CONIC SEMESP

17°Congresso Nacional de Iniciação Científica

TÍTULO: EFEITO DA RESPOSTA VASCULAR IN VITRO A DOADORES DE SULFETO DE HIDROGÊNIO

CATEGORIA: CONCLUÍDO

ÁREA: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SAÚDE

SUBÁREA: BIOMEDICINA

INSTITUIÇÃO: CENTRO UNIVERSITÁRIO DAS FACULDADES METROPOLITANAS UNIDAS

AUTOR(ES): SIBELE ANGELO DA SILVEIRA

ORIENTADOR(ES): KAREN TIAGO DOS SANTOS

Realização: SEMESP

Apoio: UNITALO CENTRO UNIVERSITÁRIO ÍTALO BRASILEIRO

Resumo: Nos últimos anos, tornou-se evidente que o poluente gasoso, o sulfeto de hidrogênio (H_2S), pode ser sintetizado em algumas ações biológicas, sendo que a ação deste gasotransmissor interfere nas funções do musculo liso, responsável pelo controle da atividade vascular. Na vasculatura, enquanto o H_2S pode promover vasocontrição por interações complexas com outros gases considerados importantes, tal como o oxido nítrico (NO), há uma resposta predominantemente que é o persistente vasorelaxamento promovido por este gás. Os doadores de H_2S são compostos sintéticos, classificados de acordo com o metabolismo do H_2S em quatro grupos: 1) Sais inorgânicos de sulfeto, tais como hidrossulfeto de sódio (Na_2S) e sulfeto de sódio (NaHS); 2); Doadores de liberação lenta, representados pelo composto morfolin-4-ium-4metoxifenil-morfolinofosfenoditioato (GYY4137); 3) Drogas hibridas de compostos doadores de H_2S como 1,2 Ditiol-3-tiona (DTT) acoplados a outros fármacos (ex: anti-inflamatórios não esteroides, AINES); 4) Mitocondrial: Doadores de H_2S específicos para a mitocôndrias com efeitos moduladores bioenergéticos celulares por exemplo (AP123- AP39). Assim, fica claro a necessidade de caracterizar as respostas vasculares de cada doador para especificar e limitar o potencial terapêutico destes grupos de compostos.

Introdução: O H_2S é um gás incolor, inflamável, com cheiro característico de ovo podre. Durante várias décadas o H_2S recebeu uma atenção por ser um perigoso contaminante ambiental[1]. Segundo Moore (2011) o H_2S também é produzido endogenamente durante o metabolismo da cisteina em mamíferos. O gasotransmissor, o H_2S, participa no controle de muitas funções celulares, tais como regulação de sistema cardiovasculares e interfere em processos de sinalização celular[2]. Ainda, foram descritas funções de cardioproteção e modulação de processos inflamatórios, nociceptivos, proteção gastrointestinal, e na mitocôndria regula o metabolismo energético [3].

Com base nos mecanismos e velocidades de liberação de H_2S, os doadores podem ser divididos em quatro grupos: 1- Sais inorgânicos de sulfeto, tais como hidrossulfeto de sódio (Na_2S) e sulfeto de sódio (NaHS), onde ambas substância geram o H_2S de forma espontânea por hidrolise; 2- Morfolin-4-ium-4metoxifenil-morfolinofosfenoditioato (GYY4137), substância que geram o H_2S de forma mais lenta e é sustentada durante longos período de tempo (horas ou dias); 3- Drogas hibridas, contendo radicais orgânicos doadores de H_2S, como o 1,2 Ditiol-3-tiona

(DTT), acoplado à outros fármacos (ex.: anti-inflamatório não esteroides- AINEs ou esteroides- AIEs), que podem promover uma redução adicional da inflamação pela modulação de expressão de citocinas pró-inflamatórias, tal como o fator de necrose tumoral alfa (TNF-α), por exemplo; 4- Doadores de H2S especifico para mitocôndria que possuem efeitos moduladores da bioenergética celular, tal como o compostos AP39[4,5,6].

Objetivo: Estudar os efeitos vasculares de doadores de H_2S de naturezas diversas sobre a resposta vasomotora de artérias, assim como os mecanismos envolvidos. Devido à escassez de artigos que reúnam todas as informações sobre o tema, nosso trabalho facilita a comunidade científica, reunindo estudos das mais diversas origens na forma de compêndio de informações através da revisão bibliográfica.

Metodologia: Este trabalho foi realizado utilizando a modalidade de Pesquisa Bibliográfica, com consulta e análise de literatura e de artigos publicados. Os bancos de dados utilizados foram livros, NCBI e Google Acadêmico. Para a referida busca utilizamos descritores no idioma português e inglês.

Desenvolvimento:

O endotélio é uma monocamada de células ativas que revestem a parede interna dos vasos sanguíneos, tais como: artérias, veias e capilares, e linfáticos. Muitos estudos evidenciam que a conservação do endotélio é fundamental para uma tensão arterial normal[7,8]. O endotélio contribui na modulação das respostas contrateis ou relaxantes do vaso, além de promover formação de novos vasos sanguíneos (angiogênese). A função do endotélio e da regulação da homeostase vascular está vinculada a alguns fatores, tal como os fatores relaxantes derivados do endotélio (EDRF), bem como os fatores hiperpolarizantes derivados do endotélio (EDHF). Com base nessa função do endotélio, a regulação da homeostase vascular esteve vinculada a esses fatores (EDRF e EDHF), tendo que ser considerado que o vasorelaxamento mediado por EDHF tem como mecanismo à ativação de canais de potássio (K+). De forma interessante, é sabido que o H_2S, gerado de forma dependente da enzima cistationina-gama-liase (CSE), também contribui na regulação de tônus vascular, sendo este papel visível através da abertura do canais de K+ em experimentos utilizando este gasotransmissor (Figura 1). De fato, alguns

estudos evidenciam que a molécula de H_2S é um possível mediador para ativar canais de K^+, resultando em um possível relaxamento em artérias mesentéricas de musculatura lisa, de forma dependente de endotélio. Corroborando esta proposta, estudo realizado por Tang et al. (2005) em células isoladas do musculo liso vascular de ratos demonstrou, mediante a uma técnica de "*pacth-clamp*" que o H_2S foi capaz de ativar diretamente os canais de K^+. Esses achados sugerem que o H_2S é o principal mediador fisiológico da via da hiperpolarização. Assim, a desregulação desta via pode estar envolvida no desenvolvimento de doenças cardiovasculares, como por exemplo hipertensão[7].

O H_2S tem merecido um destaque na área da pesquisa vascular, pois foi considerado como um importante mediador de resposta relaxante de diferentes vasos. Diante desta descoberta, a molécula na função vascular abre um relevante potencial terapêutico nas doenças tromboembólicas[4,5]. Os efeitos moduladores do H_2S observados em muitos outros órgãos, incluindo na supressão da produção de espécies reativas de oxigênio (EROS), também pode se interferir em aberturas de canais de K^+ dependente de adenosina trifosfato (KATP) e assim poder atuar como mediadores gasosos vasoativas. Administração de H_2S exógeno de forma dose-dependente, promoveu o relaxamento do musculo liso no leito mesentérico. Ainda, as consequências de uma alteração na expressão de enzimas geradoras de H_2S, demonstrando mudanças na atividades de H_2S, podem ser observadas no sistema cardiovascular, no qual a sua produção prejudicada pode levar a hipertensão[9].

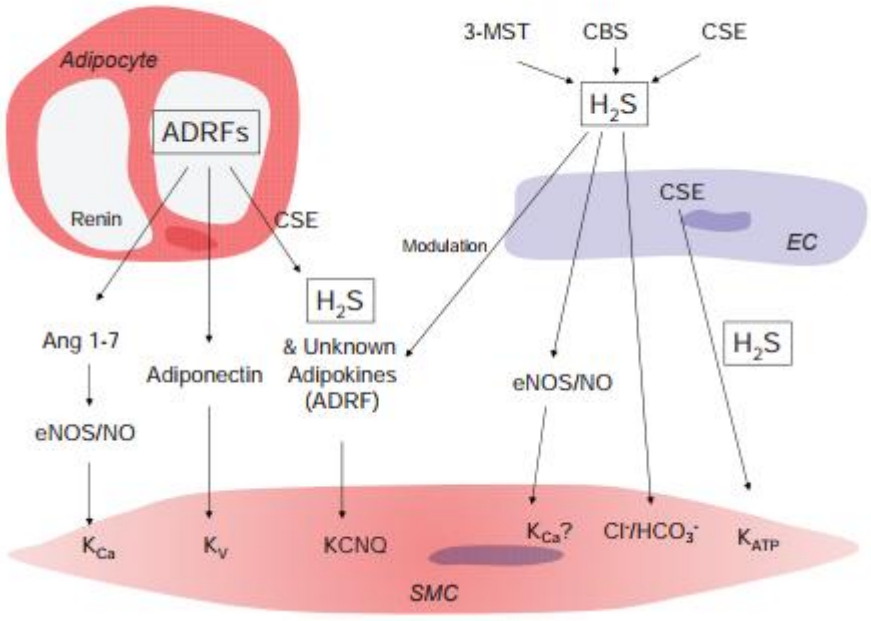


Figura 1: Esquematização de mecanismos envolvendo o H_2S na regulação do tônus vascular arterial, indicando os canais de potássio ativados com cálcio e canais de K dependente de voltagem (Kv), cistationina-beta-sintase (CBS), cistationina-gama-liase (CSE) e 3-mercaptopiruvato sulfotransferase (3MST), agindo na célula do musculo liso vascular e na célula endotelial (Adaptado deKöhn, 2012).

No que diz a respeito à sua gênese, o H_2S é conhecido pela sua produção endogena à partir do aminoácido L-cisteina ou derivados (cistationina), principalmente por três enzimas, a saber: a cistationina-beta-sintase (CBS), cistationina-gama-liase (CSE) e 3-mercaptopiruvato sulfotransferase (3MST), que são acopladas à cisteina aminotransferase (CAT) ou D-aminoácidos oxidade (DAO). Sendo que a CSE é a principal enzima produtora de H_2S em órgãos periféricos (Figura 2, Köhn, 2012)

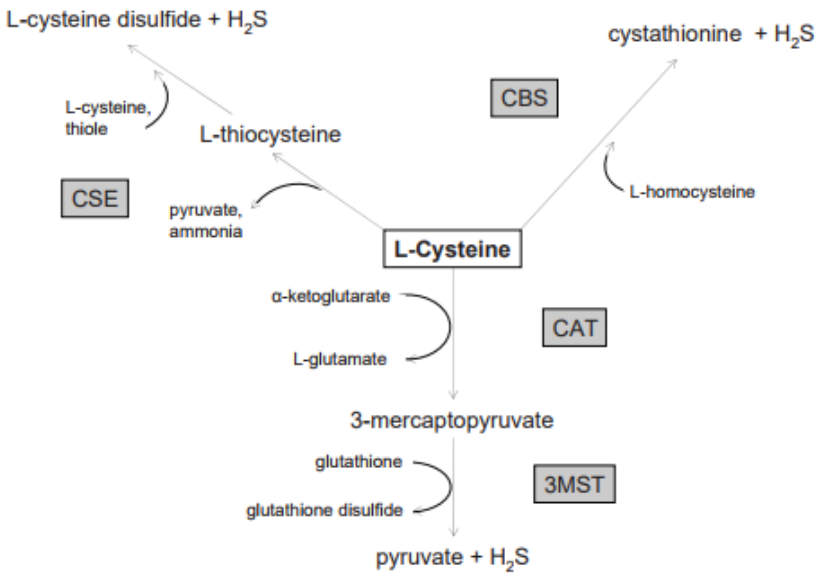


Figura 2: Via bioquímica da biossíntese endógena do H_2S. Ações das enzimas (CSE e CBS) que compõem o seu principal substrato, L- cisteína. (Adaptado de Köhn, 2012).

Resultados: Trabalhos utilizando o GYY4137 tem demostrando que a sua administração em uma solução aquosa por via intravenosa (i.v) ou intraperitoneal (i.p) promove um relaxamento lentos em anéis mesentéricos considerados perfundidos, e as aberturas de canais de kATP do musculo liso vascular[10]. O derivado do reagente de Lawesson, atuando na liberação do H_2S, provoca uma taxa de liberação ajustada de H2S pela modificação da estrutura do núcleo [15]. Segundo o autor Ling (2008), o efeito vasorelaxamento do o GYY4137 na avaliação da estrutura de núcleo, teve o efeito na redução da vasoconstrição na vasculatura renal dado pela abertura dos canais de kATP em musculo liso vascular. Porém, não houve nenhuma efeito sobre a frequência cardíaca ou em força de contração. Ainda o doador GYY4137 exibiu atividade anti-hipertensiva, evidenciada à partir da sua capacidade de redução da L-arginina. Portanto, esse composto de liberação lenta de H_2S obtiveram resultados de grande potencial em atividades tanto vasodilatoras quanto anti-hipertensivas[16].

Através da abertura de canais de KATP os doadores híbridos (AINES-ATB337), mostram que a ligação com diclofenaco à uma unidade de liberação de H_2S, possui capacidade anti-inflamatória em inflamações agudas, induzindo, como efeito colateral, apenas uma pequena lesão intestinal, devido à interferência na atividade da ciclooxigenase 1 e 2 (COX-1 e COX-2)[10,11]. Outros estudos mostraram os efeitos em potencial dos híbridos de fármacos anti-inflamatórios de H_2S-não-

esteroides, dentre eles, os híbridos de aspirina, popularmente conhecida como de fácil acesso e por ser amplamente utilizadas devido suas propriedades anti-inflamatórias, anti-agregante plaquetária e analgésica. No entanto, alguns efeitos colaterais foram evidenciados, tais como sangramento gastrointestinal, por interferência na atividade da COX. De forma oposta, o ATB 337, que é um derivado de diclofenaco, também com efeito anti-inflamatório, não promoveu nenhuma lesão sobre adesões de leucócitos ou hematócritos. Esses compostos híbridos de H_2S podem liberar o H_2S quando são degradados por enzimas, no qual tem a função de proteger os órgãos alvo, como o estomago e o coração[15].

O AP39 é um doador de H_2S em sua liberação lenta, no qual demonstrou acumular-se na mitocôndria, protegendo a célula contra o estresse oxidativo induzido pelo DNA mitocondrial e aos danos causados pelas proteínas das células endoteliais [11]. Assim, estes estudos com AP39 mostraram que a viabilidade e integridade do DNA mitocondrial de células endoteliais, apresentaram condições normais durante um estimulo de estresse oxidativo. Segundo o autor Szczesny (2014) após adicionar o doador de H_2S mitocondrial conhecido como AP39, foi possível observar um aumento no nível de H_2S intracelular, correspondentes nas regiões mitocondriais. Diante desse efeito, dependente de uma concentração na sua atividade, observou-se ainda, um maior estimulo no transporte de elétrons mitocondriais e na sua função bioenergética celular. De acordo com essas informações, entende-se que na inibição da função bioenergética celular diante a uma redução celular ou vascular, o doador de H_2S AP39 protege a mitocôncdria celular contra os danos oxidativos, ou seja, a sua resposta dada diante as artérias mesentéricas são os efeitos antioxidantes e citoprotetores aos estresse oxidativo, juntando com uma proteção contra danos oxidativos no DNA mitocondrial [14].

Os doadores exógenos, considerados como geradores rápidos de H_2S, o NaHS bem como o Na_2S foram os primeiros doadores de H_2S a serem estudados em sistemas cardíacos, no qual obtiveram a maior relevância ao serem usados em um curto período de tempo, com sua liberação ocorrendo em questão de segundos, promovendo efeitos de relaxamento em artérias mesentéricas dependente ou não do endotélio [10]. De fato estudos evidenciaram que anéis pré-incubados com o inibidor de Kv ou kATP, bloqueia canais de glibenclamida, e que o doador de H_2S (o NaHS), induziu um maior vasorelaxamento em anéis aórticos, resultados que indicam que o H_2S exógeno pode induzir um relaxamento mais forte e persistente[12]. Diante dessa

informação a questão era se este mesmo evento poderia ocorrer em artérias mesentéricas. Assim, segundo Hedegaard (2015) o NaHS em relação ao outro doador de H_2S, porém com efeito de relaxamento lento (GYY4137), obtiveram resultados de vasorelaxamento equipotentes, indicando um relaxamento à frente dos obtidos com os doadores inorgânicos, tais como: NaHS e Na_2S, que na medição do H_2S e de uma tensão, promoveram cerca de 61% de relaxamento nas artérias mesentéricas.

Conclusões: O conhecimento destes doadores é fundamental para que possamos entender o (s) seu (s) mecanismo (s) frente a uma possível disfunção endotelial. Por outro lado o seu uso pode ser uma chave para novos fármacos em diversas patologias de origem vascular. De fato os doadores exógenos de sulfeto apontam como uma nova ferramenta para estudo e tratamento no controle arterial proveniente de uma disfunção endotelial.

Referência.

1 Whiteman M, Winyard PG. Hydrogen sulfide and inflammation: the good, the bad, the ugly and the promising. Expert Rev Clin Pharmacol. 2011 Jan;4(1):13-32

2 Li L, Rose P, Moore PK. Hydrogen sulfide and cell signaling. Annu Ver Pharmacol Toxicol. 2011;51:169-87.

3 Wang R. Physiological implications of hydrogen sulfide: a whiff exploration that blossomed. Physiol Rev. 2012 Apr;92(2):791-896.

4 Dunn WR, Alexander SP, Ralevic V, Roberts RE. Effects of hydrogen sulphide in smooth muscle. Pharmacol Ther. 2016 Feb;158:101-13. doi:10.1016/j.pharmthera.2015.12.007.

5 Mustafa, A. K., Sikka, G., Gazi, S. K., Steppan, J., Jung, S. M., Bhunia, A. K., et al. (2011). Hydrogen sulfide as endothelium-derived

6 Cheng Y, Ndisang JF, Tang G, Cao K, Wang R. Hydrogen sulfide-induced relaxation of resistance mesenteric artery beds of rats. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2004 Nov;287(5):H2316-23.

7 Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. Nature. 1980; 288(5789): 373-6.

8 Tang, G., Wu, L., Liang, W., & Wang, R. (2005). Direct stimulation of KATP channels by exogenous and endogenous hydrogen sulphide in vascular smooth muscle cells. Mol Pharmacol 68, 1757–1764.

9 Rodrigues L, Ekundi-Valentim E, Florenzano J, Cerqueira AR, Soares AG, Schmidt TP, Santos KT, Teixeira SA, Ribela MT, Rodrigues SF, de Carvalho MH, De Nucci G, Wood M, Whiteman M, Muscará MN, Costa SK. Protective effects of exogenous and endogenous hydrogen sulfide in mast cell-mediated pruritus and cutaneous acut inflammation in mice. Pharmacol.

10 Ekundi-Valentim E, Mesquita FP, Santos KT, de Paula MA, Florenzano J, Zanoni CI, Rodrigues L, de Nucci G, Teixeira SA, Ferreira HH, Wallace JL, Costa SK, Muscará MN. A comparative study on the anti-inflammatory effects of single oral doses of naproxen and its hydrogen sulfide (H2S)-releasing derivative ATB-346 in rats with carrageenan-induced synovitis.

11 Zhao FL, Fang F, Qiao PF, Yan N, Gao D, Yan Y. AP39, a Mitochondria-Targeted Hydrogen Sulfide Donor, Supports Cellular Bioenergetics and Protects against Alzheimer's Disease by Preserving Mitochondrial Function in APP/PS1 Mice and Neurons. Oxid Med Cell Longev.

12 Köhn C, Dubrovska G, Huang Y, Gollasch M. Hydrogen sulfide: potent regulator of vascular tone and stimulator of angiogenesis. Int J Biomed Sci. 2012 Jun;8(2):81-6. PubMed PMID: 23675260; PubMed Central PMCID: PMC3614859.

13 Hedegaard R., Anja Gouliaev, Anna K. Winther, Daniel D. R. Arcanjo, Mathilde Aalling, Nirthika S. Renaltan, Mark E. Wood, Matthew Whiteman, Nini

Skovgaard and Ulf Simonsen, Involvement of Potassium Channels and Calcium-Independent Mechanisms in Hydrogen Sulfide–Induced Relaxation of Rat Mesenteric Small Arteries.

14 Bartosz Szczesny, Katalin Módis, Kazunori Yanagi, Ciro Coletta, Sophie Le Trionnaire, Alexis Perry, Mark E. Wood, Matthew Whiteman, Csaba Szabo, AP39, a novel mitochondria-targeted hydrogen sulfide donor, stimulates cellular bioenergetics, exerts cytoprotective effects and protects against the loss of mitochondrial DNA integrity in oxidatively stressed endothelial cells , Nitric Oxide, Volume 41, 2014, Pages 120-130, ISSN 1089-8603.

15 Guo, Wei, Ze-yu Cheng e Yi-zhun Zhu. "Sulfuro de hidrogênio e medicina translacional". *Acta Pharmacologica Sinica* 34.10 (2013): 1284-1291. *PMC* . Rede. 24 de agosto de 2017.

16 Ling L, Whiteman M, Guan YY, Neo KL, Cheng Y, Lee SW, Zhao Y, Baskar R, Tan CH, Moore PK. Characterization of a novel, water-soluble hydrogen sulfide-releasing molecule (GYY4137): new insights into the biology of hydrogen sulfide. Circulation. 2008 May 6;117(18):2351