

Received: 2014.10.09  
Accepted: 2015.12.09  
Published: 2016.08.11

## Biochemia i terapeutyczny potencjał siarkowodoru – rzeczywistość czy fantazja?

### Biochemistry and therapeutic potential of hydrogen sulfide – reality or fantasy?

Paulina Brodek, Beata Olas

Katedra Biochemii Ogólnej, Instytut Biochemii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

#### Streszczenie

Siarkowodor (H<sub>2</sub>S) jest sygnalizacyjnym gazotransmiterem, który bierze udział w różnych procesach fizjologicznych i patologicznych. H<sub>2</sub>S reguluje apoptozę, cykl komórkowy i stres oksydacyjny. H<sub>2</sub>S wywiera silny wpływ na komórki mięśni gładkich, śródbłónka, zapalne, siateczkę śródplazmatyczną, mitochondria i jądrowe czynniki transkrypcyjne. Wiadomo, że H<sub>2</sub>S może być syntetyzowany z L-cysteiny, D-cysteiny i L-homocysteiny w organizmie. Cztery enzymy: β-syntaza cystationiny (CBS), transferaza siarkowa 3-merkaptopirogronianu (3-MST), γ-liaza cystationiny (CSE) i aminotransferaza cysteinowa (CAT) biorą udział w syntezie H<sub>2</sub>S. Biosynteza H<sub>2</sub>S z D-cysteiny obejmuje 3-MST i oksydazę D-aminokwasową (DAO). Medyczne znaczenie H<sub>2</sub>S jest niejasne. Jednak ostatnie badania wskazują, że H<sub>2</sub>S działa terapeutycznie w chorobie niedokrwiennej serca i nadciśnieniu tętniczym oraz chroni przed niedokrwieniem mózgu. Przedstawiono negatywne i pozytywne role H<sub>2</sub>S w różnych układach biologicznych, np. w układzie sercowo-naczyniowym i układzie nerwowym. Omówiono również funkcję klasycznych, terapeutycznych i naturalnych (np. czosnku) donorów H<sub>2</sub>S w badaniach przedklinicznych i klinicznych.

**Słowa kluczowe:** siarkowodor • cysteina • donory H<sub>2</sub>S

#### Summary

Hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) is a signaling gasotransmitter, involved in different physiological and pathological processes. H<sub>2</sub>S regulates apoptosis, the cell cycle and oxidative stress. H<sub>2</sub>S exerts powerful effects on smooth muscle cells, endothelial cells, inflammatory cells, endoplasmic reticulum, mitochondria and nuclear transcription factors. H<sub>2</sub>S is known to be produced from L-cysteine, D-cysteine and L-homocysteine in the body. Four enzymes – cystathionine-β synthase (CBS), mercaptopyruvate sulfurtransferase (3-MST), cystathionine-γ lyase (CSE) and cysteine aminotransferase (CAT) – are involved in H<sub>2</sub>S synthesis. The biosynthetic pathway for the production of H<sub>2</sub>S from D-cysteine involves 3-MST and D-amino acid oxidase (DAO). The therapeutic potential of H<sub>2</sub>S is not clear. However, recently results have demonstrated that H<sub>2</sub>S has protective action for ischemic heart disease or hypertension, and protects against ischemia of the brain. This review summarizes the negative and the positive roles of H<sub>2</sub>S in various biological systems, for example the cardiovascular system and nervous system. We also discuss the function of classical, therapeutic and natural (for example garlic) donors of H<sub>2</sub>S in pre-clinical and clinical studies.

**Key words:** hydrogen sulfide • cysteine • H<sub>2</sub>S donors

**Full-text PDF:** <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1213895>

**Word count:** 3370  
**Tables:** –  
**Figures:** 4  
**References:** 47

**Adres autorki:** mgr Paulina Brodek, Katedra Biochemii Ogólnej, Instytut Biochemii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, Pomorska 141/143, 90-236 Łódź; e-mail: paulina.brodek@gmail.com

**Wykaz skrótów:** **3MP** – 3-merkaptopirogronian (3-mercaptopyruvate); **3MST** – transferaza siarkowa 3-merkaptopirogronianu (3-mercaptopyruvate sulphurtransferase); **ACS15** – 2-[(2,6-dichlorophenyl)amino] benzeneacetic acid 4-(3-thioxo-3H-1,2-dithiol-5-yl) phenyl ester; **ATB-346** – 2-(6-methoxynaphthalen-2-yl)-propionic acid 4-thiocarbamoyl-phenyl ester; **ATB-429** – 5-amino-2-hydroxybenzoic acid 4-(5-thioxo-5H-[1,2] dithiol-3yl)-phenyl ester; **BCA** – β-cyjano-L-alanina (β-cyano-L-alanine); **cAMP** – cykliczny adenzynomonofosforan (cyclic adenosine monophosphate); **CAT** – aminotransferaza cysteinowa (cysteine aminotransferase); **CBS** – β-syntaza cystationiny (β-cystathionine synthase); **cGMP** – cykliczny guanozynomonofosforan (cyclic guanosine monophosphate); **CSE** – γ-liaza cystationiny (cystathionine γ-lyase); **Cys** – cysteina (cysteine); **DAO** – oksydaza D-aminokwasowa (D-amino acid oxidase); **eNOS** – śródbłonkowa syntaza tlenu azotu (endothelial nitric oxide synthase); **ERK** – kinaza regulowana czynnikami zewnętrznymi (extracellular signal-regulated kinase); **GSH** – glutation (glutathione); **GGY4137** – morpholin-4-ium-4 metoxyphenyl(morpholino) phosphinodithioate; **Hcy** – homocysteina (homocysteine); **K<sub>ATP</sub>** – kanał potasowy zależny od ATP (ATP-sensitive potassium channel); **K<sub>Ca2+</sub>** – kanał potasowy zależny od jonów wapnia (calcium-activated potassium channels); **LPS** – lipopolisacharyd (lipopolysaccharide); **LTP** – długotrwałe wzmocnienie synaptyczne (long-term potentiation); **MAPK** – kinaza aktywowana mitogenami (mitogen-activated protein kinase); **NF-κB** – czynnik jądrowy kappa B (nuclear factor kappa B); **NLPZ** – niesteroidowe leki przeciwzapalne; **NMDA** – N-metylo-D-asparaginian (N-methyl D-aspartate); **PKA** – kinaza białkowa A (protein kinase A); **PLP** – fosforan 5'-pirodoksalu (pyridoxal 5' phosphate); **SAM** – S-adenozylometionina (S-adenosylmethionine); **S-NLPZ** – niesteroidowe leki przeciwzapalne uwalniające siarkowodor; **TNF-α** – czynnik martwicy nowotworów α (tumor necrosis factor α); **TST** – sulftransferaza: tiosiarczan-cyjanek (thiosulfate-cyanide sulftransferase)

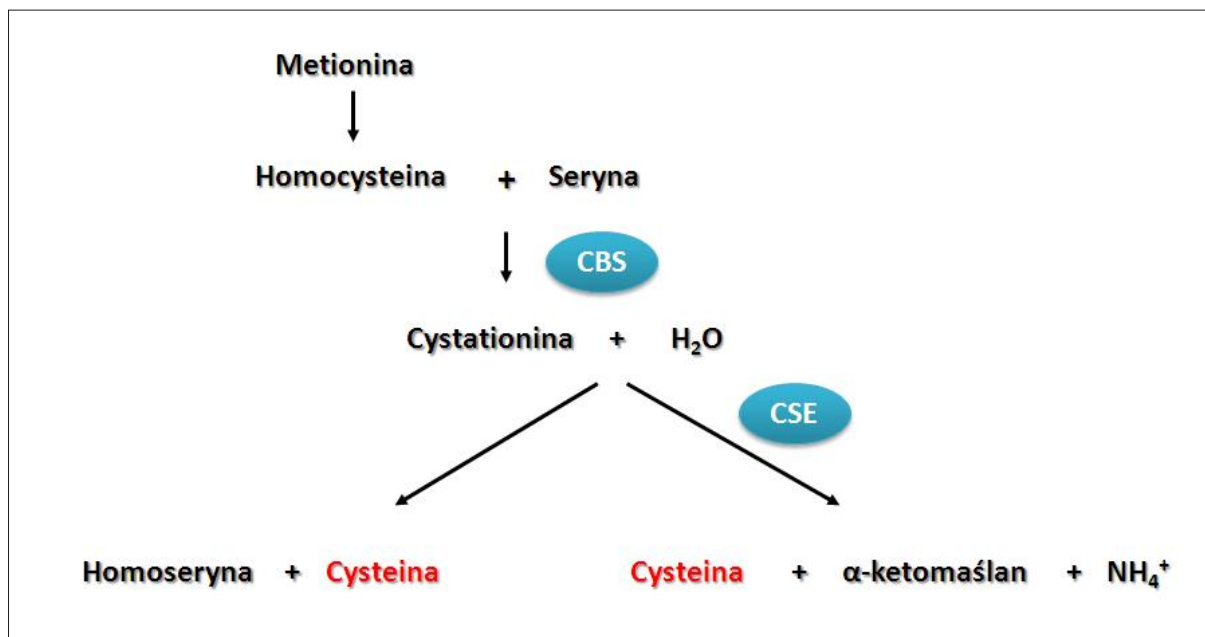
## WSTĘP

Od lat wiadomo, że siarkowodor ( $H_2S$ ), nazwany niedawno cząsteczką o „dwóch twarzach” [5], jest toksycznym, bezbarwnym gazem o charakterystycznym, łatwo wyczuwalnym zapachu zepsutych jaj. Występuje naturalnie w wielu miejscach na Ziemi, z jednej strony zanieczyszczając środowisko, z drugiej zaś decydując m.in. o terapeutycznych właściwościach wód źródłanych. Stosunkowo niedawno stwierdzono, że jest wytwarzany również endogennie w tkankach ssaków. Jego obecność wykryto w mózgu w 1989 r. [40], jednak dopiero w drugiej połowie lat 90 XX w. [1] zasugerowano, iż może to być endogenny przekaźnik nerwowy, kiedy opisano enzymatyczny mechanizm jego wytwarzania oraz biologiczne właściwości w stężeniach fizjologicznych. Najnowsze badania potwierdzają, że siarkowodor, podobnie jak tlenek azotu ( $NO$ ) i tlenek węgla ( $CO$ ), jest trzecim gazowym mediatorem ssaków. O jego wpływie na organizm decyduje stężenie [26]. W dużych dawkach działa silnie toksycznie, co jest głównie skutkiem blokowania enzymów

oddechowych [17], jednak w niskich wykazuje wiele korzystnych działań m.in. w układzie krwionośnym, nerwowym, czy pokarmowym. Gaz ten odgrywa także rolę w wielu fizjologicznych, jak i patologicznych procesach, tj. neurotransmisja, zapalenie czy też neurodegeneracja [6,17,21,25,26,31,41].

## BIOCHEMICZNE ORAZ FIZYCZNE WŁAŚCIWOŚCI SIARKOWODORU

Siarkowodor jest bezbarwnym, cięższym od powietrza, łatwopalnym gazem, rozpuszczającym się w wodzie. Z powodu dwustopniowej dysocjacji tego związku, jego wodny roztwór ma lekko kwaśne pH. Dysocjuje na jony  $H^+$ ,  $HS^-$  oraz  $S^{2-}$ . W roztworach wodnych o pH 7,4, przypuszczalnie w płynach ustrojowych oraz homogenatach tkanek, niedysocjowaną postacią jest mniej niż 1/5 siarkowodoru, a pozostała część to przede wszystkim jony  $HS^-$  i niewielka ilość  $S^{2-}$  [4]. Ma właściwości lipofilne, dzięki czemu może swobodnie dyfundować przez błony komórkowe, jednak z powodu częściowej dysocjacji jego dyfuzja nie jest tak efektywna, jak  $NO$  czy  $CO$  [17].



Ryc. 1. Synteza cysteiny. CBS -  $\beta$ -syntaza cystationiny; CSE -  $\gamma$ -liaza cystationiny (wg [17,34] zmodyfikowano)

Toksyczność siarkowodoru polega głównie na inhibicji mitochondrialnej oksydazy cytochromu c z powodu tworzenia kompleksów z jonami żelaza ( $Fe^{3+}$ ) tego enzymu, co prowadzi do zahamowania oddychania komórkowego.  $H_2S$  może również wpływać blokująco na anhidrazę węglanową i aminotransferazę tyrozynową [19]. Fizjologiczne stężenie  $H_2S$  w mózgu wynosi około  $150 \mu M$  i jest bliskie stężeniu toksycznemu, podczas gdy w płynach ustrojowych oraz większości tkanek wykrywane stężenie jest trzykrotnie niższe i jest to około  $50 \mu M$  [17,40]. Zmiany fizjologicznych stężeń wykazano w wielu stanach patologicznych. Jest to m.in. choroba Alzheimera, w której odnotowano zmniejszenie stężenia  $H_2S$ , zwiększenie natomiast w zespole Downa, czy wstrząsie septycznym [17]. Okres półtrwania *in vivo* tego gazu, w przeciwieństwie do tlenu azotu (kilka sekund), jest znacząco dłuższy, ponieważ wynosi kilka minut [17].

## ENDOGENNA GENERACJA SIARKOWODORU

### Biosynteza $H_2S$

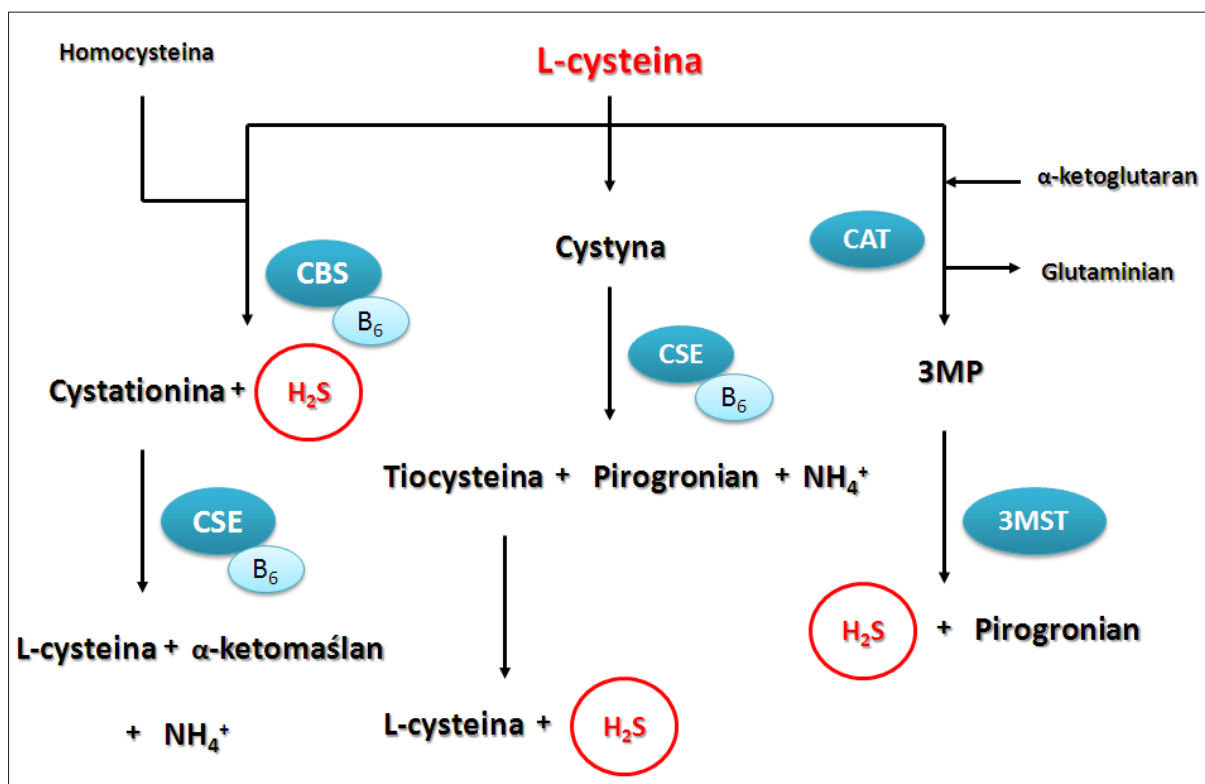
Siarkowódor, oprócz bezpośredniego wchłaniania do organizmu ze środowiska zewnętrznego przez układ oddechowy i skórę, czyli pochodzenia egzogenne, jest wytwarzany również endogennie jako uboczny produkt przemian aminokwasów siarkowych. Aminokwasami tymi są cysteina (Cys) i pośrednicząca w jej syntezie homocysteina (Hcy), powszechnie występująca w komórkach organizmów żywych. Cysteina powstaje w wyniku transsulfuracji z metioniny (ryc. 1) [17]. Do niedawna uważano, że jedynym substratem wytwarzania  $H_2S$  jest L-cysteina, jednak pojawiły się doniesienia wskazujące na możliwość wykorzystywania także D-cysteiny [28].

### Wytwarzanie $H_2S$ z L-cysteiny

Szlak przemian L-cysteiny prowadzący do wytworzenia  $H_2S$  polega na nieoksydacyjnym usunięciu atomu siarki z jej struktury z udziałem enzymów zaangażowanych również w transsulfurację Hcy. Są to  $\beta$ -syntaza cystationiny (CBS) oraz  $\gamma$ -liaza cystationiny (CSE). Oba enzymy działają w odmienny sposób, lecz każdy z nich jest zależny od kofaktora - fosforanu pirydoksalu (witamina  $B_6$ , PLP) [17,19]. CBS katalizuje kondensację seryny i homocysteiny tworząc cystationinę w czasie pierwszego etapu wspomnianej transsulfuracji Hcy, ale także kondensację cysteiny i homocysteiny, w wyniku której powstaje cystationina i  $H_2S$  [6,17]. CSE natomiast katalizuje drugi etap transsulfuracji Hcy - rozkład cystationiny do cysteiny,  $\alpha$ -ketomaślanu i amoniaku, jak również katalizuje rozpad cystyny (disiarczek cysteiny) do tiocysteiny, pirogronianu oraz amoniaku. Tiocysteina ulega następnie nieenzymatycznemu rozpadowi tworząc cysteinę i  $H_2S$  [6,17,19].

CBS i CSE są uważane za główne enzymy wytwarzające  $H_2S$ , ale zidentyfikowano trzeci enzym działający w sposób niezależny od fosforanu pirydoksalu. Jest nim transferaza siarkowa 3-merkaptopirogronianu (3-MST) [12]. 3-MST współdziała z aminotransferazą cysteinową (CAT), która katalizuje reakcję transaminacji między L-cysteiną a  $\alpha$ -ketoglutaranem doprowadzając do powstania 3-merkaptopirogronianu (3MP). Następnie 3-merkaptopirogronian pod wpływem 3-MST zostaje przekształcony do tiosiarczanu i pirogronianu. Tiosiarczan natomiast w obecności reduktora, np. glutationu (GSH), ulega redukcji do  $H_2S$  [12,37]. Syntezę  $H_2S$  z L-cysteiny przedstawiono na ryc. 2.

CBS i CSE są umiejscowione w cytoplazmie komórki, jednak 3-MST występuje głównie w macierzy mitochondrialnej.



Ryc. 2. Synteza siarkowodoru z L-cysteiny. CAT - aminotransferaza cysteinowa; CBS -  $\beta$ -syntaza cystationiny; CSE -  $\gamma$ -liaza cystationiny; 3MP - 3-merkaptopirogronian; 3MST - transferaza siarkowa 3-merkaptopirogronianu (wg [17,19] zmodyfikowano)

nej. W cytoplazmie enzym ten również jest obecny, lecz ze względu na niewielką zawartość cysteiny w cytosolu jest go znacznie mniej [12]. Wykazano, że 3-MST ulega ekspresji w neuronach mózgu [30] oraz śródbłonku naczyniowym aorty piersiowej [29], nerce, wątrobie czy miokardium [12,19]. CBS i CSE są wytwarzane w wielu narządach i tkankach, takich jak wątroba, nerka, jelito, macica, łożysko czy mózg, jednak CBS jest uważana za dominujące źródło  $H_2S$  w ośrodkowym układzie nerwowym. CSE ponadto wytwarzana jest w aorcie piersiowej oraz żyłach wrotnej, natomiast słabo wykrywana w mózgu i jest uznana za główny enzym wytwarzający  $H_2S$  w układzie sercowo-naczyniowym [12,17].

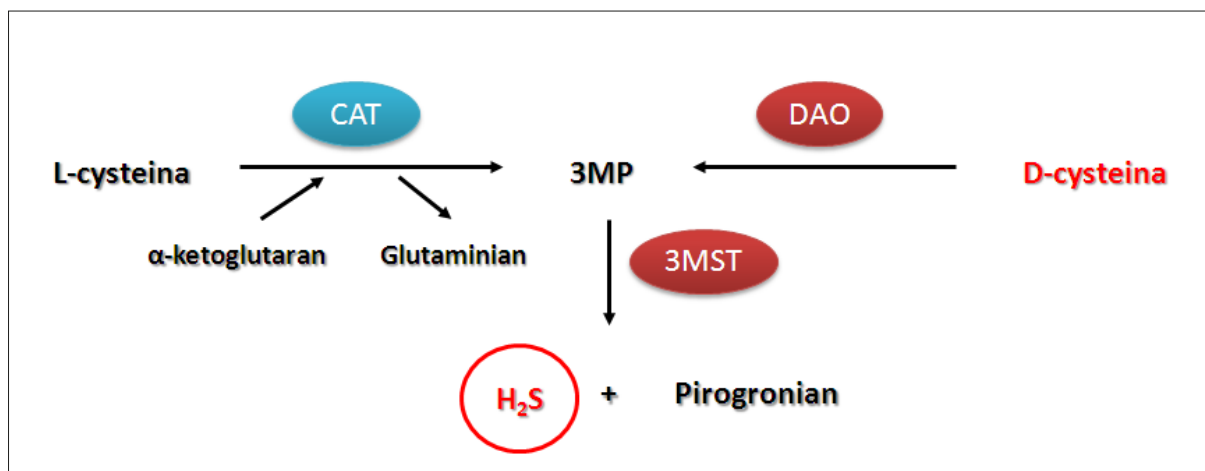
### Wytwarzanie $H_2S$ z D-cysteiny

Nowym odkryciem, dokonany w 2013 r. przez Shibuya i wsp. [28], jest wspomniana już ścieżka syntezy  $H_2S$  z D-cysteiny w tkankach ssaków – aminokwasu szeroko stosowanego w eksperymentach jako negatywna kontrola dla L-cysteiny. Biorą w niej udział dwa enzymy, mianowicie oksydaza D-aminokwasowa (DAO/DAAO) oraz omówiona wyżej transferaza siarkowa 3-merkaptopirogronianu. DAO katalizuje przekształcenie D-cysteiny do achiralnego 3MP, który jest substratem 3MST do wytwarzania  $H_2S$  (ryc. 3). Wytwarzanie  $H_2S$  z L-cysteiny jest optymalne w środowisku o pH 8,4, natomiast z D-cysteiny w środowisku o pH 7,4. Ponadto, enzymy wytwarzające  $H_2S$  z L-cysteiny, tj. CBS, CSE i CAT, są zależne od PLP, a enzymy zaangażowane w ścieżkę

D-cysteiny nie wykazują tej właściwości. Aktywność ścieżki wytwarzania siarkowodoru z D-cysteiny stwierdzono we frakcji mitochondrialnej zawierającej też m.in. peroksysonomy. 3MST jest obecna w mitochondrium, a DAO występuje w peroksysonomach. Nie jest to przeszkodą we współpracy enzymów, ponieważ organelle prowadzą między sobą wymianę metabolitów i enzymów, która odbywa się poprzez transport pęcherzykowy. DAO ulega ekspresji w nerkach i mózgu myszy, zwłaszcza w mózgdzku. Jednak wytwarzanie  $H_2S$  z D-cysteiny jest siedmiokrotnie większe w nerce niż w mózgdzku. Ponadto w nerce stężenie tak wytworzonego  $H_2S$  jest aż 80 razy wyższe niż z L-cysteiny [12,28].

### REGULACJA AKTYWNOŚCI ENZYMÓW

Mimo iż zidentyfikowano kilka ścieżek wytwarzania siarkowodoru, wciąż niewiele wiadomo na temat regulacji aktywności enzymów biorących w nich udział. Czynniki modulującymi aktywność CBS są stymulacja elektryczna neuronów oraz kwas glutaminowy (przebiegacz nerwowy pobudzający) [7]. W wyniku zwiększonego napływu jonów wapnia ( $Ca^{2+}$ ) i aktywacji kalmoduliny obserwuje się gwałtowny wzrost aktywności CBS w komórkach nerwowych. Allosterycznym aktywatorem CBS jest S-adenozylometionina (SAM) – produkt pośredni metabolizmu metioniny. Na wytwarzanie i aktywność CBS w tkance nerwowej ma także wpływ hormon płciowy – testosteron. U samców myszy stężenie  $H_2S$  jest wyższe niż u samic, ponadto kastracja samców obniża jego wytwarzanie [17]. Hamujący



**Ryc. 3.** Synteza siarkowodoru z D-cysteiny. CAT - aminotransferaza cysteinowa; DAO - oksydaza D-aminokwasowa; 3MP - 3-merkaptopirogronian; 3MST - transferaza siarkowa 3 (wg [12] zmodyfikowano)

wpływ na aktywność CBS mają natomiast NO<sup>•</sup> i w większym stopniu CO, które mogą się przyłączać do enzymu [12]. Do nieswoistych inhibitorów CBS należy hydroksylamina [6].

W regulacji aktywności CSE znaczenie mają NO<sup>•</sup> oraz jego donory, np. nitroprusydek sodu, które w przypadku tego enzymu zwiększają poziom jego ekspresji [47]. NO<sup>•</sup> działa również jako modulator wytwarzania H<sub>2</sub>S zwiększając aktywność CSE w tkankach naczyniowych. Dzieje się tak prawdopodobnie przez wzrost aktywności kinazy białkowej G [6,17]. Aktywność CSE jest regulowana także przez jony Ca<sup>2+</sup> niezależnie od kalmoduliny. CSE wytwarza H<sub>2</sub>S w komórce będącej w stanie niepobudzonym (stabilnym) – kiedy stężenie wapnia jest małe. Jednak, gdy wewnątrzkomórkowe stężenie jonów Ca<sup>2+</sup> wzrasta, CSE obniża wytwarzanie H<sub>2</sub>S do około 50% poziomu maksymalnego osiąganego w prawidłowych warunkach [20]. Farmakologicznymi blokerami tego enzymu są natomiast L-propargylglicyna (PAG) oraz β-cyano-L-alanina (BCA) [6].

Aktywność CAT również zależy od wewnątrzkomórkowego stężenia jonów Ca<sup>2+</sup>. A zatem, zgodnie z tym, wytwarzanie H<sub>2</sub>S przez szlak 3MST/CAT jest regulowane przez jony Ca<sup>2+</sup>. Podobnie jak w przypadku enzymu CSE, CAT wykazuje aktywność przy niskim stężeniu jonów Ca<sup>2+</sup>, natomiast kiedy komórka zostanie pobudzona szlak 3MST/CAT zostaje prawdopodobnie całkowicie zatrzymany [12]. Jako inhibitory enzymu 3MST są stosowane kwas 3- oraz 2-merkaptopropionowy [6].

### Katabolizm H<sub>2</sub>S

Siarkowódor w organizmie podlega procesom metabolicznym regulującym jego endogenne stężenie. Do najważniejszych zalicza się utlenianie w mitochondriach oraz cytosolowa metylacja. W pierwszym szlaku H<sub>2</sub>S utleniany jest początkowo do tiosiarczanu, który ulega dalszej przemianie do siarczynu. Proces zachodzi przy współdziałaniu sulfotransferazy tiosiarczan-cyjanek (rodanaza, TST) i polega na

przeniesieniu siarki z tiosiarczanu na cyjanek. Produktami reakcji są tiocyjanian oraz siarczyn. Powstały siarczyn pod wpływem oksydazy siarczynowej zostaje utleniony do siarczanu – głównego produktu końcowego metabolizmu H<sub>2</sub>S wydalanego wraz z niewielką ilością tiosiarczanu z moczem. Drugi szlak katabolizmu H<sub>2</sub>S – metylacja – przebiega w cytoplazmie. Katalizowany jest przez S-metylotransferazę tiolową powodując powstanie metanotolu, a następnie siarczku dimetylu. H<sub>2</sub>S, podobnie jak NO<sup>•</sup> i CO, wychwytywać może również methemoglobina, tworząc sulfhemoglobinę [34].

### BIOLOGICZNA ROLA SIARKOWODORU

Siarkowódor, razem z NO<sup>•</sup> i CO, należy do rodziny labilnych mediatorów, zwanych gazotransmiterami, szybko przemieszczających się przez błonę bez użycia żadnych swoistych transporterów czy receptorów. Jako biologiczny mediator, spełnia najważniejsze kryteria charakterystyczne dla substancji przekąźnikowych: jest syntetyzowany endogennie w regulowanych reakcjach enzymatycznych oraz w stężeniach fizjologicznych wykazuje swoiste działania biologiczne. Wykazuje wiele działań, od cytotoksycznych po cytoprotekcyjne [3,32]; uczestniczy w transdukcji sygnału komórkowego w układach, takich jak nerwowy, krążenia i pokarmowy. Rolę jego jako cząsteczki sygnałowej szczegółowo opisali Tadeusiewicz i Olas [34].

### H<sub>2</sub>S W UKŁADZIE NERWOWYM

Jedną z funkcji jaką spełnia ten gazowy transmiter w układzie nerwowym jest wywołanie nadmiernej stymulacji receptorów kwasu N-metylo-D-asparaginowego (NMDA) przez wpływ na ścieżkę sygnalizacyjną cykliczny adenylinomonofosforan (cAMP)/kinaza białkowa A (PKA). Wytwarzanie cAMP przez cyklazę adenylową aktywuje PKA, która fosforyluje wiele wewnątrzkomórkowych białek i tym samym reguluje funkcje mózgu. Wśród białek tych znajduje się podjednostka NMDAR1 receptora NMDA, której fos-

forylacja powoduje wzrost przepuszczalności jonów  $\text{Ca}^{2+}$  oraz nasilenie długotrwałego wzmocnienia synaptycznego (LTP). LTP jest inną postacią synaptyczną, w wyniku której następuje wzmocnienie odpowiedzi postsynaptycznej na stymulację presynaptyczną [35]. W badaniach wykazano, że donor  $\text{H}_2\text{S}$  – wodorosiarczek sodu (NaHS) – zwiększa wytwarzanie cAMP w pierwotnych kulturach neuronów, jak i komórkach glejowych. Wskazuje to, że  $\text{H}_2\text{S}$  może modulować receptory NMDA przez zmianę wewnątrzkomórkowego stężenia cAMP i wzmacniać indukcję LTP [11]. Jednak nadmierna aktywacja receptora NMDA powoduje przeładownie komórki jonami wapnia prowadząc do jej śmierci [35].

Stosunkowo niedawno odkryto, że  $\text{H}_2\text{S}$  oddziałuje z białkowymi kinazami aktywowanymi mitogenami (MAPK). Rodzina MAPK reguluje różne komórkowe procesy, tj. apoptozę, różnicowanie, metabolizm, podział, czy przeżycie komórki [35]. Przez inhibicję ścieżki sygnalizacyjnej p38 MAPK, siarkowodor hamuje indukowane lipopolisacharydem (LPS) wytwarzanie  $\text{NO}^*$  w komórkach mikrogleju, sugerując, iż może on mieć zastosowanie w leczeniu niedokrwienia mózgu czy chorób neurozapalnych [10].

$\text{H}_2\text{S}$  oddziałuje także na homeostazę jonów  $\text{Ca}^{2+}$  w neuronach, astrocytach i mikrogleju. Powoduje nie tylko aktywację zależnych od napięcia kanałów wapniowych typu L i T, ale również wzrost wewnątrzkomórkowego stężenia jonów  $\text{Ca}^{2+}$ , co aktywuje neurony. Ponadto odgrywa też rolę w uwalnianiu przekazników nerwowych (promowanie komunikacji neuronalnej), plastyczności synaptycznej (długotrwałe wzmocnienie/osłabienie synaptyczne), czy transkrypcji genów [14,35]. Jest również aktywatorem kanałów potasowych zależnych od adenylozotryfosforanu ( $\text{K}_{\text{ATP}}$ ), jak i jonów  $\text{Ca}^{2+}$  ( $\text{K}_{\text{Ca}^{2+}}$ ) w podwzgórzu i neuronalnych liniach komórkowych [35].

W warunkach *in vitro* hamuje także stymulowane potasem uwalnianie hormonu kortykotropowego przez podwzgórze. Sugeruje to pełnienie funkcji negatywnego regulatora osi podwzgórze – przysadka – nadnercza. Podobnie *in vivo* w warunkach spoczynkowych nie wykazywał wpływu na funkcję tej osi, lecz hamował wywołany stresem wzrost glukokortykosteroidów [5].

## $\text{H}_2\text{S}$ w układzie krążenia

Wiele eksperymentów przeprowadzonych zarówno *in vitro*, jak *in vivo* spowodowało, że siarkowodor rozważany jest obecnie jako modulator funkcji układu krążenia, odgrywający główną rolę w homeostatycznej regulacji ciśnienia krwi [6,23]. Wykazuje działanie wazorelaksacyjne – rozszerza naczynia krwionośne, głównie przez zwiększenie aktywności kanałów  $\text{K}_{\text{ATP}}$  występujących w komórkach mięśni gładkich naczyń krwionośnych.  $\text{H}_2\text{S}$  oddziałując bezpośrednio na kanały  $\text{K}_{\text{ATP}}$  zwiększa przepływ jonów  $\text{K}^+$ , co powoduje hiperpolaryzację komórek mięśni gładkich naczyń chroniąc je przed nadmiernym skurczem. Tym samym przyczynia się to do obniżenia ciśnienia krwi w organizmie [36,46].

Naczyniorozszerzające działanie tego gazu zależy od śródbłonka, tlenu azotu i stężenia samego czynnika, nie zależy natomiast od cyklicznego guanozynomonofosforanu (cGMP). Usunięcie śródbłonka lub zablokowanie syntazy tlenu azotu osłabia zdolności  $\text{H}_2\text{S}$  do relaksacji naczyń krwionośnych. Ponadto,  $\text{NO}^*$  pochodzący ze śródbłonka zwiększa wrażliwość komórek mięśniówki gładkiej naczyń na działanie tego gazu, a także wpływa na zwiększenie aktywności CSE i jego wytwarzania w układzie krążenia. Natomiast wpływ  $\text{H}_2\text{S}$  na naczyniorozszerzające działanie  $\text{NO}^*$  nie jest jednoznaczny, gdyż może je nasilać, ale też osłabiać. Według badań wazorelaksacyjne właściwości występują w wyższych stężeniach tego mediatora – około 100  $\mu\text{M}$ , podczas gdy niższe powodują wazokonstrykcję, czyli zwężenie światła naczyń krwionośnych [3,34]. Istnieją doniesienia o bezpośrednim hamowaniu aktywności śródbłonkowej syntazy tlenu azotu (eNOS) przez NaHS, co może być jedną z przyczyn skurczowego wpływu na naczynia na skutek niedostatecznego wytwarzania  $\text{NO}^*$  [13]. Inne źródło podaje natomiast, że siarkowodor zwiększa generację  $\text{NO}^*$  przez eNOS w wyniku zależnej od kinazy Akt fosforylacji tego enzymu w miejscu Ser 1177, jednak mechanizm aktywacji tej kinazy przez  $\text{H}_2\text{S}$  jest nieznan [26,27]. W warunkach fizjologicznych  $\text{H}_2\text{S}$  ulega reakcji z  $\text{NO}^*$  tworząc produkt, który nie ma aktywności naczyniowej, lecz zmniejsza jedynie biodostępność obu gazowych mediatorów. Produktem tym jest nitrozotiol. W związku z tym sugeruje się, że główną rolą  $\text{H}_2\text{S}$  w układzie krążenia może być raczej regulowanie lokalnych stężeń i aktywności  $\text{NO}^*$ , niż jak przypuszczano wcześniej – działanie jako bezpośredni wazorelaksant [42].

Siarkowodor prawdopodobnie może mieć bezpośredni wpływ na ścianę naczyń krwionośnych [23]. Przeprowadzone badania wskazują, iż hamuje proliferację komórek mięśni gładkich aorty przez promowanie procesu apoptozy, a także ogranicza rozwój zmian miażdżycowych. Wykazano, że nadekspresja enzymu CSE, równoznaczna ze zwiększonym wytwarzaniem endogennego  $\text{H}_2\text{S}$ , stymuluje apoptozę komórek mięśni gładkich aorty ludzi *in vitro*. Zarówno nadekspresja enzymu syntetyzującego  $\text{H}_2\text{S}$ , jak i egzogenne podanie  $\text{H}_2\text{S}$  wywołują te same działania i są związane ze zwiększoną aktywacją białkowych kinaz aktywowanych mitogenami [43]. Zwłaszcza kinazy regulowanej sygnałami zewnątrzkomórkowymi (ERK) w tym przypadku kierującej komórki na drogę apoptozy przez aktywację kaspazy 3.

Warto również zaznaczyć, że siarkowodor wykazuje właściwości przeciwhemostatyczne hamując różne etapy aktywacji płytek krwi, tj. adhezję czy agregację. Płytki krwi, będąc w bliskim kontakcie ze ścianą naczyń krwionośnych, umożliwiają szybkie rozpoznanie uszkodzeń powierzchni komórek śródbłonka spełniając istotną rolę w procesie hemostazy przez hamowanie krwawienia [23]. Badania *in vitro* wykazały, że inhibicja agregacji płytek jest zależna od stężenia NaHS, przy czym po podaniu NaHS w stężeniu 10 mM następuje całkowite jej zahamowanie. Mimo iż wykluczono związek z syntezą tlenu azotu, zaangażowanie kanałów  $\text{K}_{\text{ATP}}$  oraz udział mediatorów, takich jak cAMP, cGMP, molekularny mechanizm tego zjawiska nadal nie jest znany

[19,45]. Oprócz antyagregacyjnego działania stwierdzono inhibicję adhezji płytek, zmianę adhezyjnych właściwości kolagenu i fibrynogenu. Przypuszcza się, że jest to związane z hamowaniem aktywacji szlaku sygnałowego białek G. W związku z powyższym sugeruje się, iż interakcje tych zmodyfikowanych białek mogą być jedną z przyczyn zaburzeń adhezji [22,23].

Najnowsze badania wykazują również wpływ NaHS na proces krzepnięcia krwi i fibrylizy. Przeprowadzone eksperymenty udowodniły, że NaHS w stężeniu 0,01-100  $\mu\text{M}$  wydłuża czas krzepnięcia, obniża maksymalną prędkość polimeryzacji fibrynogenu, a także stymuluje lizę fibryny w ludzkim osoczu w warunkach *in vitro*. Mimo iż mechanizm tych zmian nie jest znany, otrzymane wyniki są wyraźnym argumentem wskazującym na przeciwwkrzepliwie działanie egzogenne  $\text{H}_2\text{S}$  [24].

## $\text{H}_2\text{S}$ w układzie pokarmowym

Nie udało się jeszcze jednoznacznie określić roli, jaką spełnia siarkowodor w układzie pokarmowym, jednak wpływ ten nie ulega wątpliwości.

Wiadomo, że gaz wykazuje działanie gastroprotekcjne; przez wzrost naczyniowego przepływu krwi w żołądku chroni błonę śluzową żołądka u szczurów. Przeprowadzone badania wykazały zredukowanie skutków gastropatii rozwijającej się w wyniku przewlekłego stosowania inhibitorów cyklooksygenazy – niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ). Połączenie donatorów siarkowodoru z NLPZ tak, aby w organizmie uwalniany był ten gazowy mediator, powoduje zmniejszenie stopnia powstawania polekowych uszkodzeń w błonie śluzowej żołądka szczura. Ponadto, zaobserwowano szybsze gojenie się przewlekłych wrzodów żołądka [38].

Siarkowodor wpływa na sekrecję jonów wodorowęglanowych ( $\text{HCO}_3^-$ ) w jelicie cienkim. Błona śluzowa jelita pokryta jest tzw. wydzieliną alkaliczną składającą się z ochronnego śluzu oraz jonów  $\text{HCO}_3^-$  i jest jej naturalną barierą ochronną. W warunkach fizjologicznych działa neutralizująco na przedostający się do dwunastnicy zakwaszony w żołądku pokarm. Donor siarkowodoru – NaHS zależnie od dawki zwiększa sekrecję jonów  $\text{HCO}_3^-$  w jelicie cienkim szczura. O mechanizmie tego procesu są sprzeczne informacje podające zależność od kanałów  $\text{K}_{\text{ATP}}$  bądź ją wykluczając [18].

Źródłem egzogenne  $\text{H}_2\text{S}$  w organizmie są bakterie jelitowe. Wytwarzany przez nie gaz może wpływać na funkcjonowanie śluzówki przewodu pokarmowego, jednak badania przeprowadzone na liniach komórkowych ludzkich kolonocytów wykazały zależność od dawki donora  $\text{H}_2\text{S}$  ( $\text{Na}_2\text{S}$ ) genotoksyczność. Nagromadzenie uszkodzeń materiału genetycznego prowadzi natomiast do chorób nowotworowych [2,18].

Otrzymane eksperymentalnie dane sugerują, iż  $\text{H}_2\text{S}$  hamuje wydzielanie insuliny na skutek oddziaływania z kanałami  $\text{K}_{\text{ATP}}$  w komórkach  $\beta$  wysp trzustkowych, odgrywających

ważną rolę w regulacji tego procesu. Wzrost stężenia glukozy pobudza do wytwarzania i akumulacji ATP w komórce. Następuje zablokowanie kanałów  $\text{K}_{\text{ATP}}$  (co prowadzi do depolaryzacji błony komórkowej), następnie otwarcie zależnych od napięcia kanałów wapniowych i napływ jonów  $\text{Ca}^{2+}$ , a to powoduje wydzielanie insuliny.  $\text{H}_2\text{S}$  aktywując kanały potasowe uniemożliwia depolaryzację błony i sekrecję insuliny. Dzieje się tak przy wysokim stężeniu tego czynnika, jednak jego stężenie jest regulowane przez stężenie glukozy. Duża zawartość glukozy hamuje wytwarzanie  $\text{H}_2\text{S}$  przez wyspy trzustkowe i powoduje sekrecję insuliny [34,44].

## DONORY I TERAPEUTYKI UWALNIAJĄCE SIARKOWODÓR

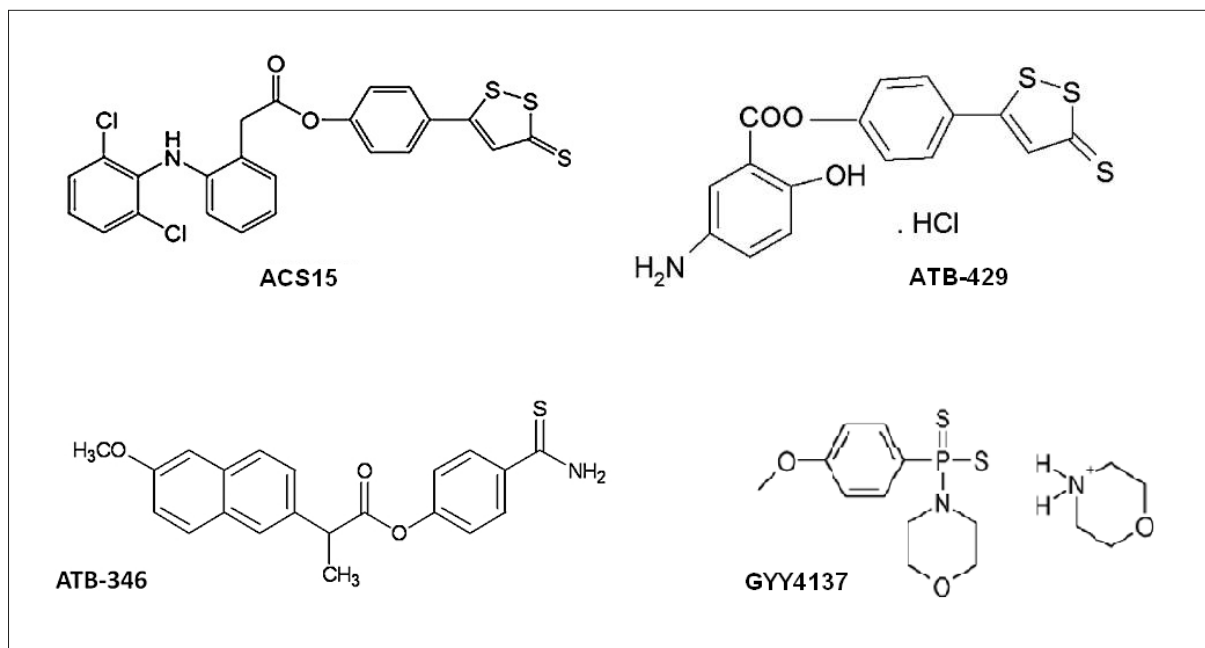
### Klasyczne donory $\text{H}_2\text{S}$

Powszechnie stosowanym w badaniach naukowych źródłem siarkowodoru jest wodorosiarczek sodu (NaHS). Jego zaletą jest łatwość dysocjacji na kation sodowy ( $\text{Na}^+$ ) oraz anion wodorosiarczkowy ( $\text{HS}^-$ ), który w pewnym stopniu wiąże kationy wodoru ( $\text{H}^+$ ) tworząc niezdisocjowaną, gazową postać siarkowodoru. Jednak NaHS jest donorem szybko uwalniającym  $\text{H}_2\text{S}$ , ale przez to również krótkotrwałym jego źródłem, co nie jest już pożądanym zjawiskiem. Biorąc pod uwagę terapeutyczne zastosowanie, idealny donor siarkowodoru powinien uwalniać go powoli i w umiarkowanych ilościach [17,34]. W literaturze jako źródło  $\text{H}_2\text{S}$  spotyka się także inną sól – siarczek sodu ( $\text{Na}_2\text{S}$ ). Jako roztwór do wstrzykiwania został opracowany do klinicznego zastosowania i przechodzi badania w kierunku terapii urazów niedokrwiennie-reperfuzyjnych oraz uszkodzeń nerek [23].

### Terapeutyki uwalniające $\text{H}_2\text{S}$

W ostatnich latach powstała nowa grupa związków będących źródłem  $\text{H}_2\text{S}$ , niesteroidowe leki przeciwzapalne uwalniające siarkowodor (S-NLPZ). Jest to nowa klasa tradycyjnych NLPZ, w których rdzeniowa struktura macierzystego związku została zmodyfikowana przez dodanie ugrupowania uwalniającego cząsteczkę  $\text{H}_2\text{S}$ . Rozwój S-NLPZ oparty jest na założeniu wykazywania, prócz właściwości przeciwzapalnych, potencjału ochronnego na układ pokarmowy oraz krążenia. Badania nad nimi wykazały typowe działanie NLPZ, jednak nie stwierdzono jeszcze jednoznacznie, czy zmniejszają toksyczne działanie na układ pokarmowy [9].

Jednym ze związków należących do S-NLPZ jest pochodna diklofenaku uwalniająca  $\text{H}_2\text{S}$  (S-diklofenak), taka jak 2-[(2,6-dichlorophenyl)amino] benzeneacetic acid 4-(3-thioxo-3H-1,2-dithiol-5-yl) phenyl ester (ACS15). S-diklofenak charakteryzuje się powolnym uwalnianiem  $\text{H}_2\text{S}$  zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*. Wykazano, że związek ten redukuje wytwarzanie prozapalnych cytokin w zwierzęcym modelu zapalenia stawów przez mechanizm obejmujący wytwarzanie  $\text{H}_2\text{S}$ , hamuje aktywację jądrowego czynnika kappa B (NF- $\kappa\text{B}$ ) oraz chroni przed uszkodzeniami oksydacyjnymi. Niedawne badania wykazały również hamowanie



Ryc. 4. Wzory chemiczne terapeutyków uwalniających H<sub>2</sub>S: ACS15, ATB-429, ATB-346, GYY4137 [wg danych: 8,9,15,39]

wytwarzania prostaglandyn i proliferacji komórek raka płuc, a także inhibicję występującej podczas choroby nowotworowej piersi osteoklastogenezy i osteolizy kości [9].

Innym związkiem S-NLPZ jest pochodna mesalazyny - 5-amino-2-hydroxybenzoic acid 4-(5-thioxo-5H-[1,2] dithiol-3yl)-phenyl ester (ATB-429). Składa się z cząsteczki mesalazyny połączonej wiązaniem estrowym z cząsteczką 5-(*p*-hydroxyphenyl)-1,2-dithione-3-thione (ADT-OH), pełniącą rolę ugrupowania uwalniającego H<sub>2</sub>S. Leczenie mesalazyną jest terapią pierwszego rzutu w chorobach zapalnych jelit, tj. wrzodziejące zapalenie jelita grubego, czy choroba Leśniowskiego-Crohna, jednak skuteczność ich jest tylko umiarkowana. Badania na mysim modelu zapalenia jelit wykazały, że w porównaniu do macierzystego leku, ATB-429 ma znacznie nasilone działanie przeciwzapalne, co może być wynikiem hamującego wpływu H<sub>2</sub>S na przyleganie leukocytów do śródbłonna naczyń oraz oddziaływania na kanały K<sub>ATP</sub> [8].

Do grupy zmodyfikowanych związków przeciwzapalnych należy również 2-(6-methoxynaphthalen-2-yl)-propionic acid 4-thiocarbamoyl-phenyl ester (ATB-346). Jest to uwalniająca H<sub>2</sub>S pochodna stosowanego powszechnie NLPZ – naproksenu. Działa bardziej efektywnie i nie powoduje uszkodzeń błony śluzowej układu pokarmowego. Badania przeprowadzone na myszach wykazały silniejsze zahamowanie aktywności cyklooksygenazy-2 i infiltracji leukocytów przez ATB-346 w porównaniu do macierzystego związku. Ponadto, ATB-346 przyczynił się także do przyspieszenia procesu gojenia wrzodów żołądka [39].

Donorem H<sub>2</sub>S o przeciwzapalnych właściwościach, jednak nienależącym *stricto* do grupy pochodnych NLPZ, jest mor-

pholin-4-ium-4 methoxyphenyl(morpholino) phosphorothioate (GYY4137) - rozpuszczalny w wodnym roztworze związek, charakteryzujący się powolnym uwalnianiem H<sub>2</sub>S zarówno w układzie *in vitro*, jak *in vivo*. Jednak zdolność do uwalniania tego gazu zależy od pH roztworu i jest efektywniejsza w niskim pH. GYY4137 wykazuje przeciwzapalne właściwości w szczurzym modelu wstrząsu endotoksynicznego przez redukcję generacji mediatorów zapalenia, tj. prostaglandyna-2, czynnik martwicy guza (TNF-α), ale także podwyższa stężenie przeciwzapalnej cytokiny – interleukiny-10 [16]. Wzory powyższych związków przedstawiono na ryc. 4.

### Naturalne źródło H<sub>2</sub>S

Oprócz syntetycznych donorów H<sub>2</sub>S istnieje naturalne i bogate jego źródło, znany od wieków czosnek pospolity (*Allium sativum*). Pochodząca z Azji Środkowej roślina ma wiele leczniczych właściwości, począwszy od działania antybakteryjnego i przeciwgrzybiczego, poprzez przeciwwirusowe, po ogólnie dobroczynne na układ sercowo-naczyniowy. Czosnek pospolity biochemiczne właściwości zawdzięcza prawdopodobnie obecnym w jego składzie licznym związkom zawierającym siarkę. Należą do nich m.in.: allina (sulfotlenek S-allilocysteiny), allicyna (tiosulfonian dialilu), disiarczek dialilu i trisiarczek dialilu, stanowiąc jednocześnie substraty do wytwarzania H<sub>2</sub>S. Stwierdzenie, iż właściwości czosnku to zasługa siarkowodoru potwierdza coraz więcej badań i przemawia za tym nakładanie się ich działań w układzie krążenia. Obniżają ciśnienie krwi, hamują agregację płytek krwi oraz wykazują działanie przeciwmiażdżycowe. Czosnek ponadto obniża poziom cholesterolu, a jego długotrwałe przyjmowanie zmniejsza ryzyko chorób układu krążenia [23,33].



## PISMIENICTWO

- [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] Bełtowski J.: Siarkowodór jako biologicznie aktywny mediator w układzie krążenia. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2004; 58: 285-291
- [4] Chwatko G.: Oznaczanie siarkowodoru w próbkach biologicznych. *Wiadom. Chem.*, 2010; 64: 243-262
- [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] Di Masi A., Ascenzi P.: H<sub>2</sub>S: a "double face" molecule in health and disease. *Biofactors*, 2013; 39: 186-196
- [7] 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
- [8] Fiorucci S., Orlandi S., Mencarelli A., Caliendo G., Santagada V., Distrutti E., Santucci L., Cirino G., Wallace J.L.: Enhanced activity of a hydrogen sulphide-releasing derivative of mesalamine (ATB-429) in a mouse model of colitis. *Br. J. Pharmacol.*, 2007; 150: 996-1002
- [9] Frantzas J., Logan J.G., Mollat P., Sparatore A., Del Soldato P., Ralston S.H., Idris A.I.: Hydrogen sulphide-releasing diclofenac derivatives inhibit breast cancer-induced osteoclastogenesis *in vitro* and prevent osteolysis *ex vivo*. *Br. J. Pharmacol.*, 2012; 165: 1914-1925
- [10] Hu L.F., Wong P.T., Moore P.K., Bian J.S.: Hydrogen sulfide attenuates lipopolysaccharide-induced inflammation by inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase in microglia. *J. Neurochem.*, 2007; 100: 1121-1128
- [11] Kimura H.: Hydrogen sulfide induces cyclic AMP and modulates the NMDA receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2000; 267: 129-133
- [12] Kimura H.: The physiological role of hydrogen sulfide and beyond. *Nitric Oxide*, 2014; 41: 4-10
- [13] Kubo S., Doe I., Kurokawa Y., Nishikawa H., Kawabata A.: Direct inhibition of endothelial nitric oxide synthase by hydrogen sulfide: contribution to dual modulation of vascular tension. *Toxicology*, 2007; 232: 138-146
- [14] Lee S.W., Hu Y.S., Hu L.F., Lu Q., Dawe G.S., Moore P.K., Wong P.T., Bian J.S.: Hydrogen sulphide regulates calcium homeostasis in microglial cells. *Glia*, 2006; 54: 116-124
- [15] Lee Z.W., Zhou J., Chen C.S., Zhao Y., Tan C.H., Li L., Moore P.K., Deng L.W.: The slow-releasing hydrogen sulfide donor, GYY4137, exhibits novel anti-cancer effects *in vitro* and *in vivo*. *PLoS One*, 2011; 6: e21077
- [16] Li L., Salto-Tellez M., Tan C.H., Whiteman M., Moore P.K.: GYY4137, a novel hydrogen sulfide-releasing molecule, protects against endotoxic shock in the rat. *Free Radic. Biol. Med.*, 2009; 47: 103-113
- [17] Łowicka E., Bełtowski J.: Hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) – the third gas of interest for pharmacologists. *Pharmacol. Rep.*, 2007; 59: 4-24
- [18] Magierowski M., Jasnos K., Kwiecień S., Brzozowski T.: Rola siarkowodoru w fizjologii przewodu pokarmowego i w mechanizmie gastroprotekcji. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2013; 67: 150-156
- [19] Malinowska J., Babicz K., Olas B.: Biologiczna aktywność siarkowodoru. *Wiad. Chem.*, 2011; 65: 289-299
- [20] Mikami Y., Shibuya N., Ogasawara Y., Kimura H.: Hydrogen sulfide is produced by cystathionine γ-lyase at the steady-state low intracellular Ca<sup>2+</sup> concentrations. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2013; 431: 131-135
- [21] Morel A., Malinowska J., Olas B.: Antioxidative properties of hydrogen sulfide may involve in its antiadhesive action on blood platelets. *Clin. Biochem.*, 2012; 45: 1678-1682
- [22] Morel A., Malinowska J., Olas B.: Hydrogen sulfide changes adhesive properties of fibrinogen and collagen *in vitro*. *Platelets*, 2014; 25: 147-149
- [23] Olas B.: Hydrogen sulfide in hemostasis: friend or foe? *Chem. Biol. Interact.*, 2014; 217: 49-56
- [24] Olas B., Kontek B.: The possible role of hydrogen sulfide as a modulator of hemostatic parameters of plasma. *Chem. Biol. Interact.*, 2014; 220: 20-24
- [25] Olson K.R., Healy M.J., Qin Z., Skovgaard N., Vulesevic B., Duff D.W., Whitfield N.L., Yang G., Wang R., Perry S.F.: Hydrogen sulfide as an oxygen sensor in trout gill chemoreceptors. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2008; 295: R669-R680
- [26] Predmore B.L., Julian D., Cardounel A.J.: Hydrogen sulfide increases nitric oxide production from endothelial cells by an Akt-dependent mechanism. *Front. Physiol.*, 2011; 2: 104
- [27] Predmore B.L., Lefter D.J., Gojón G.: Hydrogen sulfide in biochemistry and medicine. *Antioxid. Redox Signal.*, 2012; 17: 119-140
- [28] Shibuya N., Koike S., Tanaka M., Ishigami-Yuasa M., Kimura Y., Ogasawara Y., Fukui K., Nagahara N., Kimura H.: A novel pathway for the production of hydrogen sulfide from D-cysteine in mammalian cells. *Nat. Commun.*, 2013; 4: 1366
- [29] 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
- [30] 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
- [31] Stetkiewicz J.: Siarkowodór. Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy, 2011; 4: 97-117
- [32] Szabó C.: Hydrogen sulphide and its therapeutic potential. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2007; 6: 917-935
- [33] Tadeusiewicz J., Krysztofiak A., Olas B.: Czosnek – panaceum na choroby układu krążenia? *Kosmos*, 2014; 63: 37-44
- [34] Tadeusiewicz J., Olas B.: Siarkowodór – gaz nie tylko o właściwościach toksycznych. *Kosmos*, 2014; 63: 125-135
- [35] Tan B.H., Wong P.T., Bian J.S.: Hydrogen sulfide: a novel signaling molecule in the central nervous system. *Neurochem. Intern.*, 2010; 56: 3-10
- [36] Tang G., Wu L., Liang W., Wang R.: Direct stimulation of K<sub>ATP</sub> channels by exogenous and endogenous hydrogen sulfide in vascular smooth muscle cells. *Mol. Pharmacol.*, 2005; 69: 1757-1764
- [37] Tanizawa K.: Production of H<sub>2</sub>S by 3-mercaptopyruvate sulphurtransferase. *J. Biochem.*, 2011; 149: 357-359
- [38] Wallace J.L.: Hydrogen sulfide-releasing anti-inflammatory drugs. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2007; 28: 501-505
- [39] Wallace J.L., Caliendo G., Santagada V., Cirino G.: Markedly reduced toxicity of a hydrogen sulphide-releasing derivative of naproxen (ATB-346). *Br. J. Pharmacol.*, 2010; 159: 1236-1246
- [40] Warenycia M.W., Goodwin L.R., Benishin C.G., Reiffenstein R.J., Francom D.M., Taylor J.D., Dieken F.P.: Acute hydrogen sulfide poisoning. Demonstration of selective uptake of sulfide by the brain-

---

stem by measurement of brain sulfide levels. *Biochem. Pharmacol.*, 1989; 38: 973-981

[41] Whiteman M., Armstrong J., Chu S.H., Jia-Ling S., Wong B., Cheung N.S., Halliwell B., Moore P.K.: The novel neuromodulator hydrogen sulfide: an endogenous peroxynitrite scavenger? *J. Neurochem.*, 2004; 90: 765-768

[42] Whiteman M., Li L., Kostetski I., Chu S.H., Siau J.L., Bhatia M., Moore P.K.: Evidence for the formation of a novel nitrosothiol from the gaseous mediators nitric oxide and hydrogen sulphide. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2006; 343: 303-310

[43] Yang G., Wu L., Wang R.: Pro-apoptotic effect of endogenous H<sub>2</sub>S on human aorta smooth muscle cells. *FASEB J.*, 2006; 20: 553-555

[44] Yang W., Yang G., Jia X., Wu L., Wang R.: Activation of K<sub>ATP</sub> chan-

nels by H<sub>2</sub>S in rat insulin-secreting cells and the underlying mechanisms. *J. Physiol.*, 2005; 569: 519-531

[45] Zagli G., Patacchini R., Trevisani M., Abbate R., Cinotti S., Gensini G.F., Masotti G., Geppetti P.: Hydrogen sulfide inhibits human platelet aggregation. *Eur. J. Pharmacol.*, 2007; 559: 65-68

[46] Zhao W., Wang R.: H<sub>2</sub>S-induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2002; 283: H474-H480

[47] 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

---

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.