

引文格式:韩宇逸,姚进. 硫化氢对眼科疾病潜在治疗作用的研究进展[J]. 眼科新进展,2016,36(4):390-395. doi: 10.13389/j.cnki.rao.2016.0106

【文献综述】

## 硫化氢对眼科疾病潜在治疗作用的研究进展

韩宇逸 姚进

作者简介:韩宇逸,女,1990年3月出生,江苏人,在读硕士研究生。联系电话:15151871150; E-mail: lalalayuyi@163.com

About HAN Yu-Yi: Female, born in March, 1990. Postgraduate student. Tel: 15151871150; E-mail: lalalayuyi@163.com

收稿日期:2015-06-13

修回日期:2015-09-10

本文编辑:周志新

作者单位:210029 江苏省南京市,南京医科大学附属眼科医院

通讯作者:姚进, E-mail: dryaojin@vip.sina.com

Received date: Jun 13, 2015

Accepted date: Sep 10, 2015

From the Department of Ophthalmology, Affiliated Eye Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Responsible author: YAO Jin, E-mail: dryaojin@vip.sina.com

### Progress in potential treatment of hydrogen sulfide for ophthalmic diseases

HAN Yu-Yi, YAO Jin

【Key words】 hydrogen sulfide; oxidative stress; glaucoma; diabetic retinopathy; retinal light damage

【Abstract】 As the third gasotransmitter in the body, hydrogen sulfide ( $H_2S$ ) plays an important role in both physiology and pathophysiology. It causes effects includes inhibiting ischemic injury, reducing oxidative stress damage, inhibiting apoptosis and reducing inflammation reaction. The potential of  $H_2S$  for treatment has already been confirmed, both endogenous  $H_2S$  formation and exogenous  $H_2S$  supply are involved in a series of cytoprotective effect. This article reviews the role of  $H_2S$  in ophthalmic diseases and points out the potential for treatment of  $H_2S$  releasing drugs.

【关键词】 硫化氢;氧化应激;青光眼;糖尿病视网膜病变;视网膜光损伤

【摘要】 硫化氢( $H_2S$ )作为一个新的内源性气体信号分子,参与多种生理与病理效应,如对抗缺血性损伤,减轻氧化应激损伤,抑制细胞凋亡和减轻炎症反应等。目前已从多方面证实了 $H_2S$ 的治疗潜能,无论是内源性 $H_2S$ 生成还是外源性供给 $H_2S$ ,都参与了一系列细胞保护作用。本文综述了 $H_2S$ 在一些眼科疾病的病理生理过程中的保护机制。

人体硫化氢( $H_2S$ )水平可能会由于个体的不同年龄、部位以及测量方法有所不同<sup>[1-2]</sup>,如 $H_2S$ 在外周血的浓度一般为 $30 \sim 300 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[3]</sup>,而脑内

$H_2S$ 的生理浓度是血清浓度的3倍<sup>[4-5]</sup>,哺乳动物脑内生成的 $H_2S$ 水平约为 $160 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[6]</sup>。 $H_2S$ 的气/水分配系数是0.39,37℃生理pH值下,约20%的硫化物处于溶解性气体状态<sup>[7-9]</sup>。研究证实内源性 $H_2S$ 参与人体内多种病理生理过程,通过不同代谢途径影响细胞内外的蛋白质功能及活性,具有对抗缺血性损伤、减轻氧化应激损伤、抑制细胞凋亡和减轻炎症反应等作用,同时已有多种 $H_2S$ 缓释药物用于临床研究。 $H_2S$ 的氧化产物包括过硫化物、亚硫酸盐、硫代硫酸盐以及硫酸盐<sup>[10]</sup>。然而,当短时间内组织或细胞内 $H_2S$ 浓度过高, $H_2S$ 及其氧化产

物会通过抑制线粒体内细胞色素氧化酶C以及线粒体的呼吸作用转变成具有细胞毒性<sup>[11]</sup>。目前,关于 $H_2S$ 在眼科疾病中的作用和潜在的治疗价值是眼科研究的热点之一。

### 1 $H_2S$ 在体内的生成特点和作用

**1.1  $H_2S$ 的生成** 在哺乳动物细胞中,内源性 $H_2S$ 主要由4种酶参与合成:胱硫醚- $\gamma$ -合酶(cystathionine- $\gamma$ -synthase, CBS)、胱硫醚- $\beta$ -裂解酶(cystathionine- $\beta$ -lyase, CSE)、3-巯基丙酮酸硫基转移酶(3-mercaptomethylthio pyruvate aminotransferase, 3MST)、半胱氨酸

[36] ABU-AMERO KK, HELLANI AM, AL MANSOURI SM, KALANTAN H, AL-MUAMMAR AM. High-resolution analysis of DNA copy number alterations in patients with isolated sporadic keratoconus[J]. *Mol Vis*, 2011, 17: 822-826.

[37] BURDON KP, MACGREGOR S, BYKHOVSKAYA Y, JAVADIYAN S, LI X, LAURIE KJ, et al. Association of polymorphisms in the hepatocyte growth factor gene promoter with keratoconus[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52(11): 8514-8519.

[38] BYKHOVSKAYA Y, LI X, EPIFANTSEVA I, HARITUNIAN T, SISCOVICK D, ALDAVE A, et al. Variation in the lysyl oxidase (LOX) gene is associated with keratoconus in family-based and case-control studies[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53(7): 4152-4157.

[39] GUAN T, LIU C, MA Z, DING S. The point mutation and pol-

ymorphism in keratoconus candidate gene TGFBI in Chinese population[J]. *Gene*, 2012, 503(1): 137-139.

[40] TAI TY, DAMANI MR, VO R, RAYNER SA, GLASGOW BJ, HOFBAUER JD, et al. Keratoconus associated with corneal stromal amyloid deposition containing TGFBIp[J]. *Cornea*, 2009, 28(5): 589-593.

[41] PALIWAL P, TANDON R, DUBE D, KAUR P, SHARMA A. Familial segregation of a VSX1 mutation adds a new dimension to its role in the causation of keratoconus[J]. *Mol Vis*, 2011, 17: 481-485.

[42] VERMA A, DAS M, SRINIVASAN M, PRAJNA NV, SUNDARESAN P. Investigation of VSX1 sequence variants in South Indian patients with sporadic cases of keratoconus[J]. *BMC Res Notes*, 2013, 6: 103.

氨基转移酶 (cysteine aminotransferase, CAT)<sup>[12-13]</sup>。通常在 2 个 5-磷酸吡哆醛 (pyridoxal 5-phosphate, PLP) 依赖性酶 CSE 和 CBS 的作用下,以半胱氨酸或同型半胱氨酸为底物脱硫作用产生 H<sub>2</sub>S。CBS 是中枢神经中主要参与生成 H<sub>2</sub>S 的酶,而 CSE 主要存在脉管系统、肝脏和肾脏中<sup>[6]</sup>。这 2 种酶以由甲硫氨酸硫化形成的 L-半胱氨酸、L-高半胱氨酸和 L-胱硫醚这几种氨基酸为底物,在 PLP 的辅因子作用下产生 H<sub>2</sub>S<sup>[14]</sup>。在视网膜组织中则主要是在 3MST 联合 CAT 催化作用下产生 H<sub>2</sub>S<sup>[15]</sup>。近来也有研究发现<sup>[16-17]</sup>,H<sub>2</sub>S 的生成也可以通过 D-半胱氨酸途径。KIMURA<sup>[16]</sup> 研究认为,通过 CSE 和 3MST/CAT 两条途径产生 H<sub>2</sub>S 的过程可能受到钙离子作用的影响,在稳定状态下,低浓度的钙离子进入细胞内以后,可以经 CSE 和 3MST/CAT 途径产生 H<sub>2</sub>S,当细胞受到刺激,进入细胞内的钙离子浓度增高或细胞内钙离子从存储状态被大量释放,CSE 生成 H<sub>2</sub>S 的过程减少约 50%,而 3MST/CAT 产生 H<sub>2</sub>S 的过程停止。

## 1.2 H<sub>2</sub>S 对内环境具有一定保护作用

**1.2.1 抗炎作用** 在健康的生理状态下,H<sub>2</sub>S 对白细胞黏附分子有着下调作用。实验证明<sup>[18-19]</sup>,在给予 H<sub>2</sub>S 合成酶抑制剂之后,可发现白细胞功能相关性抗原和 P 选择素以及内皮上的细胞间黏附分子迅速上调,使得白细胞对于血管内皮的黏附速率迅速增加。除了减少白细胞渗出和向损伤部位的迁移,H<sub>2</sub>S 可以通过抑制髓过氧化物酶减少中性粒细胞的毒性反应<sup>[20]</sup>,以及促进巨噬细胞对细菌的吞噬作用<sup>[21]</sup>。H<sub>2</sub>S 供体能够减少许多促炎细胞因子(如 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8、IFN- $\gamma$ )的表达,亦可以诱导环氧合酶-2 的表达和促进抗炎的花生四烯酸类物质合成,如前列腺素 E<sub>2</sub><sup>[22]</sup>。

**1.2.2 在循环系统中的作用** 有实验结果显示给予生理性或者药理性的 H<sub>2</sub>S 浓度均可以保护血管,减轻心肌损伤,调节血压,同时控制炎症反应<sup>[23]</sup>。H<sub>2</sub>S 能够通过开放血管平滑肌细胞上的 K<sub>ATP</sub> 通道达到调节血压的效果,在血管过度收缩时对平滑肌细胞起到保护作用<sup>[10]</sup>。CASTRO-PIEDRAS 等<sup>[24]</sup> 证明了 H<sub>2</sub>S 通过 1,4,5-三磷酸肌醇受体减少细胞内的钙离子水平从而能舒张血管平滑肌,同时 H<sub>2</sub>S 的血管舒张作用和参与环氧合酶生成前列腺素有关<sup>[25]</sup>。目前认为心脏内蛋白质分子的二硫键水解反应和内皮型一氧化氮合酶均参与到 H<sub>2</sub>S 诱导的心肌舒张作用之中<sup>[26]</sup>。另外,已在小鼠和兔身上发现低浓度 H<sub>2</sub>S 还有一定程度的收缩血管功能<sup>[14]</sup>。实验证明,H<sub>2</sub>S 还具有抗血小板聚合、抗细胞黏附以及抗凝的作用<sup>[28-32]</sup>,其抗血栓作用是通过上调一氧化氮的合成来实现的<sup>[33]</sup>,也有可能还通过血小板蛋白的二硫键水解,降低血小板中钙离子浓度和降低超氧阴离

子的水平来对抗血小板的作用,并且参与调控血小板的功能<sup>[28,32-34]</sup>。另有实验研究结果显示,内源性 H<sub>2</sub>S 能够通过减轻氧化应激反应,减少血小板的激活,减少炎症反应以及阻止血管平滑肌细胞的增生来对抗动脉粥样硬化的病理发生过程<sup>[2,35-36]</sup>。

**1.2.3 在神经系统中的作用** H<sub>2</sub>S 可能参与抑制神经元凋亡和退化的作用<sup>[37]</sup>,它对神经保护作用的主要机制在于抗炎症反应和上调了抗氧化应激的酶<sup>[38]</sup>,H<sub>2</sub>S 能抑制活性氧的生成,减少由髓过氧化物酶催化后产生的次氯酸对神经元细胞的毒性作用,也能够抑制细胞色素氧化酶 C 或者抑制 cAMP 水平升高引起的 N-甲基-D-天冬氨酸受体过度激活,从而减少神经元死亡<sup>[6,38-44]</sup>。H<sub>2</sub>S 能抑制过氧化亚硝酸盐离子诱导的脂质过氧化反应、硫醇氧化反应以及线粒体功能损害<sup>[14]</sup>。在一些神经退行性疾病中,如阿尔茨海默病、亨廷顿病、帕金森病以及肌萎缩性脊髓侧索硬化症等,一旦 H<sub>2</sub>S 的水平下降,会导致过氧亚硝基离子的水平增加和退化的神经元数量增多<sup>[14,39]</sup>。

## 2 H<sub>2</sub>S 在眼科疾病中的作用

已在牛眼中发现多种眼内组织都能生成内源性 H<sub>2</sub>S,包括晶状体、虹膜、脉络膜、睫状肌、房水、角膜以及视网膜,其中角膜和视网膜生成内源性 H<sub>2</sub>S 的水平最高<sup>[45]</sup>。已发现 CBS 在角膜中表达最高,其次是晶状体,但玻璃体内没有;而 CSE 在视网膜中有表达<sup>[45]</sup>。目前认为,哺乳动物的视网膜组织主要在 3MST 联合 CAT 催化作用下产生 H<sub>2</sub>S<sup>[15]</sup>。

### 2.1 H<sub>2</sub>S 与青光眼

**2.1.1 降低眼压** 实验证明,一种 H<sub>2</sub>S 的缓释剂 ACS67 能够明显增加眼内谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 水平,降低青光眼兔的眼压,并且明显增加环磷鸟苷 (cGMP) 的含量<sup>[46]</sup>。眼内 cGMP 浓度升高能够降低小梁网细胞体积,促进房水外流,从而降低眼压<sup>[47]</sup>。由此可以认为,在青光眼的病理发生过程中,H<sub>2</sub>S 对于视网膜细胞有重要的保护作用,并具有降低眼压的作用。

**2.1.2 保护神经元** 青光眼的主要特点是视网膜神经节细胞 (retinal ganglion cells, RGC) 渐进性死亡和组成视神经的细胞轴突丢失,其病理过程的发生通常包括了视网膜和小梁网的变性退化,甚至有可能和脑部相关<sup>[48]</sup>。神经营养因子的丧失、细胞内外谷氨酸毒性作用、血管病变以及胶质细胞的神经炎症反应都会引起视网膜神经退化<sup>[48]</sup>。无论是开角型青光眼还是闭角型青光眼,小梁网细胞和 RGC 的氧化应激反应在病理过程中有重要作用<sup>[49]</sup>。在氧化应激反应中保护 RGC 被认为是一个潜在的青光眼治疗策略<sup>[50]</sup>。因谷氨酸毒性引起的细胞内线粒体功能障碍和实验性青光眼模型的形成有一定相关性<sup>[51]</sup>。细胞外的高水平谷氨酸不仅会引起神经元

兴奋性中毒,同时会影响细胞的谷氨酸/胱氨酸转运体的功能,使得胞内 GSH 合成减少,影响细胞内氧化还原反应,使线粒体生成大量的 ROS,细胞由此发生氧化应激反应<sup>[52]</sup>。核转录因子 Nrf2 是氧化应激基本表达的关键基因。H<sub>2</sub>S 可通过增加半胱氨酸转运体、半胱氨酸/谷氨酸逆向转运体以及  $\gamma$ -谷氨酰半胱氨酸合成酶的作用来增加神经细胞内还原型 GSH 的浓度<sup>[16,53]</sup>,其中  $\gamma$ -谷氨酰半胱氨酸合成酶和 GSH 合成酶是合成 GSH 的重要参与酶,这两者均是由 Nrf2 所调控的<sup>[54]</sup>。H<sub>2</sub>S 能够增加 GSH 水平以及谷胱甘肽-S-转移酶 (glutathione-S-transferase, GST) 和氧化应激相关的抗氧化酶血红素氧化酶的浓度,这种现象很可能是通过 H<sub>2</sub>S 诱导 Nrf-2/抗氧化反应元素 (ARE) 旁路来实现的<sup>[55]</sup>。已在实验中证实 H<sub>2</sub>S 供体 ACS14 和 ACS1 能够增加细胞内 GSH 浓度,并通过开放钾离子通道 (K<sub>ATP</sub>) 起到神经保护的作用<sup>[56]</sup>。已知 NF- $\kappa$ B 的抑制与谷氨酸联合丁硫氨酸亚砷胺 (Glu/BSO) 诱导的 RGC 氧化应激反应后细胞的存活有关,实验证明 H<sub>2</sub>S 预处理 GLU/BSO 作用的 RGC 能够明显减少 NF- $\kappa$ B 表达<sup>[55]</sup>。磷酸肌醇 3 激酶途径 (PI3-k) 广泛存在于细胞生存和增殖中,其中丝氨酸/苏氨酸激酶 (Akt) 的激活是 PI3-k 途径中的重要环节<sup>[57]</sup>。激活 Akt 后可引起大量的下游蛋白磷酸化反应,从而调节细胞增殖和细胞周期<sup>[58]</sup>。相比谷氨酸直接作用的 RGC 细胞表达磷酸化丝氨酸/苏氨酸激酶 (P-Akt) 水平明显下降, H<sub>2</sub>S 预处理的 RGC 细胞能够增加 P-Akt 的表达水平,证实了 H<sub>2</sub>S 在对抗细胞氧化应激反应中对调节细胞生存能力有重要作用<sup>[55]</sup>。Glu/BSO 处理细胞后引起了凋亡相关基因 Bcl-2 表达升高, H<sub>2</sub>S 处理后 Bcl-2 在 RGC 中表达降低,表明 H<sub>2</sub>S 能够中和谷氨酸对 RGC 的毒性,减少 RGC 氧化应激反应后的凋亡<sup>[56]</sup>。另外,阻断谷氨酸的毒性还能减少青光眼发病后期发生神经退化时视神经盘处星形胶质细胞的功能障碍<sup>[51]</sup>。

**2.2 H<sub>2</sub>S 与糖尿病视网膜病变** 糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 是糖尿病最严重的微血管并发症之一,其主要病理生理过程为视网膜内微血管病变引起视网膜微循环功能失调,毛细血管基底膜增厚,周细胞丢失,血-视网膜屏障受损,造成小血管渗漏,导致黄斑水肿、视网膜渗漏等,最终由于缺血缺氧性损害导致玻璃体出血、视网膜脱离,甚至诱发新生血管性青光眼。

**2.2.1 减少糖基化终产物蓄积** 视网膜组织相对其他组织,有着很高的需氧量,对于缺血缺氧性损伤和氧化应激反应十分敏感。氧化应激除了产生过量的 ROS 对细胞组织有慢性损伤,还会使多种代谢途径异常,从而能促进 DR 的病理过程,其中糖基化终产物 (advanced glycation end products, AGEs) 蓄积对 DR 的发生有重要作用<sup>[59]</sup>。在中国的群体调查发

现,AGE 受体基因 (RAGE) 的多态性和 DR 的发病风险相关,并且能影响血清溶解性 AGEs 的水平<sup>[60]</sup>。AGEs 是由于在高糖环境下,葡萄糖与蛋白质氨基端通过非酶促反应缩合,改变蛋白质三级结构,形成了大分子的 AGEs。AGEs 与细胞内外的蛋白质发生交联反应,改变蛋白质功能,影响基因的表达和细胞正常的代谢途径如 ATP 生成,同时还促进了氧化应激和炎症反应的发生,并阻断内层血-视网膜屏障引起视网膜微循环功能失调<sup>[61]</sup>。AGEs 主要通过四种途径促进 DR 病理过程的发生<sup>[61]</sup>: (1) 上调结缔组织生长因子的表达,毛细血管基底膜的稳定性和渗透性发生改变,基底膜增厚; (2) 激活凋亡相关蛋白 caspase-3、caspase-10,促使周细胞凋亡; (3) 与细胞内外蛋白质交联后引起级联反应,介导 ROS 生成,促进细胞凋亡,并且诱导炎症反应发生,基底膜细胞间连接变少,渗透增加; (4) 介导血管内皮生长因子表达,诱导血管新生。实验证明,高糖诱导后视网膜胶质细胞和内皮细胞内 AGEs 明显增高<sup>[62]</sup>,并且 AGEs 刺激视网膜 Müller 细胞表达血管内皮生长因子增多,促使眼内新生血管的发生<sup>[63]</sup>。H<sub>2</sub>S 能够通过促进半乳糖的代谢减少 AGEs 的生成,减轻高糖引起的细胞氧化应激反应<sup>[64]</sup>,包括减少 ROS 产生和脂质过氧化反应,同时保护超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶这两种内源性抗氧化酶的生成和功能<sup>[65]</sup>。另外,高糖水平引起过氧化氢合成酶的表达增加以及谷胱甘肽合成酶表达减少, H<sub>2</sub>S 能够逆转这种效应并上调对抗过氧化物作用的 ATOX1 基因和 Nrf2 表达<sup>[64]</sup>,由此对抗 AGEs 引起的细胞氧化应激反应。

**2.2.2 对抗氧化应激和炎症反应** 糖尿病发生时体循环内的高血糖水平抑制胞内线粒体呼吸链的电子传递过程, O<sub>2</sub> 极易被还原成超氧阴离子自由基 O<sup>-</sup>,导致氧化应激反应发生<sup>[66]</sup>。过多 O<sup>-</sup> 将 NO 转化成过氧亚硝基离子 ONOO<sup>-</sup>,当其余细胞色素酶 C 不可逆的结合,线粒体功能明显受到抑制,抑制了 ATP 的合成。而氧化应激反应又进而损伤线粒体膜等细胞内膜并且导致血管内皮细胞凋亡。糖尿病动物的视网膜中超氧化物水平明显增高<sup>[67]</sup>,而 H<sub>2</sub>S 能够减少细胞内活性氧的水平<sup>[16]</sup>,并且减少脂质过氧化产物的堆积<sup>[42]</sup>。另外, H<sub>2</sub>S 能抑制高血糖诱发的内皮细胞细胞间黏附分子表达<sup>[68]</sup>,在视网膜基底膜发生缺血缺氧损害时,推测 H<sub>2</sub>S 能够减轻炎症反应引起的视网膜渗漏以及黄斑水肿。

**2.2.3 保护神经元** DR 的发生过程中,通常神经元的损害早于视网膜内血管发生可见的病变。在大鼠模型中发现糖尿病发病初期视网膜会有神经病理改变,包括神经细胞的凋亡<sup>[69]</sup>。ACS67 能够减少视网膜缺血再灌注后引起的 RGC 细胞凋亡以及减轻 Müller 细胞胶质化<sup>[70]</sup>。突触囊泡蛋白对于突触小泡的释放和神经递质的转导有重要作用;脑源性神经

营养因子能够调节神经递质的释放和神经元的功能。实验发现链尿佐菌素(STZ)诱导的糖尿病大鼠视网膜内突触泡蛋白和脑源性神经营养因子的表达均减少,而给予H<sub>2</sub>S后表达增多,说明H<sub>2</sub>S能够抑制DR引起的视网膜神经元退化<sup>[71]</sup>。而H<sub>2</sub>S增加RGC细胞内GSH的含量,同样起到神经保护的作用<sup>[70]</sup>。

**2.2.4 保护血-视网膜屏障** 血-视网膜屏障功能损害是DR发生时视网膜血管病变的重要原因。DR发生时视网膜由于缺血缺氧引起缺氧诱导因子(HIF-1 $\alpha$ )表达并激活VEGF,HIF-1 $\alpha$ -VEGF-VEGFR2信号通路是主导血-视网膜屏障功能损害和糖尿病引起血管新生的主要途径<sup>[72]</sup>。H<sub>2</sub>S能够减少STZ诱导的糖尿病大鼠视网膜内血-视网膜屏障的渗透性和抑制新生血管形成<sup>[71]</sup>,主要通过H<sub>2</sub>S增加细胞紧密连接相关蛋白的表达,下调缺氧诱导因子、血管内皮生长因子受体2基因的表达,以及减少玻璃体内VEGF的含量<sup>[71]</sup>等实现的。外源性H<sub>2</sub>S能够抑制部分细胞外基质分子的表达,如层粘连蛋白和IV $\alpha$ 3型胶原,而下调IV型胶原和层粘连蛋白这类细胞基质组成物的表达能够阻止糖尿病大鼠视网膜内基底膜变厚和血管渗漏<sup>[73]</sup>。另外,H<sub>2</sub>S能够平衡因血管功能障碍和内皮细胞氧化应激引起的血管内凝血纤溶功能失调,并减轻DR的视网膜内缺血缺氧状态。KRAM等<sup>[33]</sup>证明了H<sub>2</sub>S通过上调一氧化氮的合成发挥抗血栓作用,同时H<sub>2</sub>S通过清除内皮型一氧化氮<sup>[26]</sup>以及参与环氧合酶生成前列腺素<sup>[25]</sup>来诱导血管舒张。表明H<sub>2</sub>S能够使视网膜血管渗漏减轻,减轻血管壁的破坏,减轻视网膜局部缺血和新生血管的产生。

**2.2.5 在增生型糖尿病视网膜病变中的作用** H<sub>2</sub>S在对视网膜微循环产生一定保护作用的同时,也参与了DR的病理发展,临床报告显示增生型糖尿病视网膜病变(proliferative diabetic retinopathy, PDR)患者的房水和血清中H<sub>2</sub>S浓度高于NPDR患者,认为H<sub>2</sub>S参与了PDR的病理发展过程<sup>[74]</sup>。在糖尿病的早期病程中,视网膜和玻璃体内的H<sub>2</sub>S相当于一种对抗氧化应激或氮化应激的保护性物质,眼内组织中的VEGF能刺激内皮细胞生成并释放H<sub>2</sub>S<sup>[76]</sup>。但随着高血糖水平的持续消耗,H<sub>2</sub>S在对抗VEGF生成的同时,也可能增加了VEGF对内皮细胞的作用<sup>[75-77]</sup>,H<sub>2</sub>S可通过激活Akt途径促进内皮细胞的增生和迁移,并开放K<sub>ATP</sub>和激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)途径促进内皮细胞生成新血管。

**2.3 H<sub>2</sub>S与视网膜光损伤** 视网膜光感受器外节膜盘富含不饱和脂肪酸,极易受到脂质过氧化物的影响。视网膜黄斑区长期慢性的光损伤,可引起黄斑区视网膜色素上皮和光感受器发生变性,这是黄斑变性、视网膜色素变性等视网膜变性疾病发生的重要病理基础。长期过多的光照会导致光感受器细

胞因为氧化应激反应和细胞内钙超载而发生损伤或死亡。H<sub>2</sub>S能够保护视网膜神经元,减少光诱导的视网膜退化<sup>[15]</sup>。当视网膜光感受器细胞受到高强度光照,cGMP门控离子通道关闭,细胞膜处于超极化状态,此时光感受器细胞内钙离子的浓度大约下降至10 nmol·L<sup>-1</sup>,低浓度的钙离子通过激活细胞内的3MST/CAT途径来产生H<sub>2</sub>S。H<sub>2</sub>S激活水平细胞上的V型H<sup>+</sup>ATP酶使其释放H<sup>+</sup>,从而抑制了光感受细胞上电压门控钙离子通道,进一步阻止了钙离子内流。通过这种机制,H<sub>2</sub>S控制细胞内的钙离子维持在一个较低的水平<sup>[15]</sup>。过多的光暴露使内源性H<sub>2</sub>S对光感受器细胞内钙离子的调控作用失效,但外源性H<sub>2</sub>S能够减少强光照射后凋亡细胞的数量<sup>[15]</sup>。因此认为,H<sub>2</sub>S在光损伤导致的视网膜变性疾病中起保护作用。

### 3 总结和展望

眼内多种组织都能生成内源性H<sub>2</sub>S,其中角膜和视网膜合成H<sub>2</sub>S的水平最高。已发现CBS主要在角膜中表达,CSE主要存在于视网膜内。哺乳动物的视网膜组织内主要在3MST联合CAT催化作用下产生H<sub>2</sub>S。H<sub>2</sub>S通常被认为是一种有毒气体,参与一些疾病的发生发展,如PDR,在高于内环境生理浓度时,H<sub>2</sub>S会产生细胞毒性作用引起细胞或组织坏死。但尽管如此,低浓度的H<sub>2</sub>S对于内环境尤其是血管和神经具有保护作用。在眼内组织中,H<sub>2</sub>S可通过增加cGMP的含量降低眼压,减轻炎症反应,对抗氧化应激,保护视网膜神经元,抑制细胞凋亡,并保护血-视网膜屏障,参与调节视网膜微循环的稳态。如何把握H<sub>2</sub>S的药理浓度和病理浓度需要进一步探究。目前已证明了一些能够释放H<sub>2</sub>S的新型药物如ATB-346、ATB-352可以治疗消化系统疾病<sup>[22]</sup>,而针对眼内应用的药物仍然在研究之中。在大多数的临床试验中,H<sub>2</sub>S缓释剂均是全身给药,但由于血-视网膜屏障以及眼球本身的解剖结构特殊性,使得药物在视网膜处无法达到发挥作用的有效浓度。相比之下,原位给药能达到更加有效和安全的治疗效果,并能避免全身给药后的副作用。因此,研发能够在眼内局部应用的H<sub>2</sub>S缓释药物是一个很有前景的治疗策略。

### 参考文献

- [1] OLSON KR, DELEON ER, LIU F. Controversies and conundrums in hydrogen sulfide biology[J]. *Nitric Oxide*, 2014, 41:11-26.
- [2] OLAS B. Hydrogen sulfide in hemostasis: friend or foe[J]? *Chem Biol Interact*, 2014, 217:49-56.
- [3] OLSON KR. Is hydrogen sulfide a circulating "gasotransmitter" in vertebrate blood[J]? *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1787(7):856-863.
- [4] HOGG PJ. Contribution of allosteric disulfide bonds to regulation of hemostasis[J]. *J Thromb Haemost*, 2009, 7(Suppl 1):13-16.

- [5] 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]. *J Hypertens*, 2003, 21 (10) : 1879-1885.
- [6] ABE K, KIMURA H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator [J]. *J Neurosci*, 1996, 16 (3) : 1066-1071.
- [7] FURNE J, SAEED A, LEVITT MD. Whole tissue hydrogen sulfide concentrations are orders of magnitude lower than presently accepted values [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2008, 295 (5) : 1479-1485.
- [8] OLSON KR. A practical look at the chemistry and biology of hydrogen sulfide [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2012, 17 (1) : 32-44.
- [9] MCCOOK O, RADERMACHER P, VOLANI C, ASFAR P, IGNATIUS A, KEMMLER J, et al. H<sub>2</sub>S during circulatory shock; some unresolved questions [J]. *Nitric Oxide*, 2014, 41 : 48-61.
- [10] OMER K, NICOLE M, RUMA B. H<sub>2</sub>S and its role in redox signaling [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1844 (8) : 1355-1366.
- [11] REIFFENSTEIN RJ, HULBERT WC, ROTH SH. Toxicology of hydrogen sulfide [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1992, 32 : 109-134.
- [12] HUGES MN, CENTELLES MN, MOORE KP. Making and working with hydrogen sulfide: the chemistry and generation of hydrogen sulfide *in vitro* and its measurement *in vivo*; a review [J]. *Free Radic Biol Med*, 2009, 47 (10) : 1346-1353.
- [13] TANIZAWA K. Production of H<sub>2</sub>S by 3-mercaptopyruvate sulphurtransferase [J]. *J Biochem*, 2011, 149 (4) : 357-359.
- [14] BEATA OLAS. Hydrogen sulfide in signaling pathways [J]. *Clinica Chimica Acta*, 2015, 439 : 212-218.
- [15] MIKAMI Y, SHIBUYA N, KIMURA Y, NAGAHARA N, YAMADA M, KIMURA H, et al. Hydrogen sulfide protects the retina from light-induced degeneration by the modulation of Ca<sup>+</sup> influx [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286 (45) : 39379-39386.
- [16] KIMURA H. The physiological role of hydrogen sulfide and beyond [J]. *Nitric Oxide*, 2014, 41 : 4-10.
- [17] SHIBUYA N, KOIKE S, TANAKA M, ISHIGAMI-YUASA M, KIMURA Y, OGASAWARA Y, et al. A novel pathway for the production of hydrogen sulfide from D-cysteine in mammalian cells [J]. *Nat Commun*, 2013, 4 : 1366.
- [18] ZANARDO RCO, BRANCALEONE V, DISTRUTTI E, FIORUCCI S, CIRINO G, WALLACE JL. Hydrogen sulfide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation [J]. *FASEB J*, 2006, 20 (12) : 2118-2120.
- [19] FIORUCCI S, ANTONELLI E, DISTRUTTI E, RIZZO G, MENCARELLI A, ORLANDI S, et al. Inhibition of hydrogen sulfide generation contributes to gastric injury caused by anti-inflammatory nonsteroidal drugs [J]. *Gastroenterology*, 2005, 129 (4) : 1210-1224.
- [20] PALINKAS Z, FURTMULLER PG, NAGY A, JAKOPITSCH C, PIRKER KF, MAGIEROWSKI M, et al. Interactions of hydrogen sulfide with myeloperoxidase [J]. *Br J Pharmacol*, 2015, 172 (6) : 1516-1532.
- [21] DUFTON N, NATIVIDAD J, VERDU EF, WALLACE JL. Hydrogen sulfide and resolution of acute inflammation; a comparative study utilizing a novel fluorescent probe [J]. *Scientific Rep*, 2012, 2 : 499.
- [22] BURCU GA, WAGDI ELSHEIKH B, KARLA B, FEITOSA C, SORAIA KP, COSTA C, et al. H<sub>2</sub>S-releasing drugs: Anti-inflammatory, cytoprotective and chemopreventative potential [J]. *Nitric Oxide*, 2015, 46 : 25-31.
- [23] POLHEMUS DJ, LEFER DJ. Emergence of hydrogen sulfide as an endogenous gaseous signaling molecule in cardiovascular disease [J]. *Circ Res*, 2014, 114 (4) : 730-737.
- [24] CASTRO-PIEDRAS I, PEREZ-ZOGHBI JF. Hydrogen sulphide inhibits Ca<sup>2+</sup> release through InsP3 receptors and relaxes airway smooth muscle [J]. *J Physiol*, 2013, 591 (Pt 23) : 5999-6015.
- [25] KOENITZER JR, ISBELL TS, PATEL HD, BENAVIDES GA, DICKINSON DA, PATEL RP, et al. Hydrogen sulfide mediates vasoactivity in an O<sub>2</sub>-dependent manner [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 292 (4) : 1953-1960.
- [26] MAZZA R, PASQUA T, CERRA MC, ANGELONE T, GATUOSO A. Akt/eNOS signaling and PLNS sulphydration are involved in H<sub>2</sub>S-dependent cardiac effects in frog and rat [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2013, 305 (4) : 443-451.
- [27] BHATIA M. Hydrogen sulfide as a vasodilator [J]. *IUBMB Life*, 2005, 57 (9) : 603-606.
- [28] MOREL A, MALINOWSKA J, OLAS B. Antioxidative properties of hydrogen sulfide may involve in its antiadhesive action on blood platelets [J]. *Clin Biochem*, 2012, 45 (18) : 1678-1682.
- [29] OLAS B, KONTEK B. The possible role of hydrogen sulfide as amodulator of hemostatic parameters of plasma [J]. *Chem Biol Interact*, 2014, 220 : 20-24.
- [30] MOREL A, MALINOWSKA J, OLAS B. Hydrogen sulfide changes adhesive properties of fibrinogen and collagen *in vitro* [J]. *Platelets*, 2014, 25 (2) : 147-149.
- [31] NISHIKAWA H, HAYASHI H, KUBO S, TSUBOTA-MATSUNAMI M, SEKIGUCHI F, KAWABATA A. Inhibition by hydrogen sulfide of rabbit platelet aggregation and calcium mobilization [J]. *Biol Pharm Bull*, 2013, 36 (8) : 1278-1282.
- [32] GRAMBOW E, MUELLER-GRAF F, DELYAGINA E, FRANK M, KUHLE A, VOLLMAR B. Effect of the hydrogen sulfide donor GYY4137 on platelet activation and microvascular thrombus formation in mice [J]. *Platelets*, 2014, 25 (3) : 166-1674.
- [33] KRAM L, GRAMBOW E, MUELLER-GRAF F, SORG H, VOLLMAR B. The anti-thrombotic effect of hydrogen sulfide is partly mediated by an upregulation of nitric oxide synthases [J]. *Thromb Res*, 2013, 132 (2) : e112-117.
- [34] WACHOWICZ B, OLAS B, ZBIKOWSKA HM, BUCZYNSKI A. Generation of reactive oxygen species in blood platelets [J]. *Platelets*, 2002, 13 (3) : 175-182.
- [35] QIAOW, CHAOSHU T, HONGFANG J, JUNBAO D. Endogenous hydrogen sulfide is involved in the pathogenesis of atherosclerosis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 396 (2) : 182-186.
- [36] MANI S, LI H, UNTEREINER A, WU L, YANG G, AUSTIN RC, et al. Decreased endogenous production of hydrogen sulfide accelerates atherosclerosis [J]. *Circulation*, 2013, 127 (25) : 2523-2534.
- [37] WHITE B, SMITH PA, DUNN WR. Hydrogen sulphide-mediated vasodilatation involves the release of neurotransmitters from sensory nerves in pressurized mesenteric small arteries isolated from rats [J]. *Br J Pharmacol*, 2013, 168 (4) : 785-793.
- [38] DENG J, LEI C, CHEN Y, FANG ZI, YANG QI, ZHANG H, et al. Neuroprotective gases-fantasy or reality for clinical use [J]? *Prog Neurobiol*, 2014, 115 : 210-245.
- [39] WHITEMAN M, ARMSTRONG JS, CHU SH, HALLIWELL B, MOORE PK. The novel neuromodulator hydrogen sulfide; an endogenous peroxynitrite 'scavenger' [J]? *J Neurochem*, 2004, 90 (3) : 765-768.
- [40] WHITEMAN M, CHEUNG NS, ZHU YZ, CHU SH, SIAU JL, WONG BS, et al. Hydrogen sulphide; a novel inhibitor of hypochlorous acid-mediated oxidative damage in the brain [J]? *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 326 (4) : 794-798.
- [41] LEE S, HU YS, HU LF, LU Q, DAWE GS, MOORE PK, et al. Hydrogen sulphide regulates calcium homeostasis in microglial cells [J]. *Glia*, 2006, 54 (2) : 116-124.
- [42] GENG B, CHANG L, PAN C, QI Y, ZHAO J, PANG Y, et al. Endogenous hydrogen sulfide regulation of myocardial injury induced by isoproterenol [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 318 (3) : 756-763.
- [43] DELLO RUSSO C, TRINGALI G, RAGAZZONI E, MAGGIANO N, MENINI E, VAIRANO M, et al. Evidence that hydrogen sulphide can modulate hypothalamo-pituitary-adrenal axis function; *in vitro* and *in vivo* studies in the rats [J]. *J Neuroendocrinol*, 2000, 12 (3) : 225-233.
- [44] KIMURA H. Hydrogen sulfide induces cyclic AMP and modulates the NMDA receptor [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 267 (1) : 129-133.
- [45] KULKARNI M, NJIE-MBYE YF, OKPOBIRI I, ZHAO M, OPE-RE CA, OHIA SE. Endogenous production of hydrogen sulfide in isolated bovine eye [J]. *Neurochem Res*, 2011, 36 (8) : 1540-1545.
- [46] PERRINO E, ULIVA C, LANZI C, SOLDATO PD, MASINI E, SPARATORE A. New prostaglandin derivative for glaucoma

- treatment[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, 19 (6): 1639-1642.
- [47] CLAUDIO B, FILIPPO D. Carbon monoxide and the eye; Implications for glaucoma therapy[J]. *Pharmacol Ther*, 2011, 130(2): 191-201.
- [48] DENOYER A, ROUBEIX C, SAPIENZA A, RÉAUX-LE GOAZIGO A, MELIK-PARSADANIANITZ S, BAUDOUIN C. Retinal and trabecular degeneration in glaucoma; New insights into pathogenesis and treatment[J]. *J Fr Ophthalmol*, 2015, 38(4): 347-356.
- [49] AMITA G, ARPNA S, RAMANJIT S, JASBIR K. Evaluation of oxidative stress markers in aqueous humor of primary open angle glaucoma and primary angle closure glaucoma patients[J]. *Curr Eye Res*, 2014, 39(8): 823-829.
- [50] OSBORNE NN, DEL OLMO-AGUADO S. Maintenance of retinal ganglion cell mitochondrial functions as a neuroprotective strategy in glaucoma[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2013, 13(1): 16-22.
- [51] JU WK, KIM KY, NOH YH, HOSHLJIMA M, LUKAS TJ, ELLISMAN MH, *et al*. Increased mitochondrial fission and volume density by blocking glutamate excitotoxicity protect glaucomatous optic nerve head astrocytes[J]. *Glia*, 2015, 63(5): 736-753.
- [52] MAHER P, HANNEKEN A. The molecular basis of oxidative stress-induced cell death in an immortalized retinal ganglion cell line[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2005, 46(2): 749-757.
- [53] KIMURA Y, KIMURA H. Hydrogen sulfide protects neurons from oxidative stress[J]. *FASEB J*, 2004, 18(10): 1165-1167.
- [54] CHAN JY, KWONG M. Impaired expression of glutathione synthetic enzyme genes in mice with targeted deletion of the Nrf2 basic-leucine zipper protein[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1517(1): 19-26.
- [55] MAJID AS, MAJID AM, YIN ZQ, JI D. Slow regulated release of H<sub>2</sub>S inhibits oxidative stress induced cell death by influencing certain key signaling molecules[J]. *Neurochem Res*, 2013, 38(7): 1375-1393.
- [56] OSBORNE NN, JI D, MAJID AS, DEL SOLDATO P, SPARATORE A. Glutamate oxidative injury to RGC-5 cells in culture is necrostatin sensitive and blunted by a hydrogen sulfide(H<sub>2</sub>S)-releasing derivative of aspirin(ACS14)[J]. *Neurochem Int*, 2012, 60(4): 365-378.
- [57] ANDERSON KE, JACKSON SP. Class I phosphoinositide 3-kinases[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2003, 35(7): 1028-1033.
- [58] VIVANCO I, SAWYERS CL. The phosphatidylinositol 3-Kinase-AKT pathway in human cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(7): 489-501.
- [59] NISHIKAWA T, EDELSTEIN D, DU XL, YAMAGISHI S, MATSUMURA T, KANEDA Y, *et al*. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage[J]. *Nature*, 2000, 404(6779): 787-790.
- [60] YANG L, WU Q, LI Y, FAN X, HAO Y, SUN H, *et al*. Association of the receptor for advanced glycation end products gene polymorphisms and circulating RAGE levels with diabetic retinopathy in the Chinese population[J]. *J Diabetes Res*, 2013, 2013: 264579.
- [61] KANDARAKIS SA, PIPERI C, TOPOUZIS F, PAPAVALASSILOU AG. Emerging role of advanced glycation-end products (AGEs) in the pathobiology of eye diseases[J]. *Progr Retin Eye Res*, 2014, 42: 85-102.
- [62] PADAYATTI PS, JIANG C, GLOMB MA, UCHIDA K, NAGARAJ RH. High concentrations of glucose induce synthesis of argpyrimidine in retinal endothelial cells[J]. *Curr Eye Res*, 2001, 23(2): 106-115.
- [63] HIRATA C, NAKANO K, NAKAMURA N, KITAGAWA Y, SHIGETA H, HASEGAWA G, *et al*. Advanced glycation end products induce expression of vascular endothelial growth factor by retinal Müller cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, 236(3): 712-715.
- [64] LIU YY, NAGPURE BV, WONG PT, BIAN JS. Hydrogen sulfide protects SH-SY5Y neuronal cells against D-galactose induced cell injury by suppression of advanced glycation end products formation and oxidative stress[J]. *Neurochem Int*, 2013, 62(5): 603-609.
- [65] USUI S, OVESON BC, IWASE T, LU L, LEE SY, JO YJ, *et al*. Overexpression of SOD in retina; need for increase in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-detoxifying enzyme in same cellular compartment[J]. *Free Radic Biol Med*, 2011, 51(7): 1347-1354.
- [66] BROWNLEE M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism[J]. *Diabetes*, 2005, 54(6): 1615-1625.
- [67] DU Y, MILLER CM, KEM TS. Hyperglycemia increases mitochondrial superoxide in retina and retinal cells[J]. *Free Radic Biol Med*, 2003, 35(11): 1491-1499.
- [68] GUAN Q, WANG X, GAO L, CHEN J, LIU Y, YU C, *et al*. Hydrogen sulfide suppresses high glucose-induced expression of intercellular adhesion molecule-1 in endothelial cells[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2013, 62(3): 278-284.
- [69] LIETH E, GARDNER TW, BARBER AJ, ANTONETTI DA. PENN STATE RETINA RESEARCH GROUP. Retinal neurodegeneration; early pathology in diabetes[J]. *Clin Exp Ophthalmol*, 2000, 28(1): 3-8.
- [70] OSBORNE NN, JI D, ABDUL MAJID AS, FAWCETT RJ, SPARATORE A, DEL SOLDATO P. ACS67, a hydrogen sulfide-releasing derivative of latanoprost acid, attenuates retinal ischemia and oxidative stress to RGC-5 cells in culture[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2010, 51(1): 284-294.
- [71] SI YF, WANG J, GUAN J, ZHOU L, SHENG Y, ZHAO J. Treatment with hydrogen sulfide alleviates streptozotocin-induced diabetic retinopathy in rats[J]. *Br J Pharmacol*, 2013, 169(3): 619-631.
- [72] QAUM T, XU Q, JOUSSEN AM, CLEMENS MW, QIN W, MIYAMOTO K, *et al*. VEGF-initiated blood-retinal barrier breakdown in early diabetes[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2001, 42(10): 2408-2413.
- [73] OSHITARI T, POLEWSKI P, CHADDA M, LI AF, SATO T, ROY S. Effect of combined antisense oligonucleotides against high-glucose and diabetes-induced overexpression of extracellular matrix components and increased vascular permeability[J]. *Diabetes*, 2006, 55(1): 86-92.
- [74] RAN RI, DU L, ZHANG X, CHEN X, FANG Y, LI Y, *et al*. Elevated hydrogen sulfide levels in vitreous body and plasma in patients with proliferative diabetic retinopathy[J]. *Retina*, 2014, 34(10): 2003-2009.
- [75] SZABO C, PAPAPETROPOULOS A. Hydrogen sulphide and angiogenesis: mechanisms and applications[J]. *Br J Pharmacol*, 2011, 164(3): 853-865.
- [76] PAPAPETROPOULOS A, PYRIOCHOU A, ALTAANY Z, YANG G, MARAZIOTI A, ZHOU Z, *et al*. Hydrogen sulfide is an endogenous stimulator of angiogenesis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106: 21972-21977.
- [77] CAI WJ, WANG MJ, MOORE PK, JIN HM, YAO T, ZHU YC. The novel proangiogenic effect of hydrogen sulfide is dependent on Akt phosphorylation[J]. *Cardiovasc Res*, 2007, 76(1): 29-40.