

¹Katedra i Klinika Nefrologii, Endokrynologii i Chorób Przemiany Materii SUM Katowice
²Chorzowskie Centrum Pediatrii i Onkologii, Chorzów

Siarkowodór — czy jest ważnym, oprócz tlenku azotu i tlenku węgla, transmitterem gazowym u człowieka

Hydrogen sulphide — is it an important, apart from nitric oxide and carbon oxide, gaseous transmitter in human

Summary

Hydrogen sulphide (H₂S) is, alongside together with nitric oxide (NO) and carbon oxide (CO), the third gaseous transmitter in human. H₂S participates in: the regulation of blood pressure (is decreasing BP), pathogenesis of atherosclerosis (slowing its development), and progression of different nephropathies (slowing its progression). Its actions seem to be tightly associated with NO and CO, forming a concert trio or regulatory „triumvirate”. The role of H₂S in the pathogenesis of inflammation has so far not been precisely determined. Also participation of H₂S in the energetic metabolism (associated with oxidative phosphorylation) is not precisely determined. It may be expected that discovery of new inhibitors or stimulators respectively of H₂S synthesis will enrich our pharmacological armamentarium in patients with impaired function of the cardiovascular and renal systems.

key words: hydrogen sulphide, nitric oxide, carbon oxide
Arterial Hypertension 2012, vol. 16, no 2, pages 120–124.

Siarkowodór — to gaz o przykrym zapachu zepsutych jaj, występującym nie tylko w pomieszczeniach, w których przebiegają nieszczelne przewody kanalizacyjne, ale również w niektórych uzdrowi-

skach z licznymi nieszczelnie zabezpieczonymi odwiertami wód mineralnych. Wykorzystywany jest przez niektóre bakterie jako źródło energii. Rozpuszczalność gazu w wodzie wynosi około 80 mmol/l w temperaturze 37°C (cyt. wg [1]). Siarkowodór (H₂S) ulega dysocjacji do H⁺ + HS⁻ oraz 2H⁺ + S²⁻. Zjonizowany siarkowodór wykazuje gorszą przepuszczalność przez lipidową dwuwarstwę błon komórkowych w porównaniu z pozostałymi mediatorami gazowymi, czyli do CO i NO [2]. Według niektórych autorów H₂S tworzy z CO i NO koncertowe trio lub gazowy „triumwirat” odgrywający znaczącą rolę w stanach fizjologicznych i chorobowych [3].

W syntezie H₂S uczestniczą trzy enzymy: beta-syntaza cystationinowa (CBS), gamma-liaza cystationinowa (cystationaza) (CSE) i siarkotransferaza 3-merkaptopirogronianowa (MST). Enzymy CBS i CSE uczestniczą w procesie transulfuracji, przy czym CBS katalizuje powstawanie cystationiny z homocysteiny i seryny, zaś CSE — przemianę cystationiny do alfa-ketomaślanu i cysteiny. Wykazano, że CBS może również katalizować powstawanie cystationiny i H₂S drogą kondensacji cysteiny i homocysteiny [4]. Enzym CSE katalizuje również powstawanie H₂S z cysteiny z wytworzeniem pirogronianu, amoniaku i tiocysteiny. Ta ostatnia z kolei ulega rozpadowi do cysteiny i H₂S [5]. Kofaktorem zarówno dla CBS, jak i CSE jest fosforan pirydoksalu.

Siarkotransferaza 3-merkaptopirogronianowa katalizuje powstawanie H₂S z merkaptopirogronianu lub też przenosi atom siarki na siarczyn (tworząc tiosiarczan) [6].

Adres do korespondencji: prof. dr hab. n. med. Franciszek Kokot
Katedra i Klinika Nefrologii, Endokrynologii i Chorób Przemiany Materii
SUM Katowice
ul. Francuska 20/24, 40–027 Katowice
e-mail: fkokot@spskm.katowice.pl

 Copyright © 2012 Via Medica, ISSN 1428–5851

Siarkowodór może powstawać również drogą nieenzymatyczną z organicznych lub nieorganicznych polisulfidów występujących m.in. w czosnku [7].

W mózgu głównym źródłem H_2S jest szlak biochemiczny z udziałem CBS, w wątrobie — szlak katalizowany przez CSE, natomiast w sercu — szlak z udziałem siarkotransferazy merkaptopirogronianowej [8]. Dotychczas opisano zaburzenia metabolizmu H_2S w chorobie Alzheimera (upośledzona synteza H_2S) i w zespole Downa (nadekspresja CBS ze wzmożoną syntezą H_2S). We krwi H_2S może występować w postaci wolnej (głównie zdesocjowanej) lub związanej z hemoglobina (tworząc sulfhemoglobinę). Postać wolna może ulec wydalaniu przez płuca, zaś związana — śródkomórkowemu utlenianiu (do siarczynu, tiosiarczynu lub siarczynu). Siarkowodór jest silnym antyoksydantem [1, 2]. Uwzględniając brak standaryzacji metod oznaczania H_2S , podane w piśmiennictwie stężenia H_2S znacznie się różnią [9] (mogą wahać się od 10–1000 $\mu\text{mol/l}$ [9]). Używając czulej elektrody do oznaczania H_2S stwierdzono, że stężenia tego gazu są rzędu nmol/l a nie mikromoli/l [9]. Pod postacią siarczynu występuje 80–90% siarki wydalanej z moczem [1].

Przemiana H_2S zachodzi w mitochondriach z udziałem dioksygenazy siarkowej. Enzym ten przekształca H_2S bezpośrednio do siarczynu, po czym siarczyn ulega utlenianiu do siarczynu przez oksydazę siarczynową (cyt. wg [1]). U ssaków wykazano dużą pojemność metabolizowania H_2S [8].

Mechanizm działania H_2S

Nie ulega wątpliwości, że H_2S jest antyoksydantem. W małych stężeniach H_2S jest silnym inhibitorem oksydazy cytochromowej, zaś w komórkach jest substratem łańcucha oddechowego (cyt. wg [1]). W małych stężeniach H_2S pobudza zużywanie tlenu, zaś w większych ($> 20 \mu\text{mol/l}$) hamuje łańcuch oddechowy mitochondriów. Białka zawierające grupę hemową są uprzywilejowaną tarczą ataku biochemicznego. W szlakach sygnalizacyjnych, w których uczestniczy H_2S , proces potranslacyjnej sulfhydratacji odgrywa istotną rolę [1].

W ostatnich latach podkreśla się znaczenie koncertowego trio lub „triumwiratu” złożonego z CO , NO i H_2S w patogenezie różnych stanów chorobowych [3]. Wymienione gazy wytwarzane są często przez te same komórki i w tych samych narządach, wywołując te same efekty biologiczne, chociaż z różnymi mechanizmami. I tak, wszystkie ogniwa wyżej wymienionego triumwiratu wykazują działanie wazodylatacyjne, pobudzają angiogenezę i przebudow-

wę naczyń krwionośnych oraz wykazują działanie ochraniające na wiele narządów poddanych różnym czynnikom uszkodzającym. Ponadto wszystkie ogniwa „triumwiratu” uczestniczą w patogenezie stanów zapalnych, wykazując działanie pro- lub przeciwzapalne [3]. Wydaje się, że koncertowa współpraca wyżej wymienionych gazowych transmitterów stanowi istotne ogniwo w regulacji homeostazy w najszerszym słowa znaczeniu [1].

Rola H_2S w stanach fizjologicznych

Wykazano, że H_2S jest endogennym inhibitorem fosfodiesterazy, przez co jest przyczyną wzrostu generacji zarówno cyklicznego guanozynomonofosforanu (cGMP), jak i cyklicznego adenozylationofosforanu (cAMP) spowodowanego zwalnianiem hydrolitycznego rozkładu cGMP i cAMP [10]. Te ważne substancje sygnalizacyjne mogą uczestniczyć w regulacji stanu czynnościowego wielu komórek, w tym również miocytów naczyniowych.

Siarkowodór jest udowodnionym antyoksydantem wykazującym protekcyjne działanie na naczynia krwionośne eksponowane na szkodliwe czynniki [11] oraz zwalniające procesy miażdżycowe [12].

Udowodniono, że H_2S wykazuje działanie hamujące proliferację miocytów gładkich naczyń [13]. Zupełnym zaskoczeniem było stwierdzenie działania stymulującego (a nie hamującego) H_2S na proliferację komórek śródbłonkowych [14]. Ten fakt może sugerować udział H_2S w procesach gojenia się ran i neorewaskularyzacji.

Według Wanga [15] H_2S jest trzecim, obok CO i NO , gazowym regulatorem wielu procesów biologicznych. Siarkowodór wykazuje cechy czynnika hiperpolaryzującego śródbłonka, stymulując uwalnianie NO [16].

Siarkowodór wpływa na kanał potasowy aktywowany przez ATP składający się z podjednostek Krr6.x i SUR.x. Przypuszcza się, że H_2S reaguje z podjednostką SUR kompleksu kanału potasowego K_{ATP} , powodując jego otwarcie. Sądzi się, że H_2S reaguje z cysteiną Cys6 i Cys2b N-końcowego, pozakomórkowego fragmentu podjednostki rvSUR1 kanału K_{ATP} powodując jego otwarcie [15, 17]. Sugeruje się, że otwarcie kanałów potasowych ATP-zależnych polega na sulfhydracji prowadzącej się do przeniesienia grupy sulfhydrylowej na cysteinę białka, prowadząc do utworzenia reszty wodorodisiarczkowej — SSH [18]. Siarkowodór jest czynnikiem rozszerzającym naczynia krwionośne w różnych obszarach naczyniowych, wytwarzanym przez śródbłonek naczyniowy, dlatego też zaliczany jest do czyn-

ników wytwarzanych przez śródbłoki i rozszerzające naczynia (EDRF, *endothelium derived relaxing factor*) [19]. Najpewniej w procesie wazorelaksacji indukowanej H₂S uczestniczą: wzmożona mobilizacja jonów wapnia z depozytów śródkomórkowych [20] i inne czynniki (ATP-zależne kanały potasowe i inne).

Rola H₂S w stanach patologicznych

Wyniki badań ostatnich lat sugerują znaczący wpływ H₂S w stanach chorobowych układu sercowo-naczyniowego, wpływając na regulację ciśnienia tętniczego i rozwój miażdżycy [5, 21–24]. Siarkowodor wpływa również na proliferację miocytów naczyniowych. Ponadto nasila homocysteinemię i apoptozę oraz hamuje syntezę aterogennych cząsteczek LDL [12]. Siarkowodor ma być regulatorem biodostępności NO [23]. Dysfunkcja szlaku syntezy H₂S ma uczestniczyć w patogenezie nadciśnienia tętniczego [26]. Warto podkreślić supresyjny wpływ H₂S na układ reninowo-angiotensynowy [27]. Również w badaniach doświadczalnych u szczurów wykazano udział endogennego H₂S w utrzymaniu stałości ciśnienia tętniczego oraz w patogenezie nadciśnienia tętniczego u tych zwierząt [28]. Wykazano, że homocysteina, ulegając przemianie do H₂S, jest silnym antyoksydantem i wazodylatatorem. Przy dużych stężeniach homocysteiny dochodzi do homocysteinylacji białek, w tym również cystationinazy (CSE) ważnego enzymu katalizującego syntezę H₂S [16]. Wydaje się, że upośledzone wytwarzanie H₂S współuczestniczy w powstaniu nadciśnienia tętniczego występującego w stanach zwiększonego stężenia homocysteiny, będącej jadem uremicznym [2, 22, 29].

Ciekawe są wyniki badań nad wpływem H₂S na kalcyfikację naczyń krwionośnych. Wykazano, że H₂S hamuje odkładanie wapnia w naczyniach oraz hamuje ekspresję genów uczestniczących w kodowaniu osteoblastycznej transformacji miocytów naczyniowych, tj. fosfatazy zasadowej, osteokalcyny i czynnika transkrypcyjnego Cbfa1 (*core-binding factor alfa-1*). Ponadto H₂S zapobiega wychwytwowi fosforanów i wzrostowi (*upregulation*) sodozależnego kotransportera fosforanowego Pi2-1. Spadek syntezy H₂S spowodowany blokadą CSE występującą w mocznicę [2] nasila transformację osteoblastyczną miocytów naczyniowych [30].

Rola H₂S w patogenezie stanów zapalnych nie została jeszcze jednoznacznie ustalona [22, 25]. Wykazano działanie zarówno pro-, jak i przeciwzapalne H₂S. I tak (wg [22]) H₂S rozszerza naczynia krwionośne i zwiększa perfuzję tkanek, zwiększa syntezę

enzymów, w tym CSE, zwiększa przylepność leukocytów do naczyń, indukuje syntezę cytokin i chemokin prozapalnych, powoduje nasilenie ekspresji czynnika jądrowego NFkappaB itd. Wśród efektów przeciwzapalnych H₂S wymienić należy hamowanie infiltracji leukocytów i syntezy prozapalnych cytokin, przyspieszenie gojenia owrzodzeń u szczurów, zmniejszenie przylepności leukocytów do naczyń, zmniejszenie syntezy NO i TNF-alfa indukowanej lipoproteinami (LPS) w komórkach mezangialnych oraz zmniejszenie nasilenia syntezy NFkappaB (*upregulation*) w makrofagach indukowanej LPS. Jak widać, wyniki badań nad czynnikami pro- i przeciwzapalnymi indukowanymi H₂S bynajmniej nie są jednoznaczne [22, 25].

Siarkowodor wykazuje liczne efekty na kanały potasowe (ATP-zależne), wapniowe i chlorkowe, co tłumaczy jego działanie antyarytmiczne [31].

Wykazano również działanie kardioprotekcyjne H₂S. Związek ten wywołuje stan hipometaboliczny podobny do hibernacji u ssaków poddanych działaniu subtoksycznych dawek tego związku. Przy odpowiednim dawkowaniu H₂S zmniejsza uszkodzenie spowodowanych niedotlenieniem i reperfuzyją narządów poddanych transplantacji. Udowodniono, że H₂S wykazuje korzystny wpływ na przeżycie, funkcję nerek, apoptozę i stany zapalne indukowane niedokrwieniem [32]. Ostatnio opublikowane badania sugerują, że spadek syntezy H₂S w nerkach i wątrobie u chorych z przewlekłą niewydolnością nerek jest przyczyną progresji przewlekłej choroby nerek i jej powikłań [2, 33]. Na uwagę zasługuje wzrost stężenia H₂S we krwi po pojedynczej hemodializie [34]. Sugeruje się, że H₂S jest regulatorem rozwoju glomerulosklerozy pośredniczonej homocysteiną [2]. Ponadto uważa się, że zwiększony stres i zmniejszona synteza H₂S spowodowana hiperhomocysteinemią są przyczyną przebudowy kłębuszków nerkowych i rozwoju stanu zapalnego prowadzącego do glomerulosklerozy [35]. Również w innych badaniach wykryto supresję syntezy H₂S na poziomie genowym u chorych hemodializowanych [36] oraz nefroprotektoryjne działanie H₂S u chorych z uszkodzeniem nerek spowodowanym cispłatyną [37].

W końcu należy wspomnieć, że stwierdzono wzmożoną aktywność siarkotransferazy merkaptopirogronianowej w krwinkach czerwonych chorych na policytemię. Jak wspomniano wyżej, enzym ten uczestniczy w syntezie H₂S. Do wyjaśnienia pozostaje znaczenie patogenetyczne wzrostu aktywności tego enzymu u tych chorych [38].

W najbliższej przyszłości należy spodziewać się wykrycia nowych leków atakujących „triumwirat” H₂S-NO-CO [39].

Streszczenie

Siarkowodór jest obok tlenu azotu i tlenu CO trzecim gazowym transmiterem występującym u człowieka. Wydaje się, że związek ten uczestniczy w regulacji ciśnienia tętniczego (wykazuje działanie hipotensyjne), patogenezie zmian miażdżycowych naczyń (spowalnia ich rozwój) i progresji różnych nefropatii (zwalnia progresję). Jego działanie wydaje się być ściśle powiązane z funkcją NO i CO, tworząc koncertowe trio lub „triumwirat” regulacyjny. Rola H₂S w patogenezie stanów zapalnych nie została dotychczas jednoznacznie zdefiniowana. Również rola H₂S w gospodarce energetycznej (asocjowanej z fosforylacją oksydacyjną) nie jest precyzyjnie określona. Należy się spodziewać, że odkrycia substancji blokujących lub stymulujących syntezę H₂S zaowocują produkcją nowych leków oddziałujących na układ sercowo-naczyniowo-nerkowy.

słowa kluczowe: siarkowodór, tlenek azotu, tlenek węgla
Nadciśnienie Tętnicze 2012, tom 16, nr 2, strony 120–124.

Piśmiennictwo

- Kabil O., Banerjee R. Redox biochemistry of hydrogen sulfide. *J. Biol. Chem.* 2010; 285: 21 903–21 907.
- Perna A.F., Ingrassio D. Low hydrogen sulphide and chronic kidney disease: a dangerous liaison. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2012; 27: 486–493.
- Li L., Hsu A., Moore P.K. Actions and interactions of nitric oxide, carbon monoxide and hydrogen sulphide in the cardiovascular system and in inflammation — a tale of three gases. *Pharmacology and Therapeutics* 2009; 121: 386–400.
- Chen X., Jhee K., Kruger W.D. Production of the neuro-modulator H₂S by cystathionin-beta-synthase via the condensation of cysteine and homocysteine. *J. Biol. Chem.* 2004; 279: 52 082–52 086.
- Whiterman M., Moore P.K. Hydrogen sulfide and the vasculature: a novel vasculoprotective entity and regulator of nitric oxide bioavailability. *J. Cell. Mol. Med.* 2009; 13: 488–507.
- Kimura G.A., Squadrito G.L., Mills R.W. i wsp. Hydrogen sulfide its production, release and function. *Amino Acids* 2011; 41: 113–123.
- Benavides G.A., Squadrito G.L., Mills R.W. i wsp. Hydrogen sulfide mediates the vasoactivity of garlic. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 2007; 107: 17 977–17 982.
- Kamoun P. Endogeneous production of hydrogen sulfide in normals. *Amino Acids* 2004; 26: 243–254.
- Olson K.R. Is hydrogen sulfide a circulating gasotransmitter in vertebrate blood? *Biochim. Biophys. Acta* 2009; 1787: 856–863.
- Bucci M., Papapetropoulos A., Vellecco V. i wsp. Hydrogen sulfide is an endogenous inhibitor of phosphodiesterase activity. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2010; 30: 1998–2004.
- Meng C.H., Yang G., Yang W. i wsp. Protective effect of hydrogen sulfide on balloon injury induced neointima hyperplasia in rat carotid arteries. *Am. J. Pathol.* 2009; 170: 1406–1414.
- Wang R. Is H₂S a stinky remedy for atherosclerosis? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2009; 29: 156–157.
- Yang G., Wu L., Bryan S. i wsp. Cystathionine gamma-lyase deficiency and over-proliferation of smooth-muscle cells. *Cardiovasc. Res.* 2010; 86: 487–495.
- Papapetropoulos A., Pyriochou A., Altaany Z. i wsp. Hydrogen sulfide is an endogenous stimulator of angiogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2009; 106: 21 972–21 977.
- Wang R. Signaling pathways for the vascular effects of hydrogen sulfide. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2011; 20: 107–112.
- Ondrias K., Stasko A., Cacanyiova S. i wsp. H₂S and HS⁻ donor NaHS releases nitric oxide from nitrosothiols, metal nitrosyl complex, brain homogenate and murine L1210 leukemia cells. *Plügers Arch. Europ. J. Physiol.* 2008; 457: 271–279.
- Jiang B., Tang G., Cao K. i wsp. Molecular mechanism for H₂S-induced activation of K_{ATP} channels. *Antioxid Redox Signal.* 2010; 12: 1167–1178.
- Mustafa A.K., Gadalla M.M., Sen N. i wsp. H₂S signals through protein S-sulfhydration. *Sci. Signal* 2009; 2: ra72.
- Wang R. Hydrogen sulfide: a new EDRF. *Kidney Int.* 2009; 16: 700–704.
- Bauer C.C., Boyle J.P., Porter K.E. i wsp. Modulation of Ca²⁺ signalling in human vascular endothelial cells by hydrogen sulfide. *Atherosclerosis* 2010; 209: 374–380.
- Qiao W., Chuoshu T., Hongfang J. i wsp. Endogenous hydrogen sulfide is involved in the pathogenesis of atherosclerosis. *Biochemical and Biophysical Research Communication* 2010; 396: 182–186.
- Li L., Moore P.K. Putative biological roles of hydrogen sulfide in health and disease: a breath of not so fresh air? *Trends in Pharmacological Sciences.* 2008; 29: 84–90.
- Zhong G.Z., Chen F.R., Cheng Y.Q. i wsp. The role of hydrogen sulfide generation in the pathogenesis of hypertension in rats induced by induction of nitric oxide synthase. *J. Hypertens.* 2003; 21: 1879–1895.
- Sen U., Mishra P.K., Tyagi N. i wsp. Homocysteine to hydrogen sulfide or hypertension. *Cell. Biochem. Biophys.* 2010; 57: 49–58.
- Wallace J.L. Hydrogen sulfide — releasing antiinflammatory drugs. *Trends Pharmacol. Sc.* 2007; 28: 501–505.
- Mei Z., Qiang Z., Xiao-qin S.H.I. i wsp. Erythrocytic or serum hydrogen sulfide association with hypertension development in untreated essential hypertension. *Chin. M.J.* 2011; 124: 3693–3701.
- Lu M., Liu Y.-H., Goh H.S. i wsp. Hydrogen sulfide inhibits plasma renin activity. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2010; 21: 993–1002.
- Yan H., Du J., Tang C. The possible role of hydrogen sulfide on the pathogenesis of spontaneous hypertension in rats. *Biochemical and Biophysical Research Communication* 2004; 313: 22–27.
- Perna A.F., Ingrassio D., Violetti E. i wsp. Hyperhomocysteinemia in uraemia — a red flag in a disrupted circuit. *Seminars in Dialysis* 2009; 22: 351–356.
- Zavaczki E., Jeney V., Agarwal A. i wsp. Hydrogen sulfide inhibits the calcification and osteoblastic differentiation of vascular smooth muscle cells. *Kidney Int.* 2011; 80: 731–739.
- Zhong G.Z. Hydrogen sulfide — a potent multichannel antiarrhythmic drug. *J. Cardiovascular Dis. Res.* 2010; 1: 17–39.
- Bos E.M., Henri G.D., Snider P.M. i wsp. Hydrogen sulfide — induced hypometabolism prevents renal-ischemia reperfusion injury. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2009; 20: 1901–1905.

33. Aminzadeh M.A., Vaziri N. Downregulation of the renal and hepatic hydrogen sulfide (H₂S) producing enzymes and capacity in chronic kidney disease. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2012; 27: 498–504.
34. Perna A.F., Sepe I., Lanza D. i wsp. Hydrogen sulfide increases after a single haemodialysis session. *Kidney Int.* 2011; 80: 1108–1109.
35. Sen U., Munjal C., Qipshidze N. i wsp. Hydrogen sulfide regulates homocysteine — mediated glomerulosclerosis. *Am. J. Nephrol.* 2010; 31: 442–455.
36. Perna A.F., Luciano M.G., Ingrosso D. i wsp. Hydrogen sulphide generating pathways in haemodialysis patients: a study on relevant metabolites and transcription regulation of genes incoding for key enzymes. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2009; 24: 3756–3763.
37. Francescato H.C., Cunha F., Costa R.S. i wsp. Inhibition of hydrogen sulphide formation reduces cisplatin-induced renal damage. *Nephrol. Dial. Hypertens.* 2011; 26: 474–488.
38. Frendo J., Wrobel M. The activity of 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase in erythrocytes from patients with polycythemia vera. *Acta Biochemica Polona* 1997; 44: 771–773.
39. Szabo C. Hydrogen sulphide and its therapeutic potential. *Nature Reviews. Drug Discovery* 2007; 6: 917–935.