

Received: 2004.03.10  
Accepted: 2004.06.25  
Published: 2004.07.19

## Siarkowódór jako biologicznie aktywny mediator w układzie krążenia

### Hydrogen sulfide as a biologically active mediator in the cardiovascular system

Jerzy Bełtowski

Katedra i Zakład Patofizjologii Akademii Medycznej w Lublinie

#### Streszczenie

Badania ostatnich lat wskazują, że oprócz tlenku azotu (NO) i tlenku węgla (CO) siarkowódór ( $H_2S$ ) jest kolejnym nieorganicznym gazowym mediatorem regulującym funkcje układu krążenia. Siarkowódór jest syntetyzowany z cysteiny przez  $\beta$ -syntazę cystationiny (CBS) lub  $\gamma$ -liazę cystationiny (CSE). Kofaktorem obu enzymów jest fosforan pirydoksalu (witamina  $B_6$ ). CBS odgrywa główną rolę w wytwarzaniu  $H_2S$  w mózgu, natomiast CSE w układzie krążenia. Podanie egzogenego siarkowodoru powoduje spadek ciśnienia tętniczego.  $H_2S$  rozszerza naczynia krwionośne *in vitro* przez aktywację kanałów potasowych regulowanych przez ATP w komórkach mięśniówki naczyni. Przewlekłe podawanie inhibitorów CSE powoduje wzrost ciśnienia tętniczego. Zmniejszone wytwarzanie endogennego siarkowodoru stwierdzono u szczurów z samoistnym nadciśnieniem tętniczym (SHR) oraz w nadciśnieniu indukowanym długotrwałym podawaniem inhibitora syntazy tlenku azotu. Niedobór  $H_2S$  występuje też w doświadczalnym nadciśnieniu płucnym wywołanym hipoksją. Egzogeny siarkowódór wykazuje istotne działanie terapeutyczne w tych modelach doświadczalnych. Niedobór  $H_2S$  może się przyczyniać do przyspieszonego rozwoju miażdżycy u osób z hiperhomocysteinemią, u których metabolizm homocysteiny do cysteiny i  $H_2S$  jest upośledzony z powodu niedoboru witaminy  $B_6$ . Zmniejszone wytwarzanie  $H_2S$  w ośrodkowym układzie nerwowym występuje w chorobie Alzheimera, natomiast nadmierną syntezę  $H_2S$  wykazano u chorych z zespołem Downa oraz wstrząsem septycznym.

#### Słowa kluczowe:

siarkowódór • nadciśnienie tętnicze • miażdżycy • homocysteina • wstrząs septyczny

#### Summary

Recent studies suggest that apart from nitric oxide (NO) and carbon monoxide (CO), hydrogen sulfide ( $H_2S$ ) is another inorganic gaseous mediator in the cardiovascular system.  $H_2S$  is synthesized from L-cysteine by either cystathionine  $\beta$ -synthase (CBS) or cystathionine  $\gamma$ -lyase (CSE), both using pyridoxal 5'-phosphate (vitamin  $B_6$ ) as a cofactor. CBS is the main  $H_2S$ -producing enzyme in the brain and CSE is involved in  $H_2S$  formation in the cardiovascular system.  $H_2S$  induces hypotension *in vivo* and vasodilation *in vitro* by opening  $K_{ATP}$  channels in vascular smooth muscle cells. Chronic administration of CSE inhibitor induces arterial hypertension in the rat. In addition, decreased  $H_2S$  generation has been demonstrated in the vasculature of spontaneously hypertensive rat, in experimental hypertension induced by NO synthase blockade, and in hypoxia-induced pulmonary hypertension, and administration of exogenous  $H_2S$  donor has significant therapeutic effects in these models. Deficiency of  $H_2S$  may contribute to atherogenesis in some patients with hyperhomocysteinemia, in whom the metabolism of homocysteine to cysteine and  $H_2S$  is compromised by vitamin  $B_6$  deficiency. Reduced  $H_2S$  production in the brain was observed in patients with Alzheimer's disease. On the other hand, excess of  $H_2S$  may lead to mental

retardation in patients with Down's syndrome and may be involved in the pathogenesis of hypotension associated with septic shock.

**Key words:** hydrogen sulfide • arterial hypertension • atherosclerosis • homocysteine • septic shock

**Full-text PDF:** [http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol\\_58/5949.pdf](http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_58/5949.pdf)

**Word count:** 2852

**Tables:** 2

**Figures:** 1

**References:** 57

**Author's address:** dr Jerzy Bełtowski Katedra i Zakład Patofizjologii AM, ul. Jaczewskiego 8, 20-090 Lublin, e-mail: patfiz@asklepios.am.lublin.pl

**Wykaz skrótów:** **AMP** – adenozymonofosforan (adenosine monophosphate); **ATP** – adenozyntrójfosforan (adenosine triphosphate); **CBS** –  $\beta$ -syntaza cystationiny (cystathionine  $\beta$ -synthase); **cGMP** – cykliczny guanozynomonofosforan (cyclic guanosine monophosphate); **CO** – tlenek węgla (carbon monoxide); **CRH** – hormon uwalniający kortykotropinę (corticotropin-releasing hormone); **CSE** –  $\gamma$ -liaza cystationiny (cystathionine  $\gamma$ -lyase); **HCY** – homocysteina (homocysteine); **H<sub>2</sub>S** – siarkowodor (hydrogen sulfide); **HO** – oksigenaza hemowa (heme oxygenase); **mRNA** – przekaźnikowy kwas rybonukleinowy (messenger ribonucleic acid); **MTHFR** – reduktaza metylenotetrahydrofolianowa (metylenotetrahydrofolate reductase); **NaHS** – wodorosiarczek sodowy (sodium hydrosulfide); **NMDA** – N-metylo-D-asparaginian (N-methyl D-spartate); **NO** – tlenek azotu (nitric oxide); **NOS** – syntaza tlenku azotu (nitric oxide synthase); **SAH** – S-adenozylhomocysteina (S-adenosylhomocysteine); **SAM** – S-adenozylometionina (S-adenosylmethionine); **SHR** – szczury z samoistnym nadciśnieniem tętniczym (spontaneously hypertensive rats); **SUR** – receptor pochodnych sulfonilomocznika (sulfonilurea receptor)

## WSTĘP

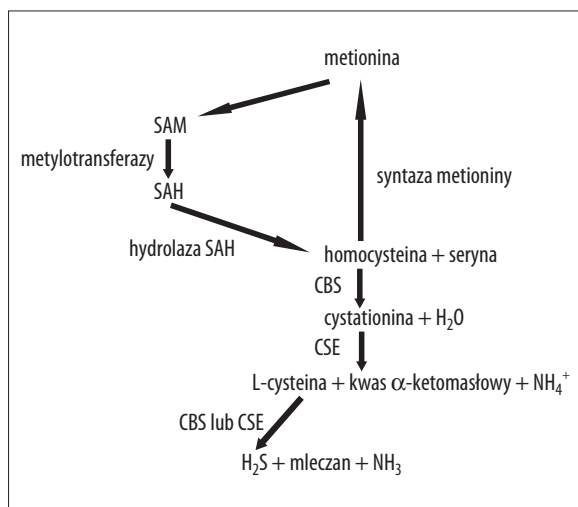
Tlenek azotu (NO), opisany w latach osiemdziesiątych XX wieku był pierwszym poznany mediator, będącym prostym gazowym związkiem nieorganicznym. NO jest syntetyzowany z L-argininy przez syntazę tlenku azotu (NOS). NO jest wytwarzany niemal we wszystkich komórkach i bierze udział w regulacji różnych procesów, takich jak napięcie naczyń krwionośnych, neurotransmisja i obrona przed patogennymi drobnoustrojami. NO aktywuje cyklazę guanylową i zwiększa stężenie cGMP w komórkach, chociaż działa też za pośrednictwem innych mechanizmów, takich jak nitrozylacja grup sulfhydrylowych białek [17]. Drugi endogeny gaz, tlenek węgla (CO) powstaje w czasie utleniania hemu do biliwerdyny przez oksigenazę hemową (HO). Tlenek węgla był przez wiele lat uważany jedynie za uboczny produkt przemiany materii, jednak badania ostatnich 10 lat wskazują, że jest on fizjologicznie aktywnym mediatorem. Podobnie do tlenku azotu, CO aktywuje cytoplazmatyczną cyklazę guanylową. Ponadto wiąże się z wieloma hemoproteinami np. cytochromem P450 i modyfikuje ich aktywność [6,43]. NO i CO mają wiele wspólnych działań: rozszerzają naczynia krwionośne w mechanizmie zależnym od cGMP, hamują migrację i proliferację komórek mięśni gładkich naczyń oraz regulują transport jonów w kanalikach nerkowych. Ostatnie badania sugerują, że siarkowodor (H<sub>2</sub>S) jest kolejnym nieorganicznym gazem pełniącym rolę mediatora. H<sub>2</sub>S spełnia najważniejsze kryteria charakteryzujące substancje przekaźnikowe: jest on syntetyzowany endogenicznie

w regulowanych reakcjach enzymatycznych oraz wykazuje specyficzne działania biologiczne w stężeniach fizjologicznych. Pomimo wielu badań dotyczących działania H<sub>2</sub>S, niewiele wiadomo na temat jego roli jako mediatora, gdyż większość z nich dotyczyła działań toksycznych. Jednakże toksyczne stężenia H<sub>2</sub>S są tylko dwukrotnie większe od fizjologicznych zwłaszcza w ośrodkowym układzie nerwowym, część działań uważanych uprzednio za toksyczne może więc mieć znaczenie fizjologiczne [49]. Celem niniejszej pracy jest krótkie omówienie stanu wiedzy na temat fizjologicznej roli siarkowodoru, ze szczególnym uwzględnieniem układu krążenia.

## SYNTEZA I METABOLIZM SIARKOWODORU

W warunkach fizjologicznych, tj. w roztworach wodnych o pH zbliżonym do 7,4, około 1/3 H<sub>2</sub>S występuje w postaci niedysocjowanej, a 2/3 dysocjuje na jony H<sup>+</sup> i HS<sup>-</sup>, a następnie na S<sup>2-</sup>. Niedysocjowany H<sub>2</sub>S jest związkiem lipofilnym i łatwo przenika przez błony komórkowe. Stężenie H<sub>2</sub>S w osoczu i większości tkanek wynosi około 50  $\mu$ M, natomiast w mózgu jest nawet 3-krotnie wyższe [1,55].

Siarkowodor jest syntetyzowany zarówno w układzie krążenia jak i nerwowym. W jego powstawaniu uczestniczą dwa enzymy, których kofaktorem jest fosforan pirydoksalu (witamina B<sub>6</sub>):  $\beta$ -syntaza cystationiny (CBS, EC 4.2.1.22) i  $\gamma$ -liaza cystationiny (CSE, EC 4.4.1.1). Zarówno CBS jak i CSE katalizują przemianę cysteiny do mleczanu, amoniaku i H<sub>2</sub>S. Ponadto CBS syntetyzuje cystationinę z homo-



**Ryc. 1.** Biosynteza siarkowodoru i pokrewne szlaki metaboliczne. Wyjaśnienia skrótów i opis w tekście

cysteiny i seryny, a CSE rozkłada cystationinę do cysteiny, kwasu  $\alpha$ -ketomasłowego i jonów  $\text{NH}_4^+$  (ryc. 1).

Przy dostatecznym stężeniu cysteiny, zarówno CBS jak i CSE mogą syntetyzować siarkowódór, natomiast przy braku cysteiny konieczna jest obecność obu enzymów, a substratem do wytwarzania  $\text{H}_2\text{S}$  staje się homocysteina. CBS lub/i CSE występują w ośrodkowym układzie nerwowym, nerkach, wątrobie i naczyniach krwionośnych [4,30].  $\text{H}_2\text{S}$  hamuje aktywność CSE na zasadzie ujemnego sprzężenia zwrotnego [45]. Innym sposobem powstawania  $\text{H}_2\text{S}$  jest redukcja wolnej siarki do jonów siarczkowych ( $\text{S}^{2-}$ ), które następnie łączą się z protonami, jednak znaczenie fizjologiczne tego mechanizmu wydaje się wątpliwe [48].

Podczas gdy CBS jest głównym enzymem odpowiedzialnym za syntezę  $\text{H}_2\text{S}$  w mózgu [1], CSE odgrywa podobną rolę w układzie krążenia. Obecność tego enzymu stwierdzono w mięśniówce przedsionków i komór serca, aortie, tętnicy piersiowej wewnętrznej, tętnicach wieńcowych, krezkowych i płucnych, tętnicy ogonowej szczura, a także w żyłę wrotnej [19]. Synteza  $\text{H}_2\text{S}$  przez izolowane naczynia krwionośne jest hamowana przez D,L-propargylglicynę, będącą nieodwracalnym inhibitorem CSE, a także przez  $\beta$ -cyjano-L-alaninę – kompetycyjny inhibitor tego enzymu [55]. Badania immunohistochemiczne i PCR wskazują na ekspresję CSE w komórkach mięśniówki naczyni, nie stwierdzono jej natomiast w komórkach śródbłonna [55]. W jednej pracy [47] obserwowano ekspresję CBS w ludzkich komórkach śródbłonna żyły pępkowej, jednak były one hodowane przez 2 tygodnie w obecności homocysteiny, co mogło indukować ekspresję tego enzymu. Niemniej, dane te sugerują, że ekspresja CBS w układzie krążenia może być indukowana pewnymi bodźcami.

Na temat regulacji aktywności enzymów wytwarzających  $\text{H}_2\text{S}$  wiadomo niewiele. Stymulacja elektryczna neuronów oraz kwas glutaminowy – główny neuromediator pobudzający – powodują gwałtowny wzrost aktywności CBS w komórkach nerwowych w wyniku zwiększonego napływu wapnia i aktywacji kalmodyliny [13]. S-adenozylometionina (SAM) jest aktywatorem CBS [12]. U myszy aktyw-

ność CBS oraz stężenie  $\text{H}_2\text{S}$  w tkance nerwowej są większe u samców niż u samic. Podawanie testosteronu samicom zwiększa, a kastracja samców zmniejsza aktywność CBS w mózgu [12]. Dane te wskazują na istotną rolę hormonów płciowych w regulacji aktywności CBS. Nitroprusydek sodowy uwalniający NO zwiększa aktywność CBS w mózgu *in vitro*, jednak działanie to jest niezależne od NO i wynika z chemicznej modyfikacji reszt cysteiny w cząsteczce enzymu [11]. Dostępne dane nie wskazują, aby tlenek azotu wpływał na aktywność CBS. Donory NO zwiększają ilość  $\text{H}_2\text{S}$  wytwarzanego przez homogenatę aorty szczura, prawdopodobnie za pośrednictwem cGMP i kinazy białkowej G [49,55]. Długotrwała inkubacja komórek mięśniówki gładkiej naczyń w obecności związków uwalniających NO prowadzi do wzrostu ekspresji mRNA CSE. Na znaczenie tlenu azotu w regulacji aktywności CSE wskazują też badania wykonane na szczurach otrzymujących przewlekle inhibitor NOS. U zwierząt tych spada stężenie  $\text{H}_2\text{S}$  w osoczu, a także ekspresja i aktywność CSE w układzie krążenia [56].

$\text{H}_2\text{S}$  jest utleniany w mitochondriach do tiosiarczanu wydalanego następnie z moczem. Okres półtrwania siarkowodoru *in vivo* wynosi kilka minut, a więc jest znacznie dłuższy niż w przypadku tlenu azotu, dla którego wynosi poniżej 10 sekund [48].

#### DZIAŁANIE $\text{H}_2\text{S}$ NA UKŁAD KRĄŻENIA

Dożylne podanie roztworu  $\text{H}_2\text{S}$  szczurom w stanie znieczulenia ogólnego powoduje zależny od dawki spadek średniego ciśnienia tętniczego [55].  $\text{H}_2\text{S}$  rozszerza aortę piersiową szczura *in vitro* z  $\text{EC}_{50}$  około  $125 \mu\text{M}$ , a więc w stężeniach zbliżonych do fizjologicznych. Wodorosiarczek sodowy (NaHS), który w roztworach wodnych przekształca się częściowo w  $\text{H}_2\text{S}$ , wykazuje podobne działanie. Zarówno usunięcie śródbłonna jak i odnerwienie naczynia nie ma wpływu na działanie  $\text{H}_2\text{S}$ , co wskazuje, że działa on bezpośrednio na mięśniówkę [55]. Jednakże późniejsze badania wykazały, że farmakologiczne hamowanie syntazy tlenu azotu lub usunięcie śródbłonna powoduje przesunięcie zależności między stężeniem  $\text{H}_2\text{S}$  a siłą działania naczyniorozszerzającego w prawo nie zmieniając maksymalnej odpowiedzi, co sugeruje, że NO pochodzenia śródbłonkowego zwiększa wrażliwość mięśniówki na relaksacyjne działanie  $\text{H}_2\text{S}$  [54]. Inhibitory cyklooksygenazy oraz kinazy białkowej A nie mają wpływu na działanie naczyniorozszerzające  $\text{H}_2\text{S}$ , co wskazuje, że nie zależy ono od prostacykliny ani cyklicznego AMP. Również inhibitory cytoplazmatycznej cyklazy guanylowej nie hamują, a nawet nasilają działanie wazodylatacyjne  $\text{H}_2\text{S}$ . Dowodzi to, że w odróżnieniu od tlenu azotu i tlenu węgla, siarkowódór nie wpływa na naczynia za pośrednictwem cyklicznego GMP [54].

Dostępne dane wskazują, że  $\text{H}_2\text{S}$  rozszerza naczynia przede wszystkim zwiększając aktywność wrażliwych na ATP kanałów potasowych ( $\text{K}_{\text{ATP}}$ ) w komórkach mięśniowych. Antagonista tych kanałów, glibenklamid, zmniejsza hipotensyjne działanie  $\text{H}_2\text{S}$  *in vivo* oraz wazodylatacyjne *in vitro* [55]. Wykazano, że  $\text{H}_2\text{S}$  zwiększa przepływ jonów przez kanały potasowe regulowane stężeniem ATP i powoduje hiperpolaryzację izolowanych komórek mięśniówki naczyni. Należy zauważyć, że NO i CO bezpo-

**Tabela 1.** Działania biologiczne H<sub>2</sub>S w stężeniach fizjologicznych

- obniżenie ciśnienia tętniczego
- rozszerzenie naczyń
- aktywacja kanałów potasowych K<sub>ATP</sub> w komórkach mięśniówki naczyń
- hamowanie kurczliwości mięśnia sercowego
- hamowanie proliferacji komórek mięśniówki naczyń
- aktywacja receptorów NMDA w mózgu
- hamowanie wydzielania CRH przez podwzgórze

średnio (niezależnie od cGMP) aktywują zależne od wapnia kanały potasowe (K<sub>Ca</sub>) w tych komórkach, wiążąc się odpowiednio z ich grupami cysteinowymi lub histydynowymi [51]. Jednakże antagoniści kanałów K<sub>Ca</sub> nie mają wpływu na działanie H<sub>2</sub>S. Wydaje się więc, że siarkowodor charakteryzuje się unikalnym mechanizmem działania wśród trzech znanych obecnie gazów. Wprawdzie tlenek azotu może również aktywować kanały K<sub>ATP</sub> odbywa się to jednak za pośrednictwem cyklicznego GMP i kinazy białkowej G [36].

Relaksacyjne działanie H<sub>2</sub>S nie ogranicza się do układu naczyniowego. H<sub>2</sub>S powoduje rozkurcz jelita cienkiego królika i świnki morskiej oraz nasieniowodów szczura [46], hamuje skurcz mięśniówki macicy szczura indukowany oksytocyną [18] oraz spontaniczną kurczliwość mięśniówki macicy szczura w okresie ciąży [44]. Działaniom tym nie zapobiega glibenklamid, co wskazuje, że nie zależą one od aktywacji kanałów potasowych. Niedawno wykazano, że NaHS zmniejsza kurczliwość mięśnia sercowego zarówno *in vivo* jak i *in vitro* [14]; jedynie częściowo zależy to od pobudzenia kanałów potasowych.

W ośrodkowym układzie nerwowym H<sub>2</sub>S aktywuje – za pośrednictwem mechanizmu zależnego od cAMP i kinazy białkowej A – receptory kwasu N-metylo-D-asparaginowego (NMDA) – jeden z rodzajów receptorów kwasu glutaminowego [1,27]. Niedawne badania [29] wskazują, że receptory te znajdują się też w układzie krążenia i nerkach. Znaczenie obwodowych receptorów NMDA nie jest znane, wykazano jednak, że ich pobudzenie zwiększa aktywność oksygenazy hemowej i wytwarzanie CO oraz indukuje rozszerzenie naczyń mózgowych [28,38,40]. Działania H<sub>2</sub>S na receptory NMDA w naczyniach dotąd nie badano.

Dello Russo i wsp. [9] wykazali, że NaHS, a także prekursor siarkowodoru i aktywator CBS, S-adenozylometionina (SAM), hamują stymulowane potasem wydzielanie hormonu uwalniającego kortykotropinę (CRH) przez skrawki podwzgórza szczura. Podawanie SAM zapobiega wzrostowi stężenia glikokortykosteroidów wywołanego stresem sugerując, że H<sub>2</sub>S może być fizjologicznym regulatorem osi podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowej. Dotychczas poznane działania H<sub>2</sub>S przedstawiono w tabeli 1.

#### ZALEŻNOŚĆ MIĘZY H<sub>2</sub>A A INNYMI MEDIATORAMI GAZOWYMI

Wydaje się, że między tlenkiem azotu a tlenkiem węgla istnieje zależność o charakterze ujemnego sprzężenia zwrotnego. NO wytwarzany w śródbłonku tonicznie hamuje konstytutywną postać oksygenazy hemowej (HO-2).

Po zahamowaniu syntezy tlenku azotu, wzrasta znacznie tlenek węgla w regulacji napięcia naczyń [24,42]. Natomiast nadmierne wytwarzanie CO przez indukowaną odmianę oksygenazy hemowej (HO-1) hamuje powstawanie NO [22]. Powstaje pytanie, czy i jakie zależności istnieją między NO i CO a siarkowodorem? Jak zaznaczono powyżej, NO zwiększa aktywność CSE i ilość powstającego H<sub>2</sub>S w układzie krążenia. Hosoki i wsp. [19] wykazali, że donory tlenku azotu nasilają wazodylatacyjne działanie H<sub>2</sub>S. Wpływ H<sub>2</sub>S na działanie NO jest natomiast kontrowersyjny. Wykazano zarówno nasilający [19], jak i hamujący [54] wpływ H<sub>2</sub>S na naczyniorozszerzające działanie tlenku azotu.

#### ENDOGENNY SIARKOWODÓR W STANACH PATOLOGICZNYCH

##### Nadciśnienie tętnicze

Badania doświadczalne wskazują, że niedobór H<sub>2</sub>S może się przyczyniać do rozwoju nadciśnienia tętniczego, przynajmniej w niektórych modelach doświadczalnych u zwierząt. Stężenie H<sub>2</sub>S w osoczu oraz ekspresja i aktywność CSE w aorcie są mniejsze u szczurów z samoistnym nadciśnieniem tętniczym (SHR) niż u zwierząt kontrolnych. Przewlekłe podawanie NaHS obniża ciśnienie tętnicze u szczurów SHR nie ma natomiast wpływu na wysokość ciśnienia u zwierząt zdrowych [52]. Podawanie inhibitora CSE, propargylglicyny, powoduje spadek stężenia H<sub>2</sub>S w osoczu i zmniejsza ilość H<sub>2</sub>S syntetyzowanego przez aortę oraz podwyższa ciśnienie tętnicze u szczurów zdrowych. Natomiast u szczurów SHR, podawanie propargylglicyny nie ma wpływu na wysokość ciśnienia tętniczego ani stężenie H<sub>2</sub>S. Wskazuje to, że endogenne H<sub>2</sub>S odgrywa ważną rolę w regulacji napięcia naczyń w warunkach prawidłowych, natomiast u szczurów SHR mechanizmy syntetyzujące H<sub>2</sub>S ulegają supresji. Obniżone stężenie H<sub>2</sub>S, zmniejszoną ekspresję genu CSE i małą aktywność tego enzymu oraz hipotensyjne działanie egzogenne H<sub>2</sub>S obserwowano również w doświadczalnym modelu nadciśnienia indukowanego przewlekłym podawaniem inhibitora syntazy tlenku azotu [56]. W doświadczalnym nadciśnieniu płucnym wywołanym hipoksją hipobaryczną, stężenie H<sub>2</sub>S w osoczu spada o około 30%, czemu towarzyszy dwukrotny spadek ilości H<sub>2</sub>S wytwarzanego przez homogenaty tkanki płucnej oraz mniejsza ekspresja genu i aktywność CSE. Podawanie NaHS zmniejsza ciśnienie w tętnicy płucnej i zapobiega przerostowi prawej komory oraz przebudowie ściany tętnicy płucnej w tym modelu doświadczalnym [8]. Nie wiadomo jednak, czy niedobór H<sub>2</sub>S jest przyczyną czy skutkiem nadciśnienia we wspomnianych modelach, a także, jaka jest jego rola w patogenezie nadciśnienia tętniczego u ludzi.

##### Miażdżycza

Zarówno NO, jak i CO wytwarzane w obrębie ściany naczyniowej hamują proces aterogenezy dzięki ich działaniu przeciwzapalnemu, przeciwpłytkowemu i antyproliferacyjnemu. W związku z tym powstaje pytanie, czy H<sub>2</sub>S ma również wpływ na aterogenezę? H<sub>2</sub>S hamuje proliferację komórek mięśniówki naczyń *in vitro* wywołaną endoteliną w wyniku hamowania aktywności kinaz białkowych indukowanych mitogenami (MAPK). Ponadto, podawanie wodorosiarczku sodowego zapobiega przebudowie naczyń

u szczurów SHR, szczurów otrzymujących przewlekle inhibitor syntazy tlenu azotu oraz w doświadczalnym nadciśnieniu płucnym [8,52,56]. Dane te sugerują, że  $H_2S$  może wykazywać działanie przeciwmiażdżycowe. Rozpatrując ewentualną rolę siarkowodoru w patogenezie miażdżycy, należy w pierwszym rzędzie wziąć pod uwagę pacjentów z hiperhomocysteinemią. Homocysteina (HCY) jest aminokwasem, który nie wchodzi w skład białek, syntetyzowanym z metioniny przez związki pośrednie: S-adenozylometioninę (SAM) i S-adenozylhomocysteinę (SAH). Prawidłowe stężenie HCY w osoczu wynosi 5–10  $\mu M$ . Istnieją dwa sposoby katabolizmu homocysteiny: remetylacja do metioniny przez syntazę metioniny z udziałem witaminy  $B_{12}$  i kwasu tetrahydrofoliowego jako kofaktorów oraz transsulfuracja do L-cysteiny a następnie do  $H_2S$  przez CBS i CSE (ryc. 1). Podwyższone stężenie homocysteiny jest uznanym czynnikiem ryzyka miażdżycy, jednak mechanizm aterogennego wpływu tego aminokwasu nie jest wyjaśniony. Sugerowano różne możliwości, takie jak: prooksydacyjne działanie homocysteiny, unieczynnianie NO, hamowanie przemiany SAM do SAH, co zmniejsza metylację białek, oraz potranslacyjną modyfikację białek przez tiolakton homocysteiny [39]. Najcięższa postać hiperhomocysteinemii występuje u pacjentów z niedoborem CBS (homocystynurią). U niektórych z nich stężenie homocysteiny ulega obniżeniu pod wpływem witaminy  $B_6$ , u innych natomiast leczenie to nie jest skuteczne. Należy podejrzewać, że mała aktywność CBS powoduje niedobór siarkowodoru przede wszystkim w ośrodkowym układzie nerwowym, chociaż nie można wykluczyć, że mózgową syntezę  $H_2S$  wpływa na jego poziom w osoczu, gdyż stężenie  $H_2S$  w mózgu jest znacznie wyższe niż w innych tkankach. Łagodna hiperhomocysteinemia występuje u heterozygot CBS<sup>+/–</sup>, przy niedoborze reduktazy kwasu metylenotetrahydrofoliowego (MTHFR) oraz niedoborze witamin  $B_6$ ,  $B_{12}$  lub kwasu foliowego. Zaburzenia remetylacji homocysteiny zwiększają jej przemianę za pośrednictwem transsulfuracji prowadząc do wzrostu ilości wytwarzanego  $H_2S$ . Natomiast zaburzenia transsulfuracji prowadzą do niedoboru  $H_2S$ . Aby stwierdzić, czy stężenie siarkowodoru modyfikuje promiażdżycowy wpływ hiperhomocysteinemii, należałoby oznaczać stężenie  $H_2S$  w osoczu u pacjentów z hiperhomocysteinemią o różnej etiologii i badać jego korelację z nasileniem miażdżycy. Dotychczas tego rodzaju badania nie były wykonywane, nie badano również wpływu egzogennej  $H_2S$  na rozwój miażdżycy u zwierząt doświadczalnych. Istnieją jednak dane potwierdzające pośrednio hipotezę o możliwej roli  $H_2S$  w procesie aterogenezy. Po pierwsze, niektóre badania wykazały, że ryzyko ostrych incydentów sercowo-naczyniowych nie jest zwiększone u osób z obniżoną aktywnością MTHFR, pomimo podwyższonego stężenia homocysteiny [35]. Jak zaznaczono wyżej, niedobór tego enzymu powinien zwiększać ilość wytwarzanego  $H_2S$ , a to może częściowo zapobiegać aterogennym działaniom homocysteiny. Po drugie, ryzyko ostrych powikłań miażdżycy u osób z homocystynurią, zwłaszcza leczonych witaminą  $B_6$ , jest mniejsze niż u pacjentów z umiarkowaną hiperhomocysteinemią o innej etiologii, chociaż stężenie homocysteiny jest u nich bardzo duże [23]. Można to wyjaśnić tym, że podawanie witaminy  $B_6$  zwiększa ilość  $H_2S$  syntetyzowanego przez CSE w układzie krążenia, chociaż spadek całkowitego stężenia homocysteiny jest niewielki. Ponadto gen CBS u człowieka znajduje się w chromosomie 21 i dlatego

aktywność tego enzymu wzrasta o 50% w zespole Downa. W zespole tym przyspieszony jest metabolizm homocysteiny i wytwarzanie  $H_2S$ , o czym świadczy spadek stężenia HCY w osoczu, zwiększone stężenie sulfhemoglobiny (połączenie hemoglobiny z  $H_2S$ ) oraz zwiększone wydalanie tiosiarczanu (metabolitu  $H_2S$ ) z moczem [5,7,25,26]. Co ciekawe, u osób z zespołem Downa miażdżycy rozwija się znacznie wolniej niż u ludzi zdrowych. Pozostaje do wyjaśnienia, czy jest to rzeczywiście następstwem zwiększonego wytwarzania siarkowodoru.

### Wstrząs septyczny

Wstrząs septyczny, będący powikłaniem posocznicy wywołanej przez bakterie Gram-ujemne, charakteryzuje się znacznym spadkiem ciśnienia tętniczego w wyniku uogólnionego rozszerzenia naczyń. Sugeruje się, że zwiększone wytwarzanie NO i CO przez indukowaną syntazę tlenu azotu oraz oksygenazę hemową typu 1 przyczynia się do hipotonii u pacjentów z posocznicy [53]. U szczurów z doświadczalną posocznicy wywołaną podwiązaniem i nakłuciem okrężnicy, a także we wstrząsie toksycznym spowodowanym podawaniem lipopolisacharydu stwierdzono wzmożone wytwarzanie  $H_2S$  w naczyniach krwionośnych [21]. Stężenie  $H_2S$  w osoczu ujemnie korelowało z ciśnieniem tętniczym oraz kurczliwością mięśnia sercowego, co sugeruje, że  $H_2S$  przyczynia się do rozwoju hipotonii w przebiegu posocznicy.

### PODSUMOWANIE I PERSPEKTYWY DALSZYCH BADAŃ

Przedstawione dane wskazują, że oprócz tlenu azotu i tlenu węgla, siarkowódor jest kolejnym nieorganicznym gazem pełniącym rolę mediatora w układzie krążenia i nerwowym. Jednak nasza obecna wiedza na temat znaczenia  $H_2S$  jest bardzo fragmentaryczna. Poniżej przedstawiono najważniejsze problemy, które niewątpliwie staną się tematem badań w niedalekiej przyszłości.

Jak dotychczas zidentyfikowano tylko jeden mechanizm działania  $H_2S$  w układzie krążenia, tj. aktywację kanałów potasowych. Kanały potasowe wrażliwe na ATP znajdują się w naczyniach krwionośnych składają się z właściwego kanału (podtyp Kir6.2) oraz receptora pochodnych sulfonylomocznika typu 2B (SUR2B). Mechanizm działania  $H_2S$  na te kanały nie jest znany. Nie wiadomo czy działa on na sam kanał czy też na jego podjednostkę SUR2B. Działanie naczyniorozszerzające siarkowodoru badano dotychczas tylko w dużych naczyniach i nie wiadomo czy podobnie działa na tętniczki, które głównie decydują o oporze obwodowym. Pozostaje też do wyjaśnienia, czy i w jaki sposób zmienia się ilość  $H_2S$  w chorobach układu krążenia.

Oprócz układu krążenia, kanały  $K_{ATP}$  znajdują się w komórkach wysp trzustkowych (Kir6.2 + SUR1) oraz w mięśniu sercowym (Kir6.2 + SUR2A) [2]. W komórkach wysp trzustkowych kanały te biorą udział w regulacji wydzielania insuliny. Zwiększone stężenie glukozy wzmagają syntezę ATP w komórce, co prowadzi do blokowania tych kanałów, depolaryzacji błony komórkowej, napływu wapnia i wydzielania insuliny. Pochodne sulfonylomocznika stosowane w leczeniu cukrzycy łączą się z receptorami SUR1 i powodują blokowanie tych kanałów naśladując działanie

ATP. Natomiast aktywacja kanałów  $K_{ATP}$  w mięśni sercowym zwiększa jego odporność na niedokrwienie [16]. Dotychczas nie ustalono, czy  $H_2S$  wpływa na kanały potasowe w tych narządach.

NO i CO są syntetyzowane w nerkach, gdzie regulują kanalikowy transport sodu [3,37,41,50,57]. Zarówno NO jak i CO aktywują kanały potasowe znajdujące się w błonie luminalnej komórek części grubej ramienia wstępującego pętli Henlego [31,34]. NO w małych stężeniach aktywuje, a w dużych hamuje kanały potasowe w błonie podstawno-bocznej korowej części kanalików zbiorczych [32,33]. W nerkach zachodzi intensywny metabolizm homocysteiny. W komórkach kanalików nerkowych znajduje się zarówno CBS jak i CSE. Ponad 80% homocysteiny w tym narządzie jest metabolizowane za pośrednictwem transsulfuracji, co sugeruje, że nerki mogą wytwarzać znaczące ilości  $H_2S$  [20]. Siarkowodor może wpływać na czynność wydalniczą nerek regulując napięcie naczyń nerkowych. Kanały  $K_{ATP}$  znajdują się zarówno w naczyniach nerkowych jak i w komórkach kanalików [15]. Wpływ siarkowodoru na czynność nerek nie był jednak dotychczas badany.

Jednym z objawów homozygotycznego niedoboru CBS jest niedorozwój umysłowy. Wykazano również, że stęże-

**Tabela 2.** Choroby, którym towarzyszą zmiany ilości endogennego  $H_2S$

Zwiększona ilość  $H_2S$

- zespół Downa
- wstrząs septyczny
- hiperhomocysteinemia z powodu niedoboru MTHFR (?)

Zmniejszona ilość  $H_2S$

- homocystynuria (niedobór CBS)
- szczury z samoistnym nadciśnieniem tętniczym
- doświadczalne nadciśnienie tętnicze wywołane inhibitorami NOS
- doświadczalne nadciśnienie płucne indukowane hipoksją
- hiperhomocysteinemia spowodowana niedoborem witaminy  $B_6$  (?)
- choroba Alzheimera

nie siarkowodoru w mózgu jest znacznie obniżone u chorych na chorobę Alzheimera. Ekspresja CBS w tej chorobie nie ulega zmianom, a przyczyną niedoboru  $H_2S$  jest prawdopodobnie obniżone stężenie S-adenozylometyliny [10]. Z kolei nadmierne wytwarzanie  $H_2S$  w ośrodkowym układzie nerwowym może się przyczyniać do niedorozwoju umysłowego w zespole Downa [5,25]. Choroby, którym towarzyszą zmiany ilości wytwarzanego  $H_2S$  przedstawiono w tabeli 2.

**PIŚMIENNICTWO**

- [1] Abe K., Kimura H.: The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. *J. Neurosci.*, 1996; 16: 1066–1071
- [2] Abraham M.R., Jahangir A., Alekseev A.E., Terzic A.: Channelopathies of inwardly rectifying potassium channels. *FASEB J.*, 1999; 13: 1901–1910
- [3] Arregui B., Lopez B., Salom M.G., Valero F., Navarro C., Fenoy F.J.: Acute renal hemodynamic effects of dimanganese decaacetyl and cobalt protoporphyrin. *Kidney Int.*, 2004; 65: 564–574
- [4] Bao L., Vlcek C., Paces V., Kraus J.P.: Identification and tissue distribution of human cystathionine  $\beta$ -synthase mRNA isoforms. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1998; 350: 95–103
- [5] Belardinelli M.C., Chabli A., Chadeaux-Vekemans B., Kamoun P.: Urinary sulfur compounds in Down syndrome. *Clin. Chem.*, 2001; 47: 1500–1501
- [6] Beltowski J., Jamroz-Wiśniewska A., Borkowska E.L.: Oksygenaza hemowa i tlenek węgla w fizjologii i patologii układu krążenia. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2004; 58: 83–99
- [7] Chadeaux B., Ceballos I., Hamet M., Coude M., Poissonier M., Kamoun P., Allard D.: Is absence of atheroma in Down syndrome due to decreased homocysteine levels? *Lancet*, 1988; 2: 741
- [8] Chunyu Z., Junbao D., Dingfang B., Hui Y., Xiuying T., Chaoshu T.: The regulatory effect of hydrogen sulfide on hypoxic pulmonary hypertension in rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2003; 302: 810–816
- [9] Dello Russo C., Tringali G., Ragazzoni E., Maggiano N., Menini E., Vairano M., Preziosi P., Navarra P.: Evidence that hydrogen sulphide can modulate hypothalamo-pituitary-adrenal axis function: *in vitro* and *in vivo* studies in the rat. *J. Neuroendocrinol.*, 2000; 12: 225–233
- [10] Eto K., Asada T., Arima K., Makifuchi T., Kimura H.: Brain hydrogen sulfide is severely decreased in Alzheimer's disease. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2002; 293: 1485–1488
- [11] Eto K., Kimura H.: A novel enhancing mechanism for hydrogen sulfide-producing activity of cystathionine  $\beta$ -synthase. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 42680–42685
- [12] Eto K., Kimura H.: The production of hydrogen sulfide is regulated by testosterone and S-adenosyl-L-methionine in mouse brain. *J. Neurochem.*, 2002; 83: 80–86
- [13] Eto K., Ogasawara M., Umemura K., Nagai Y., Kimura H.: Hydrogen sulfide is produced in response to neuronal excitation. *J. Neurosci.*, 2002; 22: 3386–3391
- [14] Geng B., Yang J., Qi Y., Zhao J., Pang Y., Du J., Tang C.:  $H_2S$  generated by heart in rat and its effects on cardiac function. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2004; 313: 362–368
- [15] Giebisch G., Wang W.: Renal tubule potassium channels: function, regulation and structure. *Acta Physiol. Scand.*, 2000; 170: 153–173
- [16] Gross G.J., Fryer R.M.: Sarcoplasmic versus mitochondrial ATP-sensitive  $K^+$  channels and myocardial preconditioning. *Circ. Res.*, 1999; 84: 973–979
- [17] Hanafy K.A., Krumenacker J.S., Murad F.: NO, nitrotyrosine, and cyclic GMP in signal transduction. *Med. Sci. Monit.*, 2001; 7: 801–819
- [18] Hayden L.J., Franklin K.J., Roth S.H., Moore G.J.: Inhibition of oxytocin-induced but not angiotensin-induced rat uterine contractions following exposure to sodium sulfide. *Life Sci.*, 1989; 45: 2557–2560
- [19] Hosoki R., Matsuki N., Kimura H.: The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1997; 237: 527–531
- [20] House J.D., Brosnan M.E., Brosnan J.T.: Characterization of homocysteine metabolism in the rat kidney. *Biochem. J.*, 1997; 328: 287–292
- [21] Hui Y., Du J., Tang C., Bin G., Jiang H.: Changes in arterial hydrogen sulfide ( $H_2S$ ) content during septic shock and endotoxin shock in rats. *J. Infect.*, 2003; 47: 155–160
- [22] Imai T., Morita T., Shindo T., Nagai R., Yazaki Y., Kurihara H., Suematsu M., Katayama S.: Vascular smooth muscle cell-directed overexpression of heme oxygenase-1 elevates blood pressure through attenuation of nitric oxide-induced vasodilation in mice. *Circ. Res.*, 2001; 89: 55–62
- [23] Jacobsen D.W.: Hyperhomocysteinemia and oxidative stress: time for a reality check? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2000; 20: 1182–1184
- [24] Johnson F.K., Teran F.J., Prieto-Carrasquero M., Johnson R.A.: Vascular effects of a heme oxygenase inhibitor are enhanced in the absence of nitric oxide. *Am. J. Hypertens.*, 2002; 15: 1074–1080
- [25] Kamoun P.: Mental retardation in Down syndrome: a hydrogen sulfide hypothesis. *Med. Hypotheses*, 2001; 57: 389–392
- [26] Kamoun P., Belardinelli M.C., Chabli A., Lallouchi K., Chadeaux-Vekemans B.: Endogenous hydrogen sulfide overproduction in Down syndrome. *Am. J. Med. Genet.*, 2003; 116A: 310–311
- [27] Kimura H.: Hydrogen sulfide induces cyclic AMP and modulates the NMDA receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2000; 267: 129–133
- [28] Leffler C.W., Balabanova L., Fedinec A.L., Waters C.M., Parfenova H.: Mechanism of glutamate stimulation of CO production in cerebral microvessels. *Am. J. Physiol.*, 2003; 285: H74–H80

- [29] Leung J.C., Travis B.R., Verlander J.W., Sandhu S.K., Yang S.G., Zea A.H., Weiner I.D., Silverstein D.M.: Expression and developmental regulation of the NMDA receptor subunits in the kidney and cardiovascular system. *Am. J. Physiol.*, 2002; 283: R964–R971
- [30] Levonon A.L., Lapatto R., Saksela M., Raivio K.O.: Human cystathionine  $\beta$ -lyase: developmental and *in vitro* expression of two isoforms. *Biochem. J.*, 2000; 347: 291–295
- [31] Liu H., Mount D.B., Nasjletti A., Wang W.: Carbon monoxide stimulates the apical 70-pS K<sup>+</sup> channel of the rat thick ascending limb. *J. Clin. Invest.*, 1999; 103: 963–970
- [32] Lu M., Wang W.H.: Nitric oxide regulates the low-conductance K<sup>+</sup> channel in basolateral membrane of cortical collecting duct. *Am. J. Physiol.*, 1996; 270: C1336–C1342
- [33] Lu M., Wang W.H.: Reaction of nitric oxide with superoxide inhibits basolateral K<sup>+</sup> channels in the rat CCD. *Am. J. Physiol.*, 1998; 275: C309–C316
- [34] Lu M., Wang X.H., Wang W.H.: Nitric oxide increases the activity of the apical 70 pS K<sup>+</sup> channel in TAL of rat kidney. *Am. J. Physiol.*, 1998; 274: F946–F950
- [35] Ma J., Stampfer M.J., Hennekens C.H., Frosst P., Selhub J., Horsford J., Malinow M.R., Willett W.C., Rozen R.: Methylene tetrahydrofolate reductase polymorphism, plasma folate, homocysteine, and risk of myocardial infarction in US physicians. *Circulation*, 1996; 94: 2410–2416
- [36] Murphy M.E., Brayden J.E.: Nitric oxide hyperpolarizes rabbit mesenteric arteries via ATP-sensitive potassium channels. *J. Physiol.*, 1995; 486: 47–58
- [37] Ortiz P.A., Garvin J.L.: Role of nitric oxide in the regulation of nephron transport. *Am. J. Physiol.*, 2002; 282: F777–F784
- [38] Parfenova H., Neff R.A., Alonso J.S., Shlopov B.V., Jamal C.N., Sarkisova S.A., Leffler C.W.: Cerebral vascular endothelial heme oxygenase: expression, localization, and activation by glutamate. *Am. J. Physiol.*, 2001; 281: C1954–C1963
- [39] Refsum H., Smith A.D., Ueland P.M., Nexø E., Clarke R., McPartlin J., Johnston C., Engbaek F., Schneede J., McPartlin C., Scott J.M.: Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clin. Chem.*, 2004; 50: 3–32
- [40] Robinson J.S., Fedinec A.L., Leffler C.W.: Role of carbon monoxide in glutamate receptor-induced dilation of newborn pig pial arterioles. *Am. J. Physiol.*, 2002; 282: H2371–H2376
- [41] Rodriguez F., Kemp R., Balazy M., Nasjletti A.: Effects of exogenous heme on renal function: role of heme oxygenase and cyclooxygenase. *Hypertension*, 2003; 42: 680–684
- [42] Rodriguez F., Lamon B.D., Gong W., Kemp R., Nasjletti A.: Nitric oxide synthesis inhibition promotes renal production of carbon monoxide. *Hypertension*, 2004; 43: 347–351
- [43] Ryter S.W., Otterbein L.E., Morse D., Choi A.M.: Heme oxygenase/carbon monoxide signaling pathways: regulation and functional significance. *Mol. Cell. Biochem.*, 2002; 234–235, 249–263
- [44] Sidhu R., Singh M., Samir G., Carson R.J.: L-cysteine and sodium hydrosulphide inhibit spontaneous contractility in isolated pregnant rat uterine strips *in vitro*. *Pharmacol. Toxicol.*, 2001; 88: 198–203
- [45] Simpson R.C., Freedland R.A.: Factors affecting the rate of gluconeogenesis from L-cysteine in the perfused rat liver. *J. Nutr.*, 1976; 106: 272–278
- [46] Teague B., Asiedu S., Moore P.K.: The smooth muscle relaxant effect of hydrogen sulphide *in vitro*: evidence for a physiological role to control intestinal contractility. *Br. J. Pharmacol.*, 2002; 137: 139–145
- [47] Wang J., Dudman N.P., Wilcken D.E., Lynch J.F.: Homocysteine catabolism: levels of 3 enzymes in cultured human vascular endothelium and their relevance to vascular disease. *Atherosclerosis*, 1992; 97: 97–106
- [48] Wang R.: Two's company, three's a crowd: can H<sub>2</sub>S be the third endogenous gaseous transmitter? *FASEB J.*, 2002; 16: 1792–1798
- [49] Wang R.: The gasotransmitter role of hydrogen sulfide. *Antioxid. Redox Signal.*, 2003; 5: 493–501
- [50] Wang T., Sterling H., Shao W.A., Yan Q., Bailey M.A., Giebisch G., Wang W.H.: Inhibition of heme oxygenase decreases sodium and fluid absorption in the loop of Henle. *Am. J. Physiol.*, 2003; 285: F484–F490
- [51] Wu L., Cao K., Lu Y., Wang R.: Different mechanisms underlying the stimulation of K<sub>Ca</sub> channels by nitric oxide and carbon monoxide. *J. Clin. Invest.*, 2002; 110: 691–700
- [52] Yan H., Du J., Tang C.: The possible role of hydrogen sulfide on the pathogenesis of spontaneous hypertension in rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2004; 313: 22–27
- [53] Yet S.F., Pellacani A., Patterson C., Tan L., Folta S.C., Foster L., Lee W.S., Hsieh C.M., Perrella M.A.: Induction of heme oxygenase-1 expression in vascular smooth muscle cells. A link to endotoxic shock. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 4295–4301
- [54] Zhao W., Wang R.: H<sub>2</sub>S-induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms. *Am. J. Physiol.*, 2002; 283: H474–H480
- [55] Zhao W., Zhang J., Lu Y., Wang R.: The vasorelaxant effect of H<sub>2</sub>S as a novel endogenous gaseous K<sub>ATP</sub> channel opener. *EMBO J.*, 2001; 20: 6008–6016
- [56] Zhong G., Chen F., Cheng Y., Tang C., Du J.: The role of hydrogen sulfide generation in the pathogenesis of hypertension in rats induced by inhibition of nitric oxide synthase. *J. Hypertens.*, 2003; 21: 1879–1885
- [57] Zou A.P., Billington H., Su N., Cowley A.W.: Expression and actions of heme oxygenase in the renal medulla of rats. *Hypertension*, 2000; 35: 342–347