

- 10) Iolascon A., Faienza M.F., Moretti A. UGT1 promoter polymorphism accounts for increased neonatal appearance of hereditary spherocytis. *Blood*, 1998. 1093.
- 11) Lee R.G., NASH: a study of 49 patients, 1990. 549- 598.
- 12) Lîsîi Leonid. Biochimie medicală. Chişinău : *Universul*, 2007.
- 13) Lupu Laura-Diana. Aspecte ale bolii hepatice alcoolice și ale steatohepatitei nealcoolice. Bucureşti : Editura Universitară *Carol Davila*, 2003. 11-29, 48-124 p.
- 14) Kaplan M., Renbaum P., Levy-Lahad E., Hammerman C., Lahad A., Beutler E. Gilbert syndrome and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency : a dose-dependent genetic interaction crucial to neonatal hyperbilirubinemia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997. 128-132.
- 15) Maruo Y., Sato H., Yamano T., Doida Y., Shimada M. 1998. Gilbert syndrome caused by a homozygous missense mutation (Tyr486Asp) of bilirubin UDP-glucuronosyltransferase gene. *J Pediatr*, 1045-1047.
- 16) Monaghan G., Ryan M., Seddon R., Hume R., Burchell B.. Genetic variation in bilirubin UPD-glucuronosyltransferase gene promoter and Gilbert's syndrome. *Lancet* , 1996. 578-581.
- 17) Olinerescu R. Radicalii liberi în fiziopatologia umană: Ed. Tehnică, 1994.
- 18) Ricci RI si coaut. The effect of ethanol on hepatic sodium plus potassium activated ATP activity in the rat. *Gastroenterology*, 1981. 1445-1450 p.
- 19) Saragea M. Tratat de fiziopatologie. Bucureşti : Editura Academiei Române.
- 20) Sampietro M., *et al.* The expression of uridine diphosphate glucuronosyltransferase gene is a major determinant of bilirubin level in heterozygous beta-thalassaemia and in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Br J Haematol*, 1997. 437-439.
- 21) Sato H., Adachi Y., Koiwai O. 1996. The genetic basis of Gilbert's syndrome. *Lancet*. 557-558.
- 22) Sherllok S, Dooley J. Diseases of liver and biliary system. 11 ed., 2002. 2-9 p.
- 23) Ţicmeanu F, Ardelean Mugur. Tumora Klatskin. Bucureşti: Editura didactică și pedagogică.

ROLUL CONTRAVERSAT AL H₂S ÎN STĂRILE CRITICE

Olga Botea, Sergiu Iacob, Ala Ambros, Leonid Lîsîi

Catedra Biochimie și Biochimie Clinica USMF „N. Testemițanu”

Summary

The role contraversale of h₂s in critical condition

Since the discovery of endogenously-produced hydrogen sulfide (H₂S) in various tissues, there has been an explosion of interest in H₂S as a biological mediator alongside other gaseous mediators such as, nitric oxide and carbon monoxide. The identification of enzyme regulated H₂S synthetic pathways in the cardiovascular system has led to a number of studies examining specific regulatory actions of H₂S. Several molecular mechanisms of action of H₂S have been described. These include interactions of H₂S with NO, redox regulation of multiple signaling proteins and regulation of KATP channel opening. H₂S holds promise as an endogenous mediator controlling a wide range of cardiovascular cell functions and integrated responses under both physiological and pathological conditions and may be amenable to therapeutic manipulation.

Rezumat

Din momentul descoperirii H₂S-ului, produs endogen în diverse țesuturi, s-a accentuat atenția spre H₂S ca un mediator biologic, în ambianță cu alți mediatori gazoși - CO și NO. Identificarea căilor de sinteză a H₂S, reglate de enzime în sistemul cardiovascular a dus la numeroase studii ce au examinat acțiunile reglatoare specifice ale H₂S. S-au descris câteva mecanisme moleculare de acțiune a H₂S. Acestea includ interacțiunea H₂S cu NO, reglarea redox

a numeroaselor proteine semnalizatoare și reglarea deschiderii canalelor de K-ATP. H₂S este un mediator promițător endogen ce controlează o gamă largă de funcții a celulelor cardiovasculare, precum și răspunsuri integrate în condiții fiziologice și patofiziologice și poate fi utilizat pentru implicații terapeutice.

Actualitatea temei

H₂S e recunoscut ca un gaz cu un miros neplăcut de ouă alterate [38,45]. Toxicologia gazului dat a primit cea mai mare atenție în literatura biologică, începând cu tratatul *De Morbis Artificum Diatriba* (1713), a fizicianului italian Bernardino Ramazzini,[28] care a descris efectele iritante și toxice ale gazului dat. Mai recent, rolul fiziologic al lui H₂S în țesuturile mamiferelor a fost sugerat în 1989, când nivelurile endogene au fost detectate în creierul de șobolan[50] și în țesuturile normale umane post-mortem [19]. Datorită acestor descrieri, H₂S a obținut un interes mărit și e privit astăzi alături de CO și NO ca un mediator gazos endogen produs de căi reglate și exercitând acțiuni fiziologice discrete. Într-adevăr, interesul recent față de H₂S ca un mediator biologic a lărgit considerabil cercetările în acest domeniu dincolo de toxicologia sa, rezultând o creștere exponențială în numărul rapoartelor publicate începând cu 1995. Gama sistemelor corporale și a tipurilor celulare se extinde dincolo de efectele cardiovasculare ale H₂S și se pare că acest câmp de investigații e dispus să crească în continuare. Există în continuare un număr de întrebări fără răspuns referitor la importanța sa fiziologică și patofiziologică, în special ce se referă la țintele moleculare specifice ale H₂S și mecanismele sale de acțiune. Este posibil că, la fel precum tiolul înalt reactiv, H₂S -ul nativ sau neconjugat reacționează cu numeroase ținte biologice și exercită acțiunile sale prin numeroase mecanisme non-specifice.

Obiective

Vom analiza datele literaturii contemporane referitor la H₂S-ul generat endogen și cel administrat exogen. Se consideră că acest gaz exercită o gamă largă de acțiuni în celulele vasculare și miocardice, incluzând efecte vasoconstrictoare/vasodilatatoare. Determinatele sunt cauzate de modificarea tonusului, inducerea apoptozei și a răspunsului anti-proliferativ în celulele musculare netede -relevând citoprotecție în modele de lezare miocardică de ischemie-reperfuție.

Analiza și discuții

Biochimia H₂S și expresia enzimelor ce sintetizează H₂S.

H₂S, fiind un tiol reactiv cu puternice proprietăți reducătoare, se produce, in vivo, în căile metabolice ale aminoacizilor ce conțin sulf, în special a metioninei. Enzimele-cheie, CBS (cistationin-beta-sintetaza) și CSE (cistationin-gama-liaza), sunt enzime piridoxal-fosfat dependente. Catabolismul homocisteinei, derivată din metionină, la L-cisteină are loc în diferite țesuturi cardiovasculare, precum și în ficat [11,20,42,46], prin calea de transsulfurare inițiată de CBS. Aceasta catalizează o reacție de beta-înlocuire între grupa hidroxil a serinei și tiolatul homocisteinei, pentru a forma cistationina, care e convertită la L-cisteină și alfa-cetobutirat de CSE. L-cisteina formează un substrat endogen pentru producerea H₂S. O altă enzimă producătoare de H₂S este MST care include conversia L-cisteinei la 3-mercaptopiruvat, precedată de către cisteinaminotransferază (CAT).

Enzima CBS activă a fost depistată în ficatul de șobolan, de altfel și în pancreasul, rinichii, creierul și ficatul uman precum și în pancreasul, ficatul, rinichii și creierul de șoarece [1,46,42]. Expresia enzimelor generatoare de H₂S –CBS, CSE și MST (mercapto-sulfur-transferaza) în inimă și țesutul vascular, cât și detectarea H₂S în aceste țesuturi, sugerează că sistemul cardiovascular e o sursă endogenă de H₂S [21,34,48]. Expresia CBS este vădită în special în SNC. Unii autori denotă cantitate scăzută sau absența CBS în țesutul vascular al șobolanului [14]. În celulele endoteliale ale venei ombilicale umane însă, expresia CBS s-a dovedit a fi însemnată la cultivarea lor în concentrații mari de homocisteină. Din contra, expresia

CSE e mai vădită în țesuturile cardiovasculare și e absentă în creier și plămâni [1]. RNAm al CSE a fost detectat în artera pulmonară a șobolanului, aorta toracică, artera din coadă și artera mezenterică (clasate în ordinea expresiei nivelelor de RNAm al CSE). RNAm al CSE a fost dozat în celulele musculare netede din vase, dar nu și în endoteliu [56]. Este cert că țesuturile vasculare produc cantități considerabile de H₂S, deși nu este clară corelația nivelului de RNAm pentru CSE cu valorile H₂S în diferite țesuturi vasculare. CSE la fel e prezentă și în inimă [18].

Prezența MST a fost depistată în epitelii tubului proximal în rinichi, hepatocitele pericentrale în ficat, țesut cardiac și creier [20,42]. Este esențial că H₂S se produce în miocard [20,47]. În mitocondrie, MST poate produce H₂S din 3-mercaptopiruvat sau să oxideze sulful la sulfat și tiosulfat. În citosol, tiocisteina formată de CSE poate acționa ca acceptor al sulfului transferat de la 3-mercaptopiruvat de către MST.

Concentrațiile fiziologice și metabolismul H₂S.

H₂S poate fi depistat atât în sânge cât și în alte țesuturi - se citează concentrații de mai mult de 160 μM în creier și 100 μM în sânge. Deși ficatul are o capacitate înaltă de a genera H₂S și poate fi responsabil de menținerea concentrației H₂S în sânge, 100 μM de H₂S ar fi ușor detectabile de către nasul omului, pe când sângele, evident, nu miroase a H₂S liber. Există o anumită incertitudine despre credibilitatea metodelor de testare a H₂S: sulfatul și sulfatul total pot fi măsurați în unele studii, mai rapid decât H₂S liber, ceea ce ar explica această anomalie. H₂S -ul liber (neoxidat), e probabil prezent în concentrații mai mici decât se estima inițial. Într-adevăr, Kimura și colegii săi [23] au presupus recent că formele de depozitare a H₂S, precum sulfatul sulfan-legat, pot fi critice în reglarea disponibilității de H₂S în diverse condiții intracelulare. Compușii de sulfan sulf includ sulful elementar, disulfide, persulfide, polisulfide, politionate și tiosulfate. Ei conțin un atom de sulf înalt reactiv redus cu o valență de 0 sau 1, legat covalent la un alt atom de sulf. În astrocite, alcalinizarea citoplasmică s-a arătat capabilă să stimuleze eliberarea de H₂S din clasele sulf-legate [23].

Cele mai importante căi metabolice sunt oxidarea în mitocondrie și metilarea citozolică. H₂S de asemenea poate fi înlăturat de methemoglobină, molecule ce conțin metal sau disulfid, precum glutationul oxidat. H₂S e excretat în cea mai mare parte de rinichi, liber sau conjugat ca sulfat [5]. Inhibiția sintezei de H₂S scade nivelurile de alanin-aminotransferază (ALT), un marker specific pentru lezarea parenchimului hepatic [13]. Acest lucru a fost sugerat de Zhao [55], care de asemenea a arătat că producerea H₂S în ficatul de șobolan a fost mai mare decât în țesutul vascular, sugerând că ficatul ar putea fi responsabil de menținerea concentrației de H₂S în circulație.

Interacțiunea H₂S-ului cu NO Un receptor tiol specific nu a fost identificat, dar H₂S e recunoscut pentru capacitatea de a interacționa cu alți mediatori biologici și componenți de transducere a semnalului pentru a produce efectele sale în sistemul cardio-vascular. Pare probabil că există o interacțiune între NO și H₂S de semnificație fiziologică. Totuși, relația clară dintre H₂S, NO și NO sintază (NOS) este departe de a fi evidențiată. Producerea ambilor mediatori poate fi accelerată de mediatori proinflamatori în șoc hemoragic [33] și de LPS bacterial [29]. H₂S s-a arătat capabil atât să amplifice [54] cât și să atenueze [21] efectul vasorelaxant al NO în aorta de șobolan, în timp ce NO s-a dovedit capabil să intensifice eliberarea de H₂S în țesuturile vasculare și să accentueze expresia CSE în celulele musculare netede vasculare cultivate [56]. Există dovezi că NO și peroxinitritul reacționează cu H₂S pentru a forma nitrosotiol nou, care probabil reglează efectele fiziologice atât ale NO, cât și ale H₂S [51].

În omogenatul aortei de șobolan, donorii de NO au intensificat generarea H₂S-ului CSE-dependent prin intermediul GMPc. Incubarea prelungită a celulelor musculare netede vasculare cultivate cu donori de NO a produs o majorare de RNAm al CSE și a cantității de enzimă [56]. Invers, nivelele de H₂S în circulație, expresia genei CSE și activitatea enzimatică în celulele sistemului cardiovascular a fost redusă la șobolanii tratați cronic cu inhibitor de NOS, ceea ce evidențiază rolul NO în reglarea producerii de H₂S [30].

De menționat că H₂S (50-200 μM) inhibă producerea de NO și down-reglează expresia inductibilă de NO în macrofagele LPS-stimulate, printr-un mecanism ce implică expresia hem-

oxigenazei cu producerea de CO [37]. Compusul donor de H₂S – NaHS de asemenea inhibă activitatea NOS dependent de concentrație (test biochimic cu folosirea NOS recombinantă a bovinelor) [26].

H₂S în sistemul cardiovascular.

Reglarea tonusului mușchiului neted vascular și a presiunii sangvine.

Hosoki și c. [21] au demonstrat că H₂S-ul exogen a produs relaxarea, dependent de concentrație, a aortei toracice și a venei porte la șobolani, precum și a ileonului porcului de guinea. Zhao și c. [56] au raportat ulterior că injectarea intravenoasă de H₂S a cauzat descreșterea temporară a presiunii sangvine la șobolani. Acest efect hipotensiv a fost imitat de către pinacidil – deschizător al canalelor de K-ATP și blocat de glibenclamidă, blocator al canalelor de K-ATP. Dat fiind că rata bătailor inimii nu a fost afectată semnificativ, acțiunea in vivo a H₂S s-a crezut a fi specifică pentru mușchiul vascular neted. H₂S-ul exogen a cauzat relaxarea inelelor aortice precontractate la șobolan. Aceste efecte au fost din nou blocate de glibenclamidă și imitate de pinacidil, confirmând implicarea deschiderii canalelor de K-ATP ca mecanism-cheie în efectul vasorelaxant [56]. Totuși, un studiu pentru investigarea efectelor H₂S în inelele aortice a pus sub îndoielă rolul canalelor de K-ATP [26], întrucât glibenclamida nu a inhibat acțiunile H₂S în inelele aortice la șoarece. Deasemenea este neclar dacă H₂S-ul endogen e un vasorelaxant în condiții fiziologice, pentru că efectul vascular al H₂S e dependent de concentrația tisulară. Există, de altfel, dovezi că H₂S dezvoltă o vasoconstricție rapidă în preparatele vasculare izolate bine-oxigenate [25]. Ali și c. [2] au arătat de asemenea că constricția inelelor aortice de către NaHS (10-100μM) a fost atenuată după denudarea endotelială. Aceasta sugerează că un efect constrictor indirect al lui H₂S asupra celulelor musculare netede din vase, poate fi rezultatul inhibiției vasodilatatorilor derivați din endoteliu, precum NO, sau prin generarea constrictorilor derivați din endoteliu, precum endotelinele. Totuși, în același preparat, în relaxarea vasculară au rezultat concentrații de NaHS mai mari decât 100μM. Efectul dual, de vasoconstrictor și vasodilatator al lui H₂S, a fost observat și în artera mamară internă a omului. Aceste date aparent contradictorii sunt consecvente cu ideea că H₂S, fiind aplicat în concentrații joase, poate avea un rol de a inhiba NO, rezultând constricție. De asemenea se pare că există un efect dependent de timp al administrării de NaHS, care determină concentrația sa efectivă.

Administrarea compușilor donori de H₂S la animalele intacte a produs un efect hipotensiv temporar, în timp ce inhibitorii farmacologici ai producției enzimatice de H₂S nu au efect hemodinamic [56]. Pe când inhibitorii de NOS cauzează un efect vasoconstrictor semnificativ la animalele normale și cresc rezistența vasculară periferică [25]. Cercetările sugerează că în condiții fiziologice H₂S poate să nu fie direct responsabil de reglarea presiunii sangvine, dar efectuează acest rol prin interacțiunea cu NO [2].

S-a presupus că H₂S-ul endogen intervine în reglarea producerii vasculare de NO [2]. Combinarea NaHS cu compuși donatori de NO inhibă efectul vasorelaxant al acetilcolinei și histaminei în inelele aortice la șobolani. Infuzia intravenoasă a NaHS la șobolani anesteziați crește semnificativ fluxul sangvin arterial principal, care a fost redus în prezența inhibitorului de NOS – L-NAME. Aceste date sugerează că H₂S și NO reacționează împreună în condiții fiziologice pentru a forma un produs ce nu are, sau are o activitate vasculară mică in vivo sau in vitro. Produsul poate fi nitrotiolul, cum a fost inițial propus de Whiteman și colaboratorii săi [24]. Prin urmare, se poate de imaginat că rolul fiziologic major al H₂S în sistemul vascular poate să consistă nu în acțiunea lui ca un vasodilatator direct, dar mai degrabă în reglarea concentrațiilor locale și a activității de NO. Observația că concentrații de H₂S (200μM) mai mari decât cele fiziologice (50-160μM) sunt necesare pentru a produce răspuns vasodilatator [2], susțin rolul reglator al H₂S-ului nativ în sistemul vascular, spre deosebire de efect vasodilatator direct.

În stări de maladie, e posibil că alterarea generării de H₂S joacă un rol direct în influențarea tonusului vascular. Șobolani spontan hipertensivi au demonstrat o reducere marcată (20μM față de 48μM) a nivelelor plasmatiche de H₂S [14]. În țesutul pulmonar al șobolanilor cu

hipertensiunea hipoxică pulmonară indusă experimental și la șobolanii hipertensivi in vivo, s-a depistat reducerea expresiei și activității de CSE [12,57]. Administrarea parenterală a H₂S stopat creșterea presiunii arteriale pulmonare și a prevenit remodelarea vasculară pulmonară, identificată de către grosimea peretelui vascular în plămînul izolat de șobolan.[12]. Se confirmă că deficiența H₂S poate fi asociată cu vasoconstricție pulmonară și grosime a intimei, care sunt factori patologici asociați cu hipertensiunea pulmonară [46]. La șobolani, inhibitorul de NOS – L-NAME a produs o creștere temporal-dependentă a presiunii sangvine asociată cu inhibiția expresiei genei CSE și a producției de H₂S, în timp ce administrarea H₂S-ului exogen a prevenit dezvoltarea hipertensiunii indusă de L-NAME [57].

E posibil ca nivele excesive de H₂S să contribuie la hipotensiunea asociată cu sepsis sau endotoxemie. În arterele tratate cu endotoxină ale șobolanilor s-a observat creșterea semnificativă a producerii de H₂S [22].

H₂S-ul endogen joacă un rol deosebit în șocul hemoragic la șobolani [33] unde scăderea presiunii sangvine arteriale este asociată cu creșterea temporară a nivelelor de H₂S în plasmă peste 60min. Inhibitorii de CSE au produs o restabilire parțială a presiunii sangvine temporal-dependent. Pretratamentul cu un inhibitor de CSE a mărit presiunea arterială peste 60 min, sugerînd că H₂S nu joacă vreun rol în răspunsul imediat la șocul hemoragic, dar e implicat în stadiile mai tîrzii [33]. Nivelul de RNAm al CSE hepatice a fost deasemenea semnificativ mărit peste 60 min [33]. Totuși, celulele/țesuturile responsabile pentru sinteza crescută de H₂S după retragerea sîngelui sunt necunoscute. Prin urmare, studiile ulterioare sunt necesare pentru a identifica tipurile de celule implicate în sinteza de H₂S după șoc hemoragic.

Rezultatele contradictorii publicate în literatură, referitor la H₂S ca factor ce influențează contractilitatea mușchiului vascular neted cât și gradul de confuzie a provenit din diversitatea paturilor vasculare și a vaselor studiate, preparate in vivo vs in vitro, preparate cu endoteliu intact, endoteliu denudat în stări patologice și fiziologice. Majoritatea cercetărilor sugerează că H₂S exercită proprietăți vasodilatatoare care pot fi endoteliu-dependente, dar și faptul că atît endoteliul cît și celulele musculare netede sunt capabile să genereze cantități de H₂S. O schemă ipotetică care generalizează potențialele mecanisme și interacțiuni prin care H₂S poate modifica hiperpolarizarea celulei musculare netede (fig.1).

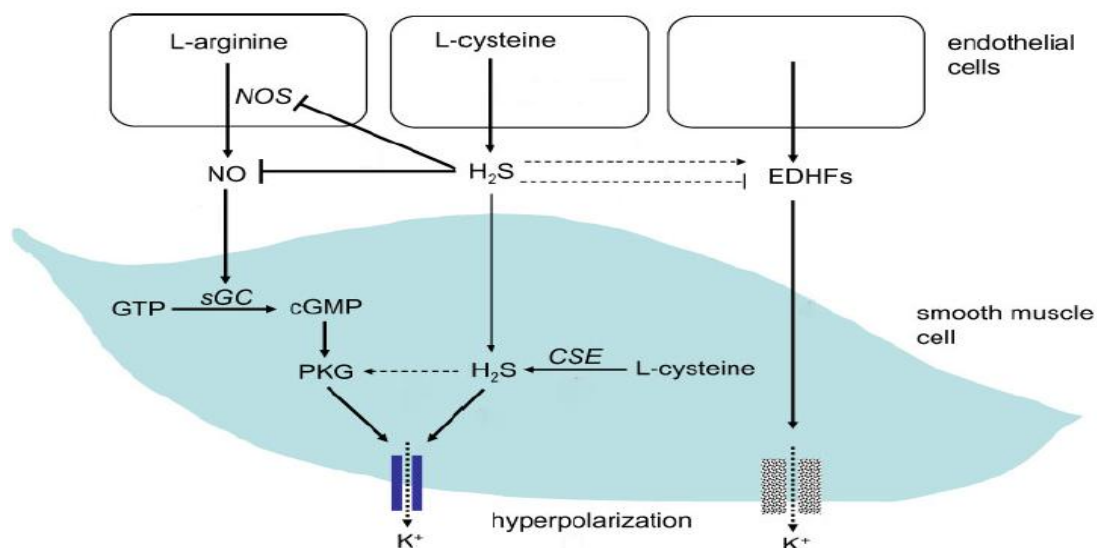


Fig1.Efectul H₂S asupra canalelor de K-ATP

Efectele metabolice ale H₂S: inducerea anabiozei .Anabioza e un stare metabolică asemănătoare hibernării, cu cheltuieli reduse de energie, care permite speciilor nonhibernante să suporte stresul ambiant (precum schimbări extreme de temperatură sau lipsa de oxigen) [7,41].

S-a confirmat că la șoarece treaz, respirație 80 ppm, H₂S a cauzat o reducere a ratei respiratorii și cardiace, precum și absorbției O₂ și producerii CO₂, care au fost în final legate cu o

micșorare a temperaturii corporale cu peste 2°C [8,41]. Efectele date au fost totalmente reversibile după înlăturarea din organism a H₂S, animalele prezentând apoi un comportament absolut normal. Studiile ulterioare au confirmat observațiile, și autorii au demonstrat, utilizând ecometria și ECG, că scăderea debitului cardiac e datorată bradicardiei și corespunde unei presiuni și unu volum sangvin nemodificate. Fenomenele fiziologice descrise s-au constatat indiferent de temperatura corpului cercetat (27 sau 35°C) [49].

E remarcabil că anestezia poate cel puțin parțial atenua efectele miocardiale ale H₂S inhalat. La un șoarece ventilat mecanic, dotat cu un cateter conductor de presiune și volum în ventriculul stîng cu o rată a inhalării H₂S de 100ppm, s-a depistat hipotermie (27°C), dar inhalarea H₂S non-normotermic (38°C) a scăzut debitul cardiac grație scăderii frecvenței bătăilor, în timp ce volumul debitului, cît și parametrii funcției sistolice și diastolice au rămas neafectate [4].

În conformitate cu conceptul că reducerea controlată a cheltuielilor energetice celulare ar permite o homeostaza a ATP-ului și astfel un debit crescut în timpul stărilor de șoc are loc grație conservării funcțiilor mitocondriale. Roth și c. [41] a demonstrat că pretratamentul cu H₂S inhalat (150ppm) pentru doar 20 minute, a prelungit considerabil viața fără efecte distrugătoare aparente atît șoarecilor expuși la hipoxie letală (5%O₂) cît și șobolanilor cu hemoragie letală (60% din volumul sangvin timp de 40 minute) [8]. E remarcabil că efectul protector e comparabil în cazul utilizării H₂S inhalat sau a unui singur bol intravenos de Na₂S [9]. Administrarea sulfidului parenteral are o serie de avantaje (legeritatea administrării, lipsa pericolului inhalării, etc) și în special, evită efectele iritante pentru plămîni ale H₂S-ului inhalat, care poate apărea chiar și la concentrații joase de H₂S inhalat. E de remarcat că hipotermia nu e o premisă a citoprotecției de către H₂S în timpul hemoragiei. Donorul de H₂S (NaHS) a îmbunătățit hemodinamica, a atenuat acidoza metabolică, a redus stresul oxidativ și nitrosativ la șoarecii cu hemoragie controlată cu presiune sangvină de 40 mmHg [16]. În același timp, la porcinele sub anestezie și ventilare mecanică ce au suferit o ocluzie aortică tranzitorie, infuzia de Na₂S intravenos (donor de H₂S) timp de peste 10 ore a redus frecvența cardiacă și debitul fără a afecta puterea contracției. S-a redus semnificativ absorbția de O₂, producerea de CO₂, și temperatura corpului. Efectul metabolic al H₂S a coincis cu o atenuare a hiperlactatemiei legate de reperfuzie, indicînd o necesitate redusă pentru generarea anaerobă de ATP în perioada ischemiei. S-a observat și o sensibilitate crescută pentru noradrenalină, cu o funcție cardiacă mărită, cît și un răspuns corespunzător vasomotor la stimularea cu catecolamină [44].

H₂S - citoprotector în timpul ischemiei/reperfuziei.

Hipotermia este o procedură standard pentru facilitarea restabilirii neurologice după stop cardiac și pentru restabilirea postoperatorie a funcțiilor organelor după chirurgie cardiacă și de transplant. Autorii au investigat potențialul terapeutic al anabiozei induse de H₂S prin ischemie-reperfuzie. S-a dovedit că H₂O este capabil să protejeze plămîni, ficatul, rinichii și, în special, inima. H₂S administrat anterior de reperfuzie, a limitat mărimea infarctului și a conservat funcția ventriculului stîng la șoareci și porci. Aceste date au fost obținute fără inducerea hipotermiei, unde funcțiile mitocondriale păstrate își asumă o importanță majoră în citoprotecția H₂S-indusă.

Evident, efectele antiinflamatorii și antiapoptotice de asemenea au contribuit la o funcție miocardică crescută după ischemie: tratamentul cu H₂S a fost asociat cu o activitate redusă a mieloperoxidazei mitocondriale și o absență a creșterii nivelului de IL-1beta, precum și o inhibiție completă a rulării leucocitare indusă de trombină. S-a constatat că H₂S a exercitat efecte antiapoptotice reducînd expresia poli-ADP ribozo-polimerazei și a oncogenelor ce induc moartea celulară.

Moartea celulară în timpul hipoxiei tisulare/ischemiei cu reoxigenarea brusca ulterioară/reperfuzie este fundamentală în infarctul miocardic acut. În ultimii 20 de ani, au fost depistați mulți mediatori endogeni cu rol cheie în determinarea răspunsurilor celulare la ischemie/reperfuzie, meniți să atenuieze procesele ireversibile soldate cu moartea celulară. Unii din ei, administrați înainte de debutul ischemiei ("precondiționare") sau înainte de reperfuzie ("postcondiționare") minimalizează prejudiciile ireversibile [15].

Date recente sugerează că H₂S poate exercita acțiuni de condiționare și postcondiționare citoprotective [17]. S-a arătat că H₂S ar putea fi generat endogen în inimă ca un regulator fiziologic de protejare a funcției cardiace. În inimile de șobolan supuse necrozei induse de isoproterenol, H₂S exogen a cauzat o reducere a mortalității și a îmbunătățit funcția cardiacă [17,24]. S-au furnizat primele dovezi că H₂S exogen ar putea limita dimensiunea infarctului indus de ischemie/reperfuzie în inima de șobolan - dependent de concentrație. A fost demonstrat că blocatorii canalelor K-ATP glibenclamida sau 5-hydroxydecanoatul de sodiu (blocator selectiv al canalelor mitocondriale K-ATP) au atenuat efectul protector al NaHS, sprijinind implicarea deschiderii canalelor K-ATP în mecanismul protector [6]. H₂S-ul exogen (33 mM) a redus incidența și severitatea de ischemie/reperfuzie în aritmii în inimi izolate de șobolan.

Dovezile revizuite de mai sus sugerează că H₂S administrat exogen are funcție de protector. În condiționare ischemică, perioadele scurte de ischemie protejează țesutul împotriva unui episod ulterior de ischemie/reperfuzie, prin generare de factori endogeni în miocard (de exemplu, adenozină, bradikinină și peptide opioide).

Proliferarea celulelor musculare netede. Se menționează influența H₂S în inhibiția proliferării celulelor musculare netede, prin promovarea apoptozei. S-diclofenacul, un nou eliberator de H₂S, derivat de droguri non-antiinflamatoare nesteroidiene (NSAID), inhibă proliferarea celulelor musculare netede aortice asociată cu supraviețuirea celulară scăzută și apoptoza crescută în vitro [3]. De asemenea a fost dovedit ca H₂S produs endogen are efecte pro-apoptotice în celulele musculare netede aortice umane prin supra-expresia de CSE [53]. În celulele musculare netede aortice umane, a fost demonstrat că H₂S exogen induce apoptoza - dependent de concentrație, prin activarea căii protein-kinazei mitogen activate (MAPK;ERK1/2) [52]. Aceasta vine în contradicție cu date expuse anterior, deoarece majoritatea dovezilor favorizează activarea ERK ca semnal proliferativ/anti-apoptotic. Cu toate acestea, efectul proapoptotic al lui H₂S poate fi de importanță majoră pentru prevenirea proliferării celulare în afecțiuni, cum ar fi ateroscleroza, ocluzia grefei vasculare și hiperplazia neointimală care să conducă la restenoză după angioplastie.

Acțiunile pro- și antiinflamatoare ale H₂S În prezent, se atribuie un interes considerabil rolului H₂S ca mediator al inflamației. Majoritatea modelelor in vivo confirmă faptul că H₂S este un mediator pro-inflamator, favorizează răspunsul inflamator și stopează deteriorarea organelor asociate cu sepsis [30]. S-a constatat că într-un plămân și ficat cu sepsis, DL-propargilglicina, compusul inhibitor al CSE, atenuază răspunsul inflamator, indicat printr-o reducere a activității mieloperoxidazei (marker de infiltrare neutrofilă). PAG a fost, de asemenea, capabil de a reduce mortalitatea după ligatura cecală. Mecanismul prin care H₂S exercită aceste acțiuni pro-inflamatorii in vivo este neclar.

Datele obținute in vitro sunt mult mai ambigue, dar pledează în favoarea acțiunilor anti-inflamatoare ale H₂S. Donatori H₂S s-au dovedit a inhiba aderența leucocitelor indusă de aspirină la endoteliul venulelor mezenterice de șobolan, în timp ce inhibitorii ai sintezei de H₂S au cauzat o adeziune crescută de leucocite. Expresia CSE de asemenea, este reglată de LPS și citokine pro-inflamatorii, [36] care ar putea justifica creșterea producției de H₂S în timpul inflamației. Supraproducțiile de H₂S în inflamație pot fi dăunătoare prin majorarea răspunsului respectiv și asocierea daunelor țesutului. S-a depistat că neutrofilele fMLP-activate sunt capabile să convertească non-enzimatic H₂S la sulfid într-un mod dependent de NADPH și SRO [31]. Concentrație crescută de sulfid seric a fost observată la șobolanii tratați cu LPS și la pacienții cu pneumonie [32]. Sulfidul este foarte toxic, în pofida faptului că nivelul scăzut are o importanță acțiune bactericidă, stimulând producerea și eliberarea de SRO din neutrofile [27] și adeziunea neutrofilelor la endoteliu [43]. Acesta poate reacționa cu peroxinitritul pentru a forma radicali toxici de sulf [40]. H₂S reglează gene anti-inflamatorii și citoprotective, inclusiv hemoxigenaza în celulele musculare netede pulmonare in vivo și in vitro [39].

În **concluzie**, par să fie paradoxale acțiunile H₂S în inflamație: deși o mică creștere în producerea de H₂S îmbunătățește apărarea non-specifică, în exces poate duce la inflamarea și deteriorarea țesutului.

Bibliografie

1. Abe K, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. *J Neurosci* 1996; 16(3): 1066–1071.
2. Ali MY, Ping CY, Mok YY, et al. Regulation of vascular nitric oxide in vitro and in vivo; a new role for endogenous hydrogen sulfide? *Br J Pharmacol* 2006; 149(6): 625–634.
3. Baskar R, Sparatore A, Del Soldato P, Moore PK. Effect of Sdiclofenac, a novel hydrogen sulfide releasing derivative inhibit ratvascular smooth muscle cell proliferation. *Eur J Pharmacol* 2008; 594(1–3): 1–8.
4. Baumgart K, Simkova V, Weber S, Barth E, Albuszies G, Radermacher P, Calzia E: Myocardial effects of hypothermia and inhaled H₂S in ventilated mice [abstract]. *Shock* 2008, 29(Suppl 1):58.
5. Beauchamp RO ,Jr, Bus JS, Popp JA, Boreiko CJ, Andjelkovich DA. A critical review of the literature on hydrogen sulfide toxicity. *Crit Rev Toxicol* 1984; 13(1): 25–97.
6. Bian JS, Yong QC, Pan TT, et al. Role of hydrogen sulfide in the cardioprotection caused by ischemic preconditioning in the rat heart and cardiac myocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 316(2): 670–678.
7. Bickler PE, Buck LT: Hypoxia tolerance in reptiles, amphibians, and fishes: life with variable oxygen availability. *Annu Rev Physiol* 2007, 69:145-170.
8. Blackstone E, Morrison M, Roth MB: H₂S induces a suspended animation-like state in mice. *Science* 2005, 308:518.
9. Blackstone E, Roth MB: Suspended animation-like state protects mice from lethal hypoxia. *Shock* 2007, 27:370-372.
10. Cai WJ, Wang MJ, Moore PK, Jin HM, Yao T, Zhu YC. The novel proangiogenic effect of hydrogen sulfide is dependent on Akt phosphorylation. *Cardiovasc Res* 2007; 76(1): 29–40.
11. Chen P, Poddar R, Tipa EV, et al. Homocysteine metabolism in cardiovascular cells and tissues: implications for hyperhomocysteinemia and cardiovascular disease. *Adv Enzyme Regul* 1999; 39: 93–109.
12. Chunyu Z, Junbao D, Dingfang B, Hui Y, Xiuying T, Chaoshu T. The regulatory effect of hydrogen sulfide on hypoxic pulmonary hypertension in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 302(4): 810–816.
13. Collin M, Anuar FB, Murch O, Bhatia M, Moore PK, Thiemermann C. Inhibition of endogenous hydrogen sulfide formation reduces the organ injury caused by endotoxemia. *Br J Pharmacol* 2005; 146(4):498–505.
14. Du J, Yan H, Tang C. Endogenous H₂S is involved in the development of spontaneous hypertension. *Beijing Da Xue Xue Bao* 2003; 35(1): 102.
15. Ferdinandy P, Schulz R, Baxter GF. Interaction of cardiovascular risk factors with myocardial ischemia/reperfusion injury, preconditioning, and postconditioning. *Pharmacol Rev.* 2007; 59(4): 418–458.
16. Ganster F, Burban M, de la Bourdonnaye M, Fizanne L, Douay O, Mercat A, Calès P, Radermacher P, Henrion D, Asfar P, Meziani F: Intérêt d'un donneur de H₂S (NaHS) dans le choc hémorragique chez le rat [abstract]. *Réanimation* 2009.
17. Geng B, Chang L, Pan C, et al. Endogenous hydrogen sulfide regulation of myocardial injury induced by isoproterenol. *Biochem Biophys Res Commun* 4 2004; 318(3): 756–763.
18. Geng B, Yang J, Qi Y, et al. H₂S generated by heart in rat and its effects on cardiac function. *Biochem Biophys Res Commun*

19. Goodwin LR, Francom D, Dieken FP, et al. Determination of sulfide in brain tissue by gas dialysis/ion chromatography: postmortem studies and two case reports. *J Anal Toxicol* 1989; 13(2): 105–109.
20. Griffith OW. Mammalian sulfur amino acid metabolism: an overview. *Methods Enzymol* 1987; 143: 366–376.
21. Hosoki R, Matsuki N, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 237(3): 527–531.
22. Hui Y, Du J, Tang C, Bin G, Jiang H. Changes in arterial hydrogen sulfide (H₂S) content during septic shock and endotoxin shock in rats. *J Infect* 2003; 47(2): 155–160.
23. Ishigami M, Hiraki K, Umemura K, Ogasawara Y, Ishii K, Kimura H. A source of hydrogen sulfide and a mechanism of its release in the brain. *Antiox Redox Signal* 2009; 11: 205–214.
24. Johansen D, Ytrehus K, Baxter GF. Exogenous hydrogen sulfide (H₂S) protects against regional myocardial ischemia-reperfusion injury— Evidence for a role of KATP channels. *Basic Res Cardiol* 2006; 101(1): 53–60.
25. Koenitzer JR, Isbell TS, Patel HD, et al. Hydrogen sulfide mediates vasoactivity in an O₂-dependent manner. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 292(4): H1953–1960.
26. Kubo S, Doe I, Kurokawa Y, Nishikawa H, Kawabata A. Direct inhibition of endothelial nitric oxide synthase by hydrogen sulfide: contribution to dual modulation of vascular tension. *Toxicology* 2007; 232(1–2): 138–146.
27. Labbe P, Pelletier M, Omara FO, Girard D. Functional responses of human neutrophils to sodium sulfite (Na₂SO₃) in vitro. *Hum Exp Toxicol* 1998; 17(11): 600–605.
28. Lambert TW, Goodwin VM, Stefani D, Strosher L. Hydrogen sulfide (H₂S) and sour gas effects on the eye. A historical perspective. *Sci Total Environ* 2006; 367(1): 1–22.
29. Li L, Bhatia M, Zhu YZ, et al. Hydrogen sulfide is a novel mediator of lipopolysaccharide-induced inflammation in the mouse. *Faseb J* 2005; 19(9): 1196–1198.
30. Lowicka E, Beltowski J. Hydrogen sulfide (H₂S)—the third gas of interest for pharmacologists. *Pharmacol Rep* 2007; 59(1): 4–24.
31. Mariggio MA, Pettini F, Fumarulo R. Sulfide influence on polymorphonuclear functions: a possible role for Ca²⁺ involvement. *Immunopharm Immunotox* 1997; 19(3): 393–404
32. Mitsuhashi H, Ikeuchi H, Yamashita S, et al. Increased levels of serum sulfite in patients with acute pneumonia. *Shock* 2004.
33. Mok YY, Atan MS, Yoke Ping C, et al. Role of hydrogen sulfide in haemorrhagic shock in the rat: protective effect of inhibitors of hydrogen sulfide biosynthesis. *Br J Pharmacol* 2004; 143(7): 881–889.
34. Moore PK, Bhatia M, Mochhala S. Hydrogen sulfide: from the smell of the past to the mediator of the future? *Trends Pharmacol Sci* 2003; 24(12): 609–611.
35. Morrison ML, Blackwood JE, Lockett SL, Iwata A, Winn RK, Roth MB: Surviving blood loss using hydrogen sulfide. *J Trauma* 2008, 65:183-188.
36. Nagai Y, Tsugane M, Oka J, Kimura H. Hydrogen sulfide induces calcium waves in astrocytes. *Faseb J* 2004; 18(3): 557–559.
37. Oh G-S, Pae H-O, Lee B-S, et al. Hydrogen sulfide inhibits nitric oxide production and nuclear factor kappa-beta via heme oxygenase-1 expression in RAW264.7 macrophages stimulated with lipopolysaccharide. *Free Radic Biol Med* 2006; 41: 106–119.
38. Petersen LC. The effect of inhibitors on the oxygen kinetics of cytochrome c oxidase. *Biochim Biophys Acta* 1977; 460(2): 299–307.
39. Qingyou Z, Junbao D, Weijin Z, Hui Y, Chaoshu T, Chunyu Z. Impact of hydrogen sulfide on carbon monoxide/heme oxygenase pathway in the pathogenesis of hypoxic pulmonary hypertension. *Biochem Biophys Res Commun* 2004.
40. Reist M, Jenner P, Halliwell B. Sulfite enhances peroxynitrite-dependent alpha1-antiproteinase inactivation. A mechanism of lung injury by sulphur dioxide? *FEBS Lett.* 1998; 423(2): 231–234.

41. Roth MB, Nystul T: Buying time in suspended animation. *Sci Am* 2005, 292:48-55.
42. Selhub J. Homocysteine metabolism. *Annu Rev Nutrit* 1999; 19: 217–246.
43. Shigehara T, Mitsuhashi H, Ota F, et al. Sulfite induces adherence of polymorphonuclear neutrophils to immobilized fibrinogen through activation of Mac-1 beta2-integrin (CD11b/CD18). *Life Sci* 2002; 70(19): 2225–2232.
44. Simon F, Giudici R, Duy CN, Schelzig H, Öter S, Gröger M, Wachter U, Vogt J, Speit G, Szabó C, Radermacher P, Calzia E: Hemodynamic and metabolic effects of hydrogen sulfide during porcine ischemia/reperfusion injury. *Shock* 2008, 30:359-364
45. Smith RP, Gosselin RE. Hydrogen sulfide poisoning. *J Occup Med* 1979; 21(2): 93–97.
46. Stipanuk MH, Beck PW. Characterization of the enzymic capacity for cysteine desulphhydration in liver and kidney of the rat. *Biochem J* 1982; 206(2): 267–277.
47. Swaroop M, Bradley K, Ohura T, et al. Rat cystathionine beta-synthase. Gene organization and alternative splicing. *J Biol Chem* 1992; 267(16):11455–11461.
48. Tang C, Li X, Du J. Hydrogen sulfide as a new endogenous gaseous transmitter in the cardiovascular system. *Curr Vasc Pharmacol* 2006; 4(1): 17–22.
49. Volpato GP, Searles R, Yu B, Scherrer-Crosbie M, Bloch KD, Ichinose F, Zapol WM: Inhaled hydrogen sulfide: a rapidly reversible inhibitor of cardiac and metabolic function in the mouse. *Anesthesiology* 2008, 108:659-668.
50. Warenycia MW, Goodwin LR, Benishin CG, et al. Acute hydrogen sulfide poisoning. Demonstration of selective uptake of sulfide by the brainstem by measurement of brain sulfide levels. *Biochem Pharmacol* 1989; 38(6): 973–981.
51. Whiteman M, Li L, Kostetski I, et al. Evidence for the formation of a novel nitrosothiol from the gaseous mediators nitric oxide and hydrogen sulfide. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 343(1): 303–310.
52. Yang G, Sun X, Wang R. Hydrogen sulfide-induced apoptosis of human aorta smooth muscle cells via the activation of mitogen-activated protein kinases and caspase-3. *FASEB J* 2004; 18: 1782–1784.
53. Yang G, Wu L, Wang R. Pro-apoptotic effect of endogenous H₂S on human aorta smooth muscle cells. *FASEB J* 2006.
54. Zhao W, Wang R. H₂S-induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 283(2): H474–480.
55. Zhao W, Ndisang JF, Wang R. Modulation of endogenous production of H₂S in rat tissues. *Can J Physiol Pharmacol* 2003.
56. Zhao W, Zhang J, Lu Y, Wang R. The vasorelaxant effect of H₂S as a novel endogenous gaseous K(ATP) channel opener. *Embo J* 2001; 20(21): 6008–6016.
57. Zhong G, Chen F, Cheng Y, Tang C, Du J. The role of hydrogen sulfide generation in the pathogenesis of hypertension in rats induced by inhibition of nitric oxide synthase. *J Hypertens* 2003; 21(10): 1879–1885.

ASPECTE CONTEMPORANE ÎN STRUCTURA, SINTEZA ȘI PATOLOGIIILE COLAGENULUI

Tatiana Timercan, Leonid Lisii, Ala Ambros, Irina Gavrilița
Catedra Biochimie și Biochimie clinică USMF „N. Testemițanu”

Summary

Collagen – structure, synthesis, pathologies

Collagen is the main protein of connective tissue, making up about 25% to 35% of the whole-body protein content. In muscle tissue it serves as a major component of endomysium. Collagen constitutes 1% to 2% of muscle tissue, and accounts for 6% of the weight of strong,