

УДК 616.36-008.6-002-092:612.014.464

## УЧАСТИЕ СЕРОВОДОРОДА В МЕХАНИЗМЕ ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ ЭРИТРОПОЭТИНА НА ПЕЧЕНЬ ПРИ СИНДРОМЕ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ

Ходосовский М. Н. (*hodosowsky@grsmu.by*), Зинчук В. В. (*zinchuk@grsmu.by*),  
Гуляй И. Э. (*irinagulyai@gmail.com*)

УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь

*Введение.* Разработка новых методов коррекции повреждений, возникающих при ишемии-реперфузии печени (ИРП), является актуальной проблемой современной хирургии и трансплантологии.

*Цель исследования* – изучить роль сероводорода в механизме защитного влияния эритропоэтина при синдроме ИРП у крыс.

*Материал и методы.* Животных разделили на 4 группы: 1-я (n=10) – контроль; во 2-й (n=10) моделировали ишемию (30 мин., маневр Прингла) и реперфузию (120 мин.) печени; в 3-й (n=10) группе за 30 мин. перед ИРП крысам вводили эритропоэтин (INTAS, 1000 МЕ/кг), в 4-й (n=10) группе введение эритропоэтина комбинировали с DL-пропаргилглицином (Sigma, 50 мг/кг, 60 мин. до ИРП). В конце экспериментов исследовали параметры прооксидантно-антиоксидантного баланса (диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид, восстановленный глутатион, активность каталазы и др.) в крови и печени.

*Результаты.* Установлено, что эритропоэтин существенно снижал уровень продуктов перекисного окисления липидов, улучшал показатели антиоксидантной защиты в крови и тканях печени в конце реперфузионного периода. Ингибирование эндогенного синтеза сероводорода в печени с помощью DL-пропаргилглицина нивелировало данный эффект эритропоэтина.

*Вывод.* Защитный эффект эритропоэтина при ишемии-реперфузии печени в большой степени опосредован газотрансмиссивными свойствами сероводорода.

**Ключевые слова:** сероводород, эритропоэтин, реперфузия, печень, прооксидантно-антиоксидантное состояние, крысы.

### Введение

Выяснение физиологических эффектов эндогенного сероводорода является актуальной проблемой современной физиологии и медицины. С момента установления эндогенной продукции данного соединения в организме млекопитающих прошел не один десяток лет, пока точка зрения о нем, как о побочном продукте биохимических реакций, трансформировалась до биологически высокоактивного соединения, участвующего в механизмах межклеточной сигнализации и модулирующего активность многих проадаптивных генов [6, 10, 14, 22, 24]. Показано, что H<sub>2</sub>S синтезируется практически во всех тканях, а наибольшие его концентрации обнаруживаются в мозге, сердце, сосудах, печени и почках [14, 25]. В печени H<sub>2</sub>S синтезируется из L-цистеина преимущественно под влиянием фермента цистатионин-γ-лиазы. Он обладает нейротрансмиссивными свойствами, способностью к вазодилатации, уменьшает агрегацию тромбоцитов, легко вступает в реакцию с активными формами кислорода и азота, восстанавливает активность ферментов благодаря сульфгидратации, влияет на клеточную пролиферацию и ангиогенез [6, 24].

Установлено, что при ишемии-реперфузии печени (ИРП) экзогенный H<sub>2</sub>S улучшает параметры кислородтранспортной функции крови, повышает активность внутриклеточных антиоксидантов, индуцирует продукцию белков теплового шока (HSP-90), подавляет апоптоз, провоспалительные факторы, что способствует уменьшению реперфузионных повреждений органа [7, 12, 13]. Ранее нами показан протективный эффект эритропоэтина (ЭПО) при ИРП [8]. Учитывая, что ЭПО и H<sub>2</sub>S способны модулиро-

вать активность одних и тех же проадаптивных генов и оказывать схожее влияние на прооксидантно-антиоксидантный баланс при ИРП [7, 8, 17, 21], нами была поставлена **цель:** выяснить роль эндогенного сероводорода в механизме защитного действия эритропоэтина на печень при синдроме ишемии-реперфузии у крыс.

### Материал и методы

Опыты выполнены на 40 взрослых белых крысах-самцах, массой 280-360 г, выдержанных в стандартных условиях вивария. Под комбинированным наркозом (тиопентал натрия – 30 мг/кг, в/б, калипсол – 100 мг/кг, в/м) ишемию печени вызывали наложением сосудистого зажима на а. hepatica propria и v. portae (маневр Прингла) в течение 30 минут, реперфузионный период длился 120 минут. В конце эксперимента осуществляли забор смешанной венозной крови из правого предсердия и тканей печени для оценки параметров КТФ крови, прооксидантно-антиоксидантного и функционального состояния печени. Все оперативные вмешательства осуществляли в условиях адекватной анальгезии в соответствии с нормами, принятыми этической комиссией по гуманному обращению с животными Гродненского государственного медицинского университета.

Животных разделили на 4 группы: 1-я (n=10) – контрольная; во 2-й (n=10) группе моделировали ИРП; в 3-й (n=10) группе за 30 мин. перед ИРП крысам вводили рекомбинантный человеческий эритропоэтин альфа (ЭПО, INTAS, 1000 МЕ/кг, в/б) [8], в 4-й (n=10) группе введение ЭПО комбинировали с ингибитором синтеза сероводорода – DL-пропаргилглицином (ПАГ, Sigma, 50 мг/кг, 60 мин до ИРП, в/б) [23]. Содержание сероводорода в плазме крови определя-

ли спектрофотометрическим методом, который основан на реакции между сульфид-анионом и кислым раствором N,N-диметил-p-фенилендиамина в присутствии хлорида железа (III) [18].

Изучали следующие показатели прооксидантно-антиоксидантного состояния: диеновые конъюгаты (ДК), малоновый диальдегид (МДА), основания Шиффа (ОШ), восстановленный глутатион (GSH),  $\alpha$ -токоферол, ретинол и активность каталазы. Содержание ДК в биологическом материале определяли методом ультрафиолетовой спектрофотометрии при длине волны 233 нм, типичной для конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов [1]. Уровень МДА (ТБК-активных продуктов) оценивали по взаимодействию с 2'-тиобарбитуровой кислотой (ТБК), которая при нагревании в кислой среде приводит к образованию триметинового комплекса розового цвета [4]. Содержание ОШ определяли по интенсивности флюоресценции хлороформного экстракта при длинах волн возбуждения и эмиссии 344 нм и 440 нм, соответственно [11]. Концентрацию  $\alpha$ -токоферола и ретинола изучали методом флюориметрического определения по интенсивности флюоресценции гексанового экстракта [9]. В качестве стандарта использовались  $\alpha$ -токоферол и ретинол фирмы "Sigma". Содержание GSH в биологическом материале определяли по модифицированному методу J. Sedlak, R. Lindsay (1968) [20], в основе которого лежит реакция взаимодействия SH-групп глутатиона с 5,5'-дитиобис(2-нитробензойной кислотой), способной поглощать свет при длине волны 412 нм. Каталазная активность в биологическом материале оценивалась спектрофотометрическим методом, основанным на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойко окрашенный комплекс [5].

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием t-критерия Стьюдента, критериев Вилкоксона или Манна-Уитни (в зависимости от нормальности распределения выборок). Достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

Моделирование синдрома ИРП у крыс приводило к снижению уровня сероводорода в плазме смешанной венозной крови в конце реперфузии на 35,2% ( $p < 0,01$ ) по отношению к контролю (рис.1). Инфузия ЭПО способствовала восстановлению уровня  $H_2S$  в крови при ИРП, тогда как ингибирование цистатионин- $\gamma$ -лиазы в условиях введения ЭПО снижало уровень сероводорода по отношению ко всем экспериментальным группам и контролю (см. рис.1).

Изменения параметров прооксидантно-антиоксидантного баланса представлены в таблице 1. Установлено, что моделирование ИРП у крыс приводило к росту содержания продуктов ПОЛ, истощению структурных антиоксидантов (токоферол, ретинол), снижению активности каталазы в крови и печени опытных животных. В группе животных, получавших ЭПО (3-я груп-

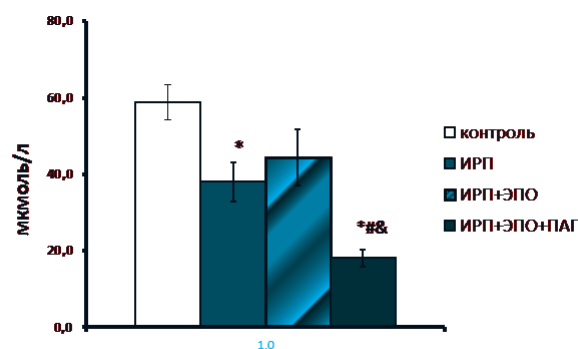


Рисунок 1. – Изменение уровня сероводорода плазмы у опытных крыс в конце реперфузионного периода:

где \* – достоверное различие по отношению к контрольной группе ( $p < 0,05$ ), # – достоверное различие по отношению ко 2-й группе (ИРП) животных ( $p < 0,05$ ), & – достоверное различие по отношению к 3-й группе (ЭПО) животных ( $p < 0,05$ )

па), наблюдалось улучшение большинства исследуемых параметров. Так, уровень ДК и ОШ в эритроцитах по отношению к животным, которым препарат не вводили, понижался на 62,9% ( $p < 0,001$ ) и 39,2% ( $p < 0,001$ ), соответственно. Содержание ДК и ОШ в печени в конце реперфузии по отношению к крысам, у которых моделировали только ИРП, падало на 78,0% ( $p < 0,001$ ) и 73,9 ( $p < 0,001$ ), соответственно. Одновременно улучшались изучаемые параметры антиоксидантной системы в крови и тканях печени у крыс, получавших ЭПО, по отношению к животным 2-й группы. Так, в печени в конце реперфузии уровни  $\alpha$ -токоферола, ретинола и активность каталазы у животных 3-й группы не отличались от контрольных, а содержание GSH эритроцитов повышалось на 20,7% ( $p < 0,05$ ) по отношению к контролю. Результаты исследования указывают, что введение крысам ЭПО способствует улучшению прооксидантно-антиоксидантного баланса при ИРП.

Применение ЭПО в условиях ингибирования синтеза сероводорода с помощью ПАГ (4-я группа) ухудшало параметры прооксидантно-антиоксидантного состояния крови и печени после ишемии (см. табл. 1). Так, уровень продуктов ПОЛ в плазме крови в конце реперфузионного периода возрастал: ДК – в 2,8 раза ( $p < 0,001$ ), ОШ – в 3,5 раза ( $p < 0,001$ ); активность каталазы эритроцитов падала в 2,1 раза ( $p < 0,001$ ) по отношению к крысам 3-й группы. Содержание  $\alpha$ -токоферола и ретинола плазмы в 4-й группе по отношению к контрольным животным понижалось на 14,8% ( $p < 0,001$ ) и 17,7% ( $p < 0,001$ ), соответственно. Схожая динамика изменений показателей прооксидантно-антиоксидантного баланса наблюдалась в печени (см. табл. 1). Следует отметить, что у крыс 4-й группы, несмотря на повышение уровня ДК в печени и ОШ в плазме крови по отношению к животным 3-й группы данные показатели ПОЛ оставались ниже, чем во 2-й группе экспериментальных животных (см. табл. 1).

**Таблица 1.** – Динамика показателей качества жизни до и после курса МР (Ме [25%; 75%])

Шкала опросника	Группы					
	I		II		III	
	До	После	До	После	До	После
Физическое функционирование (PF)	45,0 [43,8-57,5]	70,0 [55,0-80,0]*	35,0 [25,0-50,0]	52,5 [43,8-62,5]*	35,0 [25,0-47,5]	60,0 [57,5-72,5]*
Рольное функционирование, обусловленное физическим состоянием (RP)	25,0 [0,0-50,0]	50,0 [18,8-56,3]*	0,0 [0,0-0,0]	0,0 [0,0-50,0]	0,0 [0,0-0,0]	0,0 [0,0-0,0]
Интенсивность боли (BP)	62,0 [52,0-66,0]	73,0 [67,0-74,0]*	51,5 [41,0-64,5]	57,0 [52,0-64,5]*	41,0 [21,5-53,0]	52,0 [31,0-62,0]*
Общее состояние здоровья (GH)	45,0 [40,0-50,0]	66,0 [50,0-77,0]*	40,0 [33,8-43,3]	46,0 [42,0-50,5]*	45,0 [32,5-54,5]	52,0 [50,0-58,5]*
Физический компонент здоровья (PH)	38,1 [34,0-42,9]	44,5 [39,7-49,6]*	34,7 [32,8-37,3]	38,3 [36,4-40,2]*	33,0 [30,3-34,3]	37,9 [34,5-40,8]*
Жизненная активность (VT)	42,5 [35,0-45,0]	50,0 [45,0-51,3]*	35,0 [35,0-41,3]	40,0 [35,0-45,0]*	35,0 [27,5-37,5]	50,0 [45,0-55,0]*
Социальное функционирование (SF)	56,3 [50,0-65,6]	75,0 [62,5-75,0]*	50,0 [37,5-62,5]	62,5 [59,4-65,6]*	37,5 [25,0-50,0]	62,5 [37,5-62,5]*
Рольное функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием (RE)	33,3 [0,0-75,0]	33,3 [25,0-66,7]*	0,0 [0,0-0,0]	0,0 [0,0-33,3]	0,0 [0,0-0,0]	0,0 [0,0-66,7]
Психическое здоровье (MH)	46,0 [40,0-64,0]	62,0 [56,0-68,0]*	38,0 [36,0-53,0]	52,0 [44,0-57,0]*	44,0 [42,0-48,0]	60,0 [56,0-68,0]*
Психологический компонент здоровья (MHI)	39,8 [33,0-45,3]	43,2 [40,2-44,9]*	31,8 [30,2-34,4]	34,9 [33,5-40,6]*	31,8 [29,3-37,3]	39,0 [32,8-46,2]*

Примечание: \* –  $p < 0,05$

Результаты исследования указывают, что использование ЭПО перед ИРП значительно улучшает прооксидантно-антиоксидантное состояние в крови и печени опытных животных, тогда как применение ингибитора эндогенного синтеза H<sub>2</sub>S приводит к снижению данного протективного эффекта. Показано, что в печени под влиянием ЭПО увеличивается экспрессия рецепторов к нему (ЭПОР), что ведет к ингибированию TLR2 рецепторов и снижению уровня ядерного фактора – κB (NF-κB) и провоспалительных цитокинов (TNF-α, IL-1, IL-6) при ишемии-реперфузии [15]. Взаимодействие ЭПО с ЭПОР приводит к активации внутриклеточного сигнального каскада с участием фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) и протеинкиназы B (Akt), что способствует активации транскрипционных факторов, в том числе ядерного фактора эритроидного происхождения Nrf2, отвечающего за экспрессию антиоксидантных протеинов и защиту от окислительного стресса [3, 15, 17]. Так, в работе [17] установлено, что активация Nrf2 под влиянием ЭПО при ишемии мозга сопровождалась значительным антиоксидантным эффектом, связанным с уменьшением накопления перекиси водорода в тканях этого органа. Результаты Meng H. et al. [17] согласуются с полученными нами данными об улучшении большинства параметров прооксидантно-антиоксидантного состояния, в том числе повышение активности каталазы, при ИРП в условиях введения ЭПО. Вместе с тем полученные нами данные о влиянии ЭПО при ИРП у крыс трудно объяснить активацией ядерного аппарата клеток, т.к. последнее требует большей

продолжительности экспериментов.

Показано, что Akt может активировать цистатионин-γ-лиазу без участия генетического аппарата клеток путем прямого фосфорилирования фермента, являющегося основным продуцентом эндогенного сероводорода в печени [19]. Использование специфического ингибитора цистатионин-γ-лиазы – ПАГ – в наших опытах препятствовало развитию большинства протективных эффектов ЭПО на прооксидантно-антиоксидантное состояние. По-видимому, сероводород был основным мессенджером защитного действия ЭПО при ИРП у крыс. Эндогенный сероводород быстро захватывается метал-лосодержащими протеинами и метаболизи-

руется в митохондриях клеток [6]. Показано, что H<sub>2</sub>S способствует улучшению работы митохондрий, поддержанию процессов окислительного фосфорилирования, препятствует индуцированному ионами кальция высвобождению цитохрома C и апоптозу, снижает генерацию свободных радикалов кислорода в дыхательной цепи, что предотвращает развитие окислительного стресса в печени [16]. Нельзя исключить, что повышение продукции H<sub>2</sub>S эндотелием сосудов способно модифицировать кислородсвязывающие свойства гемоглобина в результате его сульфгидрирования [2, 7], что может существенно влиять на редокс-состояние тканей при ИРП.

### Выводы

1. Инфузия эритропоэтина в дозе 1000 МЕ/кг перед ишемическим периодом снижает активность процессов перекисного окисления липидов и улучшает механизмы антиоксидантной защиты при моделировании синдрома ишемия-реперфузия печени у крыс.

2. Защитное действие ЭПО на печень при ишемии-реперфузии реализуется преимущественно через увеличение эндогенной продукции сероводорода и его газотрансмиссивными свойствами, что, в частности, проявляется в улучшении прооксидантно-антиоксидантного баланса у экспериментальных животных.

*Работа выполнена благодаря поддержке Белорусского фонда фундаментальных исследований (договор № М13-130).*



## Литература

1. Гаврилов, В. Б. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гептановых и изопропанольных / В. Б. Гаврилов, А. Р. Гаврилова, А. Ф. Хмара // Лаб. дело. – 1988. – № 2. – С. 60-64.
2. Добродей, М. А. Кислородтранспортная функция крови, уровень газотрансмиттеров и прооксидантно-антиоксидантное состояние при хронической обструктивной болезни легких / М. А. Добродей [и др.] // Журнал ГрГМУ. – 2016. – № 2. – С. 92-97.
3. Захаров, Ю. М. Неэритропоэтические функции эритропоэтина / Ю. М. Захаров // Рос. физиол. журнал им. И. М. Сеченова. – 2007. – Т. 93, № 6. – С. 592-608.
4. Камышников, В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике : в 2 т. / В. С. Камышников. – 2-е изд. – Минск : Беларусь, 2002. – Т. 1. – 465 с.
5. Королюк, М. А. Измерение активности каталазы в биологических средах / М. А. Королюк [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
6. Улащик, В. С. Современные представления о биологической роли эндогенного сероводорода / В. С. Улащик // Здравоохранение. – 2012. – № 1. – С. 42-48.
7. Ходосовский, М. Н. Влияние гидросульфида натрия на параметры кислородтранспортной функции крови при ишемии-реперфузии печени у крыс / М. Н. Ходосовский // Рос. физиол. журнал им. И. М. Сеченова. – 2016. – Т. 102, № 6. – С. 698-704.
8. Ходосовский, М. Н. Влияние эритропоэтина на кислородтранспортную функцию крови и прооксидантно-антиоксидантное состояние при ишемии-реперфузии печени / М. Н. Ходосовский, В. В. Зинчук // Рос. физиол. журнал им. И. М. Сеченова. – 2014. – Т. 100, № 5. – С. 592-601.
9. Черняускене, Р. Ч. Одновременное флуориметрическое определение концентрации витаминов А и Е в сыворотке крови / Р. Ч. Черняускене, З. З. Варшкявичене, П. С. Грибаускас // Лаб. дело. – 1984. – № 6. – С. 362-365.
10. Abe, K. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator / K. Abe, H. Kimura // J. Neurosci. – 1996. – Vol. 16, № 3. – P. 1066-1071.
11. Fletcher, B. L. Measurement of fluorescent lipid peroxidation products in biological systems and tissues / B. L. Fletcher, C. J. Dillard, A. L. Tappel // Anal. Biochem. – 1973. – Vol. 52, № 1. – P. 1-9.
12. Jha, S. Hydrogen sulfide attenuates hepatic ischemia-reperfusion injury : role of antioxidant and antiapoptotic signaling / S. Jha [et al.] // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2008. – Vol. 295, № 2. – P. H801-H806.
13. Kang, K. Role of hydrogen sulfide in hepatic ischemia-reperfusion-induced injury in rats / K. Kang [et al.] // Liver Transpl. – 2009. – Vol. 15, № 10. – P. 1306-1314.
14. Kimura, H. Hydrogen sulfide : its production and functions / H. Kimura // Exp. Physiol. – 2011. – Vol. 96, № 9. – P. 833-835.
15. Liu, Q. S. Erythropoietin pretreatment exerts anti-inflammatory effects in hepatic ischemia/reperfusion-injured rats via suppression of the TLR2/NF- $\kappa$ B pathway / Q. S. Liu [et al.] // Transplant. Proc. – 2015. – Vol. 47, № 2. – P. 283-289.
16. Mani, S. Hydrogen sulfide and the liver / S. Mani [et al.] // Nitric. Oxide. – 2014. – Vol. 41. – P. 62-71.
17. Meng, H. Erythropoietin activates Keap1-Nrf2/ARE pathway in rat brain after ischemia / H. Meng [et al.] // Int. J. Neurosci. – 2014. – Vol. 124, № 5. – P. 362-368.
18. Norris, E. J. The liver as a central regulator of hydrogen sulfide / E. J. Norris [et al.] // Shock. – 2011. – Vol. 36, № 3. – P. 242-250.

## References

1. Gavrilov, V. B. Izmerenie dienovykh konjugatov v plazme krovi po UF-pogloscheniu heptanovykh i izopropanolnykh ekstraktov / V. B. Gavrilov, A. R. Gavrilova, A. F. Hmara // Lab. delo. – 1988. – № 2. – S. 60-64.
2. Dobrodei, M. A. Kislorodtransportnaja funkcija krovi, uroven gazotransmitterov i prooksidantno-antioxidantnoje sostojanie pri hronicheskoj obstruktivnoj bolesni legkih / M. A. Dobrodei [i dr.] // Zhurnal GrGMU. – 2016. – № 2. – S. 92-97.
3. Zaharov, Ju. M. Neeritropoeticheskie funkcii eritropoetina / Ju. M. Zaharov // Ros. fiziol. zhurnal im. I. M. Sechenova. – 2007. – T. 93, № 6. – S. 592-608.
4. Kamyshnikov, V. S. Spravochnik po klinicheskobiohicheskoj laboratornoj diagnostike : v 2 t. / V. S. Kamyshnikov. – 2-e isd. – Mn. : Belarus, 2002. – T. 1. – 465 s.
5. Koroljuk, M. A. Ismerenie aktivnosti katalasy v biologicheskikh sredah / M. A. Koroljuk [i dr.] // Lab. delo. – 1988. – № 1. – S. 16-19.
6. Ulaschik, V. S. Sovremennye predstavlenija o biologicheskoi roli endogenogo serovodoroda / V. S. Ulaschik // Zdravoohranenie. – 2012. – № 1. – S. 42-48.
7. Hodosovskii, M. N. Vlijanije hidrosulfida natrija na parametry kislorodtransportnoj funkcii krovi pri ishemii-reperfusii pecheni u krysv / M. N. Hodosovskii // Ros. fiziol. zhurnal im. I. M. Sechenova. – 2016. – T. 102, № 6. – S. 698-704.
8. Hodosovskii, M. N. Vlijanije eritropoetina na kislorodtransportnuju funkciju krovi i prooksidantno-antioxidantnoje sostojanije pri ishemii-reperfusii pecheni / M. N. Hodosovskii, V. V. Zinchuk // Ros. fiziol. zhurnal im. I. M. Sechenova. – 2014. – T. 100, № 5. – S. 592-601.
9. Chernjaukskene, R. Ch. Odnovremennoje fluorometricheskoje opredelenije koncentracii vitaminov A i E v syvorotke krovi / R. Ch. Chernjaukskene, Z. Z. Varshkjavichene, P. S. Gribauskas // Lab. delo. – 1984. – № 6. – S. 362-365.
10. Abe, K. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator / K. Abe, H. Kimura // J. Neurosci. – 1996. – Vol. 16, № 3. – P. 1066-1071.
11. Fletcher, B. L. Measurement of fluorescent lipid peroxidation products in biological systems and tissues / B. L. Fletcher, C. J. Dillard, A. L. Tappel // Anal. Biochem. – 1973. – Vol. 52, № 1. – P. 1-9.
12. Jha, S. Hydrogen sulfide attenuates hepatic ischemia-reperfusion injury: role of antioxidant and antiapoptotic signaling / S. Jha [et al.] // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2008. – Vol. 295, № 2. – P. H801-H806.
13. Kang, K. Role of hydrogen sulfide in hepatic ischemia-reperfusion-induced injury in rats / K. Kang [et al.] // Liver Transpl. – 2009. – Vol. 15, № 10. – P. 1306-1314.
14. Kimura, H. Hydrogen sulfide: its production and functions / H. Kimura // Exp. Physiol. – 2011. – Vol. 96, № 9. – P. 833-835.
15. Liu, Q. S. Erythropoietin pretreatment exerts anti-inflammatory effects in hepatic ischemia/reperfusion-injured rats via suppression of the TLR2/NF- $\kappa$ B pathway / Q. S. Liu [et al.] // Transplant. Proc. – 2015. – Vol. 47, № 2. – P. 283-289.
16. Mani, S. Hydrogen sulfide and the liver / S. Mani [et al.] // Nitric. Oxide. – 2014. – Vol. 41. – P. 62-71.
17. Meng, H. Erythropoietin activates Keap1-Nrf2/ARE pathway in rat brain after ischemia / H. Meng [et al.] // Int. J. Neurosci. – 2014. – Vol. 124, № 5. – P. 362-368.
18. Norris, E. J. The liver as a central regulator of hydrogen sulfide / E. J. Norris [et al.] // Shock. – 2011. – Vol. 36, № 3. – P. 242-250.
19. Renga, B. Reversal of Endothelial Dysfunction by GPBAR1 Agonism in Portal Hypertension Involves a AKT/

19. Renga, B. Reversal of Endothelial Dysfunction by GPBAR1 Agonism in Portal Hypertension Involves a AKT/FOXO1 Dependent Regulation of H2S Generation and Endothelin-1 / B. Renga [et al.] // PLoS One. – 2015. – Vol. 10, № 11. – P. e0141082.
20. Sedlak, J. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent / J. Sedlak, R. H. Lindsay // Anal. Biochem. – 1968. – Vol. 25, № 1. – P. 192-205.
21. Shimada, S. Hydrogen sulfide augments survival signals in warm ischemia and reperfusion of the mouse liver / S. Shimada [et al.] // Surg. Today. – 2015. – Vol. 45, № 7. – P. 892-903.
22. Sluiter, E. The production of hydrogen sulphide by animal tissues / E. Sluiter // Biochem. J. – 1930. – Vol. 24, № 2. – P. 549-563.
23. Tan, G. Hydrogen sulfide attenuates carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity, liver cirrhosis and portal hypertension in rats / G. Tan [et al.] // PLoS One. – 2011. – Vol. 6, № 10. – P. e25943.
24. Wang, R. The gasotransmitter role of hydrogen sulfide / R. Wang // Antioxid. Redox. Signal. – 2003. – Vol. 5, № 4. – P. 493-501.
25. Wu, B. Interaction of Hydrogen Sulfide with Oxygen Sensing under Hypoxia / B. Wu [et al.] // Oxid. Med. Cell. Longev. – 2015. – Vol. 2015. – P. 758-678.
- FOXO1 Dependent Regulation of H2S Generation and Endothelin-1 / B. Renga [et al.] // PLoS One. – 2015. – Vol. 10, № 11. – P. e0141082.
20. Sedlak, J. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent / J. Sedlak, R. H. Lindsay // Anal. Biochem. – 1968. – Vol. 25, № 1. – P. 192-205.
21. Shimada, S. Hydrogen sulfide augments survival signals in warm ischemia and reperfusion of the mouse liver / S. Shimada [et al.] // Surg. Today. – 2015. – Vol. 45, № 7. – P. 892-903.
22. Sluiter, E. The production of hydrogen sulphide by animal tissues / E. Sluiter // Biochem. J. – 1930. – Vol. 24, № 2. – P. 549-563.
23. Tan, G. Hydrogen sulfide attenuates carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity, liver cirrhosis and portal hypertension in rats / G. Tan [et al.] // PLoS One. – 2011. – Vol. 6, № 10. – P. e25943.
24. Wang, R. The gasotransmitter role of hydrogen sulfide / R. Wang // Antioxid. Redox. Signal. – 2003. – Vol. 5, № 4. – P. 493-501.
25. Wu, B. Interaction of Hydrogen Sulfide with Oxygen Sensing under Hypoxia / B. Wu [et al.] // Oxid. Med. Cell. Longev. – 2015. – Vol. 2015. – P. 758-678.

## INVOLVEMENT OF HYDROGEN SULFIDE IN ERYTHROPOIETIN PROTECTIVE EFFECT DURING HEPATIC ISCHEMIA-REPERFUSION SYNDROME

*Khodosovsky M. N., Zinchuk V. V., Gulyai I. E.*

Educational Establishment "Grodno State Medical University", Grodno, Belarus

*Introduction. Development of new methods for hepatic ischemia-reperfusion (HIR) injuries correction is an actual problem of modern surgery and transplantation.*

*Purpose. To investigate the role of hydrogen sulfide in erythropoietin protective effect during HIR in rats.*

*Material and methods. 40 rats were divided into 4 groups: the 1st one (n=10) was the control group; in the 2nd group (n=10) hepatic ischemia (30 min, the Pringle manoeuvre) and reperfusion (120 min) were modeled; in the 3rd group (n=10) erythropoietin (INTAS; 1,000 IU/kg) was administered 30 min before HIR; in the 4th group (n=10) the rats were handled like in the 3rd group, but an inhibitor of cystathionine- $\gamma$ -lyase, DL-propargylglycine, (Sigma, 50 mg/kg) was added 1hr before HIR. The parameters of pro/antioxidant balance (conjugated diens, malondialdehyde, reduced glutathione, catalase activity, etc.) were detected in the blood and liver at the end of experiments.*

*Results. It was found that erythropoietin significantly decreased the level of lipid peroxidation products, improved parameters of antioxidant defense system in blood and liver at the end of reperfusion. Inhibition of endogenous hydrogen sulfide synthesis in the liver by DL-propargylglycine significantly reduced this protective effect of erythropoietin.*

*Conclusion. The protective effect of erythropoietin during hepatic ischemia-reperfusion is largely mediated by gasotransmitter properties of hydrogen sulfide.*

**Keywords:** hydrogen sulfide, erythropoietin, reperfusion, liver, prooxidant-antioxidant status, rats.

Поступила: 30.12.2016

Отрецензирована: 03.01.2017