

JUSTYNA TADEUSIEWICZ, BEATA OLAS

*Katedra Biochemii Ogólnej  
Uniwersytet Łódzki  
Pomorska 141/143, 90-236 Łódź  
E-mail: justynatadeusiewicz@wp.pl*

## SIARKOWODÓR – GAZ NIE TYLKO O WŁAŚCIWOŚCIACH TOKSYCZNYCH

### OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA SIARKOWODORU

Siarkowodór to cząsteczka o wzorze sumarycznym  $H_2S$  i masie molowej 34,076 g/mol. Ten bezbarwny gaz cechuje zapach zgniłych jaj. Siarkowodór jest łatwopalny, rozpuszcza się w wodzie, w wyniku czego powstaje woda siarkowodorowa bądź kwas siarkowy. Związek ten rozpuszcza się również w etanolu i glicerynie. Wysokie stężenie siarkowodoru koreluje z toksycznym i bardzo szybkim jego działaniem. Działanie toksyczne jest porównywalne z działaniem cyjanowodoru, który uznawany jest za jedną z najgroźniejszych trucizn. Gęstość  $H_2S$  jest większa od gęstości powietrza, więc wykazuje on zdolność gromadzenia się w dołach czy zagłębieniach występujących w gruncie, a także w studzienkach kanalizacyjnych.  $H_2S$  wytwarzany jest w wielu procesach zarówno chemicznych, jak i technologicznych (FRYDRYCH 2008).

Siarkowodór wchłania się do organizmu poprzez drogi oddechowe, a także w znac-

nie mniejszym stopniu przez skórę. Związek ten w organizmie ulega przekształceniu do kwasu siarkowego. Produkt reakcji utleniania zostaje usunięty z organizmu wraz z moczem w dwóch formach: wolnych bądź sprzężonych siarczanów. Jednak nie cały wchłonięty  $H_2S$  zostaje w ten sposób wydalony z organizmu, gdyż jego część ulega rozkładowi zarówno we krwi, jak i w tkankach. W procesie tym powstaje siarka zdolna do reagowania z endogennymi cząsteczkami siarkowodoru, a w konsekwencji powstają wielosiarczki.

Próg wyczuwalności siarkowodoru w powietrzu jest bardzo niski i wynosi 0,0007 mg/m<sup>3</sup>. Co więcej, szybko przyzwyczajamy się do tego zapachu, przez co zwiększa się nasza tolerancja. Jeśli dojdzie do ekspozycji na wysokie stężenie tego związku (ponad 1000 mg/m<sup>3</sup>), w ciągu kilku minut dochodzi do utraty przytomności, a w konsekwencji do śmierci na skutek uduszenia (FRYDRYCH 2008).

### BIOLOGICZNA ROLA SIARKOWODORU

Toksyczne działanie tej cząsteczki polega na blokowaniu aktywności enzymów oddechowych, w tym oksydazy cytochromowej. Następuje zaburzenie oddychania komórkowego i w konsekwencji rozwój kwasicy mleczanowej. Skutkiem kwasicy jest zaburzenie rytmu pracy serca, co z kolei jest związane z nieprawidłowością depolaryzacji błony plazmatycznej komórek układu bodźcoprze-

wodzącego. Siarkowodór w odróżnieniu od tlenu węgla nie wiąże się z hemoglobina, zaś łączy się z methemoglobina, w wyniku czego powstaje sulfhemoglobina.  $H_2S$  powoduje niedobór tlenu zarówno w tkankach, jak i narządach. Stwierdzono, że ma zdolność uszkodzenia komórek w ośrodkowym układzie nerwowym oraz nerwów obwodowych. Wpływa również na układ krwiotwórczy. Ob-

jawy toksycznego działania tego związku są liczne, między innymi obserwuje się podrażnienie śluzówek, mdłości, wymioty, wzrost ciśnienia krwi, bóle głowy, drgawki, utratę przytomności, a ostatecznie śpiączkę (FRYDRYCH 2008).

H<sub>2</sub>S pełni istotną rolę w regulacji procesów życiowych, a jego produkcja odbywa się w wielu tkankach ssaków. Siarkowodor jest wydzielany w fizjologicznych procesach, co niejako potwierdza, że pełni on funkcję czynnika regulującego. W warunkach fizjologicznych (pH roztworów wodnych wynosi około 7,4) 1/3 siarkowodoru znajduje się w postaci niezdisocjowanej. Pozostała część ulega dysocjacji na kation wodoru oraz anion wodorosiarczkowy, a w kolejnym etapie na anion siarczkowy. Ostatnia z wymienionych reakcji, zachodzi jedynie w warunkach wysokiego pH. W konsekwencji jon siarczkowy występuje w niewielkich ilościach w warunkach *in vivo* (BEŁTOWSKI 2004). Powszechnie wykorzystywanym źródłem H<sub>2</sub>S w badaniach jest wodorosiarczek sodu (NaHS), ponieważ NaHS łatwo ulega reakcji dysocjacji na kation sodu i anion wodorosiarczkowy. HS<sup>-</sup> częściowo wiąże jony wodoru przekształcając się w postać niezdisocjowaną, która wykazuje właściwości lipofilne i w prosty sposób przenika do wnętrza komórek poprzez błony plazmatyczne (ŁOWICKA i BEŁTOWSKI 2007).

W ostatnich latach badano również inne związki, które mogą być źródłem H<sub>2</sub>S w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo*. Źródłem siarkowodoru są zmodyfikowane leki przeciwzapalne, zdolne do jego uwalniania. Tak pozyskany czynnik zmniejsza tworzenie obrzęków, przyleganie leukocytów do komórek śródbłonna naczyń krwionośnych, a także hamuje wytwarzanie cytokin prozapalnych. Ponadto, chroni on błonę śluzową układu pokarmowego przed uszkodzeniami oraz przyspiesza jej regenerację (WALLACE 2007). Do tych związków zalicza się morpholin-4-ium-4-methoxyphenyl(morpholino) phosphinodithioate (GYY4137). GYY4137 cechuje się powolnym uwalnianiem H<sub>2</sub>S w warunkach *in vitro* oraz *in vivo* (badania przeprowadzone na szczurach). Uwalnianie H<sub>2</sub>S z GYY4137 jest zależne od pH roztworu, co przypomina warunki w organizmie po uwolnieniu endogennego siarkowodoru. GYY4137 wykazuje działanie przeciwzapalne w przeprowadzonym doświadczeniu, jednak konieczne są dalsze badania na innych modelach zwierzęcych (Li i współaut. 2009).

Innym, badanym związkiem, donorem H<sub>2</sub>S, jest pochodna mesalazyny: 5-amino-2-hydroxybenzoic acid 4-(5-thioxo-5H-[1,2]dithiol-3yl)-phenyl ester (ATB-429). Mesalazyna jest powszechnie wykorzystywana do leczenia chorób takich jak wrzodzące zapalenie jelita grubego czy choroby Leśniowskiego-Crohna. Leczenie mesalazyną w wielu przypadkach jest jednak nieskuteczne. Badania na mysich modelach potwierdzają skuteczność leczenia tych chorób przy użyciu ATB-429. Uwalniany z ATB-429 siarkowodor wykazuje lecznicze działanie na jelita, poprzez oddziaływanie na kanały K<sub>ATP</sub> oraz regulację odpowiedzi zapalnej (DISTRUTTI i współaut. 2006, FIORUCCI i współaut. 2007).

Kolejnym, zmodyfikowanym związkiem przeciwzapalnym jest pochodna naproksenu: 2-(6-methoxynaphthalen-2-yl)-propionic acid 4-thiocarbamoyl-phenyl ester (ATB-346), która hamuje aktywność cyklooksygenazy-2 oraz przenikanie leukocytów. Działanie tego związku jest bardziej wydajne niż naproksenu. Co ważne, ATB-346 nie uszkadza błony śluzowej żołądka i wzmacnia gojenie się wcześniej powstałych owrzodzeń (WALLACE i współaut. 2010).

Przeprowadzono również badania nad pochodną aspiryny: 2-acetyloxybenzoic acid 4-(3-thioxo-3H-1,2-dithiol-5-yl)phenyl ester (ACS14), jako źródła H<sub>2</sub>S. Wyniki badań potwierdzają skuteczność i bezpieczeństwo ACS14, szczególnie w stosunku do błony śluzowej żołądka (SPARATORE i współaut. 2009).

Przeprowadzono też badania zmodyfikowanych cząsteczek lewodopaminy, które wykazują zdolność uwalniania H<sub>2</sub>S. Są to: 4-(3-thioxo-3H-1,2-dithiol-4-yl)-benzoic acid (ACS48), [2-methoxy-4-(3-thioxo-3H-1,2-dithiol-5-yl)-phenoxy]acetic acid (ACS50), 1,3-dithiole-2-thioxo-4-carboxylic acid (ACS55), 3-(prop-2-en-1-yl)disulfanylpropanoic acid (ACS81). Lewodopamina wykorzystywana jest w leczeniu choroby Parkinsona. W chorobie tej następuje niszczenie neuronów dopaminergicznych istoty czarnej, i ma ona charakter postępowy. H<sub>2</sub>S uwalniany z tych związków działa przeciwzapalnie, antyoksydacyjnie, a także umożliwia przywrócenie odpowiedniego poziomu dopaminy (LEE i współaut 2010).

Stężenie siarkowodoru w osoczu oraz przeważającej większości tkanek jest zbliżone i osiąga wartość około 50 μM. Wyjątek stanowią mózg, układ krwionośny, wątro-

ba oraz nerki, w których to produkcja  $H_2S$  jest znacznie większa, a w konsekwencji  $H_2S$

osiąga w nich najwyższe stężenie (ŁOWICKA i BÉLTOWSKI 2007).

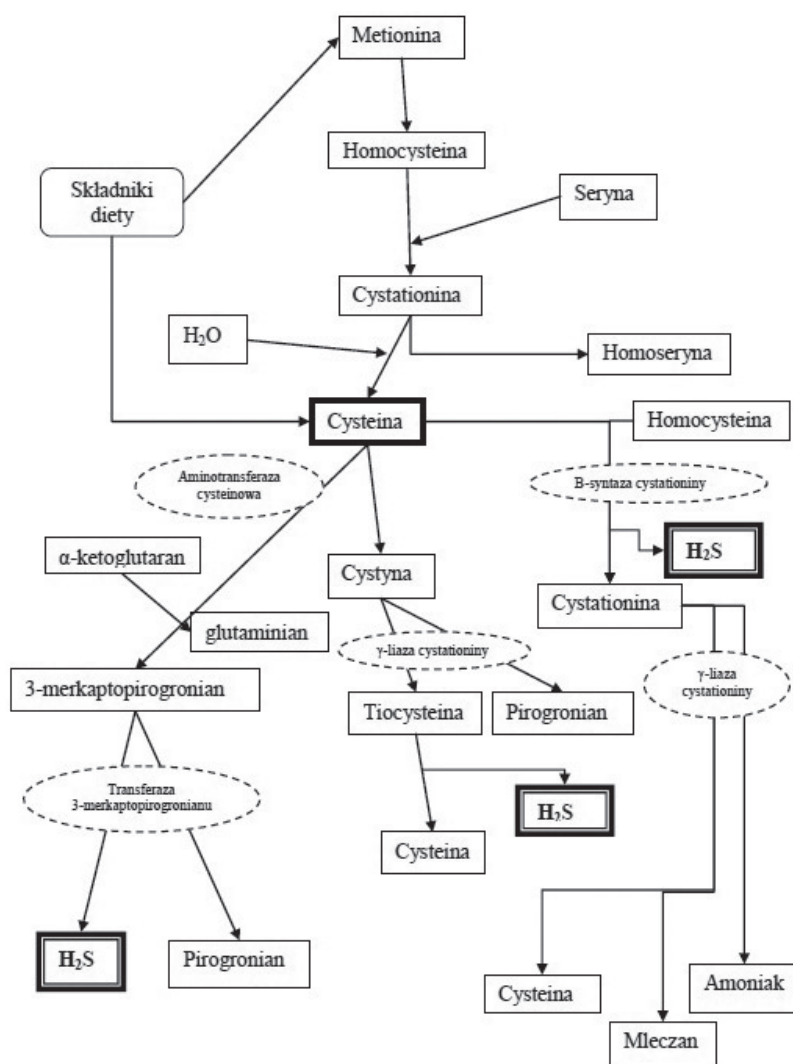
### SYNTEZA I METABOLIZM SIARKOWODORU W WARUNKACH *IN VIVO*

$H_2S$  pochodzenia endogennego wytwarzany jest głównie z L-cysteiny. Ostatnie dane literaturowe wskazują, że forma D-cysteiny również może być źródłem  $H_2S$  (SHIBUYA i współaut. 2013). Cysteina jest jednym z aminokwasów zawierających w swojej cząsteczce siarkę. L-cysteina syntetyzowana jest z L-metioniny poprzez transulfurację. Metionina przekształcana jest w homocysteinę, która ma zdolność wiązania się z seryną i powstaje cystationina. Na skutek hydrolizy cystationiny powstaje cysteina i homoseryna (BÉLTOWSKI 2004, ŁOWICKA i BÉLTOWSKI 2007, UFNAL i ŽERA 2010). Produkcja siarkowodoru z cy-

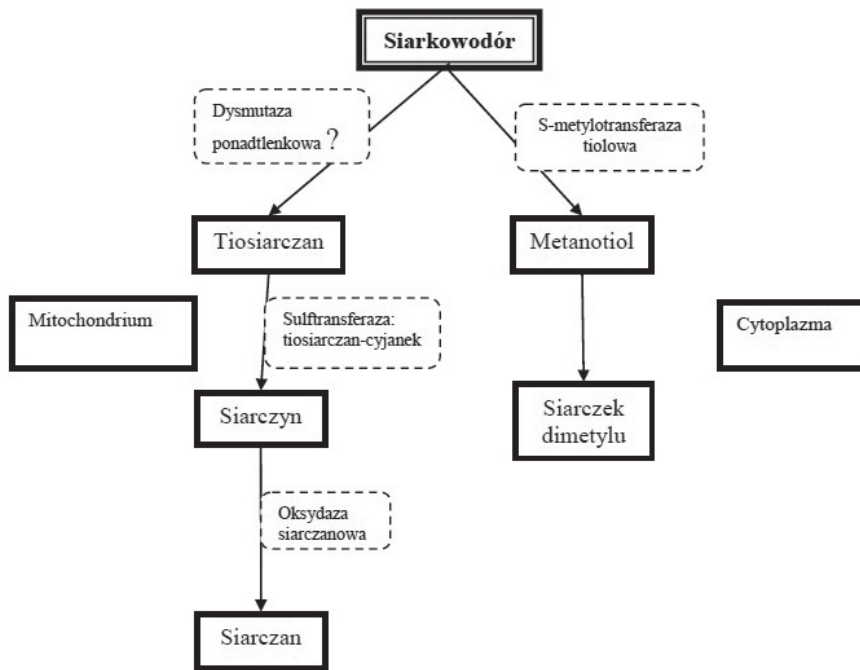
steiny może przebiegać trzema ścieżkami z wykorzystaniem trzech enzymów:  $\beta$ -syntazy cystationiny (CBS),  $\gamma$ -liazy cystationiny (CSE) oraz transferazy siarkowej 3-merkaptopirogronianu (3MST). CBS i CSE są to enzymy zależne od fosforanu pirydoksalu, potocznie określanego jako witamina  $B_6$ . Cysteina zostaje przekształcona do cystyny, która w obecności CSE rozkłada się, dając tiocysteinę i pirogronian. Tiocysteina przekształca się do cysteiny, a w procesie tym uwalniany jest siarkowodór. Cysteina reaguje z homocysteiną w obecności CBS i powstaje cystationina oraz  $H_2S$ . Cystationina przy udziale CSE roz-

kładania jest do cysteiny, mleczanu i amoniaku. Synteza siarkowodoru z wykorzystaniem CBS oparta jest na reakcji homocysteiny z cysteiną (Ryc. 1). CBS i CSE wytwarzane są w wielu narządach i układach w organizmie. Jednakże w ośrodkowym układzie nerwowym dominującą rolę w produkcji tego związku pełni CBS, a w układzie krwionośnym CSE. W organizmie występują również narządy, w których obydwa enzymy spełniają równoważną funkcję, wśród nich wyróżnia się między innymi wątroba i nerki (ŁOWICKA i BÉLTOWSKI 2007).

Trzecim enzymem jest transferaza siarkowa 3-merkaptopirogronianu, która w połączeniu z aminotransferazą cysteinową (CAT) odpowiada za produkcję  $H_2S$  z L-cysteiny w obecności  $\alpha$ -ketoglutaranu. Ekspresję 3MST obserwuje się w mózgu, a także w komórkach śródbłonna aorty piersiowej. Aminotransferaza cysteinowa [jest identyczna jak aminotransferaza asparaginowa (AAT)] katalizuje transaminację między L-cy-



Ryc. 1. Synteza siarkowodoru w warunkach *in vivo* (wg ŁOWICKIEJ i BÉLTOWSKIEGO 2007, TANIZAWY 2011, zmodyfikowana).



Ryc. 2. Metabolizm siarkowodoru w warunkach *in vivo* (wg ŁOWICKIEJ i BÉLTOWSKIEGO 2007, zmodyfikowana).

steiną i  $\alpha$ -ketoglutaranem. W wyniku tej reakcji powstaje 3-merkaptopirogronian oraz L-glutaminian. Transferaza siarkowa 3-merkaptopirogronianu przenosi siarkę do kwasu siarkowego. Produktem tej reakcji jest pirogronian i tiosiarczan, który jest następnie redukowany do siarkowodoru. Reakcja ta zachodzi w obecności zredukowanego glutatioinu (GSH) (Ryc. 1) (TANIZAWA 2011).

Siarkowodor jest utleniany początkowo do tiosiarczanu, który ulega dalszemu przekształceniu do siarczynu, a następnie do siarczanu. Proces ten zachodzi głównie w

mitochondriach. Pierwsza z wymienionych przemian jest prawdopodobnie reakcją nieenzymatyczną, choć istnieje podejrzenie, że swój udział ma w niej dysmutaza ponadtlenkowa. Katabolizm siarkowodoru związany jest z transportem elektronów w łańcuchu oddechowym. Przekształcenie tiosiarczanu do siarczynu katalizowane jest przez sulfransferazę: tiosiarczan-cyjanek (rodanaza, TST). Reakcja ta polega na przeniesieniu siarki pochodzącej z tiosiarczanu na cyjanek, w wyniku czego powstaje tiocyjanian oraz siarczyn. Reakcja utlenienia siarczynu do siarczanu katalizowana jest poprzez oksydazę

siarczanową, a produktem końcowym metabolizmu  $H_2S$  są siarczyny (Ryc. 2). Drugi mechanizm metabolizmu tego związku opiera się na metylacji przez S-metylotransferazę tiolową. W wyniku tego powstaje metanotiol, a w kolejnym etapie siarczek dimetylu, co zachodzi w cytoplazmie. Ponadto  $H_2S$  wiąże się z methemoglobiną, dając sulfhemoglobinę. Hemoglobina wiąże również tlenek węgla oraz tlenek azotu, czyli trzy główne gazotransmitery (ŁOWICKA i BÉLTOWSKI 2007).

## SIARKOWODÓR W UKŁADZIE KRĄŻENIA

Badania przeprowadzone w ostatnich latach wykazują, że siarkowodor pełni istotną rolę w regulacji funkcji układu krążenia. Czynnikiem ten produkowany jest w aorcie piersiowej, żyłce wrotnej, tętnicy ogona trzustki, tętnicy krezkowej oraz tętnicy płucnej.  $H_2S$  działa rozkurczająco na mięśniówkę gładką naczyń krwionośnych, jest to jednak zależne od dawki, a także od stanu śródbłonka oraz oddziaływania z tlenkiem azotu (GENG i współaut. 2004a). Badania wykazują, iż hamowanie wytwarzania tlenku azotu, a także usunięcie śródbłonka naczyń krwionośnych wpływa na siłę działania relaksacyjnego  $H_2S$ .

Tlenek azotu wytwarzany w układzie krążenia uwrażliwia komórki śródbłonka na działanie siarkowodoru. Naczyniorozszerzające działanie  $H_2S$  polega na oddziaływaniu z wrażliwymi na ATP kanałami potasowymi ( $K_{ATP}$ ). Kanały  $K_{ATP}$  są obecne w wielu tkankach, między innymi występują w komórkach mięśni gładkich naczyń krwionośnych, a przez wpływ na ich kurczliwość odgrywają istotną rolę w regulacji ciśnienia krwi. Otwarcenie kanałów  $K_{ATP}$  chroni przed nadmiernym skurczem komórek mięśni gładkich naczyń krwionośnych, jednocześnie obniżając ciśnienie krwi. Dodatkowo dochodzi do inak-



Tabela 1. Wpływ siarkowodoru na kanały  $K_{ATP}$ , kinazy zależne od jonów wapnia i kalmoduliny oraz receptory NMDA (GENG i współaut. 2004, LEE i współaut. 2006).

	Kanały $K_{ATP}$	Ścieżka sygnałowa zależna od jonów $Ca^{2+}$ i kalmoduliny	Receptory NMDA
Mechanizm działania	Zwiększony przepływ jonów	Zwiększone stężenie jonów $Ca^{2+}$ Aktywacja kinazy zależnej od $Ca^{2+}$ i kalmoduliny	Zwiększona synteza cAMP Wzrost aktywności PKA Zwiększony napływ jonów $Ca^{2+}$
Efekt	Hiperpolaryzacja błony	Pobudzenie neuronów	Zmiana długotrwałego wzmocnienia synaptycznego

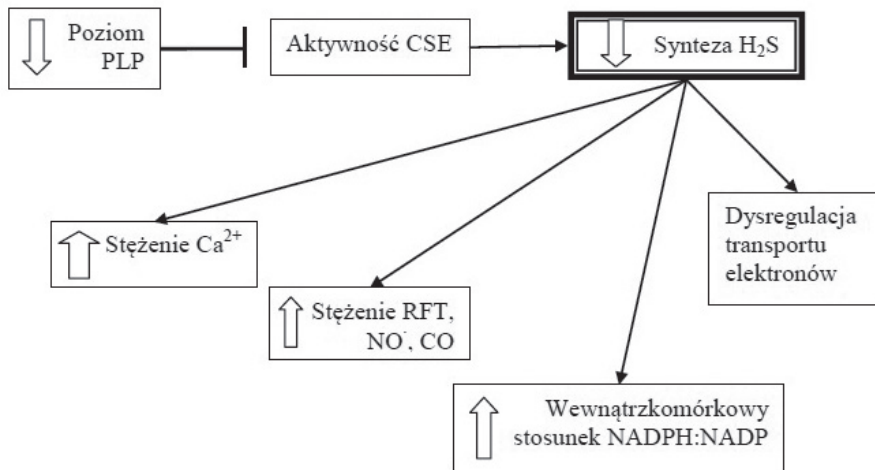
tywacji zależnych od napięcia kanałów wapniowych typu L, prowadząc do relaksacji komórek i powiększenia światła naczyń krwionośnych poprzez obniżenie stężenia wolnych jonów  $Ca^{2+}$  w komórkach.  $H_2S$  bezpośrednio oddziałuje na kanały  $K_{ATP}$  zwiększając ich wrażliwość, przepływ jonów i wywołując hiperpolaryzację błony (Tabela 1). Siarkowodór, w przeciwieństwie do tlenu azotu i tlenu węgla, wykazuje swoją wazodylacyjną aktywność niezależnie od ścieżki sygnałowej kinazy białkowej G (CHENG i współaut. 2004, TANG i współaut. 2005).

$H_2S$  poza działaniem rozszerzającym może wykazywać zwężające działanie na tętnice zarówno u myszy, szczurów, jak i u ludzi. Zjawisko takie występuje przy niskich stężeniach tego czynnika, o wartościach poniżej  $100 \mu M$  (BEŁTOWSKI 2004, UFNAŁ i ŻERA 2010). Przewlekły niedobór siarkowodoru ma swój udział w rozwoju nadciśnienia tętniczego. Eksperymenty na modelach zwierzęcych wykazały, że u szczurów, u których rozwinęło się samoistne nadciśnienie tętnicze (SHR), poziom siarkowodoru oraz ekspresja genów, a także aktywność CSE była obniżona. Hamowanie aktywności CSE, przy pomocy blokera, propargylglicyny, skutkuje obniżoną syntezą i stężeniem  $H_2S$  oraz podwyższeniem ciśnienia tętniczego krwi. Cząsteczka ta pełni istotną funkcję w utrzymaniu odpowiedniego napięcia naczyń krwionośnych, a egzogenne  $H_2S$  chroni przed rozwojem nadciśnienia tętniczego (BEŁTOWSKI 2004, BHATIA 2005).

CSE uczestniczy w wytwarzaniu glutationu (GSH), poprzez zwiększenie aktywności syntazy  $\gamma$ -glutamylcysteinowej. Obniżony poziom glutationu, charakterystyczny dla choroby niedokrwiennej serca, prowadzi do zwiększonej ekspresji genu CSE. Jednak-

że aktywność CSE jest uzależniona od fosforanu 5'-pirydoksalu (PLP), którego poziom również ulega redukcji w chorobie niedokrwiennej. Niski poziom PLP hamuje aktywność CSE prowadząc do zmniejszonego wytwarzania  $H_2S$  (Ryc. 3). W konsekwencji dochodzi do zmiany poziomu wolnych rodników tlenowych, tlenu azotu i tlenu węgla oraz nadmiernego wzrostu stężenia  $Ca^{2+}$ .  $H_2S$  zwiększa wewnątrzkomórkowy stosunek NADPH:NADP; rozregulowuje transport elektronów, funkcjonalność genów odpowiedzialnych za tworzenie ATP, włączając w to podjednostki I, II, III oksydazy cytochromowej, podjednostkę IV oksydazy cytochromu c, podjednostkę d syntazy ATP, funkcjonalność genów odpowiedzialnych za homeostazę redoks, w tym podjednostkę 8 S-transferazy glutationu, M5 S-transferazy glutationu, metalotioneinę-1, -2. Przez to związek ten moduluje uwalnianie wolnych rodników tlenowych, a także redukuje gromadzenie się produktów peroksydacji lipidów (GENG i współaut. 2004b).

Siarkowodór hamuje agregację płytek krwi, komórek spełniających ważne funkcje w hemostazie, stymulowanych różnymi induktorami. Zalicza się do nich m.in.: adenylozynyforan (ADP), kolagen, trombinę czy kwas arachidonowy. Działanie  $H_2S$  jest uzależnione od stężenia, gdyż przy stężeniu  $10 \text{ mM}$  następuje całkowite zablokowanie agregacji płytek krwi. Mechanizm jego działania jest nieznan, aczkolwiek wykluczono wpływ poprzez kanały  $K_{ATP}$ , endogenną syntezę NO, oraz udział cAMP i cGMP (ZAGLI i współaut. 2007, MALINOWSKA i współaut. 2011). Innym rodzajem odpowiedzi płytek krwi na wyżej wymienione aktywatory jest adhezja do białek adhezyjnych. Siarkowo-



Ryc. 3. Udział siarkowodoru w patogenezie choroby niedokrwiennej (wg GENGA i współaut. 2004, zmodyfikowana).

dór hamuje adhezję płytek krwi do kolagenu oraz fibrynogenu, co jest przypuszczalnie związane z hamowaniem szlaku sygnałowego białek G. Aktywacja płytek krwi i transdukcja sygnału prowadzi do wytwarzania reaktywnych form tlenu i azotu (RFT, RFA), które mogą pełnić rolę wtórnych przekazników regulujących funkcję płytek. Reakcja  $H_2S$  z RFT i RFA powoduje obniżenie ich poziomu w różnych komórkach, czyli  $H_2S$  chroni komórki przed ich oksydacyjnym działaniem. Stymulacja płytek krwi przez trombinę prowadzi do aktywacji kinazy 3-fosfoinozytolu, w efekcie powstaje inozytolotrifosforan. Wytwarzanie fosfatydyloinozytolu jest niezbędne do aktywacji integryny  $\alpha_{IIb}\beta_3$  i stabilizacji powstających agregatów. Kinaza 3-fosfoinozytolu uczestniczy w produkcji RFT w płytkach krwi.  $H_2S$  hamuje ten szlak sygnałowy, hamując tym samym adhezję płytek krwi (MALINOWSKA i współaut. 2011; MOREL i współaut. 2012a, b).

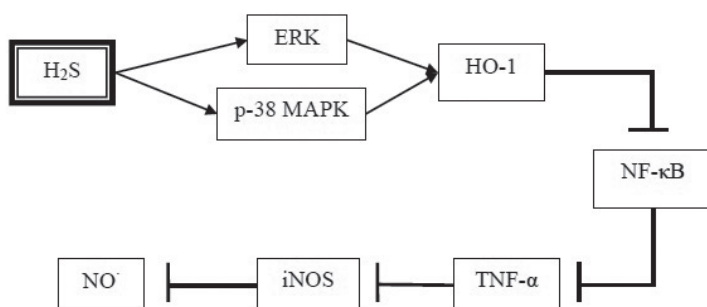
Wyniki badań sugerują, że siarkowodor i tlenek azotu oddziałują ze sobą, tworząc nową cząsteczkę określaną jako nitrozotiol. Molekuła ta nie rozszerza światła naczyń krwionośnych, a jedyną konsekwencją jej utworzenia jest zmniejszenie poziomu endogennego NO oraz  $H_2S$ ; dochodzi do inaktywacji i zmniejszonego uwalniania NO (ALI i współaut. 2006, WHITEMAN współaut. 2006).

$H_2S$  wykazuje zdolność pobudzenia ekspresji oksygenazy hemowej 1 (HO-1) poprzez ścieżkę sygnałową zależną od kinazy regulowanej czynnikami zewnętrznymi (ERK) (Ryc. 4). Ponadto, HO-1 zmniejsza wytwarzanie NO przez hamowanie ekspresji

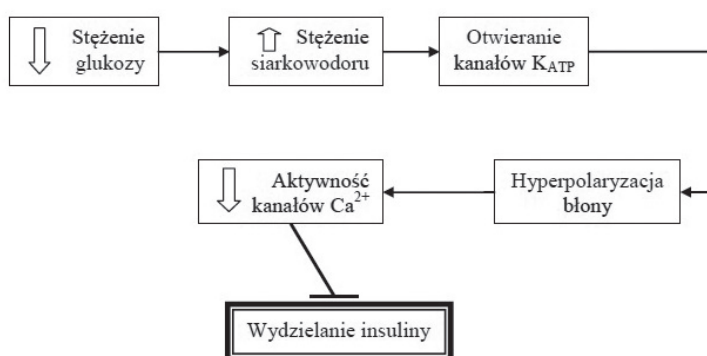
indukowalnej syntazy tlenu azotu (iNOS), jednocześnie chroniąc przed aktywacją transkrypcyjnego czynnika jądrowego NF- $\kappa$ B, poprzez hamowanie degradacji i fosforylacji inhibitora (I $\kappa$ B) tego czynnika. Oksygenaza hemowa (HO) jest cytoprotekcyjnym i przeciwzapalnym enzymem, odpowiedzialnym za produkcję tlenu węgla. HO-1 odgrywa kluczową rolę w ochronie tkanek przed stresem oksydacyjnym.  $H_2S$  aktywuje ERK 1/2 oraz stymuluje fosfory-

lację p-38 MAPK (kinazy aktywowane mitogenami). To aktywuje HO-1 i następuje inhibicja NF- $\kappa$ B (hamowanie fosforylacji i degradacji jego inhibitora). NF- $\kappa$ B jest to rodzina białek regulujących ekspresję wielu genów uczestniczących w procesie zapalnym oraz wykazujących działanie antyapoptotyczne. Czynniki te zwiększa ekspresję genów kodujących cytokiny prozapalne, np. czynnik martwicy nowotworów  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) i enzymów prozapalnych, np. iNOS. Ścieżka sygnałowa kinazy MAPK składa się z trzech równoległych szlaków. Pierwszy z nich opiera się o funkcjonowanie kinazy białkowej aktywowanej stresem i N-końcowego fragmentu kinazy c-Jun (SAPK/JNK). Drugi z nich opiera się o aktywowany mitogenami szlak p-38-MAPK, a trzeci związany z kinazą regulowaną czynnikami zewnętrznymi (ERK/MAPK) (DU i współaut. 2004, OH i współaut. 2006). iNOS jest indukowana w obecności cytokin prozapalnych, takich jak: interleukina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interferon- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ .  $H_2S$  zwiększa produkcję NO i ekspresję iNOS, poprzez mechanizm aktywacji czynnika NF- $\kappa$ B indukowanego IL-1 $\beta$ , co powoduje wzrost ekspresji iNOS i zwiększenie produkcji NO (JEONG i współaut. 2006).

Siarkowodor może wykazywać działanie prozapalne, jak i przeciwzapalne. Po wprowadzeniu do organizmu endotoksyny, jaką jest lipopolisacharyd (LPS), dochodzi do zwiększenia syntezy  $H_2S$ , a także zwiększenia ekspresji genu CSE. Hamowanie aktywności CSE powoduje inhibicję stanu zapalnego. Jednak z drugiej strony związek ten może peł-



Ryc. 4. Mechanizm aktywacji przez siarkowodór oksygenazy hemowej (wg JEONGA i współaut. 2006, zmodyfikowana).



Ryc. 5. Wpływ siarkowodoru na wydzielanie insuliny w komórkach  $\beta$  trzustki (wg YANGA i współaut. 2005, zmodyfikowana).

nić rolę czynnika przeciwzapalnego. Aktywność ta związana jest z hamowaniem przez  $H_2S$  wytwarzania tlenku azotu oraz czynnika martwicy nowotworów  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), poprzez inhibicję ścieżki sygnałowej p38 MAPK. Dwojakie działanie  $H_2S$  jest zależne od stężenia oraz stanu antyoksydacyjnego i przeciwzapalnego organizmu. W niskich stężeniach siarkowodór wykazuje działanie przeciwzapalne, a w wysokich stężeniach prozapalne (LI i współaut. 2006, ZANARDO i współaut. 2006, PAE i współaut. 2009).

Związek ten wykazuje zdolność przyspieszenia gojenia się ran oraz tworzenie nowych naczyń krwionośnych. W wyniku działania czynnika wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF) następuje wzrost stężenia jonów  $Ca^{2+}$  w komórkach. Zwiększa to ekspre-

sję śródbłonkowej syntazy tlenku azotu (eNOS) oraz CSE, powodując uwalnianie obu gazotransmiterów z komórek śródbłonna. W wyniku działania  $NO$  i  $H_2S$  zwiększa się poziom cGMP, oddziałującego na kinazę białkową G (PKG). Aktywowana kinaza białkowa G rozpoczyna tworzenie nowych naczyń krwionośnych, poprzez oddziaływanie z ERK1/2 oraz p-38 (COLETTA i współaut. 2012).

Siarkowodór wykazuje działanie naczyniorozszerzające również poza układem krążenia. Związek ten wpływa na rozkurcz nasieniowodów, jelita cienkiego, hamuje skurcze mięśniówki macicy zarówno w czasie ciąży, jak i po stymulacji oksytocyną (BEŁTOWSKI 2004, CHENG 2004).

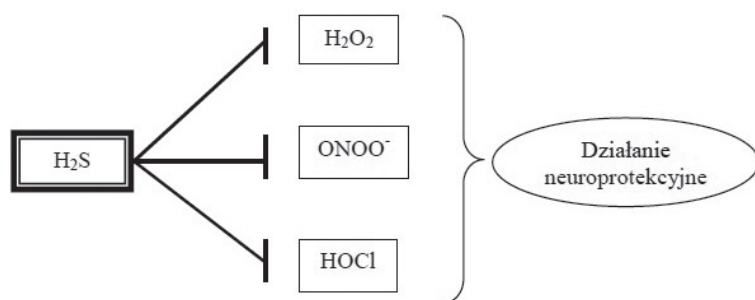
Pełni on również istotną funkcję w aktywacji kanałów  $K_{ATP}$  w komórkach  $\beta$ -trzustki, odpowiedzialnych za wydzielanie insuliny. W warunkach podwyższonego poziomu glukozy we krwi dochodzi do zwiększonego napływu tego cukru do komórek  $\beta$ -trzustki, konsekwencją jest produkcja ATP. Następuje zamknięcie kanałów  $K_{ATP}$  w depolaryzowanej błonie komórkowej oraz otwarcie zależnych od napięcia kanałów wapniowych. Wysokie stężenie wolnych jonów  $Ca^{2+}$  powoduje uwalnianie insuliny. Interakcja między  $H_2S$ , glukozą i kanałami  $K_{ATP}$  w komórkach  $\beta$ -trzustki stanowi ważny element mechanizmu kontrolującego wydzielanie insuliny. Poziom endogenego  $H_2S$  odpowiada za otwieranie i zamykanie kanałów  $K_{ATP}$  w komórkach  $\beta$ -trzustki, zaś stężenie glukozy we krwi reguluje jego produkcję (Ryc. 5). Przy niskim stężeniu glukozy jego poziom jest wysoki, kanały  $K_{ATP}$  są otwarte, błona komórkowa jest w stanie hyperpolaryzacji, kanały  $Ca^{2+}$  są mało aktywne, więc nie dochodzi do wydzielania insuliny. W warunkach podwyższonego stężenia glukozy sytuacja jest odwrotna, a w konsekwencji dochodzi do uwalniania insuliny (YANG i współaut. 2005).

#### SIARKOWODÓR W UKŁADZIE NERWOWYM

Za syntezę siarkowodoru w układzie nerwowym w dużej mierze odpowiada CBS. Gen kodujący ten enzym zlokalizowany jest w 21

chromosomie. W przypadku trisomii 21 pary chromosomów, obserwowanej u osób z zespołem Downa, dochodzi do zwiększonej





Ryc. 6. Wpływ siarkowodoru na reaktywne formy tlenu, azotu i chloru (wg WHITEMANA i współaut. 2004, STĘPNIKA 2001, zmodyfikowana)..

ekspresji genu *CBS*. W konsekwencji obserwuje się znacznie wyższą produkcję  $H_2S$ , który prawdopodobnie działa neurotoksycznie. Związek ten hamuje oksydazę cytochromu *c* lub wywołuje nadmierną stymulację receptorów NMDA, za pośrednictwem wtórnego przekąźnika jakim jest cykliczny adenylozomonofosforan (cAMP). Receptor NMDA jest receptorem jonowym składającym się z trzech podjednostek NMDAR1, NMDAR2A i NMDAR2B. Jego endogennymi ligandami są m.in.: kwas N-metylo-D-asparaginowy (NMDA) oraz kwas glutaminowy. Przyłączenie glutaminianu do receptora powoduje fosforylację podjednostki NMDAR1 wewnątrz kanału jonowego poprzez kinazę białkową *A*, której aktywność jest zależna od cAMP. W konsekwencji dochodzi do otworzenia się kanału i napływu jonów  $Ca^{2+}$ . Powoduje to zmianę długotrwałego wzmocnienia synaptycznego, co oznacza zwiększenie sprawności przewodzenia impulsów nerwowych przez synapsy (Tabela 1). Wpływając także na funkcję osi podwzgórze-przysadka-nadnercza.  $H_2S$  obniża stymulowane potasem uwalnianie hormonu kortykotropowego przez podwzgórze. Czynnikiem ten pełni więc rolę negatywnego regulatora osi podwzgórze-przysadka-nadnercza. Związek ten ma również zdolność oddziaływania na wewnątrzkomórkowe magazyny jonów wapnia, powodując ich uwolnienie do wnętrza komórek i tym samym pobudzenie neuronów (ABE i KIMURA 1996, KIMURA 2000, RUSSO i współaut. 2000, GENG i współaut. 2004b, LEE i współaut. 2006, ŁOWICKA i BĘLTOWSKI 2007).  $H_2S$  oddziałuje z zależną od jonów  $Ca^{2+}$  i kalmoduliny ścieżką sygnałową. Kinazy, których aktywność jest zależna od stężenia jonów wapnia i kalmoduliny należą do rodziny kinaz serynowo-treoninowych. Ich aktywacja następuje na skutek dołączenia się kompleksu jonów  $Ca^{2+}$  i kalmoduliny (Tabela 1).

Przeprowadzono wiele badań potwierdzających protekcyjne działanie  $H_2S$ , którego niedobór może być wręcz szkodliwy. Związek ten chroni komórki nerwowe przed toksycznym działaniem glutaminianu, którego nadmierna produkcja towarzyszy drgawkom, niedokrwieniu mózgu, urazom. Jego neurotoksyczne działanie polega na zwiększonej stymulacji receptorów lub blokowaniu transportu cysteiny do neuronów przez system  $x_c^-$ . Jest to rodzaj transportu aktywnego, antyport cysteiny/glutationu, polegający na blokowaniu importu cysteiny, która służy do wytransportowania glutationu. Skutkiem takiego działania jest obniżenie stężenia cysteiny w komórkach i osłabienie syntezy glutationu. GSH wykazuje działanie ochronne przed stresem oksydacyjnym.  $H_2S$  zwiększa wewnątrzkomórkowe stężenie GSH, cysteiny i  $\gamma$ -glutamylcysteiny (ŁOWICKA i BĘLTOWSKI 2007).

$H_2S$  ma zdolność hamowania aktywności biologicznej nadtlenoazotynu ( $ONOO^-$ ). Nadtlenoazotyn powstaje w reakcji tlenku azotu z anionorodnikiem ponadtlenkowym. Wykazuje zdolność indukcji peroksydacji lipidów, a także powoduje oksydację tioli, upośledza łańcuchowy transport elektronów w mitochondriach. Wykazuje aktywność w chorobach neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Alzheimera, Parkinsona, Huntingtona, czy stwardnienie zanikowe boczne. Wynika to ze zdolności do nitrowania grup fenolowych w cząsteczkach tyrozyny i tryptofanu występujących w białkach.  $ONOO^-$  szczególnie silnie oddziałuje na tyrozinę i w konsekwencji powstaje 3-nitrotyrozyna.  $H_2S$  znacząco hamuje oddziaływanie  $ONOO^-$  z tyroziną, hamując jej nitrowanie. Jego działanie jest porównywane do działania GSH, który uznawany jest za kluczowy czynnik chroniący komórki przed  $ONOO^-$ . Poziom siarkowodoru w wyżej wymienionych chorobach jest obniżony, co prowadzi do zwiększonej aktywności  $ONOO^-$  i ostatecznie degeneracji neuronów (STĘPNIK 2001, WHITEMAN i współaut. 2004).  $H_2S$  ma zdolność hamowania aktywności innych reaktywnych form tlenu, azotu czy chloru, do których zalicza się m.in.: nadtlenek wodoru ( $H_2O_2$ ), kwas podchloraowy ( $HOCl$ ) (Ryc. 6).  $HOCl$  tworzony jest w reakcji nadtlenu wodoru z anionem chlorowym, proces ten jest katalizowany przez



mieloperoksydazę. HOCl jest toksyczny w stosunku do neuronów, oddziałuje podobnie, jak ONOO<sup>-</sup> powodując powstanie 3-chlorotyrozyny. H<sub>2</sub>S znacząco ogranicza toksyczną

aktywność HOCl, jest to istotny mechanizm eliminacji HOCl, zanim powstaną zmiany neurodegeneracyjne (WHITEMAN i współaut. 2005).

### SIARKOWODÓR W HIBERNACJI

Wyniki przeprowadzonych badań na modelach zwierzęcych wskazują, iż H<sub>2</sub>S wywołuje stan zbliżony do hibernacji. Ssaki znajdujące się w środowisku umiarkowanego stężenia H<sub>2</sub>S, które wynosi około 80 ppm, wchodzi w stan hipotermii. Po 6 godzinnym przebywaniu w takim otoczeniu, temperatura ciała badanych myszy spadła, do około 15°C, a poziom metabolizmu zmniejszył się o około 90%. Kiedy badane zwierzęta zostały ponownie umieszczone w środowisku ze świeżym powietrzem, ich stan wracał do normy, nie wykazując jednocześnie żadnych zmian w zachowaniu i funkcjonowaniu. Istnieje wiele możliwości wykorzystania tego stanu, między

innymi w celu chemicznego regulowania hipotermii. H<sub>2</sub>S wywołuje takie działanie prawdopodobnie poprzez odwracalne hamowanie mitochondrialnej oksydazy cytochromu c (CcO), w wyniku czego następuje spowolnienie oddychania. W środowisku z podwyższonym stężeniem H<sub>2</sub>S, wiąże się on do zredukowanej CcO, konkurując przy tym z tlenem o wiązanie do miejsca aktywnego enzymu. W takiej sytuacji związek ten może zostać zastąpiony przez tlen. Jeśli natomiast stężenie H<sub>2</sub>S zostanie obniżone, to nie konkuruje on z tlenem, a jedynie redukuje utlenioną CcO oraz cytochrom c, co umożliwi katalityczną redukcję tlenu (COLLMAN i współaut 2009).

### PODSUMOWANIE

Badania jednoznacznie wykazują, że siarkowodór obok tlenu azotu i tlenu węgla jest trzecim gazowym mediatorem. Przedstawione dane potwierdzają, jak istotną rolę w organizmie pełni H<sub>2</sub>S. Wykorzystując różne ścieżki sygnałowe, działa neuro- i kardioprotekcyjnie.

Nie oznacza to jednak, że endogenne H<sub>2</sub>S wykazuje jedynie pozytywne działanie na fizjologię człowieka i innych organizmów. Wiele z mechanizmów jego działania nie zostało jeszcze poznanych, ale ich odkrycie i zrozumienie będzie z pewnością bardzo cenne.

## SIARKOWODÓR – GAZ NIE TYLKO O WŁAŚCIWOŚCIACH TOKSYCZNYCH

### Streszczenie

Siarkowodór (H<sub>2</sub>S) jest trzecim, po tlenku węgla (CO) i tlenku azotu (NO<sup>•</sup>), mediatorem regulującym aktywność komórek. W organizmie jest on wytwarzany z cysteiny przy użyciu β-syntazy cystationiny (CBS) lub γ-liazy cystationiny (CSE). Badania z ostatnich lat potwierdzają, że siarkowodór reguluje funkcje układu krążenia i układu nerwowego. H<sub>2</sub>S wpływa na ciśnienie tętnicze krwi. Niski poziom siarkowodoru zwiększa ryzyko rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego, jak np. miażdżycy, czy zakrzepicy. Ponadto gaz ten wykazuje właściwości

pro- i przeciwzapalne. H<sub>2</sub>S reguluje również funkcje układu nerwowego, a jako cząsteczka sygnałowa zaangażowany jest w szlaki transdukcji sygnału komórkowego. Oddziałuje on na kanały K<sub>ATP</sub> i kinazę zależną od jonów Ca<sup>2+</sup> i kalmoduliny. Siarkowodór wpływa na syntezę cAMP i aktywność receptorów NMDA. Co więcej H<sub>2</sub>S reguluje wydzielanie insuliny. Gaz ten wpływa na syntezę i działanie reaktywnych form tlenu, azotu i chloru. Dodatkowo siarkowodór reguluje wytwarzanie CO i NO<sup>•</sup>. Siarkowodór, tlenek azotu i tlenek węgla to tzw. gazotransmitery..

## HYDROGEN SULFIDE – GAS, WHICH DOESN'T HAVE ONLY TOXIC PROPERTIES

### Summary

The aim of this article is to review recent studies confirming that hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S), like carbon monoxide (CO) and nitric oxide (NO<sup>•</sup>), plays in cells important regulatory functions that in con-

trol of cardiovascular and nervous systems, and in cell signaling. Hydrogen sulfide belongs thus to the group of gaseous transmitters, together with nitric oxide and carbon monoxide.

## LITERATURA

- ABE K., KIMURA H., 1996. *The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator*. J. Neurosci. 16, 1066-1071.
- ALI M., PING C., MOK Y., LING L., WHITEMAN M., BHATIA M., MOORE P. K., 2006. *Regulation of vascular nitric oxide in vitro and in vivo; a new role for endogenous hydrogen sulphide?* Brit. J. Pharmacol. 149, 625-634.
- BEŁTOWSKI J., 2004. *Siarkowodor jako biologicznie aktywny mediator w układzie krążenia*. Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej 58, 285-291.
- BHATIA M., 2005. *Hydrogen sulfide as a vasodilator*. Life 57, 603-606.
- CHENG Y., NIDISANG J., TANG G., CAO K., WANG R., 2004. *Hydrogen sulfide-induced relaxation of resistance mesenteric artery beds of rats*. Am. J. Physiol., Heart Circul. Physiol. 287, H2316-H2323.
- COLETTA C., PAPAPETROPOULOS A., ERDELYI K., OLAH G., MODIS K., PANOPOULOS P., ASIMAKOPOULOU A., GERO D., SHARINA I., MARTIN E., SZABO C., 2012. *Hydrogen sulfide and nitric oxide are mutually dependent in the regulation of angiogenesis and endothelium-dependent vasorelaxation*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 23, 801-807.
- COLLMAN J. P., GHOSH S., DEY A., DECREAU R., 2009. *Using a functional enzyme model to understand the chemistry behind hydrogen sulfide induced hibernation*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 52, 22090-22095.
- DISTRUTTI E., SEDIARI L., MENCARELLI A., RENGA B., ORLANDI S., RUSSO G., CALIENDO G., SANTAGADA V., CRINO G., WALLECE J. L., FIORUCCI S., 2006. *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. Therapeut. 319, 447-458.
- DU J., HUI Y., CHEUNG Y., BEN G., JIANG H., CHEN X., TANG C., 2004. *The possible role of hydrogen sulfide as a smooth muscle cell proliferation inhibitor in rat cultured cells*. Heart Vessels 19, 75-80.
- FIORUCCI S., ORLANDI S., MENCARELLI A., CALIENDO G., SANTAGADA V., DISTRUTTI E., SANTUCCI L., CIRINO G., WALLACE J. L., 2007. *Enhanced activity of a hydrogen sulphide-releasing derivative of mesalamine (ATB-429) in a mouse model of colitis*. Brit. J. Pharmacol. 150, 996-1002.
- FRYDRYCH B., 2008. *Wybrane związki nieorganiczne*. [W:] *Podstawy toksykologii*. PIOTROWSKI J. (red.). Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa, 195-221.
- GENG B., YANG J., QI Y., ZHAO J., PANG Y., DU J., TANG CH., 2004a. *H<sub>2</sub>S generated by heart in rat and its effects on cardiac function*. Biochem. Biophys. Res. Comm. 313, 362-368.
- GENG B., CHANG L., PAN C., QI Y., ZHAO J., PANG Y., DU J., TANG C., 2004b. *Endogenous hydrogen sulfide regulation of myocardial injury induced by isoproterenol*. Biochem. Biophys. Res. Comm. 318, 756-763.
- JEONG S.-O., PAE H.-O., OH G.-S., JEONG G.-S., LEE B.-S., LEE S., KIM D. Y., RHEW H. Y., LEE K.-M., CHUNG H.-T., 2006. *Hydrogen sulfide potentiates interleukin-1β-induced nitric oxide production via enhancement of extracellular signal-regulated kinase activation in rat vascular smooth muscle cells*. Biochem. Biophys. Res. Comm. 345, 938-944.
- KIMURA H., 2000. *Hydrogen sulfide induces cyclic AMP and modulates the NMDA receptor*. Biochem. Biophys. Res. Comm. 267, 129-133.
- LEE M., TAZZARI V., GIUSTARINI D., ROSSI R., SPARATORE A., SOLDATO P., MCGEER E., MCGEER P. L., 2010. *Effects of hydrogen sulfide-releasing L-DOPA derivatives on glial activation*. J. Biol. Chem. 23, 17318-17328.
- LEE S., HU Y. S., HU L. F., LU Q., DAWE G. S., MOORE P. K., WONG P., BIAN J. S., 2006. *Hydrogen sulphide regulates calcium homeostasis in microglial cells*. Glia 54, 116-124.
- LI L., BHATIA M., MOORE P., 2006. *Hydrogen sulphide - a novel mediator of inflammation?* Curr. Opin. Pharmacol. 6, 125-129.
- LI L., SALTO-TELLEZ M., TAN C., WHITEMAN M., MOORE P. K., 2009. *GY4137, a novel hydrogen sulfide-releasing molecule, protects against endotoxic shock in the rat*. Free Rad. Biol. Med. 47, 103-113.
- ŁOWICKA E., BEŁTOWSKI J., 2007. *Hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) - the third gas of interest for pharmacologists*. Pharmacol. Rep. 59, 4-24.
- MALINOWSKA J., BABICZ K., OLAS B., 2011. *Biologiczna aktywność siarkowodoru*. Wiadomości Chemiczne 65, 289-299.
- MOREL A., MALINOWSKA J., OLAS B., 2012a. *Hydrogen sulfide changes adhesive properties of fibrinogen and collagen in vitro*. Platelets Nov 13 (w druku).
- MOREL A., MALINOWSKA J., OLAS B., 2012b. *Antioxidative properties of hydrogen sulfide may involve in its antiadhesive action on blood platelets*. Clin. Biochem. 45, 1678-1682.
- OH G., PAE H., LEE B., KIM B.-N., KIM H.-R., JEON S. B., JEON W. K., CHAE H.-J., CHUNG H.-T., 2006. *Hydrogen sulfide inhibits nitric oxide production and nuclear factor-κB via heme oxygenase-1 expression I RAW264.7 macrophage stimulated with lipopolysaccharide*. Free Rad. Biol. Med. 41, 106-119.
- PAE H., LEE Y., EUN-KYEONG J., CHUNG H., 2009. *Subtle interplay of endogenous bioactive gases (NO, CO and H<sub>2</sub>S) in inflammation*. Arch. Pharm. Res. 32, 1155-1162.
- RUSSO C., TRINGALI G., RAGAZZONI E., MAGGIANO N., MENINI E., VAIRANO M., PREZIOSI P., NAVARRA P., 2000. *Evidence that hydrogen sulphide can modulate hypothalamo-pituitary-arenal axis function: in vitro and in vivo studies in the rats*. J. Neuroendocrinol. 12, 225-233.
- SHIBUYA N., KOIKE S., TANAKA M., ISHIGAM-YUASA M., KIMURA Y., OGASAWARA Y., FUNKUI K., NAGAHARA N., KIMURA H., 2013. *A novel pathway for the production of hydrogen sulfide from D-cysteine in mammalian cells*. Nat. Communicat. 4, 1366.
- SPARATORE A., PERRINO E., TAZZARI V., GIUSTARINI D., ROSSI R., ROSSONI G., ERDMAN K., SCHRÖDER H., SOLDATO P., 2009. *Pharmacological profile of a novel H<sub>2</sub>S-releasing aspirin*. Free Rad. Biol. Med. 46, 586-592.
- STĘPNIK M., 2001. *Molekularne aspekty toksycznego działania tlenku azotu*. Medycyna Pracy 52, 5, 375-381.
- TANG G., WU L., LIANG W., WANG R., 2005. *Direct stimulation of K<sub>ATP</sub> channel by exogenous and endogenous hydrogen sulfide in vascular smooth muscle cells*. Am. Soc. Pharmacol. Exp. Therapeut. 69, 1757-1764.
- TANIZAWA K., 2011. *Production of H<sub>2</sub>S by 3-mercaptopyruvate sulphurtransferase*. J. Biochem. 149, 357-359.

- UFNAL M., ŽERA T., 2010. *Rola tlenku azotu, siarkowodoru oraz tlenku węgla w regulacji układu krążenia i ich potencjał farmakoterapeutyczny*. Kardiologia Polska Suppl. 5, 436–440.
- WALLACE J. L., 2007. *Hydrogen sulfide-releasing anti-inflammatory drugs*. Trends Pharmacol. Sci. 28, 501–505.
- WALLACE J. L., CALIENDO G., SANTAGADA V., CIRINO G., 2010. *Markedly reduced toxicity of a hydrogen sulphide-releasing derivative of naproxen (ATB-346)*. Bri. J. Pharmacol. 159, 1236–1246.
- WHITEMAN M., ARMSTRONG J., CHU S. H., JIA-LING S., WONG B., CHEUNG N. S. HALLIWELL B., MOORE P. K., 2004. *The novel neuromodulator hydrogen sulfide: an endogenous peroxynitrite scavenger?* J. Neurochem. 90, 765–768.
- WHITEMAN M., CHEUNG N., ZHU Y., CHU S. H., SIAU J. L., WONG B. S., ARMSTRONG J. S., MOORE P. K., 2005. *Hydrogen sulphide: a novel inhibitor of hypochlorous acid-mediated oxidative damage in the brain?* Biochem. Biophys. Res. Comm. 326, 794–798.
- WHITEMAN M., LI L., KOSTETSKI I., CHU S. H., SIAU J. L., BHATIA M., MOORE P. K., 2006. *Evidence for the formation of a novel nitrosothiol from the gaseous mediators nitric oxide and hydrogen sulphide*. Biochem. Biophys. Res. Comm. 343, 303–310.
- YANG W., YANG G., JIA X., WU L., WANG R., 2005. *Activation of  $K_{ATP}$  channel by  $H_2S$  in rat insulin-secreting cells and the underlying mechanisms*. J. Physiol. 569, 519–531.
- ZAGLI G., PATACCHINI R., TREVISANI M., ABBETE R., CINOTTI S., GENSINI G.F., MASOTTI G., GEPPETTI P., 2007. *Hydrogen sulfide inhibits human platelet aggregation*. Europ. J. Pharmacol. 559, 65–68.
- ZANARDO R., BRANALEONE V., DISTRUTTI E., FIORUCCI S., CRINO G., WALLACE J., 2006. *Hydrogen sulfide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation*. J. Fed. Am. Soc. Exp. Biol. 20, 2118–2120.