in the pathogenesis of hypertension in rats

- induced by inhibition of nitric oxide synthase," *J. Hypertens.*, **21**, 1879-1885 (2003).
75. H. Yan, J. Du, and C. Tang, "The possible role of hydrogen sulfide on the pathogenesis of spontaneous hypertension in rats," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **313**, 22-27 (2004).
  76. X. H. Li, J. B. Du, D. F. Bu, et al., "Sodium hydrosulfide alleviated pulmonary vascular structural remodeling induced by high pulmonary blood flow in rats," *Acta Pharmacol. Sin.*, **27**, 971-980 (2006).
  77. J. Du, Y. Hui, Y. Cheung, et al., "The possible role of hydrogen sulfide as a smooth muscle cell proliferation inhibitor in rat cultured cells," *Heart Vessels*, **19**, 75-80 (2004).
  78. G. Yang, X. Sun, and R. Wang, "Hydrogen sulfide-induced apoptosis of human aorta smooth muscle cells *via* the activation of mitogen-activated protein kinases and caspase-3," *FASEB J.*, **18**, 1782-1784 (2004).
  79. G. Yang, L. Wu, and R. Wang, "Pro-apoptotic effect of endogenous H<sub>2</sub>S on human aorta smooth muscle cells," *FASEB J.*, **20**, 553-555 (2006).
  80. S. Y. Wu, C. S. Pan, B. Geng, et al., "Hydrogen sulfide ameliorates vascular calcification induced by vitamin D3 plus nicotine in rats," *Acta Pharmacol. Sin.*, **27**, 299-306 (2006).
  81. S. F. Yet, A. Pellacani, C. Patterson, et al., "Induction of heme oxygenase-1 expression in vascular smooth muscle cells. A link to endotoxic shock," *J. Biol. Chem.*, **272**, 4295-4301 (1997).
  82. Y. Hui, J. Du, C. Tang, et al., "Changes in arterial hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) content during septic shock and endotoxic shock in rats," *J. Infect.*, **47**, 155-160 (2003).
  83. S. M. Gardiner, P. A. Kemp, J. E. March, and T. Bennett, "Regional haemodynamic responses to infusion of lipopolysaccharide in conscious rats: effects of pre- or post-treatment with glibenclamide," *Br. J. Pharmacol.*, **128**, 1772-1778 (1999).
  84. Y. Y. Mok, M. S. Atan, C. Yoke Ping, et al., "Role of hydrogen sulphide in haemorrhagic shock in the rat: protective effect of inhibitors of hydrogen sulphide biosynthesis," *Br. J. Pharmacol.*, **143**, 881-889 (2004).
  85. L. Li, M. Bhatia, Y. Z. Zhu, et al., "Hydrogen sulfide is a novel mediator of lipopolysaccharide-induced inflammation in the mouse," *FASEB J.*, **19**, 1196-1198 (2005).
  86. H. Zhang, L. Zhi, P. K. Moore, and M. Bhatia, "Role of hydrogen sulfide in cecal ligation and puncture-induced sepsis in the mouse," *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.*, **290**, L1193-L1201 (2006).
  87. M. A. Mariggio, F. Pettini, and R. Fumarolo, "Sulfide influence on polymorphonuclear functions: a possible role for Ca<sup>2+</sup> involvement," *Immunopharmacol. Immunotoxicol.*, **19**, 393-404 (1997).
  88. R. C. Zanardo, V. Brancaleone, E. Distrutti, et al., "Hydrogen sulfide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation," *FASEB J.*, **20**, 2118-2120 (2006).
  89. L. Rinaldi, G. Gobbi, M. Pambianco, et al., "Hydrogen sulfide prevents apoptosis of human PMN *via* inhibition of p38 and caspase 3," *Lab. Invest.*, **86**, 391-397 (2006).
  90. G. S. Oh, H. O. Pae, B. S. Lee, et al., "Hydrogen sulfide inhibits nitric oxide production and nuclear factor-kappa B *via* heme oxygenase-1 expression in RAW264.7 macrophages stimulated with lipopolysaccharide," *Free Radical Biol. Med.*, **41**, 106-119 (2006).