

BIOLOGICZNA AKTYWNOŚĆ SIARKOWODORU
BIOLOGICAL ACTIVITY OF HYDROGEN SULFIDE

Joanna Malinowska*, Karolina Babicz, Beata Olas

*Katedra Biochemii Ogólnej, Uniwersytet Łódzki,
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź
tel/fax: (0-42) 635-44-82
e-mail: malinowskaj@hotmail.com

Abstract

Wstęp

1. Powstawanie siarkowodoru
2. Regulacja stresu oksydacyjnego przez siarkowodór
3. Wpływ siarkowodoru na relaksację komórek mięśni gładkich naczyń krwionośnych (VSMC)
4. Proliferacja komórek mięśni gładkich ściany naczyń; rola siarkowodoru
5. Wpływ siarkowodoru na agregację płytek krwi

Piśmiennictwo cytowane



mgr Joanna Malinowska w 2009 roku ukończyła studia na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego. Od 2009 roku jest doktorantką w Katedrze Biochemii Ogólnej UŁ. Celem jej pracy jest zbadanie wpływu homocysteiny i jej tiolaktonu na funkcje biologiczne płytek krwi i aktywność hemostatyczną wybranych białek osocza, w tym fibrynogenu.



Karolina Babicz jest studentką V roku na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego. Obecnie pisze pracę magisterską w Katedrze Biochemii Ogólnej. Celem jej pracy jest zbadanie wpływu homocysteiny, tiolaktonu homocysteiny i wyciągu z aronii na aktywność hemostatyczną fibrynogenu.

dr hab. Beata Olas od 1997 roku jest zatrudniona w Katedrze Biochemii Ogólnej Uniwersytetu Łódzkiego, gdzie pracuje obecnie na stanowisku prof. nadzw. UŁ. Prace doktorską pt. „Badanie mechanizmu działania cisplatyny na metabolizm i proces aktywacji płytek krwi” obroniła w roku 1997. Kilkumiesięczny staż podoktorski, związany z badaniem mechanizmów działania resweratrolu i jego pochodnych, odbyła w Instytucie Biochemii (Uniwersytet w Bergen, Norwegia). W roku 2005 zakończyła przewód habilitacyjny – tytuł rozprawy habilitacyjnej „Właściwości biologiczne i mechanizm działania resweratrolu – naturalnego związku fenolowego w płytkach krwi”. Jej obecne zainteresowania naukowe obejmują m.in. poznanie roli wybranych związków tiolowych, w tym homocysteiny i jej pochodnych, np. tiolaktonu homocysteiny w zaburzeniach procesu hemostazy, które to mogą być powodem licznych chorób układu krążenia.

ABSTRACT

Hydrogen sulfide (H_2S) is a well known toxic gas that is synthesized from amino acids: cysteine (Cys) and homocysteine (Hcys) by two enzymes: cystathionine- β -synthase and cystathionine- γ -lyase (Fig. 1) [3]. Hydrogen sulfide, like nitric oxide (NO) and carbon monoxide (CO) is a signaling molecule in different systems [4]. Moreover, hydrogen sulfide has other various biological properties [8]. It induces hypotension in vivo and vasodilation in vitro by opening KATP channels in vascular smooth muscle cells [2, 5, 15]. Deficiency of H_2S may contribute to atherogenesis in some patients with hyperhomocysteinemia, in whom the metabolism of homocysteine to cysteine and H_2S is compromised by vitamin B_6 deficiency. Reduced H_2S production in brain was observed in patients with Alzheimer's disease. On the other hand, excess of H_2S may lead to mental homoretardation in patients with Down's syndrome and may be involved in the pathogenesis of hypotension associated with septic shock [6]. This review summarizes the endogenous metabolism, physiological and pathological function of hydrogen sulfide.

Keywords: hydrogen sulfide, homocysteine, hyperhomocysteinemia, oxidative stress, cardiovascular system

Słowa kluczowe: siarkowodór, homocysteina, hiperhomocysteinemia, stres oksydacyjny, układ sercowo-naczyniowy

WSTĘP

Od lat wiadomo, że siarkowodor (H_2S) jest gazem toksycznym, ale jednocześnie jest leczniczym składnikiem wód źródłanych. Siarkowodor występujący w organizmach żywych może być pochodzenia egzogenego, ale także może powstawać jako produkt uboczny w przemianach aminokwasów siarkowych. Po raz pierwszy rzetelnych dowodów potwierdzających obecność endogenego H_2S w tkankach ssaków dostarczyły przeprowadzone w 1989 roku badania autopsyjne tkanki mózgowej szczurów i tkanek ludzkich. Przełomem w badaniach nad tym gazem okazały się jednak prace badawcze Abe i Kimura z roku 1996 [1]. Ich odkrycie, że H_2S jest syntetyzowany w hipokampie na drodze zależnej od enzymów wywołało lawinowy wzrost zainteresowania nad tym fizjologicznie aktywnym mediatorem gazowym [2].

W warunkach normalnych H_2S jest bezbarwnym gazem o charakterystycznym zapachu zgniłych jaj, znanym przede wszystkim ze swoich właściwości toksycznych. W roztworach wodnych i pH zbliżonym do 7,4 – około 1/3 H_2S występuje w formie niezdysonowanej, a około 2/3 dysonuje na jony H^+ i HS^- , a następnie na S^{2-} . Podobnie jak tlenek azotu (NO) i tlenek węgla (CO) zwany powszechnie „czadem”, H_2S jest związkiem lipofilnym, swobodnie dyfundującym przez błony komórkowe, jednak z powodu jego częściowej dysonacji, błony komórkowe są dla niego słabiej przepuszczalne w porównaniu z NO czy CO [3].

Fizjologiczne stężenie H_2S w płynach ustrojowych i większości tkanek wynosi około 50 μM , przy czym w mózgu może być niemal 3-krotnie wyższe niż w surowicy [4]. W wysokich stężeniach H_2S jest zdolny do tworzenia kompleksów z Fe^{3+} mitochondrialnej oksydazy cytochromowej, czego konsekwencją jest zahamowanie komórkowego metabolizmu oksydacyjnego. H_2S może również hamować aktywność anhidrazy węglanowej i aminotransferazy tyrozynowej [5]. Zmiany endogenego stężenia siarkowodoru stwierdzono w wielu stanach chorobowych. Zwiększenie stężenia H_2S zaobserwowano m.in. w zespole Downa, zapaleniu okrężnicy, cukrzycy, w sepsie, natomiast obniżenie stężenia H_2S wykazano w chorobie Alzheimera, nadciśnieniu tętniczym czy marskości wątroby [6]. Dokładne właściwości fizyko-chemiczne oraz metody oznaczania siarkowodoru w materiale biologicznym zostały opisane przez Chwatko [7].

W ostatnich latach stwierdzono, że siarkowodor w stężeniach zbliżonych do fizjologicznych wykazuje wiele biologicznych działań [8]. Z tego też względu, część działań uznawanych, w wyniku uprzednio przeprowadzonych eksperymentów za toksyczne, może obecnie mieć znaczenie fizjologiczne [6]. Dzisiaj już wiemy, że siarkowodor, podobnie jak tlenek azotu czy tlenek węgla jest kolejnym nieorganicznym gazem pełniącym rolę mediatora w układzie sercowo-naczyniowym [4]. W układzie nerwowym aktywuje on też receptory kwasu *N*-metylo-*D*-asparaginowego. Ponadto, siarkowodor może spełniać rolę regulatora stresu oksydacyjnego towarzyszącego wielu stanom patologicznym. W niniejszym artykule przeglądowym opisano biolo-

giczną aktywność siarkowodoru, która nie jest w pełni poznana i jest zagadnieniem budzącym wiele kontrowersji.

1. POWSTAWANIE SIARKOWODORU

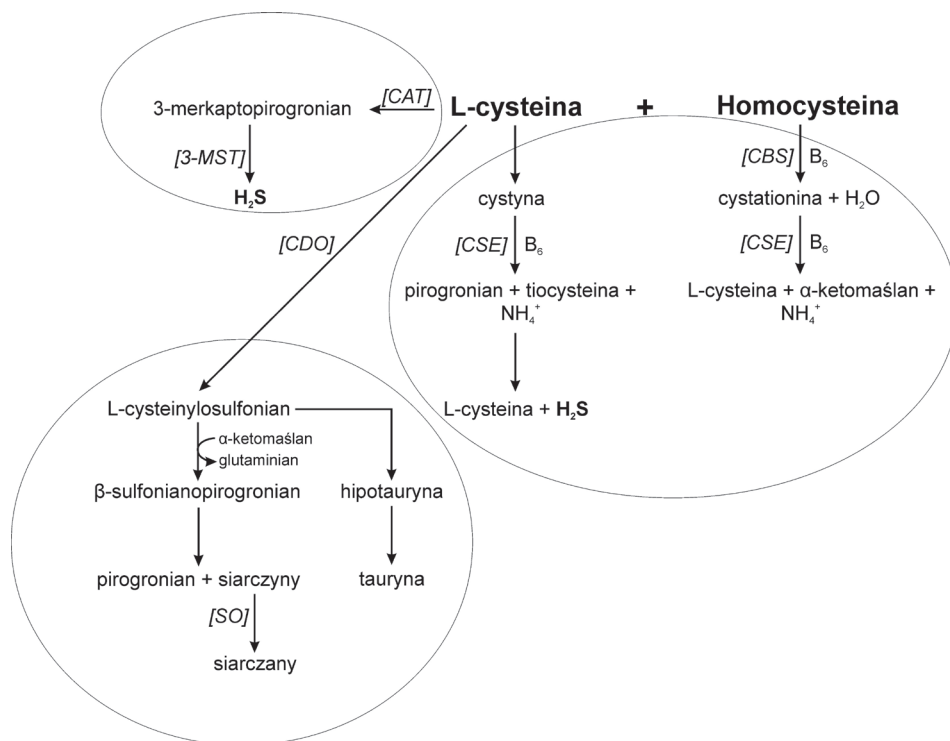
Siarkowodor może powstawać jako produkt uboczny w przemianach aminokwasów siarkowych: homocysteiny (Hcys) i cysteiny (Cys). Hcys jest pośrednim aminokwasem, syntetyzowanym podczas przemian metioniny do cysteiny, we wszystkich rodzajach komórek, które występują w organizmie człowieka i zwierząt. Metabolizm tego aminokwasu może zachodzić w dwojaki sposób – na drodze remetylacji do metioniny lub transsulfuracji do cysteiny. Remetylacja Hcys do metioniny jest szczególnie ważną drogą metabolizmu Hcys, dlatego, że tylko ta może zachodzić w komórkach śródbłonna naczyń krwionośnych. Reakcja remetylacji jest reakcją odwracalną, katalizowaną przez syntazę metioninową lub metylotransferazę beta-ina-homocysteina i reduktazę metylenotetrahydrofolianową. Szczególną rolę w tym sposobie metabolizowania Hcys odgrywa kwas foliowy, który jest tu dawcą grupy metylowej [9]. Innym dawcą grupy metylowej może być także betaina, natomiast witamina B₁₂ i witamina PP są niezbędnymi kofaktorami do przemian pochodnych tetrahydrofolianu [10]. Kwas foliowy w ścianie tętnic oprócz tego, że jest donorem grupy metylowej dla reakcji remetylacji Hcys, pełni także istotną rolę w tzw. reakcji czółenka folianowego. W reakcji tej tetrahydrofolian (THF) jest dawcą wodoru i elektronów – niezbędnymi do redukcji dihydrobiopteryny (BH2) do tetrahydrobiopteryny (BH4). BH4 pełni rolę miejscowego przeciwutleniacza i jest kofaktorem śródbłonkowej syntazy tlenu azotu (eNOS), która wytwarza NO rozszerzający naczynia krwionośne. Ważny jest fakt, iż reakcja czółenka folianowego ma „pierwszeństwo” przed reakcją remetylacji Hcys do wykorzystania folianu do własnych potrzeb. Dlatego też, zbyt mała ilość kwasu foliowego sprawia, że jest on „zabierany” od reakcji remetylacji i zostaje wykorzystany do przekształcenia BH2 w BH4. Jeśli folianu jest za mało, aby mogły zostać przeprowadzone obie reakcje (remetylacja Hcys i redukcja BH2 do BH4) wówczas wzrasta wewnątrzkomórkowe stężenie Hcys w wyniku zaniedbania reakcji remetylacji [11].

Reakcja transsulfuracji Hcys do cysteiny w odróżnieniu od reakcji remetylacji jest reakcją nieodwracalną, zachodzącą jedynie w nerce, trzustce i jelicie cienkim, katalizowaną przez β -syntazę cystationiny (CBS). Hcys ulega kondensacji z seryną tworząc cystationinę. Cystationina zostaje przekształcona przez γ -liazę cystationiny (CSE) do α -ketomasłanu i cysteiny [12]. W warunkach fizjologicznych cysteina wykorzystywana jest jako substrat do produkcji, m.in. endogennego siarkowodoru. Znane są dwa główne szlaki metabolizmu cysteiny. W pierwszym cyklu przemian dochodzi do oksydacyjnego przekształcenia cysteiny do siarczynu cysteiny, w reakcji katalizowanej przez enzym dioksygenazę cysteinową (CDO). Powstały siarczyn cysteiny może być następnie metabolizowany na drodze dekarboksylacji do tauryny lub przekształcany do pirogronianu i siarczynów. W dalszym etapie powstałe siar-

czyny utleniane są do siarczanów przez oksydazę siarczynową (SO) [3]. Z kolei drugi szlak przemian jest związany z nieoksydacyjnym usunięciem atomu siarki z cysteiny, co prowadzi do powstania H_2S . W jego tworzeniu uczestniczą dwa enzymy zaangażowane w wyżej opisany szlak transsulfuracji homocysteiny – CBS i CSE [6]. Zarówno CBS i CSE używają 5-fosforanu pirydoksalu jako kofaktora, jednak enzymy te cechuje odmienny mechanizm działania. CSE katalizuje przekształcenie disiarczku cysteiny (cystyny) do pirogronianu, amoniaku oraz tiocysteiny, która następnie ulega nieenzymatycznemu rozpadowi do cysteiny i H_2S . Mechanizm powstawania H_2S przy udziale CBS związany jest najprawdopodobniej z reakcją kondensacji cysteiny z Hcys, w wyniku której otrzymujemy cystationinę. Procesowi syntezy cystationiny towarzyszy uwalnianie H_2S [3, 6, 13]. Ostatnie badania wskazują również na potencjalny udział siarkotransferazy 3-markaptopirogronianowej (3-MST) w powstawaniu endogennego H_2S . Enzym ten do produkcji H_2S wykorzystuje 3-merkaptopirogronian – metabolit przemiany cysteiny i α -ketoglutaranu. Reakcja ta katalizowana jest przez aminotransferazę cysteinową (CAT) [2, 13]. W warunkach dostatecznego stężenia cysteiny, H_2S może powstawać zarówno w przedstawionym powyżej pierwszym szlaku metabolicznym, jak i w procesach katalizowanych przez CBS, jak i CSE. CBS ulega wysokiej ekspresji w wątrobie szczura, nerkach myszy [2], hipokampie oraz mózdzku i jest głównym enzymem zaangażowanym w powstawanie H_2S w mózgu i tkance nerwowej. CSE dominuje w wytwarzaniu H_2S w układzie sercowo-naczyniowym [6, 13]. 3-MST ulega ekspresji w nabłonku kanalików proksymalnych nerek, hepatocytach, tkance serca, mózgu i wydaje się być zaangażowany w powstawanie H_2S w miokardium [2, 13].

W warunkach *in vivo*, endogenne stężenie H_2S jest regulowane przez liczne szlaki metaboliczne. Najważniejszymi szlakami jest proces utleniania w mitochondriach oraz cytozolowa metylacja. H_2S może być również wychwytywany przez methemoglobinę lub cząsteczki zawierające metal bądź disiarczek np. utlenowany glutation (GSSG). H_2S wydalany jest przede wszystkim przez nerki w formie wolnej lub skoniugowanej [2, 5, 6].

Badania wykazały, że w warunkach niedoboru lub braku cysteiny, substratem do syntezy H_2S staje się Hcys [3, 6]. Podczas hiperhomocysteinemii, Hcys rywalizuje z cysteiną o miejsce wiązania do CSE. Związanie Hcys do CSE skutkuje zahamowaniem aktywności enzymatycznej enzymu i w konsekwencji prowadzi do redukcji endogennej produkcji H_2S w organizmie. Zmniejszenie endogennej produkcji H_2S może nastąpić również w wyniku modyfikacji CSE przez tiolakton homocysteiny. Mechanizm tej reakcji nie jest jednak w pełni wyjaśniony i wymaga dalszych badań [13]. Szlak endogennej syntezy siarkowodoru przedstawiono na Rysunku 1.



Rysunek 1. Szlaki syntezy endogenego siarkowodoru [3], 3-MST – siarkotransferaza 3-merkaptopirogronianowa, CAT – aminotransferaza cysteinowa, CBS – β -syntaza cystationiny, CDO – dioksygenaza cysteinowa, CSE – γ -liaza cystationiny, SO – oksydaza siarczynowa

Figure 1. Pathways of synthesis of endogenous hydrogen sulfide [3], 3-MST – 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase, CAT – cysteine aminotransferase, CBS – cystathionine β -synthase, CDO – cysteine dioxygenase, CSE – cystathionine γ -lyase, H_2S – hydrogen sulfide, SO – sulphite oxidase

Warto zaznaczyć, że siarkowodor w organizmach żywych może być także pochodzenia egzogenego. Może być on wchłaniany, przede wszystkim przez drogi oddechowe lub skórę ze środowiska, a następnie przedostawać się do układu krążenia.

2. REGULACJA STRESU OKSYDACYJNEGO PRZEZ SIARKOWODÓR

Badania zakrojone na szeroką skalę dowodzą, że stres oksydacyjny odgrywa kluczową rolę w patogenezie różnych chorób, m. in. chorób układu krążenia, a przede wszystkim w rozwoju miażdżycy tętnic [14]. Ochronna rola H_2S w regulacji stresu oksydacyjnego pozostaje ciągle niewyjaśniona. Przeprowadzone badania wskazują, że H_2S jako związek wysoce reaktywny, wykazuje zdolność łatwego reagowania z reaktywnymi formami tlenu (RFT) czy azotu (RFA). Jak dowiedziono, H_2S

reaguje m.in. z anionorodnikiem ponadtlenkowym ($O_2^{\cdot-}$) [13], nadtlenkiem wodoru (H_2O_2), nadtlenoazotynem ($ONOO^-$) i podchlorynem, których powstawanie jest promowane podczas hiperhomocysteinemii. Protekcyjne działanie H_2S , polegające na oddziaływaniu z tymi wysoce reaktywnymi składnikami, może obniżyć ilość RFT i RFA w komórce, a tym samym chronić białka przed modyfikacjami oksydacyjnymi, a przez to zwiększać żywotność komórki [3, 14]. Należy jednak nadmienić, że np. siarczyny, będące produktem reakcji H_2S z $O_2^{\cdot-}$, w zależności od stężenia mogą wykazywać zarówno działanie toksyczne, jak i antyoksydacyjne. H_2S posiada również zdolność reagowania z NO, konsekwencją czego jest powstawanie nitrozotioili (S-NO), przy czym w odróżnieniu od innych nitrozotioili (R-S-NO) będących rezerwuarem NO i często naśladujących jego aktywność, nitrozotiole powstałe z H_2S i NO są nieaktywne. Sugeruje to że, H_2S może redukować nadmiar NO generowanego w stanach zapalnych, ale również limitować jego biodostępność w stężeniach fizjologicznych [3]. Ponadto wykazano, że niskie stężenie NaHS (30–50 μM) wzmacnia ochronną rolę *N*-acetylocysteiny, zredukowanego glutatationu, dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy (EC 1.11.1.6), jodonianu dwufenylowego czy witaminy C przed powstawaniem RFT indukowanym Hcys [19]. H_2S wzmacnia także syntezę glutatationu poprzez stymulowanie transportu cysteiny do komórek [3].

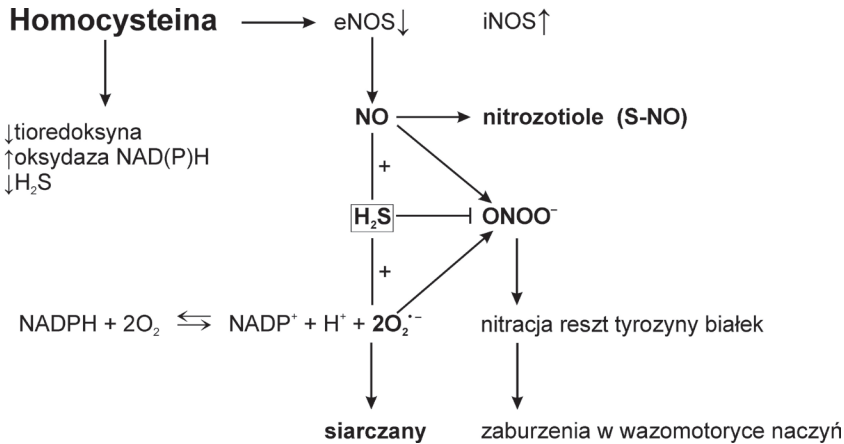
3. WPŁYW SIARKOWODORU NA RELAKSACJĘ KOMÓREK MIĘŚNI GŁADKICH NACZYŃ KRWIONOŚNYCH (VSMC)

Siarkowodór, podobnie jak NO, wykazuje silne właściwości wazorelaksacyjne. Wykazano, że jednorazowe, dożylnie podanie dużej dawki roztworu NaHS, będącego donorem H_2S , szczurom w stanie znieczulenia ogólnego indukuje przejściowy, zależny od dawki spadek ciśnienia tętniczego o około 12–30 mmHg [3–6]. Badania przeprowadzone również na szczurach w warunkach *in vitro*, potwierdziły wazorelaksacyjne działanie H_2S na tętnicę piersiową oraz żyłę wrotną, obkurczone epinefryną [3]. W toku kolejnych doświadczeń przypuszczano, że usunięcie śródbłonna, jak i odnerwienie naczyń nie wpływa na wazorelaksacyjną aktywność H_2S , a relaksacja komórek aorty szczura była wynikiem bezpośredniego oddziaływania H_2S na komórki mięśniówki naczyń. Obecnie wiadomo, że zdolność naczyń do rozszerzania indukowana H_2S , ulega jednak osłabieniu po usunięciu śródbłonna lub po podaniu estru *N*-L-argininometylowego (L-NAME), będącego nieselektywnym inhibitorem syntazy tlenu azotu. Pomimo braku dowodów potwierdzających obecność specyficznych receptorów tiolowych, przypuszcza się, że H_2S jest zdolny do interakcji z NO. H_2S wykazuje zarówno zdolność do wzmacniania, jak i redukcji relaksacyjnego działania NO w aorcie szczurów, podczas gdy NO przyczynia się do wzmocnienia wazorelaksacji indukowanej H_2S . Ponadto, obecność nienaruszonego śródbłonna może służyć jako bufor utrzymujący H_2S w ścianie naczyń, przez co relaksacja naczyniowa jest nasiloną i długotrwałą [2, 5]. Osłabienie relaksacji nienaruszonych naczyń, indukowanej H_2S obserwowano również w badaniach z zastoso-

waniem apamin i charybdotoksyn, blokujących hiperpolaryzacyjny czynnik pochodzący ze śródbłonka (EDHF), co może wskazywać na uwalnianie EDHF z komórek śródbłonka przez H_2S . Jednak zależność właściwości biologicznych śródbłonka od wpływu H_2S nie jest w pełni poznana i niesie ze sobą wiele kontrowersji [5]. Zgromadzone dane pozwalają wnioskować, że H_2S wywiera swoje funkcje poprzez oddziaływanie na różne kanały, a głównym czynnikiem determinującym efekt wazorelaksacyjny indukowany H_2S w komórkach mięśniówki naczyń jest wzrost aktywności kanałów potasowych regulowanych ATP (K_{ATP}) [15]. Argumentami przemawiającymi za tym mechanizmem jest:

- naśladowanie hipotensyjnego działania H_2S *in vivo* przez pinacidil – związek otwierający K_{ATP} ;
- zahamowanie hipotensyjnego działania H_2S *in vivo* i wazorelaksacyjnego *in vitro*, przez antagonistę K_{ATP} – glibenklamid [2, 5, 15];
- zniesienie efektu relaksacyjnego aorty szczura *in vitro* po inkubacji naczyń z wysokim stężeniem jonów K^+ ;
- wzrost przepływu jonów K^+ w kanałach K_{ATP} i hiperpolaryzacja komórek mięśniówki naczyń indukowana H_2S udowodnione poprzez wykorzystanie techniki *patch clamp* [15].

Jednak ostatnie wyniki badań sugerują, że rola H_2S w układzie sercowo-naczyniowym może nie być bezpośrednio związana z działaniem wazorelaksacyjnym, ale raczej z udziałem w regulacji lokalnych stężeń i aktywności NO. Teorię tą popierają obserwacje, że stężenie H_2S potrzebne do wywołania relaksacji naczyń (200 μM) jest większe od stężenia fizjologicznego [2]. Udział siarkowodoru w regulacji biodostępności tlenu azotu podczas hiperhomocysteinemii przedstawiono na Rysunku 2.



Rysunek 2. Udział siarkowodoru w regulacji biodostępności tlenu azotu podczas hiperhomocysteinemii [13, zmodyfikowano], eNOS – śródbłonkowa syntaza tlenu azotu, iNOS – indukowalna syntaza tlenu azotu, NO – tlenek azotu

Figure 2. The contribution of hydrogen sulfide in the regulation of nitric oxide bioavailability during hyperhomocysteinemia [13, modified], eNOS – endothelial nitric oxide synthase, iNOS – inducible nitric oxide synthase, NO – nitric oxide

4. PROLIFERACJA KOMÓREK MIĘŚNI GŁADKICH ŚCIANY NACZYŃ; ROLA SIARKOWODORU

W związku z faktem, że naczyniowa relaksacja w znacznej mierze jest zależna od właściwej proporcji między komórkami śródbłonna, a komórkami mięśniówki naczyń, zachwianie tego stosunku w kierunku komórek mięśni gładkich, obserwowane m.in. podczas hiperhomocysteinemii, skutkuje zaburzeniami w odkształcalności naczyń, czyli zdolności do ich rozciągania i powrotu do wyjściowego kształtu. Wyniki badań wskazują na zdolność H_2S do hamowania proliferacji komórek mięśniówki naczyń, wywołanej endoteliną. Sugeruje się, że mechanizm działania tego gazowego mediatora związany jest z inhibicją aktywności kinaz białkowych indukowanych mitogenami (MAPK). Ponadto zaobserwowano, że podawanie NaHS zapobiega przebudowie mięśniówki u szczurów przyjmujących przewlekle inhibitor syntazy tlenu azotu [6]. Badania z zastosowaniem innego donora H_2S – S-diclofenac, będącego pochodną niesteroidowych leków przeciwzapalnych również potwierdziły zdolność tego gazu do hamowania proliferacji komórek mięśni gładkich naczyń. Inhibicja rozrostu komórek, obserwowana podczas tego doświadczenia, wiązana była ze spadkiem przeżywalności oraz wzrostem intensywności procesów apoptotycznych w tych komórkach [2]. Ponadto, podczas hiperhomocysteinemii obserwowany jest spadek aktywności CSE, konsekwencją czego może być zmniejszenie syntezy endogennego H_2S . Nie jest zatem zaskoczeniem, że dzięki wykorzystaniu narzędzi inżynierii genetycznej, powodujących wzrost produkcji endogennego H_2S można zahamować proliferację komórek mięśni gładkich ściany naczyń, a przez to utrzymać odkształcalność przez ścianę naczyń podczas hiperhomocysteinemii. Badania przeprowadzone w warunkach *in vitro* potwierdzają, że nadekspresja enzymu CSE, uczestniczącego w tworzeniu H_2S hamuje proliferację komórek mięśniówki poprzez wzrost produkcji tego gazowego mediatora [13].

5. WPŁYW SIARKOWODORU NA AGREGACJĘ PŁYTEK KRWI

Płytki krwi odgrywają bardzo istotną rolę w procesie hemostazy (m.in. w hamowaniu krwawienia). Płytki mogą być aktywowane przez szereg agonistów włączając czynnik koagulacyjny (trombinę), hormony (epinefrynę, wazopresynę), niskocząsteczkowe związki (serotoninę, difosforan adenozyne – ADP), pochodne lipidowe (czynnik aktywacji płytek – PAF, tromboksan A_2) i inne związki (kolagen). Reakcją płytek na różne aktywatory jest adhezja, zmiana kształtu, agregacja i wydzielanie różnych substancji zmagazynowanych w ziarnistościach płytkowych [16]. Aktywacja płytek krwi przez agonistę może także prowadzić do produkcji reaktywnych form tlenu czy azotu [17]. Tak więc aktywacja płytek związana jest z uruchamianiem wielu procesów fizjologicznych i patologicznych włączając trombozę, choroby serca, arteriosklerozę czy choroby nowotworowe.

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują na zaangażowanie H_2S w mechanizm hamowania jednego z etapów aktywacji płytek krwi – agregacji płytek krwi

w warunkach *in vitro*. Stwierdzono, że NaHS zapobiega, w sposób zależny od stężenia, agregacji płytek indukowanej przez różnych agonistów: ADP, kolagen, epinefrynę, trombinę czy kwas arachidonowy. Całkowite zahamowanie agregacji płytek krwi obserwowano przy stężeniu 10 mM NaHS, niezależnie od rodzaju agonisty. W celu zrozumienia mechanizmów leżących u podstaw inhibicji agregacji płytek indukowanej przez NaHS, przetestowano różne inhibitory NaHS. Początkowo bowiem aktywność antyagregacyjną H₂S wiązano z jego udziałem w tworzeniu endogennego NO. Jednak, ani inhibitor syntazy tlenu azotu (L-NAME), ani inhibitory cyklicznej adenylowej oraz cyklicznej guanylowej nie powodowały zahamowania aktywności NaHS i jego wpływu na hamowanie agregacji płytek krwi indukowanej ADP. Wykluczono zatem mechanizm związany z endogenną produkcją NO oraz z udziałem cGMP oraz cAMP jako mediatorów w antyagregacyjnym działaniu NaHS. Ponadto, wyniki badań z zastosowaniem blokerów kanałów K_{ATP} (glibenklamid, TEA) wykluczyły również zaangażowanie tych kanałów w antyagregacyjnym działaniu NaHS [18]. Mechanizmy inhibicji procesu agregacji płytek krwi przez siarkowodor, podobnie jak inne właściwości biologiczne H₂S pozostają nadal niewyjaśnione. Zastosowanie czułych metod analitycznych pozwoli śledzić losy siarkowodoru w różnych komórkach, co z pewnością przybliży nas do poznania mechanizmów działania tego związku.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] K. Abe, H. Kimura, J. Neurosci., 1996, **16**, 1066.
- [2] D.J. Elsey, R.C. Fowkes, D.F. Baxter, Cell Biochem. Funct., 2010, **28**, 95.
- [3] E. Łowicka, J. Bęłtowski, Pharmacol. Rep., 2007, **59**, 4.
- [4] P.J. Hogg, J. Thromb. Haemost., 2009, **7**, 13.
- [5] R. Wang, FASEB J., 2002, **16**, 1792.
- [6] J. Bęłtowski, Postepy Hig. Med. Dosw., 2004, **58**, 285.
- [7] G. Chwatko, Wiad. Chem., 2010, **64**, 243.
- [8] R. Wang, Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 2009, **29**, 156.
- [9] M. Medina, J.L. Urdiales, M.I. Amores, Eur. J. Biochem., 2001, **268**, 387.
- [10] W.A. Turski, E. Bald, Post. Bioch., 2005, **51**, 395.
- [11] S. Kraczkowska, Z. Suchocka, J. Pachecka, Biul. Wydz. Farm. AMW, 2005, **3**, 4.
- [12] J.T. Brosnan, R.L. Jacobs, L.M. Stead, M.E. Brosnan, Acta Biochim. Pol., 2004, **51**, 405.
- [13] U. Sen, P.K. Mishra, N. Tyagi, S.C. Tyagi, Cell Biochem. Biophys., 2010, **57**, 49.
- [14] S. Yan, T. Chang, H. Wang, L. Wu, R. Wang, K.Q. Meng, Biochem. Biophys. Res. Commun., 2006, **351**, 485.
- [15] T. Chiku, D. Padovani, W. Zhu, S. Singh, V. Vitvitsky, R. Banerjee, Biol. Chem., 2009, **284**, 11601.
- [16] K. Karolczak, B. Olas, J. Kołodziejczyk, Post. Biol. Kom., 2009, **36**, 101.
- [17] M. Krzanowski, T.B. Domagała, M. Frołow, A. Szczeklik, Kard. Pol., 2000, **2**, 29.
- [18] G. Zagli, R. Patacchini, M. Trevisani, R. Abbate, S. Cinotti, G.F. Gensini, G. Masotti, M. Geppetti, Eur. J. Pharmacol., 2007, **559**, 65.
- [19] N. Tyagi, K.S. Moshal, U. Sen, T.P. Vacek, M. Kumar, W.M. Hughes Jr., S. Kundu, S.C. Tyagi, ARS, 2009, **11**, 25.

