

Інгібування мітохондріального синтезу сірководню посилює окисний стрес та погіршує роботу електронно-транспортного ланцюга

А.Ю. Лучкова, Н.А. Струтинська, Ю.П. Коркач, В.Ф. Сагач

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця, НАН України, Київ;
e-mail: a.luchkova@biph.kiev.ua

Вивчали вплив пригнічення ендогенного синтезу мітохондріального сірководню з використанням in vivo інгібітора H_2S -синтезувального ферменту 3-меркаптопіруватсульфуртрансферази, а саме о-карбоксиметилгідроксиламіну (50 мг/кг), на показники окисного стресу та роботу дихального ланцюга органел. Виявлено зниження вмісту сірководню в мітохондріях та плазмі крові дослідних тварин на 25 та 45 % відповідно. Швидкість генерації $\cdot O_2^-$ та $\cdot OH$ -радикалів зростала як у мітохондріях, так і в плазмі крові, що свідчить про інтенсифікацію процесів утворення вільних радикалів при зменшенні вмісту H_2S , який є відомим антиоксидантом. За умов пригнічення роботи ферменту продукції газового трансмітера спостерігали зниження активності роботи конститутивної NO-синтази як у мітохондріях, так і в плазмі крові на 20 та 24 % відповідно. При цьому активність роботи індукцйбельної NOS в органелах зростала у 3,27 раза, що свідчить про значне підвищення утворення NO, який, імовірно, надалі бере участь у синтезі пероксинітриду. Введення інгібітора мітохондріального шляху синтезу сірководню погіршувало функціональну здатність електронно-транспортного ланцюга, що проявлялася у зниженні швидкості споживання кисню у станах V_2 , V_3 та V_p , а також значень дихального контролю за Чансом та АДФ/О. Це, мабуть, є головною причиною погіршення функціональної роботи серця, адже саме ефективність енергетичного забезпечення міокарда, за яку відповідають мітохондрії, є визначальною для роботи серця. Ключові слова: серце; мітохондрії; дихальний ланцюг; сірководень; окисний стрес; активні форми кисню.

ВСТУП

До родини газових трансмітерів – регуляторних молекул, які ендогенно синтезуються в організмі, вільно проникають через цитоплазматичні мембрани та передають сигнал без посередників, належать оксид азоту (NO), монооксид вуглецю (CO) та сірководень (H_2S) [1]. Останній відомий своїми вазодилаторними, антиоксидантними, антиапоптотичними та проангіогенними властивостями у серцево-судинній системі [2]. Механізми дії сірководню різноманітні, зокрема він відновлює дисульфідні зв'язки цистеїну та модифікує цистеїнові залишки з утворенням персульфідних зв'язків (-SSH, процес сульфгідрування), що призводить до

© А.Ю. Лучкова, Н.А. Струтинська, Ю.П. Коркач, В.Ф. Сагач

конформаційних змін у білках [3, 4], взаємодіє з металовмісними протеїнами, а саме з гемоглобіном та цитохром-с-оксидазою [5, 6], зв'язується з такими транскрипційними факторами, як NF- κ B, активатором транскрипції STAT3, еритроїдподібним фактором 2 (Nrf2), фактором, індукованим гіпоксією (HIF-1), [7] та діє на іонні канали: активує АТФ-залежні калієві канали [8, 9], дозозалежно та зворотно інгібує кальцієві канали L-типу в ізольованих кардіоміоцитах щурів [10], активує кальцієві канали TRPA 1 [11].

Існує два шляхи синтезу H_2S : ензиматичний (за допомогою ферментів), і неензиматичний (перетворенням тіолів і тіолвмісних сполук) [12]. До чотирьох найважливіших ферментів

утворення сірководню належать цистатіонін- β -синтаза (cystathionine β -synthase – CBS), цистатіонін- γ -ліаза (cystathionine γ -lyase – CSE), 3-меркаптопіруватсульфуртрансфераза (3-mercaptopyruvate sulfurtransferase – 3-MST), яка функціонує разом із цистеїнамінотрансферазою (cysteine aminotransferase – CAT) [13]. Відомо, що ці ферменти мають специфічну тканинну та клітинну локалізацію. Так, за допомогою CBS синтез H_2S відбувається в мозку, нервовій тканині, печінці та нирках, тоді як CSE є головним синтезуючим ферментом у серцево-судинній системі за фізіологічних умов [14]. 3-MST та CAT продукують сірководень, головним чином, у ендотелії судин та серцево-судинній системі [15]. Клітинна локалізація ферментів також різна – CBS та CSE знаходяться в цитозолі, натомість 3-MST – у мітохондріях та цитозолі з відносним розподіленням 2/3 до 1/3 [16]. Слід відмітити, що катаболізм сірководню відбувається у мітохондріях, де він окиснюється до сульфідів і сульфатів [17]. Останнім часом з'являється більше даних про те, що саме 3-MST є головним ензимом синтезу сірководню у серці та коронарних судинах [18]. Раніше нами було показано, що пригнічення мітохондріального ферменту синтезу сірководню 3-MST знижувало вихідні показники кардіодинаміки у дорослих щурів, а також призводило до зменшення функціональних резервів міокарда у разі кальцієвих навантажень і порога чутливості неспецифічної мітохондріальної пори (МП) до Ca^{2+} [19]. Проте механізми такого впливу залишаються невідомими.

Мета нашої роботи – дослідження впливу пригнічення ендогенного синтезу сірководню в мітохондріях на функціональний стан дихального ланцюга та показники окисного стресу в цих органелах.

МЕТОДИКА

Досліди проводили на дорослих (5-6 міс, 300-350 г) щурах лінії Вістар, яких утримували

на стандартному раціоні віварію Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. Експериментальна частина роботи виконана з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист тварин, які використовуються у дослідницьких цілях (Страсбург, 1986).

Пригнічення ферменту синтезу сірководню 3-MPT здійснювали внутрішньоочеревинним введенням інгібітора о-карбоксиметилгідроксиламіну (О-СМН) у дозі 50 мг/кг за 30 хв до декапітації тварин. Контрольна група тварин – без впливу інгібітора. У кожній серії експериментів було використано не менше ніж 5 щурів.

Для виділення мітохондрій використовували метод диференційного центрифугування [20]. Після декапітації серце тварин ретельно промивали охолодженим 0,9 %-м розчином KCl (2-4 °C), подрібнювали та гомогенізували у 9-кратному об'ємі середовища (ммоль/л): сахароза – 250, тріс-HCl – 25, ЕГТА – 1; рН 7,25. Гомогенат центрифугували двічі при 700 і 11000g (4 °C). Отриманий осад (мітохондріальна фракція) ресуспендували в буфері (ммоль/л): сахароза – 250, тріс-HCl – 25; рН 7,25. Надалі суспензію мітохондрій зберігали при 2 °C на льоду. Концентрацію білка визначали за методом Лоурі [21].

Процеси мітохондріального дихання досліджували, використовуючи полярографічний метод та прилад “Oxygraph+” («Hansatech instruments», Великобританія). Функціональний стан мітохондрій оцінювали за показниками Чанса [22]. Середовище інкубації містило (ммоль/л): KCl – 120; KH_2PO_4 – 3; тріс-HCl – 25; рН 7,25. Як субстрати використовували сукцинат натрію (5 ммоль/л) та L-глутамат (5 ммоль/л). Дихання стимулювали додаванням до суспензії мітохондрій 200 мкмоль/л АДФ. При цьому розраховували швидкість нестимульованого дихання (V_2), швидкість АДФ-стимульованого (V_3) та контрольованого дихання (V_4 ; за відсутності АДФ), дихальний контроль за Чансом (V_3/V_4) та за Ларді (V_3/V_2), коефіцієнт ефективності

окисного фосфорилування (АДФ/О). Всі показники представлено у перерахунку на 1 мг білка.

Для визначення вмісту сірководню до аліквот проб додавали 0,5 мл 1 % -го розчину ацетату цинку, інкубували при 37,5 °С протягом 10 хв, далі додавали 0,5 мл 20 ммоль/л розчину N,N-DPD та 0,5 мл 30 ммоль/л розчину FeCl₃. Після 10 хв інкубації в темряві на холоді визначали оптичну густина за довжини хвилі 670 нм [23].

Інтенсивність окисативної компоненти окисного стресу оцінювали за зміною швидкості генерації нестабільного вільного радикала кисню – супероксид-аніона ($\cdot\text{O}_2^-$), гідроксильного радикала ($\cdot\text{OH}$) та зміною вмісту стабільного пероксиду водню (H₂O₂), а також пулів одного з ранніх (дієновий кон'югати – ДК) та кінцевих (малоновий діальдегід – МДА) продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Вміст ДК визначали спектрофотометрично за поглинанням при 232 нм гептанових екстрактів проб [24]. Для визначення вмісту МДА до аліквот проб додавали 0,5 мл 1 % -го розчину тіобарбітурової кислоти в 50 ммоль/л NaOH і 0,5 мл 2,8 % -го розчину трихлороцтової кислоти. Отриману суміш витримували 20 хв на киплячій водяній бані, охолоджували і вимірювали величину екстинції при 532 нм [25].

Для визначення активності сумарної NO-синтази, а саме конститутивної (сNOS) і індукцйбельної (іNOS) ізоформ, аліквоти проб інкубували в загальному об'ємі 1 мл субстратної суміші наступного складу (мкмоль/мл): KH₂PO₄ – 50, MgCl₂ – 1, CaCl₂ – 2, НАДФН (“Sigma”, США) – 1, L-аргінін – 2, рН 7,0 протягом 60 хв при 37 °С. Реакцію зупиняли, додаючи 0,3 мл 2 N HClO₄. Контролем були проби, що містили повну субстратну суміш і попередньо денатурований 2 N HClO₄ білок. Суміш центрифугували при 3500 об/хв протягом 10 хв і в надосадковій безбілковій суміші визначали вміст L-цитруліну спектрофотометричним методом за кольоровою реакцією з антипірином. Чутливість методу – 0,2 мкг

L-цитруліну у 1 мл, завдяки чому він може використовуватися для дослідження активності NO-синтази, замінюючи загальноживаний радіоактивний метод з використанням радіоактивного L-аргініну. Методика визначення активності іNOS аналогічна попередній за деякими відмінностями: для вимірювання активності Ca²⁺-незалежної NOS в інкубаційну суміш замість CaCl₂ добавляли 2 мкмоль EDTA. Активність сNOS вираховували, віднімаючи від сумарної активності NOS таку іNOS. Активність ферментів виражали в пікомолях новоутвореного L-цитруліну за 1 хв у розрахунку на 1 мг загального білка в пробі.

Статистичний аналіз отриманих результатів проводили з використанням програм Oxygraph+, MS Excel, OriginPro 7.5.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Передусім виявили зниження вмісту H₂S в мітохондріях та плазмі крові дослідних тварин (рис. 1, а, б) на 25 та 45 % відповідно. Це, ймовірно, мало вплив на рівень окисного стресу, оскільки відомо, що сірководень є потужним антиоксидантом, функціональним проявом якого у серцево-судинній системі є підвищення активності антиоксидантних ферментів Mn- та CuZn-супероксиддисмутази, а також зниження концентрації активних форм кисню (АФК) у клітинах кардіоміоцитів під час ішемії-реперфузії [2]. Виявили, що у дослідних тварин швидкість генерації $\cdot\text{O}_2^-$ та $\cdot\text{OH}$ -радикалів зростала як в мітохондріях, так і в плазмі крові, що свідчить про інтенсифікацію процесів утворення вільних радикалів (рис. 2, а, б). Підвищення вмісту супероксидного радикала, яке супроводжується значним утворенням NO за допомогою іNOS, призводить до зростання продукції пероксинітриду – надзвичайно потужного окисника. У наших дослідженнях показано, що пригнічення *in vivo* синтезу сірководню спричиняє достовірне зниження активності роботи сNOS у мітохондріях, та в плазмі крові на 25 та 45 % відповідно (рис. 3, а, б). При

цьому активність роботи iNOS в органелах зростає у 3,27 раза, що свідчить про значне підвищення утворення NO, який, ймовірно, надалі бере участь у синтезі пероксинітриту.

Відомо, що одним із механізмом дії сірководню як антиоксиданта є зниження ПОЛ через захоплення H_2O_2 та супероксидного радикала у моделі ізопротереноліндукованого пошкодження міокарда [26]. Також показано, що активація сірководнем Nrf2-залежного шляху призводить до підвищення експресії генів гемоксигенази (HO-1), глутатіонредуктази, глутатіон-S-трансферази, тіоредоксину та каталази, які відіграють важливу роль в антиоксидантній системі захисту, а також його

інгібувальний вплив на фосфодіестеразу-5 та пряму дію як скавенджера цитотоксичного пероксинітриту [2]. У наших дослідженнях інтенсивність ПОЛ оцінювали за зміною вмісту первинних продуктів окиснення – ДК та кінцевого продукту – МДА. Виявили, що незважаючи на відсутність достовірної різниці між вмістом продуктів ПОЛ у мітохондріях, у плазмі крові їх вміст вірогідно зростає, що вказує на інтенсифікацію цього процесу (рис. 4, а, б). Таким чином, пригнічення мітохондріального шляху синтезу сірководню призводило до зростання таких показників окисного стресу, як $\cdot O^{\cdot}$ та OH^{\cdot} -радикалів, під-

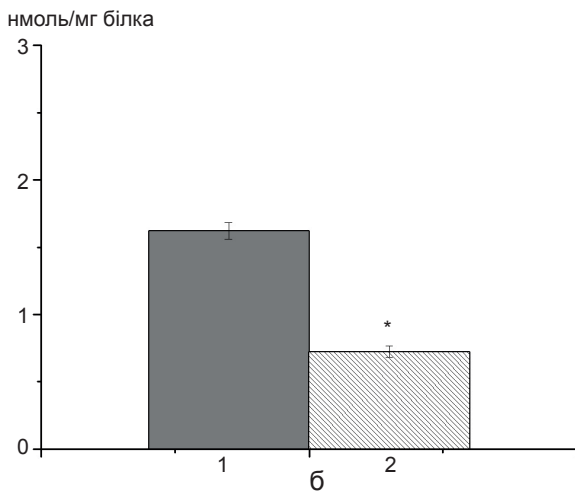
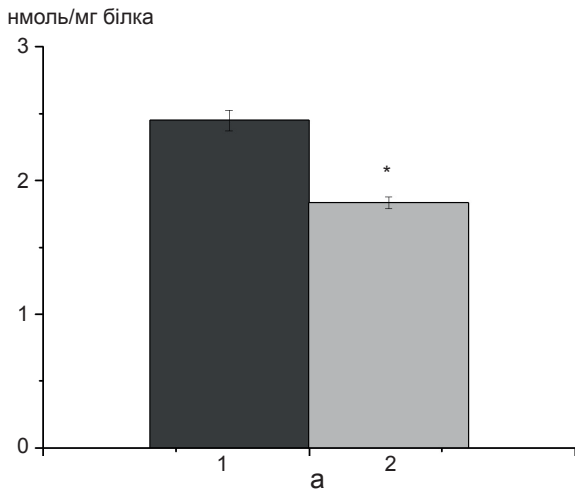


Рис. 1. Вміст сірководню (H_2S) в мітохондріях серця (а) та плазмі крові (б) контрольних (1) та дослідних (2) щурів

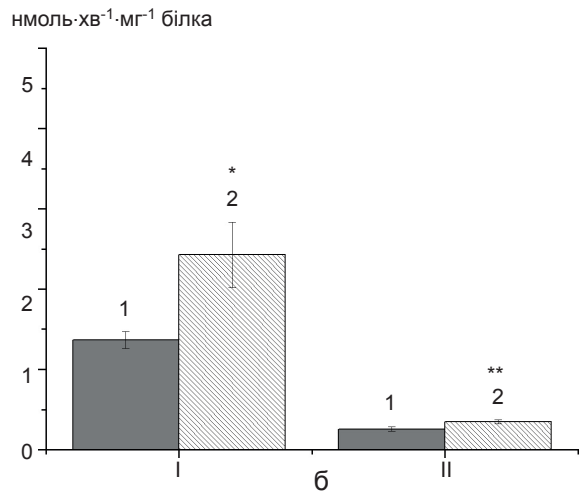
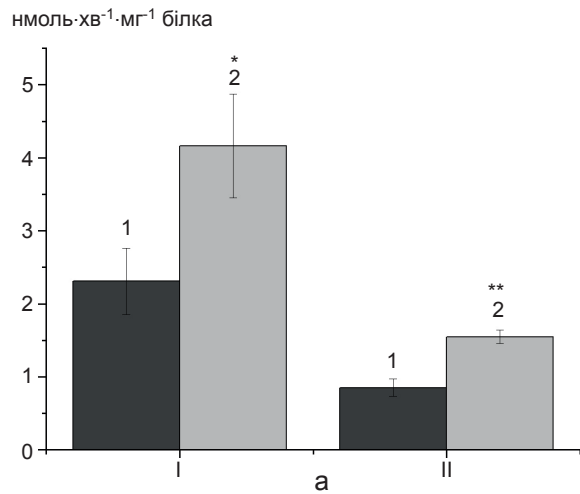


Рис. 2. Значення показників оксидативного стресу у мітохондріях серця та плазмі крові контрольних (1) та дослідних (2) щурів: швидкість генерації супероксидного радикала (I) та OH^{\cdot} -радикала (II)

вищення ПОЛ і збільшення активності iNOS на тлі зменшення функціональної активності cNOS як в мітохондріях серця, так і в плазмі крові дослідних шурів.

Дихальний ланцюг являє собою складну мультикомпонентну структуру, яка складається з 5 комплексів, локалізованих на внутрішній мембрані мітохондрій: НАДН-СоQ-оксидоредуктаза (комплекс I), сукцинат-СоQ-оксидоредуктаза (комплекс II), СоQ-цитохром-с-оксидоредуктаза (комплекс III), цитохром-с-оксидаза (комплекс IV) і АТФ-синтаза. В результаті спряженої роботи цих ферментів відбувається перене-

сення електронів від НАДН і сукцинату на молекулярний кисень з утворенням води, а енергія окиснення запасється у формі АТФ. Відомо, що саме внаслідок роботи дихального ланцюга клітини серця отримують 90 % енергії, потрібної для скорочення серцевого м'яза. Раніше було показано, що застосування інгібітора мітохондріального ферменту синтезу сірководню *in vivo* призводило до зниження вихідних показників кардіодинаміки ізольованого серця дорослих шурів, а також зменшувало функціональні резерви міокарда за умов кальцієвих навантажень [19]. Виявили, що при застосуванні

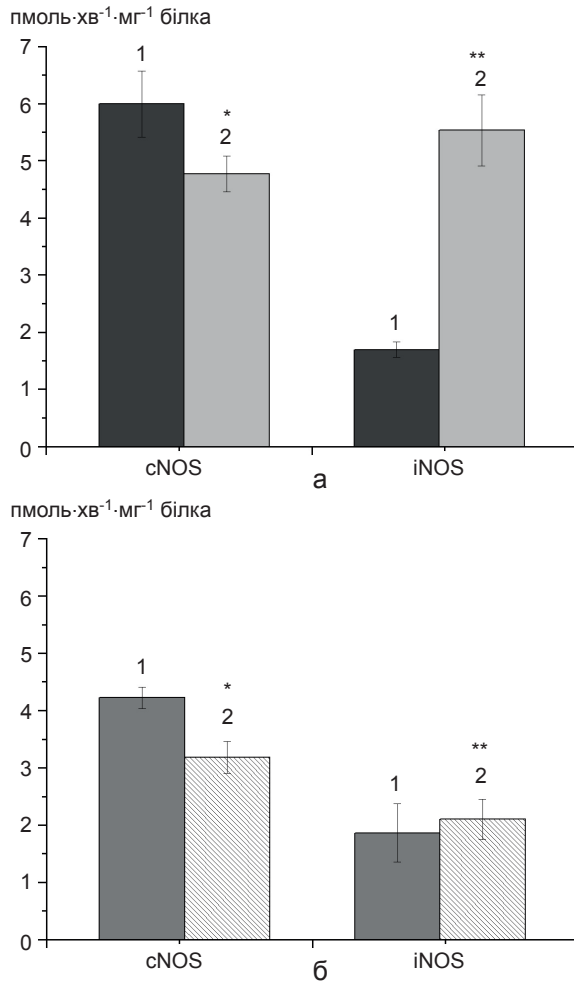


Рис. 3. Активність ферментів *de novo* синтезу NO, а саме конститутивної (cNOS) та індукцибельної (iNOS) NO-синтаз в мітохондріях серця (а) та плазмі крові (б) контрольних (1) та дослідних (2) шурів відповідно

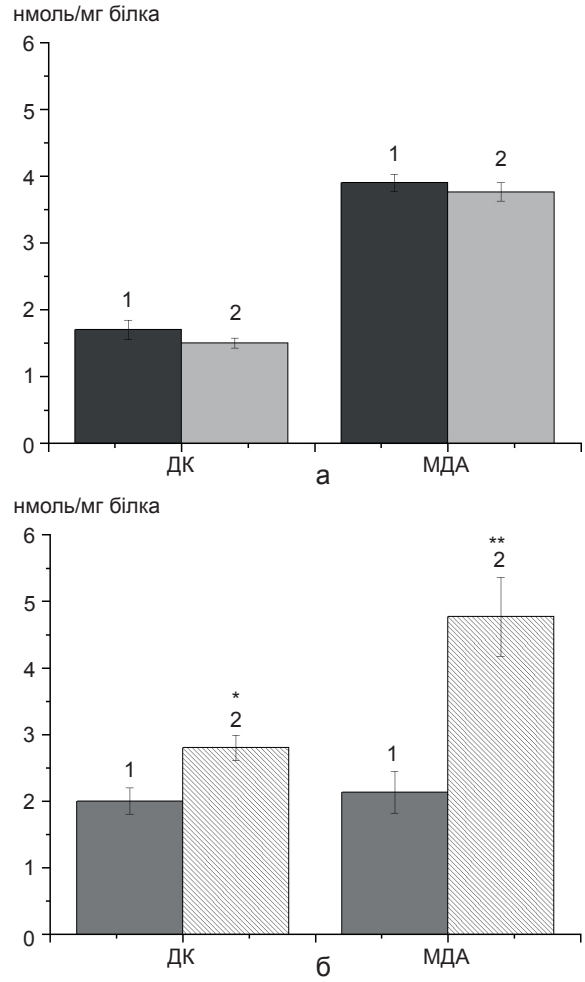


Рис. 4. Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів – дієнових кон'югатів (ДК) та малонового діальдегіда (МДА) в мітохондріях серця (а) та плазмі крові (б) контрольних (1) та дослідних (2) шурів

in vivo О-СМН значно погіршувалась робота дихального ланцюга, що проявлялося у зниженні швидкості дихання (рис. 5). При цьому зменшувалася швидкість споживання кисню у стані V_2 та достовірно знижувалася швидкість АДФ-стимульованого дихання (V_3 ; рис. 6, а). З рис. 5 видно, що за дії інгібітора не спостерігали чіткого перелому кривої у стані V_4 , коли вичерпується АДФ, що свідчить про знижену функціональну здатність мітохондрій серця дослідних тварин. Значення дихального контролю за Чансом та Ларді, які характеризують ефективність роботи дахального ланцюга мітохондрій також відповідно знижувалися у 1,32 та 1,29 раза. Також достовірно зменшувалося значення АДФ/О, що характеризує спряження процесів окиснення і фосфорилування у мітохондріях (див. рис. 6, а-в).

Отже, введення інгібітора мітохондріального шляху синтезу сірководню погіршувало функціональну здатність електронно-транспортного ланцюга, що проявлялася у зниженні швидкості споживання кисню у станах V_2 , V_3 та V_4 , а також значень дихального контролю та АДФ/О. Це, ймовірно, є головною причиною погіршення функціональної роботи серця, зокрема зниження тиску лівого шлуночка ($P_{\text{лшл}}$), dP/dt_{max} і dP/dt_{min}

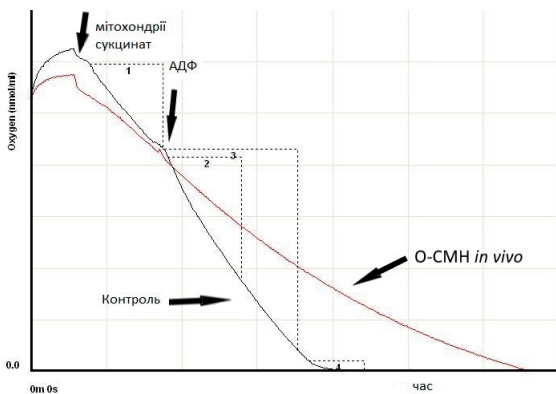


Рис. 5. Нативні криві споживання кисню мітохондріями серця дорослих щурів та органелами за умов пригнічення синтезу сірководню при введенні *in vivo* о-карбоксиметилгідроксиламіну (О-СМН, 50 мг/кг, 30 хв)

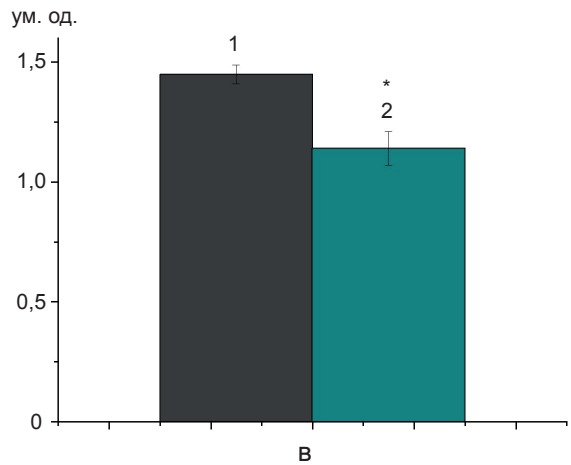
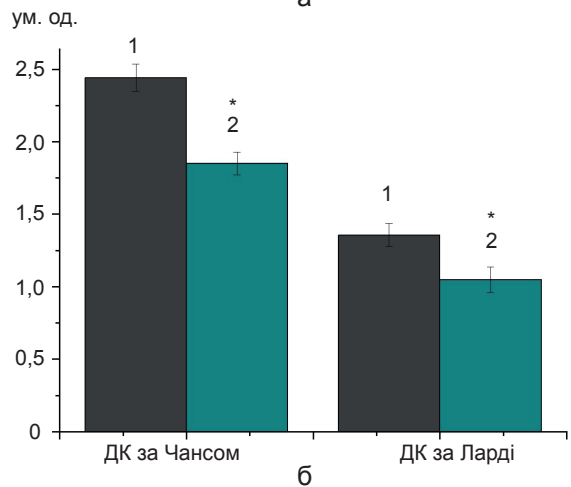
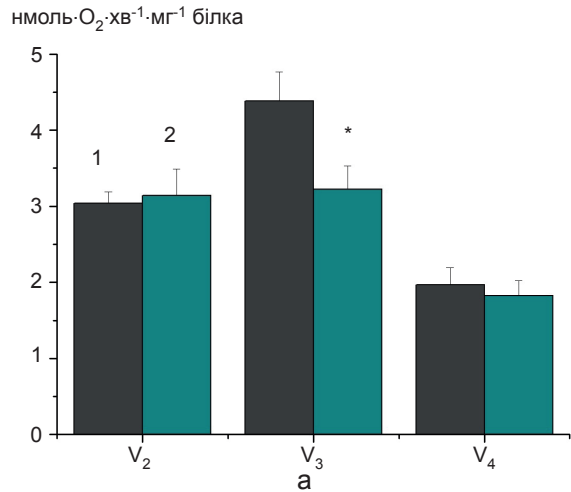


Рис. 6. а. Швидкість споживання кисню мітохондріями серця щурів у станах V_2 , V_3 , та V_4 за Чансом, з використанням субстрату сукцинату; б - дихальний контроль за Чансом (V_3/V_4) та за Ларді V_3/V_2 ; в - значення показника АДФ/О у суспензії ізольованих мітохондрій серця: 1 - контроль, 2 - введення *in vivo* о-карбоксиметилгідроксиламіну (О-СМН, 50 мг/кг, 30 хв)

та коронарного потоку, що було показано нами раніше [19]. Адже, саме ефективність енергетичного забезпечення міокарда, за яку відповідають мітохондрії, є визначальною для роботи серця.

ВИСНОВКИ

Застосування інгібітора ферменту синтезу H_2S підвищувало розвиток оксидативного стресу, а саме $\cdot O_2^-$ та $OH\cdot$ -радикалів, підвищення ПОЛ та збільшення активності роботи iNOS, на тлі зменшення функціональної активності sNOS як в мітохондріях серця, так і в плазмі крові дослідних щурів.

Пригнічення мітохондріального ферменту синтезу сірководню *in vivo* знижувало функціональну здатність електронно-транспортного ланцюга мітохондрій, яка проявлялась у зменшенні швидкості споживання кисню у станах V_2 , V_3 та V_4 , а також значень дихального контролю за Чансом та АДФ/О.

Інгібування мітохондріального синтезу сірководню призводить до посилення оксидативного стресу як внаслідок зниження вмісту H_2S , який є активним антиоксидантом, так і в результаті погіршення роботи електронно-транспортного ланцюга.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

**А.Ю. Лучкова, Н.А., Струтинская,
Ю.П. Коркач, В.Ф. Сагач**

ИНГИБИРОВАНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО СИНТЕЗА СЕРОВОДОРОДА УСИЛИВАЕТ ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕС И УХУДШАЕТ РАБОТУ ЭЛЕКТРОННО-ТРАНСПОРТНОЙ ЦЕПИ

Изучали влияние угнетения эндогенного синтеза митохондриального сероводорода с использованием *in vivo*

ингибитора H_2S -синтезирующего фермента 3-меркаптопируватсульфуртрансферазы, а именно о карбоксиметилгидроксиламина (50 мг/кг), на показатели окислительного стресса и работу дыхательной цепи органелл. Выявлено снижение содержания сероводорода в митохондриях и плазме крови подопытных животных на 25 и 45 % соответственно. Скорость генерации $\cdot O_2^-$ и $OH\cdot$ -радикалов увеличилась как в митохондриях, так и в плазме крови, что свидетельствует об интенсификации процессов образования свободных радикалов при уменьшении содержания H_2S , который является известным антиоксидантом. В условиях подавления работы фермента продукции газового транмиттера наблюдали снижение активности работы конститутивной NO-синтазы как в митохондриях, так и в плазме крови на 20 и 24 % соответственно. При этом активность индуцибельной NOS в органеллах увеличилась в 3,27 раза, что свидетельствует о значительном повышении образования NO, который, вероятно, в дальнейшем участвует в синтезе пероксинитрита. Применение ингибитора митохондриального пути синтеза сероводорода ухудшало функциональную способность электронно-транспортной цепи, которая проявлялась в снижении скорости потребления кислорода в состояниях V_2 , V_3 и V_4 , а также значений дыхательного контроля за Чансом и АДФ/О. Это, пожалуй, является главной причиной ухудшения функциональной работы сердца, ведь именно эффективность энергетического обеспечения миокарда, за которую отвечают митохондрии, является определяющей для работы сердца. Ключевые слова: сердце; митохондрии; дыхательная цепь; сероводород; окислительный стресс; активные формы кислорода.

*Институт физиологии им. О.О. Богомольца, НАН
Украины, Киев.*

**A.Yu. Luchkova, N.A. Strutyńska, Yu.P. Korkach,
V.F. Sagach**

INHIBITION OF MITOCHONDRIAL H_2S SYNTHESIS INCREASES OXIDATIVE STRESS AND IMPAIRS THE ELECTRON TRANSPORT CHAIN FUNCTION

In our research we studied the influence of mitochondrial H_2S synthesis inhibition with o-carboxymethylhydroxylamine (50 mg/kg, *in vivo*) on oxidative stress indicators and respiratory chain function. It was found that the amount of hydrogen sulfide in the mitochondria and blood plasma of experimental animals was reduced by 25 and 45%, respectively. The rate of $\cdot O_2^-$ and $OH\cdot$ -radicals generation increased both in mitochondria and plasma, indicating an intensification of free radicals formation process with a decrease in H_2S content, which is a known antioxidant. In case of inhibition of the H_2S enzyme production, the activity of the constitutive NO synthase in both mitochondria and blood plasma was decreased by 20 and 24%, respectively. In this case, the activity of inducible NOS in organelles increased by 3.27 times, indicating a significant

increase in the formation of NO, which is likely to participate in the synthesis of peroxynitrite. The inhibition of the mitochondrial pathway to hydrogen sulfide synthesis impairs the functional capacity of the electron transport chain, which manifested itself in lowering the rate of oxygen consumption in the states V_2 , V_3 and V_4 , as well as indicators of RCR and ADP/O. This, perhaps, is the main reason for the deterioration of functional functioning of the heart, because the efficiency of the energy supply of the myocardium, for which the mitochondria correspond, is crucial for the work of the heart. Key words: heart; mitochondria; respiratory chain; hydrogen sulfide; oxidative stress; active forms of oxygen.

*Bogomoletz Institute of Physiology, NAS Ukraine, Kyiv;
e-mail: a.luchkova@biph.kiev.ua*

REFERENCES

1. Nicholson CK, Calvert JW. Hydrogen Sulfide and Ischemia – Reperfusion Injury. *Pharmacol Res.* 2010; 62(4):289-97.
2. Shen Y, Shen Z, Luo S, Guo W, Zhu YZ. The cardioprotective effects of hydrogen sulfide in the heart diseases: from molecular mechanisms to therapeutic potential. *Oxid Med and Cell Long.* 2014:1-14.
3. Tao BB, Liu SY, Zhang CC, Fu W, Cai WJ, Wang Y, Shen Q, Wang MJ, Chen Y, Zhang LJ, Zhu YZ, Zhu YC. VEGFR2 functions as an H₂S-targeting receptor protein kinase with its novel Cys1045-Cys1024 disulfide bond serving as a specific molecular switch for hydrogen sulfide actions in vascular endothelial cells. *Antioxidants & Redox Sign.* 2013; 19: 448-64.
4. Paul BD, Snyder SH. H₂S signalling through protein sulphydration and beyond. *Nature reviews. Mol Cell Biol.* 2012; 13:499-507.
5. Khan AA, Schuler MM, Prior MG, Yong S, Coppock RW, Florence LZ, Lillie LE, Effects of hydrogen sulfide exposure on lung mitochondrial respiratory chain enzymes in rats. *Toxic and Appl Pharmac.* 1990; 103:482-90.
6. Collman JP, Ghosh S, Dey A, Decreau RA. Using a functional enzyme model to understand the chemistry behind hydrogen sulfide induced hibernation. *Proc of the Nat Acad Sci USA.* 2009; 106:22090-5.
7. Li L, Rose P, Moore PK. Hydrogen sulfide and cell signaling. *Ann Rev Pharm and Toxicol.* 2011; 51:169-87.
8. Zhao W, Zhang J, Lu Y, Wang R. The vasorelaxant effect of H₂S as a novel endogenous gaseous K_(ATP) channel opener. *The EMBO J.* 2001; 20:6008-16.
9. Zhong GZ, Li YB, Liu XL, Guo LS, Chen ML, Yang XC. Hydrogen sulfide opens the K_{ATP} channel on rat atrial and ventricular myocytes. *Cardiology.* 2010; 115:120-6.
10. Sun YG, Cao YX, Wang WW, Ma SF, Yao T, Zhu YC. Hydrogen sulphide is an inhibitor of L-type calcium channels and mechanical contraction in rat cardiomyocytes. *Cardiovasc Res.* 2008; 79:632-41.
11. Streng T, Axelsson HE, Hedlund P, Andersson DA, Jordt SE, Bevan S, Andersson KE, Hogestatt ED, Zygmunt

- PM. Distribution and function of the hydrogen sulfide-sensitive TRPA1 ion channel in rat urinary bladder. *Eur Urol.* 2008; 53:391-9.
12. Singh S, Banerjee R. PLP-dependent H₂S biogenesis. *Biochim et Biophys Acta.* 2011; 1814:1518-27.
13. Lefer DJ. A new gaseous signaling molecule emerges: Cardioprotective role of hydrogen sulfide. *PNAS.* 2007; 104(46):17907-8.
14. Yang G, Wang R. H₂S and blood vessels: an overview. *Handb Exp Pharmacol.* 2015; 230:85-110.
15. Shibuya N, Tanaka M, Yoshida M, Ogasawara Y, Togawa T, Ishii K, et al. 3-Mercaptopyruvate sulfurtransferase produces hydrogen sulfide and bound sulfane sulfur in the brain. *Antioxid Redox Signal.* 2009; 11:703-14.
16. Li L, Hsu A, Moore PK. Actions and interactions of nitric oxide, carbon monoxide and hydrogen sulphide in the cardiovascular system and in inflammation – a tale of three gases! *Pharmacol. Ther.* 2009; 123:386-400.
17. Kimura H. Metabolic turnover of hydrogen sulfide. *Front in Physiol.* 2012; 3:1-3.
18. Kuo MM, Kim DH, Jandu S, Bergman Y, Tan S, Wang H, Pandey DR, Abraham TP, Shoukas AA, Berkowitz DE, Santhanam L. MPST but not CSE is the primary regulator of hydrogen sulfide production and function in the coronary artery. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2016; 310:71-9.
19. Luchkova AY, Hoshovska YuV, Fedichkina RA, Strutyńska NA, Sagach V.F. Inhibition of mitochondrial H₂S synthesis depresses heart function and increases sensitivity of mitochondria to calcium load. *Fiziol Zh.* 2017; 63(4):3-9 [Ukrainian].
20. Sagach VF, Vavilova GL, Strutyńska NA, Rudyk OV. The aging increase in the sensitivity of the mitochondrial permeability transition pore opening to inductors in rat heart. *Fiziol Zh.* 2004; 50 (2):49-63. [Ukrainian].
21. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951; 1:265-75.
22. Chance B, Williams GR. Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. University of Pennsylvania. 1955:429-39.
23. Svenson A. A Rapid and Sensitive Spectrophotometric Method for Determination of Hydrogen Sulfide with 2,2-Dipyridyl Disulfide. *Analyt Biochem.* 1980; 107:51-5.
24. Havrilov V.B., Havrilova A.R. Khmara N.P. Measurement of diene conjugates in plasma by UV absorption of heptane and isopropanol extracts *Lab Work.* 1988; (2):60-64.
25. Conte D., Narindrasorasa K. S., Sarkar B. In vivo and in vitro iron replaced zinc finger generates free radicals and causes DNA damage. *Eur J Biochem.* 1996; 271(9):5125-30.
26. Szabo C. Hydrogen sulphide and its therapeutic potential. *Nature Rev Drug Discovery.* 2007; 6(11):917-35.

Матеріал надійшов до редакції 06.09.2018