

SULFAN – DALŠÍ PLYNNÝ HORMON ?

LUBOSLAV STÁRKA

Endokrinologický ústav, Národní 8, 116 94 Praha 1
lstarka@endo.cz

Došlo 26.8.08, přijato 11.9.08.

Klíčová slova: sulfan, biosyntéza, katabolismus, cystathionin- β -syntethasa, cystathionin- γ -lyasa, účinek

Obsah

1. Úvod
2. Biosyntéza H₂S
3. Katabolismus H₂S
4. Účinky sulfanu v organismu
 - 4.1. H₂S v CNS
 - 4.2. H₂S a kardiovaskulární systém
 - 4.3. Účinky H₂S na svalstvo
 - 4.4. Účinky H₂S na zánětlivé procesy
 - 4.5. Další účinky H₂S
5. Závěr

1. Úvod

Sulfan H₂S (sirovodík) je dlouho známý jako toxický plyn se zápachem zkažených vajec. O jeho toxikologických účincích víme dlouhá léta a literatura o tomto jeho působení je velmi rozsáhlá (přehled viz cit.¹). Toxické účinky se projevují nejvýrazněji v centrálním nervovém systému a v účinku na respirační funkci.

Důležitým poznáním bylo, že sulfan je produkován také endogenně, takže jeho koncentrace v cirkulaci v potkaním séru dosahují 0–46 $\mu\text{mol l}^{-1}$ a v CNS dokonce 50–160 $\mu\text{mol l}^{-1}$. Sulfan vzniká metabolismem různých sirných sloučenin. Blíže je známa cesta vycházející z L-cysteinu nebo homocysteinu, na které se podílí působení dvou enzymů: cystathionin γ -synthasy (CBS, EC 2.5.1.48), cystathionin β -lyasy (CSE, EC 4.4.1.8). Další cestou je působení 3-merkaptosulfotransferasy (EC 2.8.1.2).

Endogenně produkován sulfan je studován asi dvě desetiletí a poznání jeho fyziologických účinků jej přiřazuje k dvěma dříve známým plyným hormonům, oxidu dusnatému (NO) a oxidu uhelnatému (CO). Zejména o NO se objevilo řada článků o jeho úloze v nečekaných situacích u člověka², ale i o úloze ve fyziologii rostlin³. Sulfan stejně jako NO a CO není ovšem přítomen v organismu

v podobě plynu. Sulfan je slabou kyselinou disociující ve vodných roztocích na kation H⁺ a hydrosulfidový anion HS⁻, který se dále při vyšším pH disociuje na H⁺ a S²⁻. Disociační konstanty jsou K_{a1} = 1,3·10⁻⁷ M a K_{a2} = 1·10⁻¹⁹ M.



Sulfidový anion není za fyziologických podmínek v organismu, t.j. pH kolem 7,4 prakticky přítomen. Sulfan se dobře rozpouští ve vodě a asi třetina ho zůstává ve vodném roztoku nedisociována. Rozpustnost v lipofilním prostředí je ještě asi pětikrát vyšší než ve vodě. V tom se sulfan podobá dvěma dalším „hormonálním plynům“ NO a CO. Lipofilní charakter všem těmto třem látkám umožňuje přestup přes buněčnou membránu. Vzhledem k částečné disociaci však permeabilita sulfanu je o něco nižší než u NO a CO.

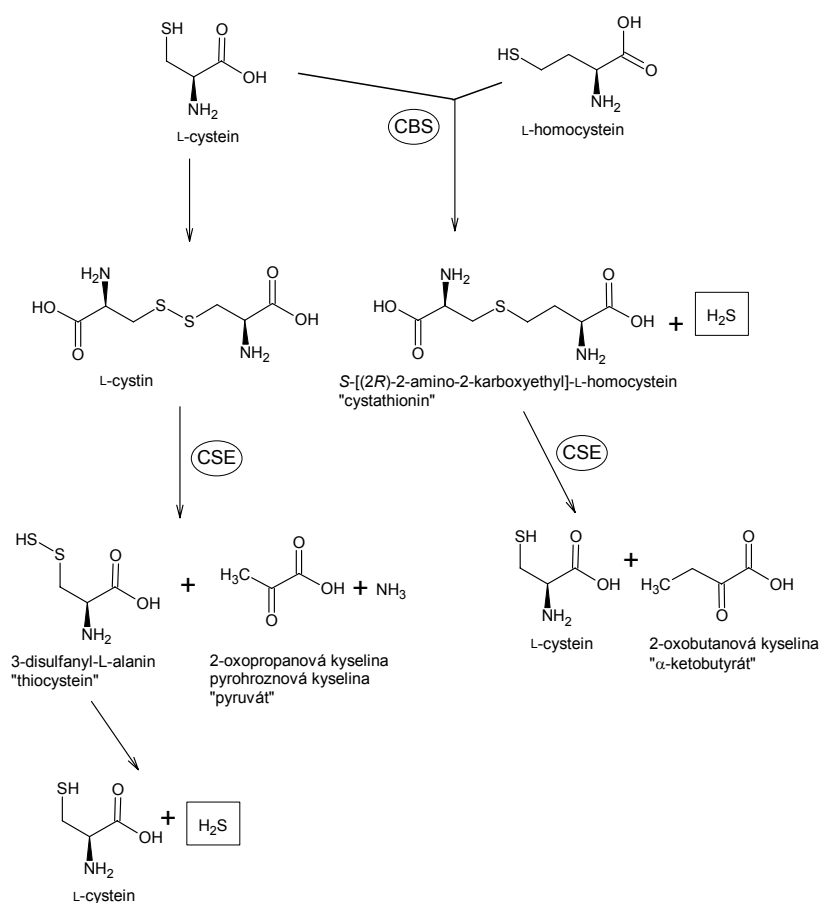
2. Biosyntéza H₂S

Sulfan je endogenně syntetizován a katabolizován enzymovými reakcemi a snad i nějakými neenzymovými reakcemi. Dva hlavní enzymy, které řídí jeho tvorbu v organismu, jsou CBS a CSE (cit.⁴). Tyto enzymy působí rozdílně a různá je i jejich tkáňová distribuce, ale u obou je substrátem pro tvorbu H₂S L-cystein, který je buď alimentárního původu nebo je syntetizován z methioninu nebo uvolňován z endogenních proteinů. Nárys obou hlavních cest biosyntézy H₂S je uveden na schématu 1.

Jinou cestou tvorby H₂S je odstranění atomu síry z cysteinu aniž by byl oxidován. Tento děj může být katalyzován působením 3-merkaptosulfotransferasy, CBS nebo CSE.

CBS i CSE jsou enzymy závislé na pyridoxal-5'-fosfátu. CSE umožňuje konverzi cystathioninu na cystein, ale katalyzuje také degradační eliminační reakce L-homoserinu, L-cystinu a L-cysteinu. CSE je bílkovina o 405 aminokyselinách a strukturně jde o tetramer tvořený dvěma homodimery. CBS obecně katalyzuje substituční reakce mezi L-serinem, L-cysteinem, thioetery cysteinu a dalšími β -substituovanými L-aminokyselinami a některými merkaptany. Lidská CBS je homotetramer sestávající z podjednotek o 63 kDa a vázající pyridoxal-5'-fosfát a hem. Každá podjednotka CBS o 551 aminokyselinách váže dva substráty – homocystein a serin.

Cesta tvorby H₂S působením CSE převažuje v kardiovaskulárním systému, CBS pak v centrálním nervovém systému⁵, tkáňově specifická je i exprese obou enzymů. Jejich aktivita je regulována zpětnou vazbou H₂S, který blokuje CBS i CSE.

Schéma 1. Schéma biosyntézy H₂S

3. Katabolismus H₂S

H₂S je většinou metabolizován na sulfát a thiosulfát oxidačním metabolismem v mitochondriích za spouštěcí účasti glutathionu. Velmi malá část H₂S je methylací v cytosolu konvertována na méně toxické látky jako je methylmerkaptan a dimethylsulfát. Tyto metabolity se vyloučí ledvinami, gastrointestinálním ústrojím a plicemi během 24 h, takže endogenně produkovaný H₂S se za fyziologických podmínek neakumuluje v organismu v míře toxického ohrožení buněk. Další cesta eliminace sulfanu je jeho vazba na hemoglobin, podobně jako je tomu u CO nebo NO. Tři hlavní cesty katabolismu sulfanu jsou uvedeny na schématu 2.

4. Účinky sulfanu v organismu

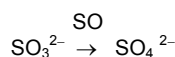
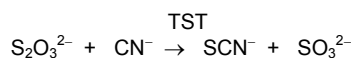
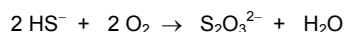
O účincích sulfanu existuje řada dokladů a významný je příspěvek čínských a japonských autorů, z jejichž pera pochází i několik výborných přehledů⁵⁻⁹ a zejména novější přehled Chenův¹⁰.

4.1. H₂S v CNS

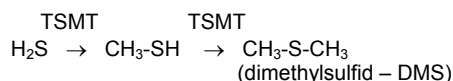
Endogenně je sulfan produkován zejména v některých částech mozku¹¹, hipokampu (obloučkovitém závitě ve spodní části mozku), mozečku a mozkovém kmenu, a to působením CBS za řídicí účasti kalciových iontů a kalmulinu¹². Endogenní sulfan má v mozku fyziologickou funkci a jak se zdá, působí přes *N*-methyl-D-aspartátové (NMDA) receptory. Jiná studie prokazuje, že sulfan může zvyšovat intracelulární kalciové ionty a indukovat kalciovou vlnu v sousedních astrocytech¹³. Může tak zprostředkovávat signál mezi neurony a glii a regulovat synaptickou aktivitu působením jak na neuron, tak na glii. Kromě funkce přenašeče signálu může sulfan plnit také neuroprotektivní úlohu a chránit neurony před oxidačním stresem. Děje se tak jednak zvyšováním koncentrace glutathionu¹⁴, jednak aktivací K⁺_{ATP} a Cl⁻ kanálů¹⁵.

Koncentrace sulfanu v CNS se mění při některých onemocněních mozku. Jeho hladina klesá o více než polovinu u Alzheimerovy nemoci při současném poklesu aktivity CBS¹⁶. Ta je snížena také při homocysteinurii, naopak proti očekávání třikrát zvýšena u Downova syndromu¹⁷.

1) mitochondriální oxidace



2) cytosolová methylace



3) vazba na hemoglobin



Schéma 2. **Katabolismus sulfanu**; TSMT = thiol-S-methyltransferasa (EC 2.1.1.9), TST = rhodanasa (thiosulfát sulfurtransferasa, EC 2.8.1.1), SO = sulfitoxidasa (EC 1.8.3.1)

4.2. H₂S a kardiovaskulární systém

Sulfan je generován také v kardiovaskulárním systému, ale na rozdíl od mozku je cestou jeho vzniku převážně působení CSE^{18,19}. Bohatá exprese CSE byla zjištěna v myokardu i v cévním systému s klesající intenzitou: artérie > aorta > mesenterické artérie. Konkurenční cesta vzniku sulfanu působením CBS v kardiovaskulárním systému hraje jen podřadnou úlohu.

První účinky sulfanu v CNS, které byly publikovány, se týkaly cévní relaxace. Další výzkum ukázal, že jde spíše o působení na hladký sval, nikoli na endotel nebo nervové zásobení cév. Další výsledky v této oblasti poukazovaly na skutečnost, že sulfan zvyšuje relaxační účinek NO. Zhao¹⁹ však potvrdil, že hlavní cílovou strukturou pro molekulární působení H₂S jsou ATP-dependentní K⁺ kanály (K⁺_{ATP}). Vasorelaxační účinek je tedy pravděpodobně umožněn otevřením K⁺_{ATP} kanálů buněk hladkého vaskulárního svalstva a následnou membránovou hyperpolarizací. Sulfan tak omezuje vstup extracelulárních kalciových iontů a relaxuje vaskulární tkáň. V mechanismu vasorelaxačního účinku sulfanu hrají také roli další endoteliální faktory, např. uvolňování oxidu dusnatého. Na rozdíl od oxidu dusnatého nebo oxidu uhelnatého vasodilatace není zprostředkována cGMP signální cestou. Ve shodě s oběma uvedenými signálními plyny NO a CO sulfan inhibuje také proliferaci a apoptózu ve vaskulárním hladkém svalstvu^{20,21} cestou aktivace mitogen-aktivované protein kinasy (MAPK, EC 2.7.11.24) a kapsy 3. H₂S nemá tedy jen vasodilatační účinky, ale působí také jako důležitý regulátor buněčného růstu a ovlivňuje tedy strukturální remodelaci cév.

Dosud byla patofyziologická úloha H₂S zjišťována v experimentu u některých kardiovaskulárních onemocnění jako je spontánní hypertenze²², hypoxií indukovaná^{22,23} nebo průtokem indukovaná^{24,25} plicní hypertenze. Exogen-

ní podání H₂S zde snižovalo krevní tlak a stimulovalo remodelaci cév za současné úpravy koncentrace sulfanu a aktivity CSE. Podání sulfanu vyvolalo také downregulaci exprese genu pro osteopontin a snížilo vaskulární kalcifikaci²⁶ a snižovalo zvýšený plicní arteriální tlak. Exogenní sulfan inhiboval také NO syntasu (EC 1.14.13.39) a stimuloval CO produkci u potkanů s vysokým krevním průtokem plicemi. Můžeme proto pohlížet na H₂S jako na důležitý regulační faktor v řízení krevního tlaku. Některé studie²⁷ upozorňují na skutečnost, že koncentrace endogenního arteriálního sulfanu je významně zvýšena při septickém nebo endotoxinovém šoku.

H₂S také aktivuje K⁺_{ATP} kanály v mitochondriích a myocytech a má mohutný kardioprotektivní účinek²⁸, který byl prokázán i na izolovaných potkaních ventrikulárních myocytech²⁹. V experimentálním modelu ischemie myokardu podání NaHS snižovalo mortalitu a zmenšovalo rozsah infarkce³⁰.

4.3. Účinky H₂S na svalstvo

Narozdíl od vasodilatačního působení, NaHS ve svalstvu vyvolává kontrakci, např. detrusoru močového měchýře potkana³¹. Další pokusy prokázaly, že sulfan stimuluje nervové receptory citlivé na kapsaicin s následným uvolněním tachykininů. Ty pak vyvolávají kontrakci detrusoru. Kromě vlivu NaHS na detrusor byla na morčeti pozorována *in vivo* bronchokonstrikce po podání tohoto sulfidu. Tento mechanismus je součástí dráždění dýchacího systému sulfanem.

4.4. Účinky H₂S na zánětlivé procesy

Poměrně dlouho bylo známo, že proliferace T-lymfocytů je inhibována sirnými termálními vodami přidanými do kultivačního média³². Pozdější studie ukázaly, že působení sulfanu na izolované lidské granulocyty indukuje apoptózu, ale nikoli nekrózu buněk. NaHS zvyšoval přežití granulocytů v kultuře za stresových podmínek v závislosti na dávce NaHS. Zatímco tento příznivý účinek se týkal granulocytů, eosinofily nebyly ovlivněny a u lymfocytů bylo přežívání zkráceno. Sulfan má také jistou roli v zánětu vyvolaném endotoxinem³³. V poslední době byla věnována pozornost hemorhagickému šoku a jeho ovlivnění sulfanem³⁴, protože se zdá, že inhibitory CSE by mohly být vhodným příspěvkem k léčbě tohoto život ohrožujícího stavu.

4.5. Další účinky H₂S

Relaxační účinek sulfanu na ileum ukazuje, že tato signální molekula může být součástí řízení kontraktálních funkcí v motilitě střeva³⁵.

Endogenní produkce H₂S a exprese CSE a CBS byly prokázány v acinárních i beta-buňkách pankreatu. Obsah H₂S v pankreatu byl významně zvýšen u diabetických potkanů. V acinárních buňkách i beta-buňkách pankreatu byly po podání NaSH zjištěny zvýšené známky časných stadií apoptózy³⁶.

Prokázána byla tvorba H₂S *in vitro* v kavernózních těliscích penisu a byl proto předpokládán farmakologický proerektivní účinek sulfanu³⁷.

5. Závěr

O sulfanu (H₂S) bylo prokázáno, že je důležitou signální biologickou molekulou endogenního původu. V savčích tkáních je produkován endogenně enzymy CBS a CSE zejména z cysteinu a homocysteinu a hraje důležitou úlohu za fyziologických a patofyziologických podmínek v centrální nervové soustavě, v kardiovaskulárním systému, v hladkém svalstvu a dalších systémech.

Seznam zkratk

| | |
|------|---|
| CBS | cystathionin- γ -synthasa (EC 2.5.1.48) |
| CNS | centrální nervový systém |
| CSE | cystathionin- β -lyasa (EC 4.4.1.8) |
| MAPK | mitogen-aktivované proteinkinasy (EC 2.7.11.24) |
| NMDA | <i>N</i> -methyl-D-aspartát |
| SO | sulfitoxidasa (EC 1.8.3.1) |
| TSMT | thiol- <i>S</i> -methyltransferasa (EC 2.1.1.9) |
| TST | rhodanasa (thiosulfatsulfurtransferasa, EC 2.8.1.1) |

LITERATURA

- Beauchamp R. J., Bus J. S., Popp J. A., Boreiko C. J., Andjelkovich D. A.: *Crit. Rev. Toxicol.* 13, 25 (1984).
- Stárka L.: *Chem. Listy* 101, 13 (2007).
- Piterková J., Luhová L., Petřivalský M.: *Chem. Listy* 102, 410 (2008).
- Chen X., Jhee K. H., Kruger W. D.: *J. Biol. Chem.* 279, 52082 (2004).
- Wang R.: *FASEB J.* 16, 1792 (2002).
- Tang C. S., Li X. H., Du J. B.: *Curr. Vasc. Pharmacol.* 4, 17 (2006).
- Du J. B., Zhang C. Y., Yan H., Tang C. S.: *Curr. Hypertens. Rev.* 2, 123 (2006).
- O'Sullivan S. E.: *Brit. J. Pharmacol.* 143, 609 (2009).
- Brancalone V.: *Disertace*, str. 97. Università di Napoli Federico II, Napoli 2007.
- Chen C.-Q., Xin H., Zhu Y.-Z.: *Acta Pharmacol. Sin.* 28, 1709 (2007).
- Abe K., Kimura H.: *J. Neurosci.* 16, 1066 (1996).
- Eto K., Kimura H.: *J. Neurochem.* 83, 80 (2002).
- Nagai Y., Tsugane M., Oka J., Kimura H.: *FASEB J.* 18, 557 (2004).
- Kimura Y., Kimura H.: *FASEB J.* 18, 1165 (2004).
- Kimura Y., Dargusch R., Schubert D., Kimura H.: *Antioxid. Redox Signal* 8, 661 (2006).
- Eto K., Asada T., Arima K., Makifuchi T., Kimura H.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 293, 148 (2002).
- Ichinohe A., Kanaumi T., Takashima S., Enokido Y., Noqai Y., Kimura H.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 338, 1547 (2005).
- Hosoki R., Matsuki N., Kimura H.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 237, 527 (1997).
- Zhao W., Zhang J., Lu Y., Wang R.: *EMBO J.* 20, 6008 (2001).
- Yang G., Sun X., Wang R.: *FASEB J.* 18, 1782 (2004).
- Du J. B., Yan H., Cheung Y. F., Geng B., Jiang H. F., Chen X. B.: *Heart Vessels* 19, 75 (2004).
- Yan H., Du J. B., Tang C. S.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 313, 22 (2004).
- Jin H. F., Cong B. L., Zhao B., Zhang C. Y., Liu X. M., Zhou W. J.: *Life Sci.* 78, 1299 (2006).
- Wang Y. F., Shi L., Du J. B., Tang C. S.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 345, 851 (2006).
- Li X. H., Du J. B., Bu D. F., Tang X. Y., Tang C. S.: *Acta Pharmacol. Sin.* 27, 977 (2006).
- Wu S. Y., Pan C. S., Geng B., Zhao J., Yu., Pang Y. Z., Tang C. S., Oi Y. F.: *Acta Pharmacol. Sin.* 27, 299 (2006).
- Yan H., Du J. B., Tang C. S., Geng B., Jiang H. F.: *J. Infect.* 47, 155 (2003).
- Geng B., Yang J., Qi Y., Zhao J., Pang Y., Du J., Tang C.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 313, 362 (2004).
- Pan T. T., Feng Z. N., Lee S. W., Moore P. K., Bion J. S.: *J. Mol. Cell. Cardiol.* 40, 119 (2006).
- Zhu Y. Z., Wang Z. J., Ho P., Loke Y. Y., Zhu Y. C., Huang S. H., Tan C. S., Whiteman M., Lu J., Moore P. K.: *J. Appl. Physiol.* 102, 261 (2006).
- Patacchini R., Santicoli P., Giuliani S., Maggi C. A.: *Eur. J. Pharmacol.* 509, 171 (2005).
- Valitutti S., Castellino F., Musiani P.: *Ann. Allergy* 65, 463 (1990).
- Li L., Bhatia M., Zhu Y. Z., Zhu Y. C., Ramnath R. D., Wang Z. J., Anuar F. B., Whiteman M., Salto-Tellez M., Moore P. K.: *FASEB J.* 19, 1196 (2005).
- Mok Y. Y. P., Atan M. S. B. M., Yoke Ping C. H., Zhong Jing W., Moochhala S., Moore P. K.: *Brit. J. Pharmacol.* 143, 881 (2004).
- Teague B., Asiedu S., Moore P. K.: *Brit. J. Pharmacol.* 137, 139 (2002).
- Cao Y., Adhikari S., Ang A. D., Moore P. K., Bhatia M.: *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 291, C503 (2006).
- Srilatha B., Adaikan P. G., Li L., Moore P. K.: *J. Sex. Med.* 4, 1304 (2007).

L. Stárka (*Institute of Endocrinology, Prague*): **Hydrogen Sulfide – Another Gaseous Hormone?**

Hydrogen sulfide is an important signalling biological compound of endogenous origin. It is produced in mammalian tissues by enzymes β -synthase and cystathionine γ -lyase especially from cysteine and homocysteine. H₂S plays important roles under physiological and pathophysiological conditions in the central nervous and cardiovascular systems, in smooth muscles and other organs.