

POTENCJAŁ ZNACZENIA SIARKOWODORU W INFEKCIACH WIRUSOWYCH

Dr n. med. Marek Grabski

Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, Collegium Medicum, Instytut Fizjoterapii
Malinowe Hotele Centrum Rehabilitacji

WSTĘP

Siarkowódor to gaz niezbędny do prawidłowego funkcjonowania człowieka. Jest on między innymi produkowany w naczyniach, mózgu, nerkach, wątrobie, trzustce a w przypadku różnych chorób odnotowuje się odchylenia od jego prawidłowego stężenia. H_2S bierze udział między innymi w procesach zapamiętywania w mózgu, rozszerzaniu naczyń krwionośnych, wpływa na regulację ciśnienia krwi, przeciwdziała różnym procesom zapalnym i spowalnia metabolizm komórkowy.

H_2S jest w organizmie człowieka głównie syntetyzowany z cysteiny, a jego stężenie w płynach ustrojowych i większości tkanek wynosi 50–300 μmol . We krwi ssaków, w tym człowieka, stężenie siarkowodoru sięga poziomu 30-100 μmol , a w mózgu (szczególnie hipokamp) 50-160 μmol . Najważniejszymi enzymami odpowiedzialnymi za syntezę siarkowodoru w organizmie są syntazy β -cystationiny (CBS), głównie mózg oraz γ -liaza cystationiny (CSE), której jest przypisywana główna rola w syntezie tego transmittera w układzie krążenia. (1) W pH typowym dla większości płynów ustrojowych siarkowódor w około 30% występuje w postaci niezdysocjowanej i jako związek lipofilny łatwo przedostaje się przez błony komórkowe. Do najważniejszych mechanizmów działania H_2S zalicza się hiperpolaryzację komórek związaną z aktywacją kanałów potasowych zależnych od ATP (K-ATP) oraz pobudzenie syntezy NO (tlenek azotu). (2) H_2S w górnych granicach fizjologicznych stężeń w cytoplazmie komórek występuje zwykle przez krótki okres czasu, wywołując określone efekty, następnie jest sprawnie utylizowany. Przeróbka tego związku polega głównie na metylacji oraz oksydacji w mitochondriach, po czym jest on głównie wydalany razem z moczem. (3,4)

ROLA SIARKOWODORU W INFEKCIACH DRÓG ODDECHOWYCH

Rośnie zainteresowanie „gazami medycznymi” ze względu na ich rolę w infekcjach. Siarkowódor (H_2S) to fizjologiczny gazowy mediator, który został uznany za ważną cząsteczkę sygnalizacyjną w przebiegu infekcji. Rola H_2S w różnych infekcjach, takich jak wirusy (paramyksowirusy), bakterie (*Mycobacterium tuberculosis*), mykoplazmy (*Mycoplasma fermentans*) i grzyby (*Aspergillus niger*), jest przedmiotem wielu badań z powodu jego potencjału terapeutycznego. Ponieważ nie ma do końca skutecznych środków terapeutycznych, takich jak środki przeciwdrobnoustrojowe lub szczepionki przeciwko wielu czynnikom chorobotwórczym, immunoregulacyjne i mikrobiologiczne właściwości H_2S sprawiają, że jest on idealnym kandydatem do leczenia chorób zakaźnych.

H_2S ma właściwości przeciwwirusowe i immunoregulacyjne. Moduluje replikację wirusa i reguluje prozapalną ekspresję genów. Ostatnie badania Li i in. odkryły ochronną rolę H_2S przed zakażeniami paramyksowirusem, takimi jak ludzki metapneumowirus (hMPV), syncytialny wirus oddechowy (RSV) i wirus Nipah (NiV) poprzez modulowanie replikacji wirusa i odpowiedzi immunologicznej zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*. Komórki nabłonkowe dróg oddechowych (AEC) zakażone RSV wykazują zmniejszenie syntezy H_2S przez

zmniejszoną ekspresję CSE i zwiększoną degradację H₂S. Hamowanie wytwarzania H₂S przy użyciu inhibitora CSE w badaniach laboratoryjnych prowadzi do wzmożonej replikacji wirusa oraz wytwarzania cytokin. Leczenie zakażonych RSV, hMPV i NiV związkiem chemicznym uwalniającym H₂S hamowało replikację wirusa i zmniejszało prozapalną produkcję cytokin i chemokin, co sugeruje, że H₂S ma szeroki efekt hamujący przeciwko różnym infekcjom paramyksowirusowym. Kolejne badanie laboratoryjne wykazały zmniejszenie replikacji wirusa i poprawienie parametrów klinicznych dysfunkcji płuc. Ochronna rola H₂S może być spowodowana zmniejszeniem indukowanych wirusem nacieków komórkowych w płucach, a następnie wytwarzaniem mediatorów prozapalnych. Oprócz działania przeciwzapalnego i przeciwwirusowego, H₂S ma właściwości przeciwutleniające, które zmniejszają uszkodzenia komórek oksydacyjnych spowodowane infekcją wirusową. Wyniki te potwierdzają ważną modulacyjną rolę H₂S w komórkowym szlaku przeciwutleniaczy w przebiegu infekcji wirusowych.

STRES TLENOWY JEST INTEGRALNĄ CZĘŚCIĄ ZAKAŻEŃ RÓŻNORODNYCH KLAS WIRUSÓW

Stres oksydacyjny został powiązany z szeroką grupą czynników etiologicznych, które powodują ostre i przewlekłe choroby, takie jak infekcje wirusowe, bakteryjne i pasożytnicze. W szczególności infekcje wirusowe i bakteryjne są związane z indukowaniem wytwarzania ROS / RNS (wolne rodniki tlenowe i nadtlenowe), zmianami szlaków metabolicznych prowadzeniem do powikłań związanych z chorobą. W przypadku infekcji wirusowych indukcja stresu oksydacyjnego u gospodarza jest warunkiem rozwoju infekcji i długotrwałej replikacji wirusa. Wirusy RNA (grupa wirusów, w których dojrzałe cząstki wirusa zawierają jako materiał genetyczny kwas rybonukleinowy), takie jak grypa i zakażenie paramyksowirusem, do których zalicza się również KORONAWIRUSY, generują RFT (reaktywne formy tlenu) poprzez aktywację monocytów i leukocytów wielojądrzastych. Badania wskazują, że zaburzony stan oksydacyjny komórek organizmu zapewnia środowisko pozwalające na replikację wirusa. Korzystając z modeli eksperymentalnych (myszy), wykazano, że infekcja grypy A (wirus RNA) powoduje zaburzenia równowagi redoks poprzez obniżenie poziomu glutationu (GSH), witamin C i witaminy E.

Siarkowodor odgrywa szczególną rolę w równowadze oksydacyjno-redukcyjnej komórek ludzkiego organizmu poprzez oddziaływanie bezpośrednie i pośrednie na wolne rodniki tlenowe.

H₂S jako wolny zmiatacz rodników działa jak cząsteczka cytoprotekcyjna i ma zdolność bezpośredniego usuwania wolnych rodników. Ze względu na swoje właściwości nukleofilowe H₂S reaguje z tlenem (O₂), RFT (reaktywne formy tlenu), nadtlenoazotynem (ONOOH / ONOO⁻) i podchlorynem (HOCl / ⁻OCl) Badania wskazują na bezpośrednie usuwanie utleniaczy przez H₂S in vitro. Alternatywnie, wykazano, że H₂S zwiększa wytwarzanie GSH poprzez zwiększenie wewnętrznego transportu cystyny i indukowanie ekspresji enzymu biosyntezy GSH, GSSG (zredukowana i utleniona postać glutationu) Ten wzrost wewnątrzkomórkowego GSH może być kolejnym mechanizmem, w którym H₂S pośrednio uczestniczy w ochronie przed stresem oksydacyjnym

ZAKAŻENIA WIRUSOWE DRÓG ODDECHOWYCH

Ostatnie badania zidentyfikowały nową rolę przeciwwirusową dla H₂S. Zakażenie syncytialnym wirusem oddechowym (RSV) komórek nabłonkowych dróg oddechowych było związane ze zmniejszonym Mrna, CSE i ekspresją białka, zmniejszoną zdolnością do generowania wewnątrzkomórkowego H₂S oraz zwiększoną ekspresją reduktazy sulfinochinonowej, co prowadzi do zwiększonej degradacji siarkowodoru w komórkach zakażonych wirusem i zwiększonym tworzeniem wirusowych cząstek zakaźnych. Dane te wskazują, że endogenne H₂S odgrywa ważną rolę w kontrolowaniu replikacji wirusa i choroby płuc w odpowiedzi na zakażenie RSV.

BIOLOGICZNE SKUTKI DZIAŁANIA SIARKOWODORU W PŁUCACH I TOWARZYSZĄCYCH KOMÓRKACH UKŁADU ODPORNOŚCIOWEGO.

Nabłonek błony śluzowej dróg oddechowych jest pierwszą wewnętrzną linią obrony poprzez oddziaływanie jak bariera fizyczna między środowiskiem wewnętrznym i zewnętrznym. Ciecz powierzchniowa dróg oddechowych (składająca się ze śluzu i warstw cieczy okołowierzchołkowej) pokrywa tę powierzchnię nabłonkową złożoną z komórek kubkowych, komórek rzęskowych, komórek podstawowych i innych. Warstwa bogata w fibroblasty tkanki łącznej znajduje się pod powierzchnią nabłonka i bierze udział w utrzymaniu homeostazy tkanek i gojeniu się uszkodzeń. W tej warstwie znajduje się kolejna bariera płucna utworzona przez komórki śródbłonka, które oddzielają strumień krwi i ściany naczyń krwionośnych. Śródbłonek ma również inne funkcje (np. zaopatrzenie w krew i tlen, dostarczanie składników odżywczych i ruch komórek odpornościowych). W warunkach fizjologicznych enzymy związane z H₂S ulegają ekspresji w płucach człowieka w pierwotnych fibroblastach. Obecnie uznaje się, że H₂S jest niezbędny do rozwoju układu naczyniowego i pęcherzyków płucnych a także w innych funkcjach płuc jak krążenie płucne. Ponadto wydaje się, że H₂S bierze udział w różnych procesach, mianowicie w aktywności mukolitycznej dróg oddechowych, stresie oksydacyjnym, stanie zapalnym, proliferacji komórek i apoptozie.

Poziom H₂S w surowicy jest znacznie zmniejszony u osób z POChP (przewlekła obturacyjna choroba płuc) z bardzo objawowymi zaostrzeniami wywołanymi przez bakterie i wirusy w porównaniu z osobami kontrolnymi. Jednak gdy zaostrzenia przewlekłej choroby oskrzelowo-płucnej nie są objawowe poziomy H₂S w surowicy są wyższe niż u osób kontrolnych. Ponadto, gdy pacjenci w okresie zaostrzenia z POChP są leczeni antybiotykami, poziomy H₂S w surowicy są niższe niż u pacjentów, którzy nie wymagali leczenia antybiotykami, co łącznie powoduje, że synteza H₂S ma charakter endogenne w celu przeciwdziałania zaostrzeniom wywołanych zakażeniem.

SARS (wirus z rodziny koronawirusów) wywołuje rozproszone uszkodzenie pęcherzyków płucnych, ostre uszkodzenie płuc, prowadząc do zespołu ostrej niewydolności oddechowej (ARDS), hipoksemii i wysokiej śmiertelności. Podobnie jak SARS, MERS, nowy typ wirusa koronowego, może powodować takie objawy.

FORMY STOSOWANIA

Trwają badania nad formą leku, które próbują uwzględnić właściwości fizykochemiczne, ukierunkowane na określone organelle komórkowe, uwalniające H₂S w drodze określonych reakcji chemicznych w komórce i kontrolowane uwalniania H₂S w dłuższych okresach czasu. W przypadku większości badanych cząsteczek niewiele przeprowadzono badań w celu

określenia ich aktywności biologicznej lub możliwych efektów terapeutycznych. Nie jest zatem jasne, czy takie cząsteczki mają potencjał terapeutyczny, co podkreśla potrzebę dalszych badań in vivo.

W modelu zwierzęcym dawkę siarkowodoru zwykle wprowadza się przez inhalację, aby skutecznie złagodzić uszkodzenie płuc w przebiegu zapalenia wywołanego przez bakterie lub wirusy (Zhang i in. 2019; Sakaguchi i in. 2014; Kakinohana i in. 2019). Ponieważ siarkowódór jest gazem toksycznym, jego stosowanie do inhalacji jest problematyczne. Rozpuszczalne w wodzie sole siarczkowe, takie jak Na_2S i NaHS , wytwarzają wolny H_2S w roztworach wodnych. Tak więc rozcieńczone roztwory siarczków nieorganicznych można zastosować do inhalacji za pomocą nebulizatora. Nie ma danych klinicznych ani żadnych udokumentowanych dowodów na lecznicze wdychanie siarczków. Również istotne jest, że siarczki typu farmaceutycznego nie są dostępne. Lekiem zatwierdzonym przez FDA (amerykańska Agencja Żywności i Leków) jest tiosiarczan sodu ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), stosowany w leczeniu zatruc cyjankami (Bebarta i in. 2017), niektórych skutków wynaczynienia oraz w przypadku zwapnienia związanego z przewlekłą chorobą nerek. Ten związek jest również silnym czynnikiem redukującym i zmiataczem reaktywnych form tlenu redukującym $\text{Fe} + 3$ do $\text{Fe} + 2$.

Tiosiarczan sodu (STS) jest dostępny jako substancja lecznicza, a także jako sterylny roztwór do iniekcji. Cząsteczka $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ zawiera dwuwartościową siarkę (S-2) i może powoli uwalniać siarkowódór w roztworach wodnych i układach biologicznych. Tiosiarczan może wytwarzać H_2S szlakiem enzymatycznym i nieenzymatycznym (Snijderi in. 2015; Leskova i in. 2017). Istnieją doniesienia, skutecznego stosowania tiosiarczanu sodu w celu poprawy postępu uszkodzenia w zapaleniach płuc u dorosłych i dzieci (Egorychev i in. 1987; Gorbacheva i in. 2009a, b; Barkov 2006). W literaturze zaleca się leczenie wziewne pacjentów z zapaleniem płuc za pomocą 2 ml 5% roztworu tiosiarczanu sodu przez nebulizator 2 razy dziennie. Przebieg leczenia zapalenia płuc wynosił 10–15 inhalacji.

Związkiem chemicznym powolnie uwalniający siarkowódór w żywym organizmie jest GYY4137 (4-morfolin-4-ium 4-metoksyfenylo (morfolino) fosfinoditiian). GYY4137 syntetyzowany jest poprzez reakcję kwasu difenylofosfinowego w dichlorometanie w temperaturze pokojowej z morfoliną i filtracją próżniową

Stosowaną powszechnie w Polsce formą leczenia siarkowodorem są jedynie kąpiele siarczkowo-siarkowodorowe, w których siarkowódór dyfunduje do organizmu bezpośrednio przez skórę. Przenikliwość skóry dla siarkowodoru dzięki swojej lipofilności jest stukrotnie większa niż dla tlenu. Podczas kąpieli siarkowódór dostaje się do organizmu za sprawą dyfuzji w drodze transportu biernego zgodnie z gradientem stężeń i transportu czynnego.

PODSUMOWANIE

Infekcjom wirusowym towarzyszą zaburzenia fizjologiczne organizmu, między innymi zmiana homeostazy oksydacyjno-redukcyjnej, zapalenie, zaburzenia metabolizmu.

Na podstawie szeregu badań i obserwacji laboratoryjnych szczególnie interesujące jest spostrzeżenie, że wykazano, że wiele wirusów niekorzystnie wpływa na biogenezę wewnątrzustrojową H_2S . Przeciwwirusowe i przeciwzapalne działanie H_2S podkreśla jego potencjał jako cząsteczki terapeutycznej.

Wyniki badań wskazują, że H_2S ma potencjalne działanie przeciwwirusowe i przeciwzapalne, co oznacza nowe podejście farmakologiczne do łagodzenia choroby płuc wywołanej wirusem.

H₂S HAMUJE REPLIKACJĘ WIRUSÓW I ŁĄCZENIE LUB UWALNIANIE CZĄSTEK WIRUSA

H₂S staje się ważną potencjalną opcją terapeutyczną w przypadku przewlekłych chorób zapalnych dróg oddechowych. Osiągnięto znaczny postęp w badaniu podstawowych mechanizmów generacji komórkowej H₂S i potencjalnej roli H₂S w modelach chorób płuc in vivo.

Jednak mechanizmy, za pomocą których H₂S moduluje sygnalizację komórkową indukowaną przez wirusy i określające udział enzymu generującego H₂S (CSE) w komórkowej aktywności przeciwwirusowej i przeciwzapalnej, pozostają do wyjaśnienia

Pomimo tych wszystkich obserwacji brakuje wiedzy na temat molekularnego mechanizmu tych efektów, który mógłby stanowić wiążącą linię badań dotyczące roli H₂S w fizjologii i patogenezie tych czynników zakaźnych.

Przyszłe badania powinny koncentrować się na dalszym wyjaśnianiu podstawowej biologii H₂S w układzie oddechowym i jej związku z patofizjologią chorób płuc.

Z terapeutycznego punktu widzenia istnieje potrzeba dalszego rozwoju bezpiecznego dawkowania H₂S o kontrolowanym uwalnianiu i lepszej rozpuszczalności w wodzie, a także skutecznych metod ekspozycji.

Stosowaną powszechnie w Polsce formą leczniczego wykorzystania siarkowodorem są jedynie kąpiele siarczkowo-siarkowodorowe, w których siarkowodór dyfunduje do organizmu bezpośrednio przez skórę. Przenikliwość skóry dla siarkowodoru dzięki swojej lipofilności jest stukrotnie większa niż dla tlenu. Podczas kąpieli siarkowodór dostaje się do organizmu za sprawą dyfuzji w drodze transportu biernego zgodnie z gradientem stężeń i transportu czynnego.



Dr n. med. Marek Grabski

NA PODSTAWIE

1. Ravinder R. Gaddam, Piyush Jha and Madhav Bhatia Department of Pathology and Biomedical Science, University of Otago-Christchurch, Christchurch, New Zealand. *The Infections and Hydrogen Sulfide*. Frontiers in Anti-Infective Drug Discovery, 2018, Vol. 7, 1-12

2.Virender Kumar Pal, Parijat Bandyopadhyay, Amit Singh. *Critical Review Hydrogen Sulfide in Physiology and Pathogenesis of Bacteria and Viruses*. Wiley Periodicals, Inc. on behalf of International Union of Biochemistry and Molecular Biology Volume 70, Number 5, May 2018, Pages 393–410

3.Nikolay Bazhanov, Maria Ansar, Teodora Ivanciuc, Roberto P. Garofalo¹ and Antonella Casola Departments of ¹Pediatrics and ²Microbiology and Immunology, and ³Sealy Center for Molecular Medicine, University of Texas Medical Branch, Galveston, Texas. *Hydrogen Sulfide: A Novel Player in Airway Development, Pathophysiology of Respiratory Diseases, and Antiviral Defenses*. Am J Respir Cell Mol Biol Vol 57, Iss 4, pp 403–410, Oct 2018

4.Ming Yang, Zheng Zhang, Bo Gao, Lihua Liu, Taohong Hu ¹Department of Clinical Medicine, School of Basic Medical Sciences, Taishan Medical University, Taian, Shandong, China ²Department of Cardiology, the General Hospital of the PLA Rocket Force, Beijing, China ³Shanghai Jiao Tong University Affiliated Sixth People's Hospital, Shanghai, China, Institution of Hospital Management, Chinese PLA General Hospital, Beijing, China

Hydrogen Medicine Therapy: An Effective and Promising Novel Treatment for Multiple Organ Dysfunction Syndrome (MODS) Induced by Influenza and Other Viral Infections Diseases?
SOJ Microbiology & Infectious Diseases 2017 5(2) : 1-6

5.Joana Viegas' Ana Filipa Esteves , Fernando A. Arosa, Marco Vitale and Luís Taborda-Barata. *Biological Effects of Thermal Water-Associated Hydrogen Sulfide on Human Airways and Associated Immune Cells: Implications for Respiratory Diseases*. Front. Public Health 7:128. doi: 10.3389/fpubh.2019.00128

6.Mikhail B. Evgen'ev & Anton Frenkel *Possible application of H₂S-producing compounds in therapy of coronavirus (COVID-19) infection and pneumonia Cell Stress and Chaperones* <https://doi.org/10.1007/s12192-020-01120-1>

7.Peter Rose , Brian W Dymock , Philip K Moore *GY4137, a Novel Water-Soluble, H₂S-releasing Molecule* Methods Enzymol. 2015;554:143-67.doi: 10.1016/bs.mie.2014.11.014.

University of Lincoln, Lincoln, Lincolnshire, United Kingdom. Department of Pharmacy, National University of Singapore, Singapore. Neurobiology Program, Life Science Institute and Department of Pharmacology, National University of Singapore, Singapore.

8.Zheng Wei Lee, Jianbiao Zhou, Chien-Shing Chen, Yujun Zhao, Choon-Hong Tan, Ling Li, Philip Keith Moore, Lih-Wen Deng. *The Slow-Releasing Hydrogen Sulfide Donor, GYY4137, Exhibits Novel Anti-Cancer Effects In Vitro and In Vivo* Issue 2011(6)

Department of Biochemistry, National University of Singapore, Department of Chemistry, National University of Singapore, Department of Pharmacology, National University of Singapore, Cancer Science Institute of Singapore, National University of Singapore, Department of Medicine, National University of Singapore, Division of Hematology and Oncology, School of Medicine, Loma Linda University, Loma Linda, California, United States of America