

Received: 2012.07.31  
Accepted: 2012.12.20  
Published: 2013.03.06

## Rola siarkowodoru w fizjologii przewodu pokarmowego i w mechanizmie gastroprotekcji

### Role of hydrogen sulfide in the physiology of gastrointestinal tract and in the mechanism of gastroprotection

Marcin Magierowski, Katarzyna Jasnos, Sławomir Kwiecień, Tomasz Brzozowski

Katedra Fizjologii Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

#### Streszczenie

Siarkowodór ( $H_2S$ ) jest powszechnie znanym toksycznym gazem o nieprzyjemnym zapachu. Jednak w organizmie człowieka jest zaliczany do gazowych przekaźników wewnątrzkomórkowych i uczestniczy zarówno w procesach fizjologicznych, jak i patologicznych. Opublikowane w ostatnich latach badania wykazały, iż  $H_2S$  w zależności od stężenia ma działanie wzmacniające długoterminowe pobudzenie synaptyczne w centralnym systemie nerwowym, a także może wykazywać zarówno działanie prozapalne, jak i przeciwzapalne w obrębie śródbłonna naczyń krwionośnych. Ponadto  $H_2S$  działa wazodylatacyjnie w obrębie układu naczyniowego, podobnie jak inne gazowe mediatory, np. tlenek węgla czy tlenek azotu. Obecnie podkreśla się potencjalną rolę  $H_2S$  w fizjologii układu pokarmowego, a konkretnie w utrzymaniu integralności błony śluzowej żołądka i w mechanizmach gastroprotekcji, a także być może w protekcji pozostałych części górnego i dolnego odcinka przewodu pokarmowego. Prowadzone w ostatnich latach badania przedkliniczne potwierdziły znaczenie  $H_2S$  w mechanizmach obronnych wzmacniających barierę śluzówkową żołądka. Prekursor  $H_2S$ , jakim jest L-cysteina oraz bezpośredni donor tego gazu – wodorosiarczek sodu ( $NaHS$ ) w znacznym stopniu zmniejszają uszkodzenia błony śluzowej szczytowego żołądka wywołane etanolem. Korzystne działanie  $H_2S$  wykazano również w dwunastnicy, gdzie związek ten zwiększa sekrecję ochronnych jonów wodorowęglanowych ( $HCO_3^-$ ) zabezpieczających jelita przed uszkodzeniem spowodowanym nadmiarem kwaśnej treści żołądkowej. Mimo pojawiających się nowych danych świadczących o korzystnej roli jaką pełni  $H_2S$  w układzie pokarmowym, jego przydatność i możliwości terapeutyczne w klinice pozostają nadal niewystarczająco udokumentowane i badania nad wykorzystaniem tego gazu w leczeniu zaburzeń, zwłaszcza górnego odcinka pokarmowego, podobnie jak w przypadku lepiej poznanych gazów, takich jak tlenek azotu i tlenek węgla, powinny być przedmiotem dalszych badań.

#### Słowa kluczowe:

siarkowodór • L-cysteina • wodorosiarczek sodu • układ pokarmowy • błona śluzowa żołądka • gastroprotekcja

#### Summary

Hydrogen sulfide ( $H_2S$ ) is commonly known as a toxic gas with an unpleasant odor. However, in the human body it plays a role as a gaseous transmitter involved in the control of physiological processes. Studies published so far have shown that  $H_2S$  increased synaptic long-term potentiation in the central nervous system and exerted the inflammatory and anti-inflammatory effects on vascular endothelium. These effects clearly depend on the concentration of this gaseous molecule.  $H_2S$  exerts vasodilatory effect in the cardiovascular system similar to those exhibited by carbon monoxide or nitric oxide. It is believed that  $H_2S$  may play a potential role in the physiology of the gastrointestinal tract including the mechanism of gastroprotection of gastric mucosa and possibly exerts a protective effect in other parts of the digestive system. The administration of L-cysteine, the precursor of  $H_2S$  or  $NaHS$ , the exogenous donor of this gaseous molecule, significantly re-



	duced gastric damage induced by ethanol, an agent that is known to induce acute gastric damage and hemorrhagic necrosis to the gastric mucosa. The administration of H <sub>2</sub> S results in increased secretion of protective bicarbonate and mucus secretions and these effects could, in part, explain the H <sub>2</sub> S-induced protection of duodenal mucosa against the damage induced by gastric acid. Despite these promising results, little is known about the therapeutic efficacy of H <sub>2</sub> S in relation to two other important gases, nitric oxide and carbon monoxide, and future studies are definitely needed to assess its usefulness in the treatment of upper and lower gastrointestinal tract disorders.
<b>Keywords:</b>	<b>hydrogen sulfide • L-cysteine • NaHS • gastrointestinal tract • gastric mucosa • gastroprotection</b>
<b>Full-text PDF:</b>	<a href="http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=10383562844">http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=10383562844</a>
<b>Word count:</b>	–
<b>Tables:</b>	1
<b>Figures:</b>	41
<b>References:</b>	

**Adres autora:** mgr Marcin Magierowski, Katedra Fizjologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum, 31 – 531 Kraków, ul. Grzegórzecka 16; e-mail: m.magierowski@uj.edu.pl

**Wykaz skrótów:** **Wykaz skrótów:** **ATP** – adenylozotryfosforan, **cAMP** – cykliczny adenylozotryfosforan, **CBS** – β-syntaza cystationiny, **cGMP** – cykliczny guanozotryfosforan, **CO** – tlenek węgla (II), **CSE** – γ-liaza cystationiny, **GERD** – choroba refluksowa przełyku (gastroesophageal reflux disease), **GSH** – glutation, **H<sub>2</sub>S** – siarkowódor, **NaHS** – wodorosiarczek sodu, **IBS** – zespół jelita drażliwego (irritable bowel syndrome), **IL-10** – interleukina 10, **JNK** – kinazy aktywowane stresem (c-Jun N-terminal kinases), **LTP** – długotrwałe wzmocnienie synaptyczne (long term potentiation), **MAP** – kinaza aktywowana mitogenem (mitogen-activated protein kinases), **MDA** – malonyldialdehyd, **mRNA** – matrycowy kwas rybonukleinowy, **NaHS** – wodorosiarczek sodu, **NMDA** – kwas N-metylo-D-asparaginowy, **NO** – tlenek azotu (II), **PAG** – D,L-propalgylglicyna, **PGE<sub>2</sub>** – prostaglandyna E<sub>2</sub>, **RGM1** – komórki epitelialne śluzówki żołądka szczura (rat gastric mucosal cell first), **TGF-β** – transformujący czynnik wzrostu (transforming growth factor beta), **WRS** – stres wynikający z unieruchomienia i oziębienia w wodzie (water immersion and restraint stress).

## WSTĘP

Siarkowódor (H<sub>2</sub>S) jest nieorganicznym gazem o zapachu zgniłych jaj, w większych stężeniach działającym toksycznie na organizm ludzki. Ostatnie badania naukowe wykazały jednak zupełnie przeciwną rolę tej gazowej molekuly w fizjologii człowieka. Oprócz tlenu azotu (II) oraz tlenu węgla (II) wykazujących działanie wazodylatoryjne, neuro-modulujące oraz będących czynnikami przeciwzapalnymi, siarkowódor jest również zaliczany do endogennych gazowych mediatorów wewnątrzkomórkowych wykazujących podobne działanie jak wspomniane molekuly [1, 36, 39].

Wiadomo, że H<sub>2</sub>S jest syntetyzowany w organizmie ssaków z L-cysteiny przez dwa enzymy zależne od fosforanu pirydoksalu (witamina B<sub>6</sub>): γ-liazę cystationiny (CSE) oraz β-syntazę cystationiny (CBS) [29, 30]. W niektórych tkankach konieczna jest obecność obydwu enzymów, często jednak jeden z nich wystarcza do syntezy mediatora [36]. H<sub>2</sub>S powstaje dodatkowo wskutek aktywności sulfotransferazy 3-merkaptopirogronianu w połączeniu z aminotransferazą cysteiny [26, 27]. W badaniach eksperymentalnych powszechnie używa się

trzech inhibitorów syntezy H<sub>2</sub>S: D,L-propalgylglicynę (PAG) hamującą działanie CSE oraz hydroksylaminę i kwas aminoocetowy w przypadku hamowania aktywności enzymu CBS [31]. Stosowany jest również inny inhibitor CSE, związek β-cyanoalanina [32].

Fizjologiczne stężenie H<sub>2</sub>S we krwi ssaków mieści się w przedziale 30-100 μM. W mózgu górna granica to 160 μM; wartości powyżej 200 μM mogą wykazywać działanie toksyczne [1, 5, 36].

## ZNACZENIE H<sub>2</sub>S W ORGANIZMIE

Jedne z pionierskich badań dotyczących fizjologicznej roli H<sub>2</sub>S w organizmie przeprowadzone przez Abe oraz Kimurę [1], opublikowane w 1996 r. wykazały, że gaz ten pełni istotną rolę w przewodnictwie neuronalnym, wzroście długoterminowego wzbudzenia synaptycznego oraz w procesach uczenia się. Mechanizmy te, na podstawie wyników badań, były zależne od hormonów (m.in. od testosteronu). Wspomniani badacze wykazali również, że w centralnym systemie nerwowym głównym enzymem biorącym udział w syntezie siarkowodoru jest CBS.

Podobnie jak NO, gazomediator  $H_2S$  jest inhibitorem adhezji leukocytów do śródbłonna naczyń, gdyż podanie  $\beta$ -cyjanoalaniny, inhibitora CSE, radykalnie zwiększa adhezję tych komórek do śródbłonna naczyń kręgowych szczurów [39]. Donory  $H_2S$  wykazują supresyjne działanie względem adhezji leukocytów w modelach zwierzęcych indukowanych przez podanie do naczyń kręgowych związków o charakterze prozapalnym. Działanie hamujące adhezję neutrofilów zostaje zniesione po zastosowaniu glibenklamidu, inhibitora kanałów potasowych, co sugeruje powiązanie mechanizmu tej adhezji leukocytów do śródbłonna naczyń, z aktywnością kanałów potasowych zależnych od ATP [9,39].

Interesującym jest to, że nie we wszystkich stanach chorobowych można mówić o ochronnym mechanizmie, który byłby udziałem zwiększonego poziomu  $H_2S$ . Na przykład, we wstrząsie krwotocznym  $H_2S$  działa szkodliwie i jest to związane z rozwojem stanu zapalnego ponieważ stwierdzono, że wzrost biosyntezy i zwiększenia endogennej poziomu tej molekuly, nasila infiltrację neutrofilów tkanki wątrobowej i płucnej. Natomiast zahamowanie biosyntezy  $H_2S$  przez podawanie PAG hamuje uszkadzający wpływ  $H_2S$ , co zmniejsza uszkodzenie tych narządów [19].

Na podstawie przytoczonych badań, można wywnioskować, że działanie przeciwzapalne  $H_2S$  jest zależne od jego stężenia w tkance. W relatywnie wysokim stężeniu siarkowodoru występuje w mózgu, co może być wyznacznikiem jego fizjologicznej funkcji w przekazywaniu informacji w centralnym systemie nerwowym. W przeprowadzonych badaniach wykazano dużą ekspresję CBS w hipokampie i mózdzku [1]. W tym samym eksperymencie badacze wykazali, że w wysokich stężeniach  $H_2S$  hamuje odpowiedź synaptyczną, natomiast stężenie mieszczące się w granicach zbliżonych do poziomu fizjologicznego, zwiększa długotrwałe wzmocnienie synaptyczne (LTP) i jest to związane z aktywnością receptorów NMDA w hipokampie [1]. Jak wykazano w innych badaniach  $H_2S$  zwiększa wytwarzanie cAMP w komórkach i w ten sposób zwiększa aktywność receptorów NMDA. Zjawisko to dotyczyło zarówno komórek nerwowych, jak i komórek gleju [12].

W obrazie klinicznym pacjentów z ostrym udarem zaobserwowano zwiększone stężenie cysteiny w osoczu [24]. Podwyższone stężenie cysteiny odnotowano również u gerbilia mongolskich w modelu ischemicznego uszkodzenia mózgu wywołanym podwiązaniem tętnicy szyjnej [28]. W szczurzym modelu udaru podaży prekursorów oraz donorów siarkowodoru: L-cysteiny i NaHS zwiększało rozmiar uszkodzeń w korze mózdzku u tych zwierząt. Zmniejszenie obszaru uszkodzeń zależne od dawki wykazano przez zastosowanie w określonych grupach inhibitorów CBS i CSE. Obserwacje te sugerują, że  $H_2S$  jako produkt przemian cysteiny, jest istotnym czynnikiem patogennym, być może bezpośrednio odpowiedzialnym za patologię udaru niedokrwiennego [24].

W zwierzęcym modelu zespołu metabolicznego wywołanym zahamowaniem syntezy glutationu wykazano działa-

nie protekcyjne nowych postaci aspiryny (ACS14) i kwasu salicylowego uwalniających  $H_2S$  w patologii sercowo-naczyniowej [25,33]. Badane substancje w znacznym stopniu obniżały stan zapalny oraz nadciśnienie poprzez mechanizm zmniejszający dysfunkcję śródbłonna w aorcie. W mechanizmie uszkodzeń wywołanych przez ischemię wraz z reperfuzją (I/R), zaobserwowano zmniejszenie uszkodzenia mięśnia sercowego pod wpływem  $H_2S$  i jego donorów. Dodatkowo odnotowano spadek insuliny, której wzrost towarzyszy rozwojowi zespołu metabolicznego u ludzi [25].

Badania nad mechanizmem działania naczyniorozszerzającego  $H_2S$  wykazały, że zależy on od aktywacji kanałów potasowych i jest powiązany z hiperpolaryzacją potencjału błonowego komórek mięśni gładkich naczyń krwionośnych. Działanie hipotensyjne CO i NO w odróżnieniu od  $H_2S$  jest oparte na aktywacji cykazy guanylowej i cGMP. Istotne znaczenie w regulacji ciśnienia i napięcia naczyń krwionośnych może mieć stymulujące działanie NO, zarówno na ekspresję, jak i też aktywność CSE [40].

Istnieją obecnie przekonujące dowody na to, że  $H_2S$  uczestniczy w modulacji czucia bólu trzewnego. Podanie do jelita grubego szczurów NaHS spowodowało trzewną hiperalgezę przez mechanizm angażujący kanały wapniowe typu T, bez aktywnego udziału kanałów typu L, co wskazuje na zwiększoną nadwrażliwość na ból pod wpływem  $H_2S$  jako gazomediatra, uwalnianego ze związku będącego jego donorem. Dodatkowo potwierdzono obecność kanałów wrażliwych na działanie NaHS w hodowli komórek grzbietowej części rdzenia kręgowego *in vitro*. Badania te wykazały również, że układ  $H_2S$ /NaHS może uczestniczyć w nadwrażliwości na ból trzewny przez bezpośrednie drażnienie czuciowych włókien aferentnych w podobnym stężeniu jak kapsaicyna [18]. W innych badaniach wykazano hamujące działanie  $H_2S$  w nadwrażliwości bólu trzewnego, co utrudnia na obecnym etapie podjęcie jednoznacznych wniosków o udziale i roli tego mediatora w tym procesie. Wykazano bowiem, że donory  $H_2S$  zahamowały odpowiedź na rozcięcie jelita w modelach zwierzęcych naśladujących zespół jelita drażliwego (IBS) w mechanizmie aktywującym ATP-zależne kanały potasowe i NO [6, 7]. Dlatego też Distrutti i wsp. [7] zaproponowali pochodną mesalaminy – związku stosowanego w leczeniu IBS – w połączeniu z  $H_2S$ , która byłaby bardziej skuteczna w leczeniu schorzeń jelitowych od samej mesalaminy w łagodzeniu bólu trzewnego. W odróżnieniu od tych badań, Xu i wsp. [37] wykazali na zwierzęcym modelu IBS, że przewlekła hiperalgezia trzewna jest powiązana z aktywnością ekspresji CBS w nerwowych zwojach grzbietowych. Zastosowanie inhibitora tego enzymu, związku hydroksyloaminy, hamowało nadwrażliwość jelitową. Ponadto  $H_2S$  zwiększył też pobudliwość neuronów czuciowych okolicy wyrażoną zwiększoną liczbą potencjałów czynnościowych w neuronach zwojów grzbietowych [37]. Powyższe dane, głównie doświadczalne, wskazują na istotną rolę gazomediatra  $H_2S$  w modulacji trzewnej hiperalgezji, stanowiąc podstawę do dalszych badań w kierunku ludzkiej patofizjologii schorzeń jelitowych.

W patologii wątroby, Morsy i wsp. [20] wykazali, że donory  $H_2S$  zapobiegają hepatotoksycznemu działaniu paracetamolu. W przeprowadzonych badaniach zaobserwowano spadek aminotransferazy alaninowej we krwi oraz redukcję uszkodzeń w obrazie histopatologicznym wątroby [21]. Działanie antyoksydacyjne  $H_2S$  polegało na podwyższaniu zawartości glutationu (GSH) przy jednoczesnym spadku malonyldialdehydu (MDA), którego poziom był wymiernym wskaźnikiem peroksydacji lipidów błon komórkowych w badanych próbkach wątroby [21].

Istotnym, praktycznym uzupełnieniem wiedzy o funkcjonowaniu  $H_2S$ , są najnowsze doniesienia traktujące o przeciwnowotworowym działaniu  $H_2S$  [23]. Wykazano m.in., że gazomediator działa antynowotworowo hamując translokację czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B odpowiedzialnego za uaktywnienie kaskady procesu zapalnego przy tym uczestnicząc w naprawie uszkodzonego DNA, czego wymiernym dowodem był wzrost poziomu GSH i tioredoksyny [8,16,23]. Należy zaznaczyć, że prooksydacyjne działanie  $H_2S$  odgrywa niezwykle istotną rolę w mechanizmie zapobiegania procesom nowotworowym przez tworzenie sulfonianów, które hamują proliferację komórek raka prowadząc do szybkiej śmierci komórek rakowych w wyniku apoptozy [3, 22].

## ROLA $H_2S$ W UKŁADZIE POKARMOWYM

Obecnie brak jest zadowalającej liczby badań pozwalających na jednoznaczne określenie roli  $H_2S$  w układzie pokarmowym, mimo coraz większych, stwierdzanych głównie doświadczalnie, potencjalnych możliwości terapeutycznych związanych z działaniem tej gazowej molekuly w tej części organizmu człowieka.

Wallace i wsp. [32] jako pierwsi stwierdzili, że  $H_2S$  wykazuje działanie gastroprotecyjne i chroni błonę śluzową żołądka szczura przed uszkodzeniami poprzez mechanizm związany ze wzrostem naczyniowego przepływu krwi w żołądku. Ponadto  $H_2S$  efektywnie hamując proces adhezji leukocytów, wykazuje przy tym działanie przeciwzapalne i przeciwozrostkowe. Przeprowadzone ostatnio przez ten zespół naukowców z Kanady badania związane m.in. z próbą połączenia donorów  $H_2S$  z klasycznymi niesteroidowymi lekami przeciwzapalnymi (NLPZ), takimi jak aspiryna, aby zredukować skutki gastropatii rozwijanej w wyniku przyjmowania inhibitorów cyklooksygenaz (COX), dały korzystne rezultaty [32,34]. Wykazano, że zsyntetyzowane w ten sposób NLPZ uwalniające  $H_2S$ , w znacznie mniejszym stopniu powodowały powstawanie uszkodzeń polekowych w błonie śluzowej żołądka u szczurów, w porównaniu do zwierząt, które traktowano tymi samymi lekami, ale bez hybrydowego połączenia z  $H_2S$  [32, 33]. Co więcej, donory  $H_2S$  przyspieszały proces gojenia się przewlekłych wrzodów żołądka [34] stanowiąc istotną informację dla praktycznej gastroenterologii oraz perspektywę nowych możliwości leczenia choroby wrzodowej u ludzi.

Badania przeprowadzone w Japonii wykazały, że NaHS w zależności od dawki zwiększa sekrecję jonów w jelicie cienkim szczurów [11]. Jony  $HCO_3^-$  wraz z sekrecją ochronnego śluzu tworzą tzw. wydzielinę alkaliczną sta-

nowiącą naturalną barierę ochronną błony śluzowej jelita działając neutralizująco na zakwaszony pokarm w prawidłowych warunkach fizjologicznych przedostając się z żołądka do dwunastnicy. W tym badaniu naśladowano naturalny pasaż, stosując perfuzję kwasu solnego HCl o stężeniu 10 mmol/l i w tych warunkach NaHS zwiększał wydzielanie wodorowęglanów [11]. Wykazano również, że jednoczesne zastosowanie glibenklamidu – blokera kanałów  $K^+$  nie niweluje wzrostu sekrecji jonów wodorowęglanowych  $HCO_3^-$ , indukowanej przez stosowanie NaHS. Wyniki te nie korespondują z wcześniejszymi badaniami, które prowadzono w innych układach biologicznych i raczej skłaniają do konkluzji, że mechanizm działania  $H_2S$  nie zależy od aktywacji kanałów potasowych. Podobne efekty odnotowano w przypadku zdolności błony śluzowej do generowania  $PGE_2$ , która jest zwiększona pod wpływem  $H_2S$ , a podanie glibenklamidu nie zmieniało znacząco poziomu tej sekrecji. Proces ten był jednak zahamowany po zastosowaniu klasycznego NLPZ, indometacyny, która jest nieselektywnym inhibitorem COX-1 i COX-2. Inhibitor CSE – związek PAG wykazał działanie zmniejszające sekrecję ochronnych jonów  $HCO_3^-$  w porównaniu do grupy poddanej działaniu kwasu bez zastosowania wspomnianego inhibitora [11].

W zapaleniu jelita indukowanym siarczanem dekstranu sodu (DSS) u myszy wykazano, że w porównaniu do grupy kontrolnej PAG znacznie zwiększał indeks progresji choroby, na który składała się m.in. utrata masy ciała, zmiana konsystencji stolca, czy też krwawienia jelitowe. Wspomniany inhibitor CSE spowodował również wzrost aktywności mieloperoksydazy (MPO), jednego z powszechnie znanych markerów stanu zapalnego, świadczącego o zwiększonej aktywności neutrofilów. Przeciwstawne wyniki zaobserwowano w grupie traktowanej donorem siarkowodoru, którym w tym przypadku był siarczek sodu –  $Na_2S$  [10].

Bakterie jelitowe są źródłem egzogenego  $H_2S$ , który może wpływać na funkcjonowanie śluzówki przewodu pokarmowego. W prawidłowych warunkach fizjologicznych komórki epitelialne (nabłonka powierzchni) stanowią naturalną barierę metaboliczną chroniącą przed dyfuzją gazu do śluzówki jelita, mimo że  $H_2S$  stanowi paliwo energetyczne dla enterocytów. Większa część gazu wnikałego przez barierę śluzówkową jelita (tzn. kolonocyty i enterocyty) jest gwałtownie przekształcana przez enzymy oksydacyjne do tiosiarczanów pełniących funkcje detoksykacyjne. W warunkach uszkodzenia bariery istnieje duże ryzyko, że dyfundujący  $H_2S$  może działać na różne komórki warstwy podnabłonkowej, w tym także na neurony enteryczne, śródbłonek naczyń, kurczliwość mięśniówki gładkiej, modulując w ten sposób funkcje sekrecyjne, motoryczne lub sensoryczne nabłonka, czy też wpływając na proces infiltracji błony śluzowej jelita przez leukocyty. Istotną obserwacją jest to, że uszkodzenie błony śluzowej w wyniku zapalenia jelit lub we wrzodziejącym zapaleniu jelita (łac. *colitis ulcerosa*) prowadzi do zwiększenia poziomu  $H_2S$  generowanego przez błonę śluzową jelita, ale nie zsyntetyzowanego przez bakterie jelitowe. Niemniej jednak, niektóre bakterie jelitowe, w tym probiotyki (np. z gatunku *Bifidobacteria*) modulują powstawanie  $H_2S$  w jelicie przez wzmoczone wytwarzanie maślanu, który nasila geno-

wą ekspresję enzymów szlaku syntezy tej molekuly, tj. CBS i CSE [35]. Warto jednak zaznaczyć, że zaobserwowano genotoksyczne działanie  $H_2S$  wytwarzanego przez komensalne bakterie jelita grubego [20]. Kumulacja mutacji w obrębie DNA prowadzi do powstania gruczolakowatej polipowatości jelita oraz nowotworów dolnego odcinka przewodu pokarmowego. Badania w tym kierunku przeprowadzono na liniach komórkowych ludzkich kolonocytów. Wykazano, że wraz ze wzrostem dawki donora  $H_2S$ , związku  $Na_2S$ , dochodziło do zwiększenia się liczby uszkodzeń w materiale genetycznym [2].

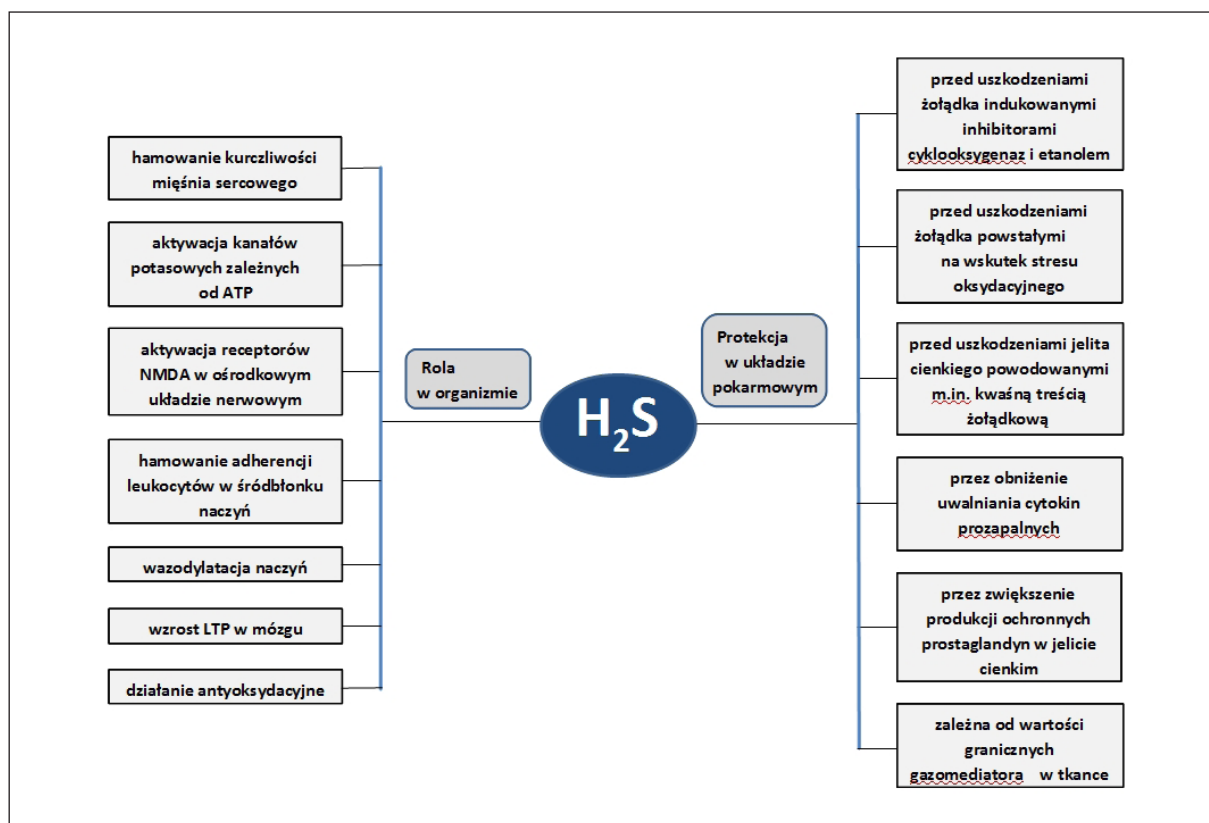
W badaniach *in vitro*  $H_2S$  wykazał dawkozależne działanie protekcyjne względem prawidłowych komórek epitelialnych nabłonka powierzchni RGM1 (rat gastric mucosal cells) błony śluzowej żołądka uszkodzanych w wyniku ich inkubacji z nadtlenkiem wodoru ( $H_2O_2$ ) [38]. W badaniu tym wykazano korelację między działaniem protekcyjnym  $H_2S$ , a aktywnością kinaz aktywowanych mitogenami (MAP). Gdy stan wzbudzenia kinaz aktywowanych stresem oksydacyjnym – JNK (c-Jun N-terminal kinases) i zaangażowanych m.in. w apoptozę komórek RGM1, blokowano inhibitorami kinaz, dochodziło do eliminacji efektu protekcyjnego wykazywanego przez NaHS. Można zatem wysunąć wniosek, że ścieżka sygnału komórkowego zależna od kinaz JNK pośredniczy wybiórczo w protekcji obserwowanej pod wpływem NaHS, ponieważ podobnego działania nie zaobserwowano jednak przy zahamowaniu poszczególnych izoform białka p38, które pełni podobne funkcje do kinaz rodziny JNK. Ważnym stwierdzeniem w innych badaniach *in vivo* [39] było wykazanie, że doustne podawanie NaHS działa protekcyjnie na komórki śluzówki żołądka uszkodzone w wyniku ischemii i następowej reperfuzji. Na podstawie przytoczonych badań można wysunąć wniosek, że  $H_2S$  działa ochronnie na komórki nabłonka powierzchni błony śluzowej żołądka ekspozowane na stres oksydacyjny, a mechanizm ten polega na aktywacji niektórych kinaz MAP, w tym głównie kinaz zaliczanych do rodziny JNK.

W modelu stresu indukowanego przez zanurzenie zwierząt w wodzie i ich unieruchomienie w niskiej temperaturze (water immersion and restraint stress), zespół badaczy z Chin wykazał, że  $H_2S$  redukuje liczbę uszkodzeń błony śluzowej żołądka oraz znamienne statystycznie zmniejsza stężenie produktów peroksydacji lipidów w porównaniu do grupy kontrolnej poddanej jedynie działaniu stresu z zimna i unieruchomienia [15]. Interesujących informacji dostarczyły prace na izolowanych z przewodu pokarmowego naczyniach krwionośnych, w których NaHS w wysokich stężeniach działał relaksacyjny, częściowo hamowane przez dodawanie glibenklamidu do inkubatu. Przeciwnie niskie stężenia donora  $H_2S$  działały naczynioskurczająco i było to skorelowane z hamowaniem syntazy tlenu azotu (NOS) oraz aktywnością śródłonkowego czynnika hiperpolaryzującego. W innych badaniach dożylnie podanie NaHS początkowo spowodowało wzrost żołądkowego przepływu krwi, po którym nastąpił jego znaczny spadek [14]. Można przyjąć, że NaHS rozszerza naczynia w zależności od zastosowanej dawki, chociaż może powodować też obkurczenie naczyń krwionośnych układu pokarmowego. W dzia-

łania te są zaangażowane, przynajmniej częściowo, kanały wapniowe aktywowane poziomem ATP. Mechanizm tego działania  $H_2S$  nie do końca jeszcze poznano, chociaż przyjmuje się, że gaz ten jest zaangażowany w kontrolę mechanizmów regulujących napięcie ścian naczyń krwionośnych, a tym samym w wielkość przepływu krwi przez łożysko naczyniowe układu pokarmowego i zapewne odpowiada za zjawisko przekrwienia reaktywnego w błonie śluzowej żołądka i jelit [14].

W modelu wywołania uszkodzeń alkoholowych błony śluzowej żołądka, stężenie endogenne  $H_2S$  w błonie śluzowej żołądka osiągnęło wyższe wartości u zwierząt ekspozowanych na ten czynnik niż w grupie kontrolnej, która otrzymała jako placebo sól fizjologiczną. Aplikacja związku PAG w grupie zwierząt traktowanej alkoholem, spowodowała obniżenie poziomu  $H_2S$  w stosunku do grupy nietraktowanej tym inhibitorem CSE, lecz wartości te były nadal wyższe niż w grupie kontrolnej u zwierząt zdrowych [4]. PAG wykazała protekcyjne działanie w uszkodzeniach śluzówki indukowanych przez etanol, który spowodował podwyższone wytwarzanie gazomediatora w błonie śluzowej. Zahamowanie enzymu CSE przez PAG mogło więc obniżyć poziom  $H_2S$  do wartości podstawowych, czego skutkiem była zaobserwowana gastroprotekcja. Ciekawe, że indometacyna – nieselektywny inhibitor syntezy prostaglandyn pod wpływem COX-1 i COX-2, spowodowała zahamowanie działania ochronnego PAG. Otrzymane wyniki wskazują, że w gastroprotekcji indukowanej przez PAG mogą pośredniczyć endogenne prostaglandyny, których poziom progowy może zależeć od aktualnego stężenia  $H_2S$  w błonie śluzowej żołądka [4]. Ochronne działanie  $H_2S$  nie tylko dotyczy uszkodzeń poalkoholowych, ale również innych powstałych w wyniku załamania bariery śluzówkowej, takich jak uszkodzenia wywołane przez zastosowanie ischemii z następującą reperfuzją. W zwierzęcym modelu ischemii z reperfuzją wykazano, że prekursor siarkowodoru – L-cysteina oraz jego donor – NaHS, działają gastroprotekcyjnie w obrębie błony śluzowej żołądka poprzez mechanizm związany ze spadkiem ekspresji mRNA dla cytokin prozapalnych (IL-10 i TGF- $\beta$ ) wraz z zahamowaniem aktywności, związanej z ich uwalnianiem do krwi po podaniu wymienionych substancji [17]. Podobne wyniki uzyskano w grupie otrzymującej PAG [17].

Wyniki te potwierdzają hipotezę, że  $H_2S$  w zależności od stężenia jest ważnym czynnikiem biorącym udział w procesach obronnych i integracyjnych błony śluzowej żołądka chroniących błonę przed powstawaniem uszkodzeń (ryc. 1). Ciągłe jeszcze liczba dostępnych wyników związanych z określeniem zawartości endogenne siarkowodoru w błonie śluzowej układu pokarmowego jest niezadowalająca i konieczne są dalsze badania umożliwiające bezpośredni pomiar stężenia  $H_2S$  w uszkodzonej i chronionej w wyniku podawania donorów  $H_2S$ , w tkance żołądkowej. Ten gaz wraz z innymi gazami o działaniu gastroprotekcyjnym, w tym NO i CO, stanowi jeden z istotnych komponentów bariery śluzówkowej zabezpieczających błonę śluzową żołądka przed uszkodzeniem przez czynniki patologiczne różnego pochodzenia.



Ryc. 1. Plejotropowy wpływ siarkowodoru na czynności organizmu ze szczególnym uwzględnieniem działania gazowej molekuly w przewodzie pokarmowym

## PODSUMOWANIE

Badania ostatnich lat wykazały, że  $H_2S$  i jego fizjologiczne działanie w przewodzie pokarmowym to ważne wyzwanie dla postępu nauk medycznych. Reasumując,  $H_2S$  działa protekcyjnie w obrębie błony śluzowej żołądka, chroniąc przed wystąpieniem uszkodzeń przez wzmaganie mechanizmów ochronnych zwiększających odporność tej błony przed uszkodzeniami (ryc. 1). Mechanizm gastroprotekcji pod wpływem  $H_2S$  wydaje się bardzo złożonym, niemniej gaz ten jest potencjalnym czynnikiem ochronnym, oprócz znanych i dowiedzonych związków zapewniających integralność błony śluzowej żołądka, w tym m.in. prostaglandyn, NO, czynników regulujących apetyt, takich jak grelina, leptyna, gastryna, oreksyna i wiele innych [13, 41]. Rozszerzenie zakresu badań oraz podjęcie prac związanych z poznaniem roli tego gazomediatora w poszczególnych częściach przewodu pokarmowego, w tym również w prze-

łyku i w jelitach pozwoli zarysować profil fizjologicznego działania tej molekuly i możliwości jej udziału w profilaktyce i leczeniu schorzeń układu pokarmowego. Z przedstawionych danych niedwuznacznie wynika, że ten gazowy mediator uczestniczy w potencjalnych mechanizmach związanych z prewencją i leczeniem wielu chorób. Nie jest wykluczonym, że  $H_2S$  może odgrywać ważną rolę w leczeniu schorzeń przewlekłych, takich jak choroba refluksowa przełyku (GERD), przełyk Barretta, czy też nieswoiste zapalenie jelit. Sądzimy, że zbadanie udziału  $H_2S$  w tych mechanizmach oraz określenia istotności udziału  $H_2S$  w mechanizmie ochronnym bądź uszkadzającym w połączeniu z innymi czynnikami o udowodnionym działaniu ochronnym lub uszkadzającym błonę śluzową przewodu pokarmowego, będzie stanowić w najbliższych latach jeden z ważnych celów dalszych badań w dziedzinie gastroenterologii klinicznej i doświadczalnej.

## PIŚMIENICTWO

- [1] Abe K., Kimura H.: The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. *J. Neurosci.*, 1996; 16: 1066-1071
- [2] Attene-Ramos M.S., Wagner E.D., Plewa M.J., Gaskins H.R.: Evidence that hydrogen sulfide is a genotoxic agent. *Mol. Cancer Res.*, 2006; 4: 9-14
- [3] Ballatori N., Krance S.M., Notenboom S., Shi S., Tieu K., Hammond C.L.: Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases. *Biol. Chem.*, 2009; 390: 191-214
- [4] Chávez-Piña A.E., Tapia-Alvarez G.R., Navarrete A.: Inhibition of endogenous hydrogen sulfide synthesis by PAG protects against

- ethanol-induced gastric damage in the rat. *Eur. J. Pharmacol.*, 2010; 630: 131-136
- [5] 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
- [6] Distrutti E., Sediari L., Mencarelli A., Renga B., Orlandi S., Antonelli E., Roviezzo F., Morelli A., Cirino G., Wallace J.L., Fiorucci S.: Evidence that hydrogen sulfide exerts antinociceptive effects in the gastrointestinal tract by activating KATP channels. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2006; 316: 325-335

- [7] Distrutti E., Sediari L., Mencarelli A., Renga B., Orlandi S., Russo G., Caliendo G., Santagada V., Cirino G., Wallace J.L., Fiorucci S.: 5-Amino-2-hydroxybenzoic acid 4-(5-thioxo-5H-[1,2]dithiol-3yl)-phenyl ester (ATB-429), a hydrogen sulfide-releasing derivative of mesalamine, exerts antinociceptive effects in a model of postinflammatory hypersensitivity. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2006; 319: 447-458
- [8] Dröge W., Kinscherf R.: Aberrant insulin receptor signaling and amino acid homeostasis as a major cause of oxidative stress in aging. *Antioxid. Redox Signal.*, 2008; 10: 661-678
- [9] Fiorucci S., Antonelli E., Distrutti E., Rizzo G., Mencarelli A., Orlandi S., Zanardo R., Renga B., Di Sante M., Morelli A., Cirino G., Wallace J.L.: Inhibition of hydrogen sulfide generation contributes to gastric injury caused by anti-inflammatory nonsteroidal drugs. *Gastroenterology*, 2005; 129: 1210-1224
- [10] Hirata I., Naito Y., Takagi T., Mizushima K., Suzuki T., Omatsumu T., Handa O., Ichikawa H., Ueda H., Yoshikawa T.: Endogenous hydrogen sulfide is an anti-inflammatory molecule in dextran sodium sulfate-induced colitis in mice. *Dig. Dis. Sci.*, 2011; 56: 1379-1386
- [11] Ise F., Takasuka H., Hayashi S., Takahashi K., Koyama M., Aihara E., Takeuchi K.: Stimulation of duodenal HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> secretion by hydrogen sulphide in rats: relation to prostaglandins, nitric oxide and sensory neurones. *Acta Physiol.*, 2011; 201: 117-126
- [12] Kimura H.: Hydrogen sulfide induces cyclic AMP and modulates the NMDA receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2000; 267: 129-133
- [13] Konturek P.C., Brzozowski T., Walter B., Burnat G., Hess T., Hahn E.G., Konturek S.J.: Ghrelin-induced gastroprotection against ischemia-reperfusion injury involves an activation of sensory afferent nerves and hyperemia mediated by nitric oxide. *Eur. J. Pharmacol.*, 2006; 536: 171-181
- [14] Kubo S., Kajiwara M., Kawabata A.: Dual modulation of the tension of isolated gastric artery and gastric mucosal circulation by hydrogen sulfide in rats. *Inflammopharmacology*, 2007; 15: 288-292
- [15] Lou L.X., Geng B., Du J.B., Tang C.S.: Hydrogen sulphide-induced hypothermia attenuates stress-related ulceration in rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 2008; 35: 223-228
- [16] Mantovani G., Madeddu C., Maccio A., Gramignano G., Lusso M.R., Massa E., Astara G., Serpe R.: Cancer-related anorexia/cachexia syndrome and oxidative stress: an innovative approach beyond current treatment. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2004; 13: 1651-1659
- [17] Mard S.A., Neisi N., Solgi G., Hassanpour M., Darbor M., Maleki M.: Gastroprotective effect of NaHS against mucosal lesions induced by ischemia - reperfusion injury in rat. *Dig. Dis. Sci.*, 2012; 57: 1496-1503
- [18] Matsunami M., Tarui T., Mitani K., Nagasawa K., Fukushima O., Okubo K., Yoshida S., Takemura M., Kawabata A.: Luminal hydrogen sulfide plays a pronociceptive role in mouse colon. *Gut*, 2009; 58: 751-761
- [19] Mok Y.Y., Moore P.K.: Hydrogen sulphide is pro-inflammatory in haemorrhagic shock. *Inflamm. Res.*, 2008; 57: 512-518
- [20] Moore D., Kotake Y., Huycke M.: Enterococcus faecalis produces thyl radicals while colonizing the colon. *Free Radic. Biol. Med.*, 2003; 35 (Suppl. 1): S174-S175
- [21] Morsy M.A., Ibrahim S.A., Abdelwahab S.A., Zedan M.Z., Elbitar H.I.: Curative effects of hydrogen sulfide against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Life Sci.*, 2010; 87: 692-698
- [22] Nimni M.E., Han B., Cordoba F.: Are we getting enough sulfur in our diet? *Nutr. Metab.*, 2007; 4: 24
- [23] Predmore B.L., Lefler D.J., Gojon G.: Hydrogen sulfide in biochemistry and medicine. *Antioxid. Redox Signal.*, 2012; 17: 119-140
- [24] Qu K., Chen C.P., Halliwell B., Moore P.K., Wong P.T.: Hydrogen sulfide is a mediator of cerebral ischemic damage. *Stroke*, 2006; 37: 889-893
- [25] Rossoni G., Manfredi B., Tazzari V., Sparatore A., Trivulzio S., Del Soldato P., Berti F.: Activity of a new hydrogen sulfide-releasing aspirin (ACS14) on pathological cardiovascular alterations induced by glutathione depletion in rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 2010; 648: 139-145
- [26] Shibuya N., Mikami Y., Kimura Y., Nagahara N., Kimura H.: Vascular endothelium expresses 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase and produces hydrogen sulfide. *J. Biochem.*, 2009; 146: 623-626
- [27] Shibuya N., Tanaka M., Yoshida M., Ogasawara Y., Togawa T., Ishii K., Kimura H.: 3-Mercaptopyruvate sulfurtransferase produces hydrogen sulfide and bound sulfane sulfur in the brain. *Antioxid. Redox Signal.*, 2009; 11: 703-714
- [28] Slivka A., Cohen G.: Brain ischemia markedly elevates levels of the neurotoxic amino acid, cysteine. *Brain Res.*, 1993; 608: 33-37
- [29] Stipanuk M.H., Beck P.W.: Characterization of the enzymatic capacity for cysteine desulphhydration in liver and kidney of the rat. *Biochem. J.*, 1982; 206: 267-277
- [30] Swaroop M., Bradley K., Ohura T., Tahara T., Roper M.D., Rosenberger L.E., Kraus J.P.: Rat cystathionine β-synthase. Gene organization and alternative splicing. *J. Biol. Chem.*, 1992; 267: 11455-11461
- [31] Szabó C.: Hydrogen sulfide and its therapeutic potential. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2007; 6: 917-935
- [32] Wallace J.L.: Hydrogen sulfide-releasing anti-inflammatory drugs. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2007; 28: 501-505
- [33] Wallace J.L.: Physiological and pathophysiological roles of hydrogen sulfide in the gastrointestinal tract. *Antioxid. Redox Signal.*, 2010; 12: 1125-1133
- [34] Wallace J.L., Dickey M., McKnight W., Martin G.R.: Hydrogen sulfide enhances ulcer healing in rats. *FASEB J.*, 2007; 21: 4070-4076
- [35] Wallace J.L., Ferraz J.G., Muscara M.N.: Hydrogen sulfide: an endogenous mediator of resolution of inflammation and injury. *Antioxid. Redox Signal.*, 2012; 17: 58-67
- [36] 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
- [37] Xu G.Y., Winston J.H., Shenoy M., Zhou S., Chen J.D., Parsricha P.J.: The endogenous hydrogen sulfide producing enzyme cystathionine-β synthase contributes to visceral hypersensitivity in a rat model of irritable bowel syndrome. *Mol. Pain*, 2009; 5: 44
- [38] Yonezawa D., Sekiguchi F., Miyamoto M., Taniguchi E., Honjo M., Masuko T., Nishikawa H., Kawabata A.: A protective role of hydrogen sulfide against oxidative stress in rat gastric mucosal epithelium. *Toxicology*, 2007; 241: 11-18
- [39] Zano R.C., Brancaleone V., Distrutti E., Fiorucci S., Cirino G., Wallace J.L.: Hydrogen sulfide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation. *FASEB J.*, 2006; 20: 2118-2120
- [40] Zhao W., Zhang J., Lu Y., Wang R.: The vasorelaxant effect of H<sub>2</sub>S as a novel endogenous gaseous KATP channel opener. *EMBO J.*, 2001; 20: 6008-6016
- [41] Zhu A., Kaunitz J.: Gastrointestinal mucosal defense. *Curr. Gastroenterol. Rep.*, 2008; 10: 548-554

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.