

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

ВЛИЯНИЕ СЕРОВОДОРОДА НА ПОКАЗАТЕЛИ ГЕМОСТАЗА, ИОНОВ Ca^{++} И РАЗВИТИЕ ПРИЗНАКОВ СЕНЕСЦЕНЦИИ В СОСУДИСТОЙ СЕТИ**Е.В. Тризно*, И.А. Беднов, М.Н. Тризно, Д.Р. Давыдова, В.Ю. Шур, О.С. Дюкарева**Астраханский государственный медицинский университет
Российская Федерация, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121

РЕЗЮМЕ. Сероводород (H_2S) считается важным регуляторным газомедиатором, необходимым для гемоваскулярного гомеостаза. Однако физиологический эффект его воздействия значительно варьирует и зависит от концентрации.

Цель работы – анализ показателей системы гемостаза и ионов кальция (Ca^{++}) в плазме до и после воздействия сероводорода.

Материалы и методы. Для работы исследовали венозную кровь и срезы почечной ткани и артерий тридцати одной лабораторной крысы. Показатели свёртывающей, фибринолитической, антикоагулянтной систем и ионов Ca^{++} , а также морфологические изменения васкуляризованных тканей изучали до и после воздействия донора сероводорода – сульфида натрия (Na_2S).

Результаты. В результате воздействия патогена зафиксировано повышение уровня ионов Ca^{++} в плазме, ускорение времени образования протромбиназы, в большей степени по внешнему пути, замедление фибринолиза, но усиление антикоагулянтного звена. В качестве параметров системы гемостаза изучали активированное частичное тромбопластиновое, протромбиновое и тромбиновое время, антитромбин III, фибриноген и XIIa-зависимый эуглобулиновый лизис. Среди клеток эндотелия и медиального сосудистого слоя наблюдались сенесцентные клетки, множественные признаки дегенеративных нарушений и сладжирование эритроцитов. Содержащие липофусцин сенесцентные клетки располагались диффузно в гладкомышечном васкулярном слое, а среди эндотелиальных клеток наблюдались гроздьевидные скопления.

Заключение. Избыток сероводородных ионов способствует повышению ионов Ca^{++} и формированию сенесцентных клеток, что фенотипически модифицирует эндотелиоциты и изменяет их регуляторную функцию в отношении системы гемостаза.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кальций ионизированный, сенесцентные клетки, гемостаз, доноры сероводорода, липофусцин.

ВВЕДЕНИЕ

Сероводород (H_2S) относится к семейству эндогенных газотрансмиттеров. Это соединение является сильным восстановителем, синтезируется в организме из L-цистеина, происходящего из гомоцистеина. Недавние исследования показали, что H_2S участвует в вазорелаксации, защите эндотелиальных клеток сосудов и оказывает антитромботическое действие (Wu et al., 2018; Szabo et al., 2017). Дефицит эндогенного H_2S играет важную роль в развитии некоторых сердечно-сосудистых и атеротромботических заболеваний, например атеросклероза и тромбоза. В то же время в токсических концентрациях H_2S , введённый в организм извне, является внутриклеточным токсином, ингибирующим цитохромоксида-

зу и нарушающим транспорт электронов в дыхательной цепи (Головацкая и др., 2021). Вследствие этого метаболизм клетки переключается на анаэробный режим, что способствует накоплению в них лактата и развитию метаболического ацидоза (Chan et al., 2017; Жарких и др., 2020; Тихомирова и др., 2022).

Установлено также, что H_2S может участвовать в регуляции клеточного цикла посредством контроля экспрессии генов, ответственных за теломеразу (Sanokawa-Akakura et al., 2016). Всё больше появляется информации о том, что «замораживание» на стадии G0-S1-цикла клеток способствует формированию сенесцентно-ассоциированного фенотипа (Senescence-associated secretory phenotype, SASP). Причины подобного состо-

* Адрес для переписки:

Тризно Екатерина Валерьевна

E-mail: neiron-2010@mail.ru

яния неизвестны. Поэтому крайне важным является изучение механизма образования сенесцентных клеток (СК), так как их обнаруживают при различного рода патологиях. Метаболизм у СК сохраняется, но видоизменяется спектр специфических веществ, синтезируемых ими. Компоненты SASP обращают в аналогичное состояние соседние клетки, изменяют их морфологию, но не удаляются иммунной системой (Hernandez-Segura et al., 2018; Martínez-Zamudio et al., 2021).

Синтез эндогенного H_2S в сосудистой стенке регулируется кальций-чувствительным рецептором (calcium-sensitive receptor, CaSR) и эндогенной цистатионин γ -лиазой (Cystathionine γ -lyase, CSE). Показано, что CaSR, регулируя эндогенный путь CSE/ H_2S , ингибирует активацию тромбоцитов, что обеспечивает защиту эндотелиальных клеток, например, при их повреждении в условиях гипергомоцистеинемии (Wang et al., 2017).

Принимая во внимание значимую роль кальция в процессах метаболизма H_2S , следует также отметить его активное участие в поддержании кислотно-основного баланса организма, ферментативном процессе свёртывания крови, передаче нервных импульсов, сокращении мышц, регуляции сердечного ритма и влиянии на проницаемость клеточных мембран (Kim et al., 2020; Yu et al., 2021; Novljan et al., 2022).

Роль кальция в гемостазе заключается в ускорении роста фибринового сгустка, его стабилизации, ограничении протеолиза фибрина, участии в активации тромбоцитов. Без кальция невозможны процессы изменения формы активированных клеток, их движение, секреция, так как он участвует в полимеризации и формировании актин-миозиновых молекул. В свою очередь, фибриноген, имеющий сайт связывания кальция, взаимодействует с рецептором кровяных пластинок интегрином и инициирует реорганизацию цитоскелета тромбоцитов для осуществления процессов «вязкого метаморфоза» (Zhang et al., 2018; Liu et al., 2020; Tinawi et al., 2021).

Ц е л ь р а б о т ы – анализ показателей системы гемостаза и ионов кальция в плазме до и после воздействия сероводорода.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для эксперимента использованы белые полугодовалые нелинейные лабораторные крысы-самцы, массой тела $195\text{--}210 \pm 11$ г, составившие одну опытную (19 особей) и одну кон-

трольную (12 особей) группы. Животным опытной группы вводили 1 раз в сутки Na_2S в дозе 40 мг на 1 кг массы тела, внутрибрюшинно, продолжительностью 10 дней. Все особи до начала исследования содержались на карантине для адаптации к условиям вивария. В работе руководствовались Положением о содержании и использовании лабораторных животных в ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России и Commission of the European Communities, 86/609/ЕЕС. Микропрепараты тканей почек и печени фиксировали в 4%-ном растворе параформы. Гистохимически окрашивание производили гематоксилин-эозином, часть препаратов – суданом чёрным Б и эозином и визуализировали с помощью флуоресцентного тринокулярного микроскопа с CMOS-камерой (Meiji Mechno MT6300, Япония). Показатели системы гемостаза оценивали в плазме с помощью наборов фирмы «Технология-стандарт» (Россия) и спектрофотометра (ПЭ 5400В, Россия). Ионизированный кальций определяли на аппарате Квертимед азк-01 (Россия). Плазму крови у крыс забирали из нижней полой вены под наркозом следующего состава: Золетил + Ксила + физиологический раствор по 0,03–0,04 мл на 200 г массы тела.

Статистические расчёты, проведённые с учётом критерия Колмогорова–Смирнова, позволили определить нормальный тип распределения признаков. При проверке значимости различий в зависимых в группах применяли критерий Вилкоксона. Вычисления обрабатывали с помощью статистического пакета Excel и программного обеспечения Statistica ver. 12.0. Критический уровень статистической значимости составлял $p=0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведённого исследования показали, что морфологические изменения кровеносных сосудов являются системным ответом организма на введение сульфида натрия. На гистопрепаратах сосудов видны утолщенные стенки гипертрофированных гладкомышечных клеток меди и признаки эндотелиоза (рис. 1). В периваскулярных зонах почек визуализировалось плазматическое пропитывание, что указывает на мезенхимальные дистрофии и затрудняет проницаемость васкулярных стенок. В просвете крупных сосудов сформированы сладжи эритроцитов, свидетельствующие о нарушениях реологических свойств крови. На микроциркуляторные нарушения указывают изменённые по форме,

увеличенные и выступающие в просвет сосуда эндотелиоциты. Среди клеток интимы и в медиальном слое сосудов видны гиперпигментированные бурые участки – содержащие липофусцин сенесцентные клетки. Липофусцин является надёжным критерием диагностической идентификации СК (Москалёв, 2017; Viran et al., 2017; Чаплыгина и др., 2018; Тризно и др., 2022). Расположенные диффузно СК местами образуют гроздьевидные скопления (рис. 2). Распространённое формирование СК способствует процессам клеточной реорганизации.

В результате токсического воздействия донора сероводородных ионов Na_2S у лабораторных крыс в плазме увеличился уровень Ca^{++} на 17% ($p \leq 0,05$). Важным условием для осуществления эффективной гемокоагуляции является связывание и локализация проферментов и кофакторов на определённых участках фосфолипидов клеточных мембран. Необходимую иммобилизацию ключевых факторов свёртывания VII, IX, X и II обеспечивают ионы Ca^{++} для формирования теназного (VIIIa/IXa/ Ca^{++}) и протомбиназного (Xa/Va/ Ca^{++}) комплексов. Показатели времени гемокоагуляции сократились: активированное частичное тромбопластиновое время – на 13% ($p \leq 0,05$), протромбиновое время – на 27,1% ($p \leq 0,01$), тромбиновое время – на 11% ($p \leq 0,05$). Сокращение времени образования протромбиназы и по внешнему, и по внутреннему путям, а также ускорение фибринообразования свидетельствует о повышении коагуляционного потенциала плазмы крови. Ускорение протромбинового времени в большей степени указывает на весомую роль со стороны тканевого фактора, который, как известно, не экспрессируется в норме целостным эндотелием, но появляется при патологических процессах и рекрутизации дополнительных его источников (иммунокомпетентных клеток).

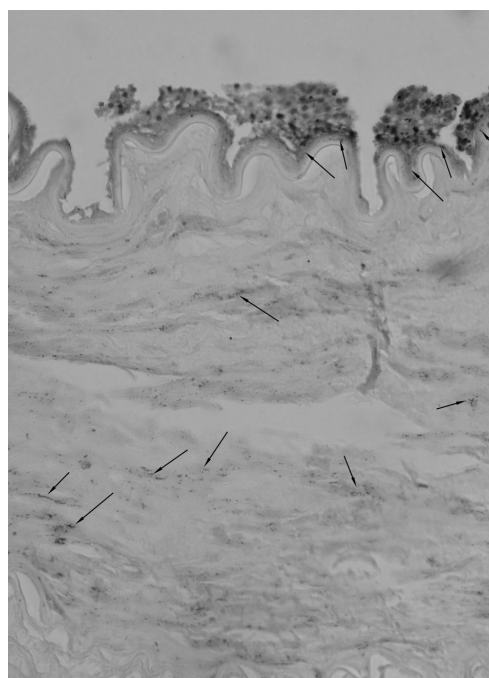


Рис. 1. Эндотелий артерии почки мышечного типа, окрашенный суданом Б и эозином
Увеличение $\times 400$ р
(стрелками указаны сенесцентные клетки)

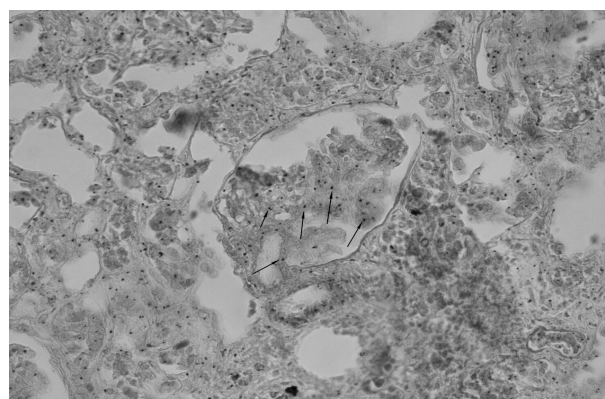


Рис. 2. Почечная ткань с капиллярами сосудистых клубочков, окрашенная суданом Б и эозином.
Увеличение $\times 400$ р
(стрелками указаны сенесцентные клетки)

Таблица. Кальций ионизированный и показатели системы гемостаза после воздействия Na_2S в токсической концентрации

Показатель	Группа контроля	Группа после воздействия донора сероводорода (Na_2S)
Ca^{++} , ммоль/л	0,9±0,06	1,1±0,09
Активированное частичное тромбопластиновое время, с	17,5±0,41	15,8±0,68
Протромбиновое время, с	23,5±0,71	17,1±0,42
Тромбиновое время, с	21,5±0,73	19,1±0,42
Фибриноген, г/л	1,3±0,18	1,7±0,19
Антитромбин III, %	115,7±4,51	135,8±4,57
XIIa-зависимый фибринолиз, с	14,1±0,69	17,4±0,67

Примечание: показатели представлены в виде средней (М) и стандартного отклонения ($\pm s$).

В то же время секрет SASP из СК реорганизуется и нарушает функционирование эндотелиоцитов, разрыхляя мембрану, способствуя асимметрии фосфолипидного бислоя. Суммарный отрицательный заряд липидных молекул переходит на поверхность мембраны, которая, соприкасаясь с кровью, где увеличилось содержание Ca^{++} , образует кластеры. Последние представляют собой активные зоны, где осуществляется прикрепление факторов системы гемостаза. Ионы Ca^{++} связываются с gla-доменами факторов свёртывания – участками, содержащими остатки g-карбокситглутаминовой кислоты на аминоконцах в результате карбоксилирования глутаминовой кислоты печени карбоксилазой. Далее происходит конформация молекул VII, IX, X и II факторов свёртывания, открываются их активные центры, опосредующие связывание с фосфолипидами клеточных мембран (например, форменных элементов крови).

Работа антикоагулянтного звена системы гемостаза на фоне сероводородного воздействия компенсаторно усилилась, что видно по показателю антитромбин III, возросшем на 17,4% ($p \leq 0,01$). Содержание зависящего от нормального функционирования печени фибриногена под воздействием экспериментального токсиканта увеличилось на 33% ($p \leq 0,001$). Показатель, отражающий срочные механизмы компенсации, направленные на устранение состояния повышенной фибринообразующей готовности плазмы, – XIII-зависимый фибринолиз, замедлился на 23,7% ($p \leq 0,01$).

Вероятно, что донор H_2S спровоцировал развитие метаболического ацидоза с последующей его компенсацией путем выхода ионов кальция в кровь из костной ткани в обмен на ионы водорода. На сосудистую стенку сероводород воздействует посредством специфических мишеней: АТФ-чувствительных и Ca^{++} -активируемых K^+ -каналов, а также Ca^{++} -каналов L-типа (Judenhers-NaouzI et al., 2018). Активируя первые два и/или блокируя последний, сероводород, в зависимости от концентрации, элиминирует или мобилизует внутриклеточный Ca^{++} . Так, препятствуя цитозольной мобилизации (например, из эндоплазматического ретикула), сероводород подавляет активацию эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOs), ограничивая вазорелаксирующий эффект (Kloesch et al., 2016). Кроме концентрации, на реализацию физиологического эффекта сероводорода влияет исходный фон и сопутствующие заболевания (Messerer et al., 2022).

Эндотелиоциты выделяются среди других клеток тканей высокой пролиферативной активностью и достаточной неоднородностью в различных участках сосудистого русла. Ключевым проангиогенным сигналом является секретируемый миоцитами медиального сосудистого слоя медиатора сиртуин 1 (SIRT 1), который, деацетилируя факторы транскрипции, регулирует многие внутриклеточные процессы. Высокий уровень сероводорода нарушает миграцию эндотелиоцитов, взаимодействуя с нижестоящими мишенями SIRTs – Forkhead Box Protein O1 (FOXO 1) и аденозинмонофосфат-активируемой протеинкиназой (AMPK), участвует в корректной смене G1/S фаз клеточного цикла (Xu et al., 2021).

В пределах наномолярных физиологических концентраций сульфидные ионы снижают уровень экспрессии E-селектина и молекул межклеточной адгезии первого типа (Intracellular adhesion molecule – 1, ICAM – 1), поддерживая гемоваскулярный гомеостаз. В то же время регуляторное воздействие сероводорода не распространяется на васкулярные молекулы клеточной адгезии (Vascular cell adhesion molecule, VCAM) (Ng et al., 2019). Поэтому в условиях прокоагулянтной активности плазмы экспрессия VCAM только увеличивается, способствуя эндотелиальной дисфункции.

Несмотря на избыток сульфидов и ионов Ca^{++} , сульфида кальция в кровотоке не образуется, так как кальций с серой реагируют при 150 °С.

Взаимодействуя с ионными каналами непосредственно, а с белками – посредством сульфидгидратирования, сероводород влияет на энергетическую и белковую ёмкости клетки. Более того, сульфидные ионы способны регулировать клеточный цикл, например контролируя транскрипцию функциональной единицы теломерызы hTERT (Sanokawa-Akakura et al., 2016). В случае «замораживания» клеточного цикла при определённых условиях у клеток формируется сенесцентный фенотип. Принимая во внимание весь широчайший спектр физиологического и патологического действия сероводорода, отметим, что представленная модель позволила дополнить картину цитоморфологических последствий воздействия сероводорода – токсиканта.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментально сформированная модель воздействия сероводорода в токсической концентрации его предшественника Na_2S способ-

ствуется повышению в крови ионизированного Ca^{++} и формированию сенесцентных клеток в эндотелиальном и медиальном слоях сосудов печени, почек. Выделяемый сенесцентными клетками

секрет SASP реорганизует эндотелиоциты и вместе с ионами Ca^{++} провоцирует системный ответ в виде увеличения прокоагулянтного потенциала плазмы крови.

ЛИТЕРАТУРА

- Головацкая Л.И., Тризно М.Н., Голубкина Е.В., Тризно Н.Н., Дюкарева О.С. Изучение механизма конкурирующего ингибирующего действия метионина к токсическому воздействию сероводорода *in vivo* на основе моделирования молекулярных систем. *Атеросклероз и дислипидемии*. 2022; 3(48): 14–20.
- Москалёв А.А. Молекулярные биомаркеры старения для превентивной медицины. *Вестник восстановительной медицины*. 2017; 1: 18–29.
- Жарких Л.И., Голубкина Е.В., Тризно Н.Н. Способ профилактики интоксикации организма животных при остром отравлении сероводородсодержащим газом в эксперименте. Патент на изобретение 2739256 С1, 22.12.2020. Заявка № 2019136190 от 12.11.2019.
- Тризно Е.В., Давыдова Д.Р., Тризно М.Н., Беднов И.А. Выявление сенесцентных клеток в почках крыс при иммуносупрессивном воздействии. *Современные вопросы биомедицины*. 2022; 6(3(20)). DOI: 10.51871/2588-0500_2022_06_03_27.
- Тихомирова И.А., Муравьев А.В., Петроченко Е.П., Малышева Ю.В., Петроченко А.С. Влияние доноров оксида азота и сероводорода на показатели свертывания крови. 2022. *Тромбоз, гемостаз и реология*. 2022; 1. DOI: <https://doi.org/10.25555/THR.2022.1.1008>.
- Чаплыгина А.В., Векшин Н.Л. Липофусцин и митопофусцин в органах молодых и взрослых крыс. *Успехи геронтологии*. 2018; 31(2): 197–202.
- Biran A., Zada L., Abou Karam P., Vadai E., Roitman L., Ovadya Y., Porat Z., Krizhanovsky V. Quantitative identification of senescent cells in aging and disease. *Aging Cell*. 2017; 16(4): 661–671. DOI: 10.1111/accel.12592.
- Chan S.J., Wong P.T., Reprint of: Hydrogen sulfide in stroke: Protective or deleterious? *Neurochem Int*. 2017; 107: 78–87. DOI: 10.1016/j.neuint.2016.11.016.
- Hernandez-Segura A., Nehme J., Demaria M. Hallmarks of Cellular Senescence. *Trends Cell Biol*. 2018; 28(6): 436–453. DOI: 10.1016/j.tcb.2018.02.001.
- Judenherc-Haouzi A., Sonobe T., Bebartha V.S., Haouzi P. On the Efficacy of Cardio-Pulmonary Resuscitation and Epinephrine Following Cyanide- and H_2S Intoxication-Induced Cardiac Asystole. *Cardiovasc Toxicol*. 2018; 18(5): 436–449. DOI: 10.1007/s12012-018-9454-2.
- Kim S.J., Kim H.S., Hwang S.O., Jung W.J., Roh Y.I., Cha K.C., Shin S.D., Song K.J. Korean Cardiac Arrest Research Consortium (KoCARC) Investigators. Ionized calcium level at emergency department arrival is associated with return of spontaneous circulation in out-of-hospital cardiac arrest. *PLoS One*. 2020; 15(10): e0240420. DOI: 10.1371/journal.pone.0240420.
- Kloesch B., Steiner G., Mayer B., Schmidt K. Hydrogen sulfide inhibits endothelial nitric oxide formation and receptor ligand-mediated Ca^{2+} release in endothelial and smooth muscle cells. *Pharmacol Rep*. 2016; 68(1): 37–43. DOI: 10.1016/j.pharep.2015.05.026.
- Liu Y., Chai Y., Rong Z., Chen Y. Prognostic Value of Ionized Calcium Levels in Neonatal Sepsis. *Ann Nutr Metab*. 2020; 76(3): 193–200. DOI: 10.1159/000508685.
- Martínez-Zamudio R.I., Dewald H.K., Vasilopoulos T., Gittens-Williams L., Fitzgerald-Bocarsly P., Herbig U. Senescence-associated β -galactosidase reveals the abundance of senescent $CD8^+$ T cells in aging humans. *Aging Cell*. 2021; 20(5): e13344. DOI: 10.1111/accel.13344.
- Messerer D.A.C., Gaessler H., Hoffmann A., Gröger M., Benz K., Huhn A., Hezel F., Calzia E., Radermacher P., Datzmann T. The H_2S Donor Sodium Thiosulfate (Na_2S) Does Not Improve Inflammation and Organ Damage After Hemorrhagic Shock in Cardiovascular Healthy Swine. *Front Immunol*. 2022; 13: 901005. DOI: 10.3389/fimmu.2022.901005.
- Ng P.C., Hendry-Hofer T.B., Witeof A.E., Brenner M., Mahon S.B., Boss G.R., Haouzi P., Bebartha V.S. Hydrogen Sulfide Toxicity: Mechanism of Action, Clinical Presentation, and Countermeasure Development. *J Med Toxicol*. 2019; 15(4): 287–294. DOI: 10.1007/s13181-019-00710-5.
- Novljan G., Kolar M., Kastelec L., Battelino N. Citrate-induced local ionized calcium decrease in pediatric hemodialysis settings: An *in vitro* study. *J Vasc Access*. 2022; 23(4): 543–549. DOI: 10.1177/11297298211002576.
- Sanokawa-Akakura R., Akakura S., Tabibzadeh S. Delayed by Hydrogen Sulfide in a NAMPT/SIRT1 Dependent Manner. *PLoS One*. 2016; 11(10): e0164710. DOI: 10.1371/journal.pone.0164710.
- Szabo C., Papapetropoulos A. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. CII: Pharmacological Modulation of H_2S Levels: H_2S Donors and H_2S Biosynthesis Inhibitors. *Pharmacological Reviews*. 2017; 69(4): 497–564; DOI: <https://doi.org/10.1124/pr.117.014050>.
- Tinawi M. Disorders of Calcium Metabolism: Hypocalcemia and Hypercalcemia. *Cureus*. 2021; 13(1): e12420. DOI: 10.7759/cureus.12420.
- Wang Y., Zhao Z., Shi S., Gao F., Wu J., Dong S., Zhang W., Liu Y., Zhong X. Calcium sensing receptor initiating cystathionine-gamma-lyase/hydrogen sulfide pathway to inhibit platelet activation in hyperhomocysteinemia rat. *Exp Cell Res*. 2017; 358(2): 171–181. DOI: 10.1016/j.yexcr.2017.06.013.
- Wu D., Wang H., Teng T., Duan S., Ji A., Li Y. Hydrogen sulfide and autophagy: A double edged sword. *Pharmacol Res*. 2018; 131: 120–127. DOI: 10.1016/j.phrs.2018.03.002.
- Xu W., Watanabe K., Mizukami Y., Yamamoto Y., Suzuki T. Hydrogen sulfide suppresses the proliferation of intestinal epithelial cells through cell cycle arrest. *Arch Biochem Biophys*. 2021; 712: 109044. DOI: 10.1016/j.abb.2021.109044.

Yu Y., Yu J., Yao R., Wang P., Zhang Y., Xiao J., Wang Z. Admission Serum Ionized and Total Calcium as New Predictors of Mortality in Patients with Cardiogenic Shock. *Biomed Res Int.* 2021; 2021: 6612276. DOI: 10.1155/2021/6612276.

Zhang Y.B., Zheng S.F., Yao P.S., Chen G.R., Li G.H., Li S.C., Zheng Y.F., Wang J.Q., Kang D.Z., Shang-Guan H.C. Lower Ionized Calcium Predicts Hematoma Expansion and Poor Outcome in Patients with Hypertensive Intracerebral Hemorrhage. *World Neurosurg.* 2018; 118: e500–e504. DOI: 10.1016/j.wneu.2018.06.223.

INFLUENCE OF HYDROGEN SULFIDE ON THE INDICATORS OF HEMOSTASIS, CALCIUM IONS AND THE DEVELOPMENT OF SIGNS OF SENESCENCE IN THE VASCULAR NETWORK

Trizno E.V., Bednov I.A., Trizno M.N., Davydova D.R., Shur V.Yu., O.S. Dyukareva

Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation
121, Bakinskaya Str., Astrahan', 414000, Rossijskaya Federaciya

ABSTRACT. Hydrogen sulfide (H₂S) is considered an important regulatory gas transmitter required for hemovascular homeostasis. However, the physiological effect of its exposure varies greatly and depends on the concentration.

The aim of the work was to analyze the parameters of the hemostasis system and calcium ions (Ca⁺⁺) in plasma before and after exposure to hydrogen sulfide.

Materials and methods. For experiment, venous blood and sections of the renal tissue and arteries of thirty-one laboratory rats were examined. The indicators of coagulation, fibrinolytic, anticoagulant systems and Ca⁺⁺ -ions, as well as morphological changes in vascularized tissues were studied before and after exposure to the hydrogen sulfide donor sodium sulfide (Na₂S).

Results. As a result of exposure to the pathogen, an increase in the level of Ca⁺⁺ ions in plasma, an acceleration of the time of formation of prothrombinase, to a greater extent along the external pathway, a slowdown in fibrinolysis, but an increase in the anticoagulant link, were recorded. Activated partial thromboplastin, prothrombin and thrombin time, antithrombin III, fibrinogen, and XIIa-dependent euglobulin lysis were studied as parameters of the hemostasis system. Among the cells of the endothelium and the medial vascular layer, senescent cells (SCs), multiple signs of degenerative disorders, and slugging of erythrocytes were observed. Lipofuscin-containing SCs were located diffusely in the smooth muscle vascular layer, and clusters were observed among the endothelial cells.

Conclusion. An excess of hydrogen sulfide ions promotes an increase in Ca⁺⁺ -ions and the formation of senescent cells, which phenotypically modifies endotheliocytes and changes their regulatory function in relation to the hemostasis system.

KEYWORDS: ionized calcium, senescent cells, hemostasis, hydrogen sulfide donors, lipofuscin.

REFERENCES

Golovatkaya L.I., Trizno M.N., Golubkina E.V., Trizno N.N., Dyukareva O.S. Study of the mechanism of the competitive inhibitory action of methionine to the toxic effects of hydrogen sulfide in vivo based on modeling of molecular systems. *Journal of Atherosclerosis and Dyslipidemias.* 2022; 3(48): 14–20 (in Russ.).

Moskalev A.A. Molecular Biomarkers of Aging for Preventive Medicine. *Bulletin of Rehabilitation Medicine.* 2017; 1: 18–29 (in Russ.).

Zharkikh L.I., Golubkina E.V., Trizno N.N. Method for preventing animal intoxication accompanying acute poisoning with hydrogen sulphide-containing gas in experiment. RF Patent № 2739256 C1, 22.12.2020 (in Russ.).

Trizno E.V., Davydova D.R., Trizno M.N., Bednov I.A. Detection of senescent cells in rat kidneys with immunosuppressive effects. *Modern Issues of Biomedicine.* 2022; 6(3(20))& DOI: 10.51871/2588-0500_2022_06_03_27 (in Russ.).

Tikhomirova I.A., Muravyov A.V., Petrochenko E.P., Malysheva Yu.V., Petrochenko A.S. Effect of nitric oxide and hydrogen sulfide donors on blood clotting parameters. *Tromboz, gemostaz i reologia.* 2022; 1: 45–52. DOI: <https://doi.org/10.25555/THR.2022.1.1008> (in Russ.).

Chaplygina A.V., Vekshin N.L. [Lipofuscin and mitolipofuscin in organs of young and adult rats]. *Adv Gerontol.* 2018; 31(2): 197–202 (in Russ.).

Biran A., Zada L., Abou Karam P., Vadai E., Roitman L., Ovadya Y., Porat Z., Krizhanovsky V. Quantitative identification of senescent cells in aging and disease. *Aging Cell.* 2017; 16(4): 661–671. DOI: 10.1111/acel.12592.

Chan S.J., Wong P.T. Reprint of: Hydrogen sulfide in stroke: Protective or deleterious? *Neurochem Int.* 2017; 107: 78–87. DOI: 10.1016/j.neuint.2016.11.016.

Hernandez-Segura A., Nehme J., Demaria M. Hallmarks of Cellular Senescence. *Trends Cell Biol.* 2018; 28(6): 436–453. DOI: 10.1016/j.tcb.2018.02.001.

Judenherc-Haouzi A., Sonobe T., Bebartha V.S., Haouzi P. On the Efficacy of Cardio-Pulmonary Resuscitation and Epinephrine Following Cyanide- and H₂S Intoxication-Induced Cardiac Asystole. *Cardiovasc Toxicol.* 2018; 18(5): 436–449. DOI: 10.1007/s12012-018-9454-2.

- Kim S.J., Kim H.S., Hwang S.O., Jung W.J., Roh Y.I., Cha K.C., Shin S.D., Song K.J. Korean Cardiac Arrest Research Consortium (KoCARC) Investigators. Ionized calcium level at emergency department arrival is associated with return of spontaneous circulation in out-of-hospital cardiac arrest. *PLoS One*. 2020; 15(10): e0240420. DOI: 10.1371/journal.pone.0240420.
- Kloesch B., Steiner G., Mayer B., Schmidt K. Hydrogen sulfide inhibits endothelial nitric oxide formation and receptor ligand-mediated Ca(2+) release in endothelial and smooth muscle cells. *Pharmacol Rep*. 2016; 68(1): 37–43. DOI: 10.1016/j.pharep.2015.05.026.
- Liu Y., Chai Y., Rong Z., Chen Y. Prognostic Value of Ionized Calcium Levels in Neonatal Sepsis. *Ann Nutr Metab*. 2020; 76(3): 193–200. DOI: 10.1159/000508685.
- Martínez-Zamudio R.I., Dewald H.K., Vasilopoulos T., Gittens-Williams L., Fitzgerald-Bocarsly P, Herbig U. Senescence-associated β -galactosidase reveals the abundance of senescent CD8⁺ T cells in aging humans. *Aging Cell*. 2021; 20(5): e13344. DOI: 10.1111/accel.13344.
- Messerer D.A.C., Gaessler H., Hoffmann A., Gröger M., Benz K., Huhn A., Hezel F., Calzia E., Radermacher P., Datzmann T. The H₂S Donor Sodium Thiosulfate (Na₂S) Does Not Improve Inflammation and Organ Damage After Hemorrhagic Shock in Cardiovascular Healthy Swine. *Front Immunol*. 2022; 13: 901005. DOI: 10.3389/fimmu.2022.901005.
- Ng P.C., Hendry-Hofer T.B., Witeof A.E., Brenner M., Mahon S.B., Boss G.R., Haouzi P., Beberta V.S. [Hydrogen Sulfide Toxicity: Mechanism of Action, Clinical Presentation, and Countermeasure Development]. *J Med Toxicol*. 2019; 15(4): 287–294. DOI: 10.1007/s13181-019-00710-5.
- Novljan G., Kolar M., Kastelec L., Battelino N. [Citrate-induced local ionized calcium decrease in pediatric hemodialysis settings: An in-vitro study]. *J Vasc Access*. 2022; 23(4): 543–549. DOI: 10.1177/11297298211002576.
- Sanokawa-Akakura R., Akakura S., Tabibzadeh S. [Delayed by Hydrogen Sulfide in a NAMPT/SIRT1 Dependent Manner]. *PLoS One*. 2016; 11(10): e0164710. DOI: 10.1371/journal.pone.0164710.
- Szabo C., Papapetropoulos A. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. CII: Pharmacological Modulation of H₂S Levels: H₂S Donors and H₂S Biosynthesis Inhibitors. *Pharmacological Reviews*. 2017; 69(4): 497–564. DOI: <https://doi.org/10.1124/pr.117.014050>.
- Tinawi M. Disorders of Calcium Metabolism: Hypocalcemia and Hypercalcemia. *Cureus*. 2021; 13(1): e12420. DOI: 10.7759/cureus.12420.
- Wang Y., Zhao Z., Shi S., Gao F., Wu J., Dong S., Zhang W., Liu Y., Zhong X. Calcium sensing receptor initiating cystathionine-gamma-lyase/hydrogen sulfide pathway to inhibit platelet activation in hyperhomocysteinemia rat. *Exp Cell Res*. 2017; 358(2): 171–181. DOI: 10.1016/j.yexcr.2017.06.013.
- Wu D., Wang H., Teng T., Duan S., Ji A., Li Y. Hydrogen sulfide and autophagy: A double edged sword. *Pharmacol Res*. 2018; 131: 120–127. DOI: 10.1016/j.phrs.2018.03.002.
- Xu W., Watanabe K., Mizukami Y., Yamamoto Y., Suzuki T. Hydrogen sulfide suppresses the proliferation of intestinal epithelial cells through cell cycle arrest. *Arch Biochem Biophys*. 2021; 712: 109044. DOI: 10.1016/j.abb.2021.109044.
- Yu Y., Yu J., Yao R., Wang P., Zhang Y., Xiao J., Wang Z. Admission Serum Ionized and Total Calcium as New Predictors of Mortality in Patients with Cardiogenic Shock. *Biomed Res Int*. 2021; 2021: 6612276. DOI: 10.1155/2021/6612276.
- Zhang Y.B., Zheng S.F., Yao P.S., Chen G.R., Li G.H., Li S.C., Zheng Y.F., Wang J.Q., Kang D.Z., Shang-Guan H.C. Lower Ionized Calcium Predicts Hematoma Expansion and Poor Outcome in Patients with Hypertensive Intracerebral Hemorrhage. *World Neurosurg*. 2018; 118: e500-e504. DOI: 10.1016/j.wneu.2018.06.223.