

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Gasotransmitery

Bakalářská práce

2021

Michaela Hejdová

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology

Gasotransmitters

Bachelor Thesis

2021

Michaela Hejdová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Michaela Hejdová**
Osobní číslo: **C18396**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Gasotransmitery**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

Seznamte se s problematikou endogenních plynů působících v organismu jako mediátory (např. NO, H₂S, CO). Uveďte jejich vlastnosti, vznik a osud v organismu, jejich zapojení v signálních drahách se zaměřením na úlohu v resoluci zánětu a s tím související zapojení v patogenetických mechanismech. Provedte literární rešerši k této problematice, při vyhledávání literárních údajů využijte elektronické databáze Science Direct, NCBI Pubmed, Web of Science.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **MUDr. Vladimíra Nováková Mužáková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2020**
Termín odevzdání bakalářské práce: **2. července 2021**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 26. února 2021

Prohlašuji:

Práci s názvem Gasotransmitery jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 15.7.2021

Hejdová Michaela

Je mou milou povinností zde poděkovat paní MUDr. Vladimíře Novákové Mužákové, Ph.D. za odborné vedení při vypracování bakalářské práce a za její ochotu a trpělivost, se kterou se mi věnovala. Dále bych ráda poděkovala svému bratrově Ing. Petru Hejdovi, Ph.D., který byl vždy ochoten poradit se stylizací a korekturou textu. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat mé rodině, především pak mé mamince za podporu ve studiu.

ANOTACE

Gasotransmitery zastoupené oxidem dusnatým, oxidem uhelnatým a sulfanem jsou plynné signální molekuly. Za fyziologických podmínek vznikají v organismu endogenně a jejich syntéza je zprostředkována příslušnými enzymy. Při nízkých koncentracích vykazují vazodilatační, antiproliferační a cytoprotektivní účinky v organismu. Mechanismus protizánětlivého účinku gasotransmiterů spočívá v inhibici prozánětlivých cytokinů a regulaci apoptózy zánětlivých buněk. Díky těmto pozitivním účinkům mají gasotransmitery velký terapeutický potenciál.

KLÍČOVÁ SLOVA

oxid dusnatý, sulfan, oxid uhelnatý, zánět, rezoluce zánětlivé reakce

TITLE

Gasotransmitters

ANNOTATION

Gasotransmitters including nitric oxide, carbon monoxide and sulfane are gaseous signalling molecules. Under physiological conditions they are endogenously synthesized through relevant enzymes. At small concentrations they have vazorelaxant, antiproliferative and cytoprotective effects in the organism. Mechanism of anti-inflammatory effect of gasotransmitters depends on inhibition of proinflammatory cytokines and regulation of apoptosis. Regarding to those positive effects gasotransmitters seem to have great therapeutic potential.

KEYWORDS

nitric oxide, sulfane, carbon monoxide, inflammation, resolution of inflammation

Obsah

Úvod.....	15
1 Fyzikální a chemické vlastnosti gasotransmiterů.....	16
1.1 Oxid dusnatý.....	16
1.2 Oxid uhelnatý.....	16
1.3 Sulfan.....	17
2 Tvorba, skladování a odbourávání gasotransmiterů v organismu.....	18
2.1 Tvorba NO za katalýzy syntázy oxidu dusnatého.....	18
2.2 Odbourávání NO.....	19
2.3 Tvorba CO.....	19
2.4 Odbourávání CO.....	20
2.5 Tvorba H ₂ S.....	20
2.6 Odbourávání H ₂ S.....	22
2.7 Skladování gasotransmiterů.....	22
3 Chemické interakce.....	23
3.1 Reakce NO.....	23
3.2 Reakce H ₂ S.....	24
3.2.1 Donory H ₂ S.....	25
3.3 Reakce CO.....	26
4 Fyziologické působení gasotransmiterů a změny za patologických stavů.....	27
4.1 Zapojení gasotransmiterů v nervové soustavě.....	27
4.1.1 Úloha H ₂ S v nervové soustavě.....	27
4.1.2 Funkce NO v nervové soustavě.....	27
4.1.3 Působení CO v nervové soustavě.....	28
4.2 Funkce gasotransmiterů v kardiovaskulární soustavě.....	28
4.2.1 Působení NO v kardiovaskulárním systému.....	28
4.2.2 Funkce CO v kardiovaskulárním systému.....	29
4.2.3 Úloha H ₂ S v kardiovaskulárním systému.....	29
4.3 Působení gasotransmiterů v respiračním systému.....	30

4.3.1	Inhalace NO	30
4.3.2	Zapojení H ₂ S v respiračním systému	30
4.3.3	Funkce CO v respiračním systému	30
4.4	Zapojení gasotransmiterů v gastrointestinálním traktu	30
4.4.1	Působení NO v gastrointestinálním traktu	31
4.4.2	Funkce CO v gastrointestinálním traktu	31
4.4.3	Působení H ₂ S v gastrointestinálním traktu	31
4.5	Zapojení gasotransmiterů v imunitním systému.....	32
4.5.1	Funkce NO v imunitním systému	32
4.5.2	Působení H ₂ S v imunitním systému.....	32
4.5.3	Zapojení CO do zánětlivé odpovědi	32
4.6	Změny tvorby NO při onemocněních.....	33
4.6.1	Onemocnění dýchacích cest.....	33
4.6.2	Kolitida a další onemocnění GIT	33
4.6.3	Septický šok	33
4.7	Změny tvorby H ₂ S při onemocněních	33
4.7.1	Alzheimerova choroba	33
4.7.2	Downův syndrom.....	34
4.7.3	Septický a endotoxický šok	34
4.8	Intoxikace oxidem uhelnatým	34
4.8.1	Ischemické poškození mozku	34
5	Zánět.....	35
5.1	Mediátory zánětu	35
5.1.1	Histamin a serotonin	36
5.1.2	Eikosaniody.....	36
5.1.3	Cytokiny.....	37
5.2	Systémová odpověď	37
5.3	Ukončení zánětlivého procesu a rezoluce	38
6	Úloha gasotransmiterů v rezoluci zánětlivé reakce.....	39

6.1	NO v rezoluci zánětlivé reakce.....	39
6.2	Sulfan v rezoluci a regeneraci tkáně.....	39
6.3	CO v rezoluci zánětlivé reakce.....	40
6.4	Léčiva uvolňující gasotransmitery.....	41
6.4.1	Nesteroidní antiflogistika (NSAIDs).....	41
6.4.2	Molekuly uvolňující oxid uhelnatý.....	42
7	Závěr.....	43
8	Bibliografie.....	44

Seznam zkratek a značek

3-MST	3-merkaptopyruvátsulfurtransferáza
ADMA	asymetrický dimethylarginin
ATB-346	derivát naproxenu uvolňující sulfan
ATB-429	derivát mesalaminu uvolňující sulfan
ATP	adenosintrifosfát
BH ₄	tetrahydrobiopterin
CAT	cystein transamináza
CBS	cystathionin-β-syntáza
CcO	cytochrom c oxidáza
cGMP	cyklický guanosinmonofosfát
CO	oxid uhelnatý
CO ₂	oxid uhličitý
CORMs	molekuly uvolňující oxid uhelnatý
COX	cyklooxygenáza
CRP	C-reaktivní protein
CSE	cystathion-γ-lyáza
EDRF	endothelium-derived relaxing factor
eNOS	endotelová syntáza oxidu dusnatého
FAD	flavinadenindinukleotid
FMN	flavinmononukleotid
GC	guanylátcykláza
sGC	solubilní guanylátcykláza
HO	hemoxygenáza
HO-1	inducibilní hemoxygenáza
HO-2	konstitutivní hemoxygenáza

HO-3	konstitutivní hemoxygenáza
HS ⁻	hydrogensulfid
H ₂ S	sulfan
iNOS	inducibilní syntáza oxidu dusnatého
IFN- γ	interferon γ
IL-1	interleukin 1
IL-2	interleukin 2
IL-10	interleukin 10
MAC	membranolytický komplex
MAP	mitogenem aktivované proteinkinázy
Na ₂ S	sulfid sodný
NADPH	nikotinamidadeninukleotidfosfát
NO	oxid dusnatý
NO ₂ ⁻	dusitan
N ₂ O ₃	oxid dusitý
NMDA	N-methyl-D-aspartát
NOHLA	N-hydroxy-L-arginin
NOS	syntáza oxidu dusnatého
nNOS	neuronální syntáza oxidu dusnatého
NSAIDs	nesteroidní antiflogistika
O ₂	kyslík
O ₂ ⁻	superoxid
ONOO ⁻	peroxynitrit
PDE	fosfodiesteráza
RNS	reaktivní sloučeniny dusíku
PRMT	arginin methyltransferáza

RSSH	hydrodisulfid
SCN ⁻	thiokyanatan
SFN	sulfofaran
SPMs	specializované prorezoluční mediátory
SPRC	S-propargyl-cystein
TNF- α	tumor nekrotizující faktor α

Seznam ilustrací a tabulek

Obr. 1 Vznik NO pomocí enzymu NOS (Karpuzoglu, 2006)	19
Obr. 2 Tvorba CO rozpadem hemu pomocí enzymu hemoxygenázy (Moody, 2011).....	20
Obr. 3 Biosyntéza H ₂ S transulfurační dráhou (Moody, 2011).....	21
Tab 1 Chemické a fyzikální vlastnosti gasotransmiterů (Ryter, 2013)	17
Tab 2 Přehled komponentů účastnících se biosyntézy gasotransmiterů (Ryter, 2013).....	22

Úvod

Tématem této práce je skupina tří endogenních plynů zahrnující oxid dusnatý, oxid uhelnatý a sulfan, známá jako gasotransmitery. Tyto plyny byly dříve známé svými toxickými, při vyšších koncentracích až letálními účinky na organismus. V roce 1992 byl oxid dusnatý identifikován jako tzv. *endothelium-derived relaxing factor* (EDRF) a vysvětlil se tím dávno známý vazodilatační účinek nitrátů. Poté přibýly oxid uhelnatý se sulfanem a vznikl pojem gasotransmitery. V posledních třech dekadách jim je tak věnována značná pozornost kvůli jejich pozitivním účinkům na organismus.

Gasotransmitery jsou typické plynné signální molekuly. Každý z těchto plynů hraje důležitou roli ve fyziologických a patofyziologických procesech. Narozdíl od neurotransmiterů nemají specifické receptory, ale mohou interagovat s různými proteiny a geny a mají tak široký záběr účinku, dokonce se vzájemně ovlivňují a regulují svou produkci. Tyto plyny mají díky svému širokospektrému působení v organismu značný terapeutický potenciál.

Cílem této práce je shrnutí dosavadních poznatků o jejich vzniku a působení v organismu jako signálních molekul při fyziologických a patofyziologických procesech.

1 Fyzikální a chemické vlastnosti gasotransmiterů

Do této skupiny plynů, které jsou známé především svými toxickými účinky, řadíme oxid dusnatý (NO), oxid uhelnatý (CO) a sulfan (H₂S). Tyto tři signální molekuly, které snadno difundují membránami buněk, mají několik společných chemických a fyzikálních vlastností a vzájemně se ovlivňují. Jejich cílovou skupinou je hem (Racek, 2012a).

1.1 Oxid dusnatý

Jde o bezbarvý, jedovatý plyn ze skupiny oxidů dusíku. Jako polutant je součástí jak emisí z výfukových plynů motorových vozidel, tak i emisí tepelných elektráren. Díky nepárovému elektronu má radikálovou povahu. Průmyslově se vyrábí oxidací amoniaku na platino–rhodiových katalyzátorech. Za nízkých teplot ochotně dimerizuje na N₂O₂. Výše zmíněné reakce jsou klíčové při výrobě kyseliny dusičné (Racek, 2012a).

Ačkoliv NO nereaguje s vodou, velmi dobře se v ní rozpouští, a díky pasivnímu transportu tak difunduje lipidovými membránami. Následně pak působí jako signální molekula regulující buněčnou činnost. NO byl identifikován jako takzvaný *endothelium-derived relaxing factor* (EDRF). Díky jeho vazorelaxačním účinkům se látky, podporující metabolismus NO, hojně využívají v lékařství. V organismu se vyskytuje v hladké svalovině cév, kde je produkován endotelovými buňkami a má vazodilatační účinky, dále pak v srdeční a kosterní svalovině a v buňkách imunitního systému (Racek, 2012a).

1.2 Oxid uhelnatý

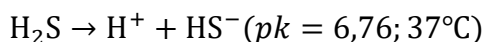
Oxid uhelnatý (CO) je bezbarvý jedovatý plyn bez chuti a zápachu. Je vysoce toxický a ve směsi se vzduchem výbušný. Vzniká jako produkt při nedokonalém spalování všech uhlíkatých sloučenin. Je obsažen ve svítiplynu, ve výfukových plynech spalovacích motorů nebo v tabákovém kouři.

V malém množství je také přítomen ve vzduchu vydechovaném z plic, což dokazuje jeho vznik v živých organismech. Toxicita CO je dána jeho afinitou k hemoglobinu (cca 200krát vyšší než afinita ke kyslíku). Vzniklý karboxylhemoglobin zabraňuje tvorbě oxyhemoglobinu a znemožňuje transport kyslíku z plic do tkání.

1.3 Sulfan

Sulfan (H_2S) je hořlavý, bezbarvý plyn, charakteristického zápachu po zkažených vejcích, dobře rozpustný v organických rozpouštědlech. Běžně se nachází v některých minerálních vodách a vzniká při procesu hnití organických látek. Dále je součástí bioplynu a je využíván při organických syntézách.

H_2S je silně lipofilní a stejně jako ostatní gasotransmitery velmi dobře prochází buněčnou membránou. Čichem je detekovatelný již při koncentraci 0,02 ppm, nicméně zápach po čase zmizí. Ke ztrátě čichu může dojít při koncentraci 50ppm, koncentrace nad 500ppm může být smrtící. Může také způsobit poškození dýchacích cest nebo zánět spojivek. Ve vodném roztoku se H_2S chová jako slabá kyselina:



Za daných podmínek se 80% H_2S vyskytuje jako anion HS^- . Jako nukleofil se velmi dobře váže k železu hemu a obecně ke kovovým centrálním atomům biomolekul (Racek, 2012b).

Tab 1 Chemické a fyzikální vlastnosti gasotransmiterů (Ryter, 2013)

Vlastnosti	CO	NO	H_2S
Molekulová hmotnost [g/mol]	28,01	30,006	34,0814
Rozpustnost ve vodě:			
při 20°C [ml/ml]	0,0227		
při 0°C [ml/ml]	0,0352	0,074	4,67
Bod varu [°C]	-191,5	-151,8	-60,2
Bod tání [°C]	-205,1	-163,6	-85,4
Hustota;20°C [kg/m ³]	1,165	1,249	1,434

2 Tvorba, skladování a odbourávání gasotransmiterů v organismu

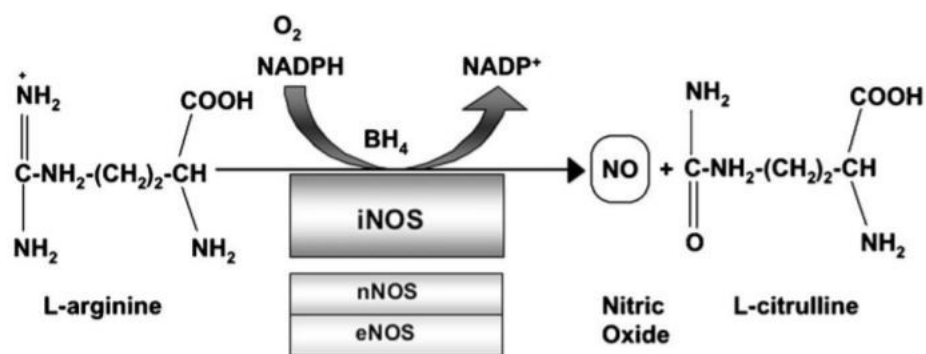
2.1 Tvorba NO za katalýzy syntázy oxidu dusnatého

NO vzniká působením enzymu syntázy oxidu dusnatého (NOS). Tento enzym je tvořen dvěma totožnými podjednotkami, které mají dvě domény – oxygenázovou (obsahuje hem) a reduktázovou (zahrnuje sekvenci aminokyselin). Podjednotky obsahují čtyři skupiny – flavinadeninukleotid (FAD), flavinmononukleotid (FMN), tetrahydrobiopterin (BH_4) a hem (Ryter, 2013).

Tři existující formy NOS označujeme jako neuronální (nNOS), endotelovou (eNOS) a indukibilní (iNOS). První dvě formy patří do skupiny konstitutivních NOS a jejich syntéza je stimulována za běžných fyziologických procesů v organismu. Závisí na přítomnosti Ca^{2+} a kalmodulinu. Jsou přítomny v nadledvinách, mozku, endotelu, trombocytech, neutrofilech, fibroblastech a nervových zakončeních. Syntéza endotelové NOS je řízena geny, jež jsou umístěny na 7. chromosomu a vznik neuronální NOS je řízen geny na 12. chromosomu. Inducibilní NOS je nezávislá na Ca^{2+} a kalmodulinu a vytváří ji především endotel, fibroblasty, žírné buňky, hepatocyty a makrofágy. Syntéza iNOS je stimulována při zánětlivé reakci prozánětlivými cytokiny, a to především tumor nekrotizujícím faktorem α (TNF- α), interferonem γ (IFN- γ) a interleukinem 1 (IL-1) (Racek, 2012a).

Konstitutivní formy vytváří NO za běžných fyziologických podmínek v koncentracích řádově v pikomolech. Na druhé straně indukibilní forma se aktivuje za přítomnosti zánětu v těle a vytváří mnohonásobně více NO, řádově až nanomoly. Inducibilní NOS tedy produkuje 1000krát více NO než konstitutivní isoformy NOS. (Karpuzoglu, 2006).

Samotná tvorba NO vychází ze substrátu L-argininu. Reakce závisí na přítomnosti koenzymu nikotinamidadeninukleotidfosfátu v redukované formě (NADPH) a kyslíku (O_2). Proces probíhá ve dvou stupních, kdy z argininu nejprve probíhá syntéza N-hydroxy-L-argininu (NOHLA) a v dalším kroku pak hydrolýzou vznikne L-citrulin a NO (Olson, 2012).



Obr. 1 Vznik NO pomocí enzymu NOS (Karpuzoglu, 2006)

2.2 Odbourávání NO

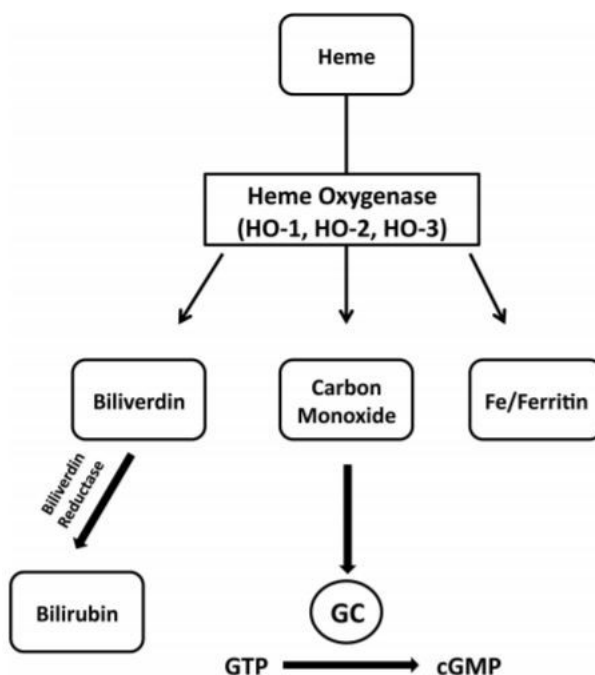
Při odbourávání NO oxidací vznikají buď netoxické produkty jako jsou dusitany (NO₂), anebo silně reaktivní sloučeniny dusíku (RNS), oxidující a nitrosylující látky jako jsou peroxynitrit (ONOO⁻) a oxid dusitý (N₂O₃). Oxidace NO na dusitany způsobuje jeho inaktivaci. Prostřednictvím této reakce je regulována koncentrace NO v organismu (Santos, 2012). Pro degradaci NO je hlavní vazba na proteiny obsahující hem, zejména hemoglobin a myoglobin (Racek, 2012a).

2.3 Tvorba CO

Cílovou strukturou enzymu hemoxygenázy (HO) je hem, který je zároveň také aktivátorem kyslíku. Dále se pak do procesu zapojuje NADPH-cytochrom P₄₅₀ reduktáza, kyslík a biliverdinreduktáza. Podobně jako u NOS jsou známy tři izoformy tohoto enzymu, a to indukibilní (HO-1), konstitutivní (HO-2) a dále pak HO-3, která je z 90% totožná s HO-2 a pravděpodobně nemá význam pro degradaci, ale funguje jako kyslíkový senzor. Inducibilní (HO-1) neboli mikrozomální hem degradující systém je stimulován hemem, oxidačním stresem, hypoxií, kadmíem a endotoxinem. Tato izoforma se tvoří ve slezině, játrech, ledvinách a kostní dřeni. Dále pak konstitutivní hemoxygenáza se nachází v mozku a cévním systému (Olson, 2012).

Vznik CO je zprostředkovan rozpadem substrátu - hemu, který katalyzuje enzym hemoxygenáza. Odbourávání hemu je složitý, vícekrokový proces, při kterém vzniká oxid uhelnatý, biliverdin, a také se uvolňuje železitý kationt Fe³⁺. Biliverdin je poté redukován biliverdinreduktázou na bilirubin, aby nedocházelo k inhibici HO. Biliverdin a bilirubin jsou

silné antioxidanty, takže lze říci, že hemoxygenáza je důležitá v zajištění ochrany před oxidačním stresem a škodlivinami (Kubo, 2020), (Olson, 2012), (Dulak, 2008).



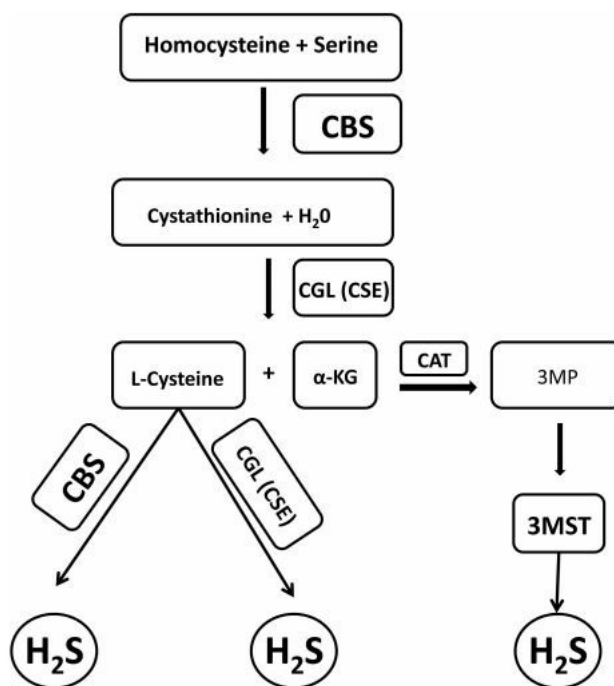
Obr. 2 Tvorba CO rozpadem hemu pomocí enzymu hemoxygenázy (Moody, 2011)

2.4 Odbourávání CO

CO se vylučuje z organismu především vydechováním z plic. Samovolná oxidace CO na CO₂ nebyla v lidském organismu prokázána. Údajné oxidační účinky by mohla mít mitochondriální cytochrom c oxidáza, které by podlelo malé množství CO (Olson, 2012).

2.5 Tvorba H₂S

Zdrojem vzniku H₂S v organismu je transulfurační dráha, která je katalyzovaná enzymy cystathionin- γ -lyázou (CSE) a cystathionin- β -syntázou (CBS). Tvorba H₂S nejčastěji probíhá ze substrátu L-cysteinu. Kromě těchto dvou enzymů se na vzniku H₂S podílí například 3-merkaptopyruvátsulfurtransferáza (3-MST) a cystein transamináza (CAT) (Olas, 2015).



Obr. 3 Biosyntéza H₂S transulfurační dráhou (Moody, 2011)

CSE je jedním z enzymů, který působí v transulfurační dráze, během které dochází k přenosu síry z L-methioninu na L-serin za vzniku L-cysteinu. CSE zprostředkovává přeměnu L-cystathioninu na L-cystein, α -ketobutyrát a amoniak. Tento enzym je aktivován vápenatými kationty a inhibován propargylglycinem. Vyskytuje se v játrech, ledvinách, v menší míře pak v žaludku a tenkém střevě (Sbodio, 2019).

Stěžejní funkcí enzymu CBS je kondenzace L-homocysteinu a L-serinu na L-cystathionin. Jeho aktivátor je S-adenosyl-methionin. CBS se vyskytuje např. v ledvinách, játrech, mozku a prostatě. V mozku se CBS podílí na tvorbě H₂S ze všech enzymů nejvíce. Také katalyzuje kondenzaci dvou L-cysteinů. Touto reakcí vzniká v organismu nejvíce sulfanu a dá se tak říci, že CBS svou katalytickou aktivitou pokrývá většinu biosyntézy H₂S (Sbodio, 2019).

Další enzym 3-merkaptopyruvátsulfurtransferáza (3-MPS) generuje H₂S reakcemi zahrnujícími přenos atomu síry. 3-MPS je aktivován aminoguanidinem a inhibován L-aspartátem. Vyskytuje se například v jaterních buňkách a kardiomyocytech. Spolu s CAT působí v mozku a zprostředkovává tvorbu 3-merkaptopyruvátu a účastní se tak vzniku H₂S z L-cysteinu. CAT katalyzuje reakci – transaminaci mezi L-cysteinem a α -ketoglutarátem (Sbodio, 2019).

2.6 Odbourávání H₂S

Degradace sulfanu v organismu je zprostředkována především oxidací na sulfát, který je následně eliminován močí. Další způsoby odbourávání H₂S jsou například tvorba merkaptantů, vazba na hem, tvorba thiokyanatanů (SCN)⁻ a reakce se superoxidem (O₂⁻) a NO (Olson, 2016).

2.7 Skladování gasotransmiterů

Koncentrace gasotransmiterů v organismu je regulována rychlostí jejich vzniku, difúzí do tkáně a rychlostí jejich odbourávání. Plyny zůstávají dostupné pro signální dráhy v organismu. Poté podléhají degradaci a případně sulfan se ukládá ve formě hydrogensulfidu (HS⁻) do tkání jako jsou játra, ledviny, mozek a srdce (Racek, 2012a), (Ishigami, 2009).

Tab 2 Přehled komponentů účastnících se biosyntézy gasotransmiterů (Ryter, 2013)

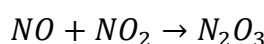
Produkty	Enzym	Substrát	Kofaktory
CO + (bilirubin, Fe)	HO-1	Hem	NADPH; NADPH-cytochrom P ₄₅₀ reduktáza
	HO-2	Hem	NADPH; NADPH-cytochrom P ₄₅₀ reduktáza
NO + (L-citrulin)	NOS-1	L-arginin	NADPH, kalmodulin; BH ₄ , hem, FAD, FMN
	NOS-2	L-arginin	NADPH, kalmodulin; BH ₄ , hem, FAD, FMN
	NOS-3	L-arginin	NADPH, kalmodulin; BH ₄ , hem, FAD, FMN
H ₂ S + (NH ₃ , pyruvát)	CSE	L-cystein	Pyridoxalfosfát (PALP), kalmodulin
H ₂ S + (L-serin)	CBS	L-cystein, homocystein	Pyridoxalfosfát (PALP), hem

3 Chemické interakce

Gasotransmitery jsou součástí velkého množství chemických reakcí. Tyto chemické reakce jsou zapojeny do složitějších mechanismů působení gasotransmiterů v organismu při fyziologických a patologických dějích.

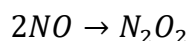
3.1 Reakce NO

Reakcí oxidu dusnatého s oxidem dusičitým (NO_2) vzniká oxid dusitý (N_2O_3) dle rovnice:

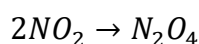


Oxid dusičitý je oxidační a nitrosylační činidlo a snadno reaguje v těle s nenasycenými mastnými kyselinami. Vznikají tak radikály a kyselina dusitá jakožto možný zdroj karcinogenních nitrosaminů. Nitrosylace probíhá za fyziologických i patologických podmínek. S-nitrososloučeniny také slouží jako zdroj NO v organismu (Kupková, 2004).

Přestože má NO nepárový elektron, za laboratorní teploty netvoří tak snadno dimery. K uskutečnění tohoto děje je třeba nízká teplota:

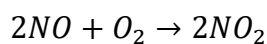


Oxid dusičitý také podléhá dimerizaci dle rovnice:



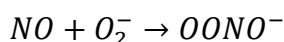
Tento dimer již nemá radikálovou povahu a vyskytuje se v ovzduší jako polutant. Pokud je organismus vystaven vyšší dávce NO_2 nebo jeho dimeru, dochází k poškození epiteliálních buněk dýchacích cest. Nitrace tyrosinu způsobená NO_2 má v organismu patologické účinky, které vedou k destrukci tkáně (Kupková, 2004).

NO reaguje s kyslíkem za vzniku oxidu dusičitého (hnědý jedovatý plyn s radikálovou povahou). Poločas této reakce není konstantní a závisí na koncentraci výchozí látky. Čím je koncentrace NO vyšší, tím rychleji reakce probíhá ve prospěch produktu.



Jedná se o reakci 1. řádu vzhledem ke kyslíku a o reakci 2. řádu vzhledem k NO. Oxid dusnatý v anaerobních podmínkách nereaguje. Ve tkáních reaguje NO s kyslíkem v membránách buněk, kde je hydrofobní prostředí. Reakce zde probíhá 300x rychleji než ve vodě (Gupta, 2011).

Reakce oxidu dusnatého se superoxidem (O_2^-) má patologický význam. Vzniká při ní peroxodusitan ($OOONO^-$), který je pro organismus toxický. Reakce probíhá dle rovnice:



Za fyziologického pH se peroxodusitan vyskytuje ve formě kyseliny peroxodusité, která se dále rozkládá na oxid dusičitý a hydroxylový radikál:

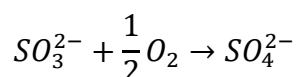
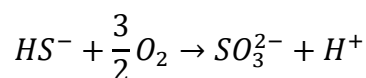


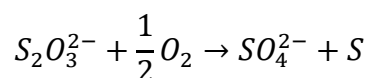
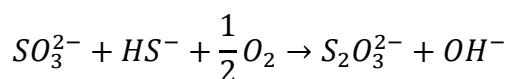
Toxicita peroxodusitanu je dána jeho schopností oxidovat SH skupiny bílkovin, atomy železa síry v biologických molekulách. Může tak způsobovat poškození DNA a apoptózu (Gupta, 2011).

Donory NO slouží v organismu jako zdroj NO při jeho nedostatku. Při fyziologickém pH se tyto molekuly rozkládají a uvolňují oxid dusnatý. Mezi tyto sloučeniny patří např. nitroglycerin, diazeniumdioláty, alkylnitrity a S-nitrosothioly (Wang, 2002).

3.2 Reakce H_2S

Oxidace sulfanu může probíhat buď kyslíkem (častější případ) nebo peroxidem vodíku. Oxidace probíhá komplexně na základě řetězových reakcí. Nejdůležitější podmínkou pro průběh reakce je pH. Sulfan je v kyselém prostředí ($pH < 6$) oxidován velmi pomalu. Při pH 7–8, kdy dojde k deprotonaci a tvorbě sulfidu, se rychlost oxidace zvyšuje. Meziprodukty oxidace jsou polysulfidy, které vznikají oxidací sulfidů nebo reakcí síry a sulfidů. Důležité reakce jsou oxidace sulfidů a hydrogensulfidů ve vodném prostředí. Vznikají tak siřičitany, sírany a thiosírany dle souhrnných rovnic:





Vzhledem k pomalému průběhu oxidace se využívá katalyzátorů. Již dlouhá léta jsou známy katalyzující účinky metaloproteinů, což má vzhledem k přítomnosti železa v bio molekulách fyziologický význam v organismu (Kabil, 2014).

Thioly jsou organické sloučeniny s obecným vzorcem R-SH. Vazba mezi vodíkem a sírou je slabá, a při reakci thiolu se zásadou dochází ke vzniku thiolátového iontu (RS^-). Typickou reakcí sulfanu s thioly je sulfhydrace a dochází k ní na postranním řetězci cysteinu za vzniku hydrodisulfidů (RSSH). Sulfhydrace má značný fyziologický význam, protože reakcí sulfanu s cysteinem dochází k aktivaci signální kaskády (Olas, 2015).

Sulfan reaguje s kovy buď mechanismem oxidace/redukce, anebo za tvorby komplexu. Během obou typů zmíněných reakcí se chová jako nukleofil. Kovy v tomto případě zastávají roli elektrofilní, protože jsou kladně nabitě a elektron přijímají (Fukuto, 2020).

Sulfan velmi dobře reaguje s železem vázaným v biomolekulách. Klíčová je reakce s mitochondriální cytochrom c oxidázou (CcO). Inhibice tohoto enzymu je hlavní příčinou toxických účinků sulfanu na organismus. Sulfan se v podobě HS^- váže do dvou center cytochrom c oxidázy, na Cu_B a na a_3 přímo na hem. Obě centra jsou v oxidovaném stavu a dochází tak k oxidaci sulfanu a redukci enzymu, který je tak inhibován (Fukuto, 2020).

Červené krvinky hrají důležitou roli v interakci sulfanu s kovem. Reakce se samotným hemoglobinem je významná pro udržení homeostázy sulfanu v organismu. Hemoglobin ve své formě MetHb váže sulfidy k iontu Fe^{3+} a katalyzuje tak oxidaci sulfanu za vzniku thiosíranů a hydroly polysulfidů. Hemoglobin by v této formě mohl mít do značné míry protektivní účinky proti vysokým koncentracím sulfanu v organismu (Fukuto, 2020).

3.2.1 Donory H_2S

Mezi známé donory sulfanu patří například sulfid sodný (Na_2S), který je významný pro experimentální činnost. Dalším známým zdrojem sulfanu jsou analogy cysteinu S-propargyl-

cystein (SPRC) a D-cystein. SPRC poskytuje cystein jako prekurzor pro enzym CSE (Ishigami, 2009).

Další donor sulfanu je sulforafan (SFN), který je hojně obsažen v brukvovité zelenině, jako je například brokolice, růžičková kapusta nebo zelí. Sulforafan snižuje riziko výskytu rakoviny prostaty tím, že produkuje velké množství sulfanu a indukuje proliferaci nádorových buněk, čímž snižuje jejich životnost (Ishigami, 2009).

Také česnek je dlouhodobě znám svými blahodárnými účinky na organismus. Bylo zjištěno, že obsahuje polysulfidy, ze kterých může vznikat sulfan, který působí jako vazorelaxant. To by také vysvětlovalo antioxidační účinky na organismus, schopnost podporovat imunitní systém při nachlazení a výskytu zánětu. Česnek také snižuje krevní tlak a snižuje riziko infarktu (Yagdi, 2016), (Rose, 2018).

3.3 Reakce CO

Známé jsou interakce oxidu uhelnatého s přechodnými kovy, především pak reakce s železem v hemoproteinech. Typickým příkladem je reakce CO s hemoglobinem za vzniku karboxyhemoglobinu. Interakce s cílovými molekulárními strukturami zatím nebyly zcela prozkoumány. Prozatím se odhaduje, že cílové struktury by mohly být iontové kanály (Wallace, 2015).

4 Fyziologické působení gasotransmiterů a změny za patologických stavů

Gasotransmitery fyziologicky rozsáhle působí v organismu, jejich pozitivní či negativní účinek závisí na jejich koncentraci. Jelikož byly do skupiny gasotransmiterů tyto endogenní plyny zařazovány postupně, nejprve byly jejich fyziologické účinky zkoumány samostatně. Proto je v některém orgánovém systému věnována větší pozornost konkrétnímu plynu. NO byl popsán v kardiovaskulárním systému, zatímco H₂S byl zkoumán především kvůli svým pozitivním účinkům na centrální nervovou soustavu.

4.1 Zapojení gasotransmiterů v nervové soustavě

4.1.1 Úloha H₂S v nervové soustavě

Sulfan je svou tvorbou, výskytem a fyziologickým působením v nervové soustavě nejdůležitějším gasotransmiterem. Endogenní tvorba H₂S je v těle zajištěna enzymy CBS, CSE a 3-MST (Yang, 2016). V centrální nervové soustavě se CBS uvolňuje z mozečku a hipokampu. CBS se vyskytuje především v astrocytech a mikroglíích. Přestože je CSE přítomen hlavně v kardiovaskulárním systému, a to v kardiomyocytech a buňkách hladkého svalstva, vyskytuje se také v mikroglíích, míše a cerebelárních granulárních buňkách (Tan, 2010).

Jedním z pozitivních účinků sulfanu na nervovou soustavu je jeho modulace nervového vzruchu. H₂S se v hipokampu podílí na zesílení signálu neuronů působením na glutamátový receptor N-methyl-D-aspartát (NMDA) (Tan, 2010). Dále má také neuroprotektivní vlastnosti, které zajišťuje aktivací K⁺ a Ca²⁺ kanálů v hypotalamu (Paul, 2018).

4.1.2 Funkce NO v nervové soustavě

Za fyziologických podmínek je NO v nervové soustavě tvořen endotelovou NOS v chorioidním plexu a cévním endotelu a pomocí neuronální NOS v hipokampu, hypothalamu, amygdale a v thalamu. Při zánětu se tvoří pomocí inducibilní NOS v neuroglíích (Panthi, 2018).

Oxid dusnatý se v nervové soustavě zapojuje do signálních drah tím, že se váže na cGMP a tím produkuje enzym guanylátcyklázu (GC), ta se projevuje jako neuromodulátor. Tato

signální molekula vykazuje protektivní účinky při ischemicko-reperfúzním poškození mozku prostřednictvím angiogeneze a vasodilatace (Panthi, 2018).

4.1.3 Působení CO v nervové soustavě

V několika studiích bylo prokázáno, že CO se chová jako endogenní biologický posel v mozku a jako hlavní element modulace cerebrovaskulární cirkulace u novorozenců. V těle vzniká CO působením hemoxygenáz při rozkladu hemu. Hemoproteiny jsou zapojeny do vzniku a šíření signálu mezi CO, NO a H₂S. Při simulaci poranění mozku ve zvířecích modelech CO prokázal své neuroprotektivní účinky (Shefa, 2017).

4.2 Funkce gasotransmiterů v kardiovaskulární soustavě

Za nízkých koncentrací zastávají gasotransmitery protektivní fyziologickou roli v kardiovaskulárním systému. Všechny tři plyny modulují ischemicko/reperfúzní poškození tím, že navozují několik cytoprotektivních mechanismů, které zahrnují například indukci vazodilatace, inhibici apoptózy, aktivaci antioxidantů a inhibici zánětlivé reakce (Cebová, 2016).

Endogenní plyny se do ochranných mechanismů zapojují podobným způsobem. Například NO a CO aktivují solubilní guanylátcyklázu (sGC) a tím zvyšují hladinu cyklického guanosinmonofosfátu (cGMP). NO má však vyšší afinitu k sGC než CO. H₂S s sGC neinteraguje přímo, ale zvyšuje hladinu cyklického guanosinmonofosfátu tím, že inhibuje enzym fosfodiesterázu (PDE). Účinek a místo působení v kardiovaskulárním systému, ale také v celém organismu, závisí na výskytu isoforem enzymů, díky kterým se gasotransmitery tvoří a uvolňují (Cebová, 2016).

4.2.1 Působení NO v kardiovaskulárním systému

Isoformy enzymů NOS se vyskytují v několika různých typech buněk kardiovaskulárního systému, a to v kardiomyocytech, endoteliálních buňkách nebo v buňkách hladkého svalstva cév. V srdci se eNOS vyskytuje především v koronárním entoteliu, zatímco nNOS je především v kardiomyocytech. Hlavní fyziologický efekt NO zprostředkovaný eNOS a nNOS zahrnuje redukci kontraktilní frekvence kardiomyocytů, útlum srdeční kontraktility,

zrychlení relaxace kardiomyocytů a zlepšení účinnosti spotřeby kyslíku v myokardu (Luiking, 2010).

V endoteliu je interakce eNOS s caveolinem-1 zásadní pro aktivitu eNOS. Konstitutivní eNOS hraje klíčovou roli v kontrole průtoku krve a udržování antitrombotického a protizánětlivého lumenálního povrchu. iNOS vyvolaná zánětlivými stimulanty tvoří NO v leukocytech, epiteliálních buňkách a makrofázích v mnohonásobně vyšší koncentraci, což vede k likvidaci infekčního agens. NO, který se syntetizuje a uvolňuje svalovými endoteliálními buňkami je důležitý regulátor cévního tonu a leukocytární adheze. Regulaci průtoku krve a cévního tonu zajišťuje již zmíněnou aktivací sGC. NO snižuje adhezi a agregaci trombocytů a tlumí nekontrolované množení a růst buněk (Luiking, 2010).

4.2.2 Funkce CO v kardiovaskulárním systému

Endogenní CO vzniká pomocí enzymu hemoxygenázy, který má dvě isoformy. Obě tyto isoformy (HO-1, HO-2) jsou uvolňovány atriálními i ventrikulárními myocyty. Enzym hemoxygenáza hraje důležitou roli v buněčné antioxidační ochraně. HO-1 je uvolňován v myokardu a koronární cirkulaci při stresu tkáně jako je například ischemie/reperfúze a má tak kardioprotektivní, antiapoptotické a cytoprotektivní účinky. HO-2 je konstitutivně uvolňován endoteliem a hladkým svalstvem arteriálních a venózních cév a tím moduluje cévní tonus. Regulace endogenní produkce CO je za fyziologických podmínek závislá na HO-2. Při poškození tkáně reguluje tuto produkci enzym HO-1 (Ozaki, 2012).

CO se svou reaktivitou liší od NO a H₂S. Nemá povahu radikálu jako NO a ani nedisociuje ve vodě a v tucích jako H₂S a má vyšší selektivitu. Díky své inertnosti a selektivní reaktivitě má CO speciální využití pro buněčné cílové struktury. CO je schopen modulovat důležité signální dráhy. Je schopen aktivovat vysoko vodivostní Ca²⁺-aktivované draslíkové kanály s následnou hyperpolarizací membrány buněk hladkého svalstva, což je spojeno s relaxací arteriální stěny (Ling, 2018).

4.2.3 Úloha H₂S v kardiovaskulárním systému

Sulfan je při nízkých koncentracích důležitý regulátor kardiovaskulárních funkcí a má cytoprotektivní účinky v patogenezi a rozvoji kardiovaskulárních chorob. Může inhibovat aktivaci krevních destiček a proliferaci buněk hladkého svalstva. V cévní stěně má sulfan funkci

jako relaxační faktor a hyperpolarizující faktor odvozený od endotelu. H₂S má relaxační účinky na hrudní aortu a na vrátnicovou žílu. Endotelium-dependentní vasorelaxační účinky jsou důležité v periferních arteriích, které však vyžadují membránovou hyperpolarizaci jak endoteliálních buněk, tak buněk hladké svaloviny. H₂S také stimuluje fosforylaci eNOS a tím snižuje krevní tlak (Cebová, 2016).

4.3 Působení gasotransmiterů v respiračním systému

4.3.1 Inhalace NO

Při fyziologickém stavu je tvorba NO v plicích cévách (narozdíl od systémových cév) minimální. Inhalace NO je úspěšně používána pro léčbu subakutních a akutních plicních hypertenzních stavů. Funguje jako selektivní vazodilatancium (Kupková, 2004).

4.3.2 Zapojení H₂S v respiračním systému

I v plicích má sulfan fyziologické účinky. Snižuje krevní tlak v plicích cévách a mohl by tak být využit ke snížení krevního tlaku při hypoxické plicní hypertenzi. Ta se vyznačuje mimo zvýšení krevního tlaku také vazokonstrikcí, později nastanou problémy s dechem, závratě a tvorba otoku (HUANG, 2020).

4.3.3 Funkce CO v respiračním systému

Enzym HO-1 za normálních podmínek není přítomen v plicích. Aktivitu HO-1 zvyšuje hyperoxická expozice. Aktivita enzymu se výrazně zvyšuje v bronchoalveolárních epitelálních buňkách a intersticiálních buňkách. Je možné, že by zvýšená exprese HO-1 mohla chránit plíce před oxidativním poškozením tkáně. Díky výskytu isoformy enzymu HO-2 v dýchacích cestách by mohl CO regulovat synaptický přenos v nervových spojkách v plicích a dýchacích cestách (Ryter, 2007), (Prabhakar, 1998).

4.4 Zapojení gasotransmiterů v gastrointestinálním traktu

Sliznice trávicího traktu je neustále vystavena působení potravy a nápojů, alkoholu, popřípadě potravinových doplňků, anebo léčiv a drog. Sliznice se snaží vyrovnat s různou teplotou, pH, osmotickým tlakem přijímané potravy (Wallace, 2017). Některá léčiva jako jsou například nesteroidní antiflogistika (NSAIDs) nebo mikroorganismy jako je *Helicobacter*

pylori, ale i další faktory mohou celistvost sliznice narušit a způsobit patologické stavy. Fyziologické prostředí se snaží zajistit mechanismus, který se souhrnně nazývá obrana sliznic. Tento fyziologický mechanismus zajišťující obranu sliznice zahrnuje např. epiteliální buňky sekretující hlen a bikarbonát, průtok krve sliznicí, endogenní prostaglandiny a melatonin. Gasotransmitery, především pak NO a H₂S, hrají důležitou roli v obraně sliznice (Magierowski, 2015).

4.4.1 Působení NO v gastrointestinálním traktu

NO je nejvíce zkoumaným gasotransmitterem v oblasti obrany sliznice gastrointestinálního traktu. Tím, že má na cévy vazodilatační účinky, zajišťuje optimální průtok krve, což je jeden z obranných mechanismů. Také stimuluje sekreci hlenu z epiteliálních buněk aktivací guanylátcyklázy (Wallace, 2017).

Za fyziologických podmínek je NO produkován pomocí NOS z L-argininu. Za patologických podmínek je L-arginin v jiné metabolické dráze přeměňován proteinem arginin methyltransferázou (PRMT) na asymetrický dimethylarginin (ADMA), který působí jako endogenní inhibitor NOS a snižuje tak produkci NO (Magierowski, 2015).

Vyčerpání NO v gastrointestinálním traktu by pak mělo rozsáhlé následky a do značné míry by ovlivňovalo patogenezi civilizačních chorob, jako je například hypertenze, ateroskleróza, srdeční selhání nebo diabetes mellitus (Magierowski, 2015).

4.4.2 Funkce CO v gastrointestinálním traktu

Tvorba CO v gastrointestinálním traktu je zprostředkována enzymem HO-1, který se vyskytuje například v buňkách endotelu a epitelu. HO-2 se zapojuje do modulace membránového potenciálu buněk hladkého svalstva. CO jako signální molekula má v gastrointestinálním traktu cytoprotektivní a protizánětlivé účinky. CO společně s ostatními gasotransmitery zvyšuje sekreci hlenu a bikarbonátu z epiteliálních buněk (Wallace, 2017).

4.4.3 Působení H₂S v gastrointestinálním traktu

Sulfan je v gastrointestinálním traktu vylučován z epiteliálních buněk. H₂S aktivuje mitogenem aktivované proteinkinázy (MAP kinázy) a vykazuje tak antioxidační účinky a hraje tak důležitou roli v ochraně epiteliálních buněk proti oxidačnímu stresu (Magierowski, 2015).

Aktivace K_{ATP} kanálů pomocí sulfanu a také jeho spolupráce s NO se podílí na regulaci přenosu bolesti v zaživacím traktu (Wallace, 2017).

4.5 Zapojení gasotransmiterů v imunitním systému

Zánětlivou odpověď doprovází několik mechanismů, které zahrnují různé typy buněk, signalizačních drah a transkripčních faktorů, do těchto drah se z velké části zapojují i gasotransmitery (Mustafa, 2009).

4.5.1 Funkce NO v imunitním systému

Oxid dusnatý se účastní vrozené imunity jako signální molekula. Podílí se na obraně proti některým bakteriím, virům, nádorům a zasahuje do procesu fagocytózy a zánětu. Obranu proti virům zajišťuje aktivaci interferonu γ , který má antivirotické účinky (Bellin, 2013). NO ovlivňuje zánětlivou odpověď organismu snížením adheze leukocytů a alterací uvolněných cytokinů. NO také brání apoptóze inhibicí apoptických fosforylačních signálů. Zvýšená produkce oxidu dusnatého vlivem iNOS, která je stimulovaná prozánětlivými cytokiny, je typická pro anafylaktickou reakci (Fagone, 2018).

4.5.2 Působení H_2S v imunitním systému

Sulfan působí v organismu jako protizánětlivý faktor. Princip fungování spočívá v aktivaci K_{ATP} kanálů. Aplikací donorů sulfanu lze docílit apoptózy neutrofilů a potlačení exprese leukocytů a endoteliálních adherentních molekul. Sulfan také inhibuje expresi prozánětlivých cytokinů a blokuje jejich adhezi. Sulfan by mohl mít v tomto směru velký terapeutický potenciál (Han, 2019), (Fagone, 2018).

4.5.3 Zapojení CO do zánětlivé odpovědi

Důležitou roli v signálních drahách zánětlivé odpovědi hraje jeden z enzymů hemoxygenáz. Při zvýšení exprese HO-1 dochází k potlačení zánětlivé odpovědi, naopak její inhibice zánětlivou odpověď potencuje. Protizánětlivé účinky jsou popsány u produktů hemoxygenáz zahrnujících CO, biliverdin a bilirubin (Nakahira, 2015). Jedním z mechanismů CO, podílejících se na protizánětlivé odpovědi, je potlačení exprese prozánětlivých cytokinů TNF α a IL-1 β , a zároveň zvýšené vylučování protizánětlivého cytokinu interleukinu-10 (IL-10) (Motterlini, 2017), (Muchová, 2018).

4.6 Změny tvorby NO při onemocněních

4.6.1 Onemocnění dýchacích cest

Klinické studie potvrdily zvýšenou koncentraci NO ve vydechovaném vzduchu astmatiků. Oxid dusnatý se vlivem iNOS tvoří v nadměrném množství za vzniku reaktivních sloučenin dusíku (RNS). Ty mohou poškozovat zdravé buňky a epitel dýchacích cest. Dále se vyšší koncentrace NO objevuje u cystické fibrózy (Luiking, 2010).

4.6.2 Kolitida a další onemocnění GIT

Nadměrná tvorba NO je spojena se zánětlivým onemocněním střev (kolitidou). U ulcerózní kolitidy se může nacházet nárůst aktivity NOS ve sliznici. Naopak nedostatek NOS může souviset s achalázií, může mít vliv na poruchu motility nebo vředovou chorobu (Wallace, 2017).

4.6.3 Septický šok

Zvýšená koncentrace NO byla zaznamenána u nemocných v septickém šoku. Vlivem prozánětlivých cytokinů (interleukin-1 a TNF- α) se aktivuje iNOS, která způsobuje nadprodukcí NO. Ten pak působí negativně na myokard prostřednictvím cGMP. Dále reaguje s volnými kyslíkovými radikály za vzniku peroxynitritu a poškozuje celistvost buněčných membrán kardiomyocytů. Zvýšená produkce NO má za následek vasodilataci, hypotenzi a sníženou citlivost na vasokonstrikční látky (Wang, 2017).

4.7 Změny tvorby H₂S při onemocněních

4.7.1 Alzheimerova choroba

Jedná se o progresivní onemocnění nervové soustavy na principu degenerativního zániku neuronů, které je nejčastější příčinou demence. Sulfan má za fyziologických podmínek neuroprotektivní účinky na nervovou soustavu a zesiluje přenos signálu mezi neurony. U jedinců s Alzheimerovou chorobou byla naměřena snížená koncentrace sulfanu a zvýšená koncentrace homocysteinu v mozku (Paul, 2018).

4.7.2 Downův syndrom

Syndrom způsobený chromozomální aberací na chromozomu 21, na kterém je lokalizovaný také enzym CBS. Při tomto onemocnění byla objevena nadměrná produkce sulfanu v mozku. U pacientů postižených Downovým syndromem byla naměřena zvýšená hladina thiosíranů v moči, což je katabolický produkt sulfanu (Paul, 2018).

Downův syndrom je silně asociován s Alzheimerovou chorobou. Imunohistochemická analýza lokalizovala v astrocytech enzym CBS, který by mohl indikovat účast sulfanu v patogenezi těchto dvou onemocnění (Paul, 2018).

4.7.3 Septický a endotoxický šok

Při zkoumání změny koncentrace sulfanu při septickém a endotoxickém šoku byla zaznamenána jeho zvýšená koncentrace v plazmě. Stejně jako tomu bylo u NO, jeho zvýšená koncentrace má za následek vazodilataci a hypotenzi. Pokles krevního tlaku je pro septický šok charakteristický (Wang, 2017).

4.8 Intoxikace oxidem uhelnatým

Otrava oxidem uhelnatým je velmi často přehlédnutelná. Afinity CO k hemoglobinu je 240x vyšší než u kyslíku. Navázáním CO na hemoglobin vzniká karboxyhemoglobin a snižuje se tak celková kapacita k přenosu kyslíku. CO inhibuje dýchací řetězec v mitochondriích a tlumí oxidativní fosforylaci, což má za následek snížení produkce ATP ve tkáních. Nedostatečnou dodávkou kyslíku nastává hypoxie orgánů. Nejohroženější jsou orgány s největší spotřebou kyslíku v organismu – mozek a srdce (Rose, 2017).

4.8.1 Ischemické poškození mozku

Při narušení dýchacího řetězce a snížení produkce ATP nastává aktivace intracelulárních proteáz a lipáz. Tyto enzymy způsobují depolarizaci mitochondriální membrány, buněčnou smrt a uvolnění neurotransmiterů, především pak glutamátu. V krysím modelu bylo demonstrováno, že glutamát aktivuje uvolňování hydroxylového radikálu, který je zodpovědný za poškození mozku při expozici oxidem uhelnatým a krátce po ní (Rose, 2017).

5 Zánět

Zánět je základním obranným mechanismem organismu. Jde o souhrn fyziologických reakcí na porušení integrity tkáně, které následně vedou k lokalizaci poškození, zabraňují rozšíření infekce z daného místa a vedou ke zhojení (Hořejší, 2017). Důležitou roli v zánětlivé reakci hraje imunitní systém. Proces je regulován, aby nedocházelo k většímu poškození okolní tkáně. Mezi tyto regulátory se řadí například cytokiny, prostaglandiny, leukotrieny, růstové faktory (Punchard, 2004).

Dle místa výskytu se rozlišuje zánět lokální a celkový, které se od sebe liší určitými makroskopickými znaky. Mezi celkové znaky se řadí např. zvýšení tělesné teploty nebo leukocytóza. Čtyři charakteristické makroskopické znaky lokálního zánětu jsou známy již od 1. století našeho letopočtu, kdy je popsal Aulus Cornelius Celsus. Jde o *calor* (zahřátí), *rubor* (zarudnutí), *tumor* (otok) a *dolor* (bolest). Později tyto znaky doplnil Claudius Galenus o *functio laesa* (porušení funkce).

Dle délky výskytu se zánět dělí na akutní a chronický. Akutní zánět je fyziologickou obrannou funkcí, která obvykle odezní bez následků během několika hodin či dní a poškozená tkáň se úplně zhojí. Naopak chronický zánět je obvykle patologický proces, který může trvat několik měsíců či roky. Dochází při něm ke zničení tkáně a nahrazení vazivem.

Chronický zánět často doprovází jiné závažné zdravotní obtíže, jako je např. astma, nádorové onemocnění, srdeční choroby, ateroskleróza, revmatoidní artritida, Alzheimerova choroba nebo diabetes mellitus (Hotamisligil, 2006), (Punchard, 2004).

5.1 Mediátory zánětu

Mediátory zastávají roli prostředníka při odpovědi organismu na cizorodý podnět, jsou rozpustné a schopné difúze přes membránu. Interagují s příslušnými receptory a aktivují tak některé složky zánětu. Některé mediátory stimulují tvorbu gasotransmiterů, jako např. prozánětlivé cytokiny. Mediátory zánětu se dělí na endogenní (vzniklé pomocí imunitního a hemokoagulačního systému) a exogenní (vzniklé pomocí cizorodých mikroorganismů nebo působením mechanických a fyzikálních vlivů). Mediátory časně fáze hrají roli především v akutní zánětlivé reakci a patří mezi ně například histamin, serotonin a cytokiny. Mediátory

pozdní fáze se zapojují do regulace vaskulárních změn, které se odehrávají později. Jedná se například o lipidové mediátory tvořené z kyseliny arachidonové (Headland, 2015).

5.1.1 Histamin a serotonin

Jedná se o aminy, které jsou skladovány v granulech bazofilů, žírných buněk a destiček. Větší část serotoninu se pak nachází v centrální nervové soustavě a gastrointestinálním traktu. Patří mezi nejvýznamnější mediátory zánětu, které mají vliv na vaskulární permeabilitu (Barnes, 2001).

Histamin se uvolňuje do okolí a zvyšuje produkci endoteliálního NO tím, že reguluje expresi eNOS v endotelu. V buňkách hladkého svalstva také reguluje iNOS a způsobuje kontrakci hladkých svalů, dilataci arteriol a působí jako chemoatraktant pro eozinofily (Barnes, 2001).

Serotonin má totožné účinky jako histamin. Po uvolnění serotoninu do okolí nastává dilatace kapilár a kontrakce hladkých svalů. Dále svým vazokonstrikčním účinkem snižuje únik krve při krvácivých stavech (Barnes, 2001).

5.1.2 Eikosaniody

Eikosaniody patří mezi lipidové mediátory. Dělí se na prostaniody a leukotrieny. Během zánětu dochází ke štěpení membránových fosfolipidů enzymem fosfolipasou a vzniká arachidonát. Arachidonát reaguje s dvěma enzymy. Působením cyklooxygenázy na arachidonát vznikají prostanoidy. Druhou cestou, reakcí s enzymem lipoxygenázou, vznikají leukotrieny. Jejich účinky jsou v organismu různé v závislosti na jejich typu a na receptoru, na který v daném místě působí (Dennis, 2015).

Například prostaglandin E₂ je tkáňový hormon a vyvolává vasodilataci, je pyrogenní a zvyšuje citlivost na bolestivé podněty. Bylo prokázáno, že donory NO, především pak peroxynitridy regulují syntézu prostaglandinu E₂. Leukotrieny působí jako prozánětlivé mediátory. Vyvolávají rychlou odpověď organismu a působí chemotakticky a aktivačně na leukocyty, podporují diapedézu. Mají bronchokonstrikční účinek a zvyšují permeabilitu cév (Dennis, 2015).

5.1.3 Cytokiny

Jedná se o signální molekuly proteinové povahy. Jsou syntetizovány a transportovány buňkami imunitního systému. Dělí se do formálně vytvořených skupin, jako např. interleukiny, interferony nebo růstové faktory. Mohou je však tvořit i buňky mimo imunitní systém. Kontrolují směr a rozsah imunitní odpovědi a mají důležitou roli v remodelaci tkáně. Cytokiny působí v kaskádě na různé typy buněk. Mohou se ve své funkci vzájemně nahradit a doplnit nebo naopak působit jako antagonisté (Lowry, 1993).

Cytokiny se dělí do dvou skupin na prozánětlivé a protizánětlivé. Prozánětlivé cytokiny jsou produkovány makrofágy a stimulují zánětlivé reakce a pozitivně působí na aktivaci a diferenciaci zánětlivých buněk. Jedná se např. o interleukin-1, interleukin-6, interleukin-8 a TNF- α (Lowry, 1993).

Prozánětlivé cytokiny, především pak interleukin-1 a TNF- α , stimulují syntézu inducibilní NOS a tím produkci NO. Tvorbu prozánětlivých cytokinů však inhibuje ve vyšších koncentracích CO. Jde tak o jistý regulační systém mezi oxidem dusnatým a oxidem uhelnatým (Racek, 2012a), (Racek, 2012b).

Protizánětlivé cytokiny jsou tvořeny T-lymfocyty a tlumí zánětlivou odpověď. Působí jako antagonisté na prozánětlivé cytokiny. Do této skupiny patří interleukin-4, interleukin-10 a interleukin-13 (Lowry, 1993).

5.2 Systémová odpověď

Intenzita odpovědi závisí na délce trvání lokálního zánětu a rozsahu poškození. Pokud dojde k masivnímu proniknutí mikroorganismů do krevního oběhu (septický šok), anebo k aktivaci zánětotočivých elementů intravaskulárně antigenním podnětem neinfekčního charakteru (anafylaktický šok), může nastat systémová odpověď i bez předchozího výskytu lokálního zánětu (Hořejší, 2017).

Systémovým projevem zánětu je horečka, leukocytóza a nadměrná funkce jater vlivem syntézy proteinů akutní fáze. Zvýšená teplota hraje důležitou roli aktivátoru metabolismu imunokompetentních buněk. Dochází k indukci uvolňování tzv. proteinů tepelného šoku. Funkci jater pak stimulují cytokiny produkované v místě zánětu. Mezi syntetizované proteiny

akutní fáze patří například C-reaktivní protein a bílkoviny komplementové kaskády C3 a C4 (Hořejší, 2017), (Jílek, 2019).

5.3 Ukončení zánětlivého procesu a rezoluce

Jedná se o aktivní proces, při kterém dochází ke změně tvorby z prozánětlivých prostaglandinů a leukotrienů na prorezoluční lipoxiny, resolviny a protektiny, jinak známé jako specializované prorezoluční mediátory (SPMs) (Sugimoto, 2019). Dochází k inhibici syntézy prozánětlivých cytokinů a také inhibici přesouvání neutrofilů do místa zánětu. Naopak je stimulován pohyb makrofágů do místa zánětu ke konečnému čištění od poškozených buněk a apoptických neutrofilů. Do procesu apoptózy zasahují také gasotransmitery (Serhan, 2007), (Basil, 2016).

Pokud se akutní zánět nepodaří včas ukončit, dochází k rozvoji chronického zánětu, což je patologický stav. Při jeho rozvoji by nedocházelo k remodelaci a regeneraci tkáně, ale k její přeměně na fibrotickou nefunkční tkáň (Headland, 2015).

6 Úloha gasotransmiterů v rezoluci zánětlivé reakce

Gasotransmitery se zapojují do zánětlivé reakce, a to do její rezoluce a obnovy tkáně. Chovají se jako protizánětlivé sloučeniny podporující rezoluci zánětu. Mají protektivní a léčivé účinky na některé tkáně a orgány, například gastrointestinální trakt a plíce (Wallace, 2015).

6.1 NO v rezoluci zánětlivé reakce

Oxid dusnatý je při zánětlivé reakci endogenně produkován inducibilní NOS. Není to však jediný produkt, který vzniká. Současně s ním vznikají pomocí redukce nebo oxidace i jiné nitrosloučeniny, jako například S-nitrosothioly nebo peroxynitrity (Korhonen, 2005), (Yang, 2016).

Klasicky NO působí přes aktivaci enzymu sGC a zvyšuje tak hladinu cGMP. Některé studie však tvrdí, že se NO zapojuje do signálních drah i jinou cestou než přes aktivaci sGC. Touto cestou blokuje agregaci trombocytů a reguluje apoptózu zánětlivých buněk. NO má účinky jak pro-apoptotické, tak anti-apoptotické. (Sulaieva, 2015).

Apoptóza buněk je považována za eliminační mechanismus vedoucí k rezoluci zánětlivé reakce. Apoptóza eliminuje prozánětlivé buňky, které by potenciálně mohly ohrozit rezoluci. Dysfunkce apoptózy by mohla mít negativní dopad na průběh rezoluce (Wallace, 2015).

Několik studií na myším modelu ukázalo, že makrofágy infiltrující myší tumory indukují apoptózu přes NO-dependentní dráhu přímo v nádorových buňkách. Ukazuje se, že NO napomáhá procesu rezoluce mimo jiné tím, že působí jako signální molekula pro makrofágy indukující apoptózu. Je však nutné zmínit, že při nádorových onemocněních hraje důležitou roli koncentrace NO. Při nižších koncentracích (<100nM) oxid dusnatý stimuluje angiogenezi. Při vyšších koncentracích (>400–500nM) působí cytotoxicky a dochází k nekontrolované apoptóze (Sulaieva, 2015), (Wallace, 2015).

6.2 Sulfan v rezoluci a regeneraci tkáně

(Zanardo, 2006) a kolektiv poskytli klíčový důkaz naznačující důležitou roli sulfanu jako protizánětlivého a prorezolučního mediátoru. Zjistili, že sulfan inhibuje adhezi leukocytů k vaskulárnímu endotelu a zabraňuje tak jejich diapedéze k místu zánětu.

Dva nejdůležitější procesy v rezoluci zánětlivé reakce zahrnují indukci neutrofilní apoptózy a stimulaci makrofágů v průběhu fagocytózy apoptotických neutrofilů. Likvidace neutrofilů je klíčová, protože v případě nečinnosti makrofágů by došlo k rozvoji chronického zánětu. H₂S výrazně podporuje apoptózu neutrofilů (Wallace, 2015). (Dufton, 2012) a kolektivně demonstrovali, že aplikace sulfanu do lidských a myších makrofágů zvyšuje jejich chemotaxi a posiluje fagocytózu bakterie *Escherichia coli*. Stimulace těchto funkcí sulfanem zabraňuje akumulaci zánětlivých buněk v místě zánětu (Wallace, 2015).

Vedle protizánětlivých účinků se sulfan vyznačuje také svou schopností obnovovat poškozenou tkáň a její funkci. Některé nejnovější studie zkoumající roli sulfanu v rezoluci poškozené tkáně používají modely zánětu a poškození tkáně v gastrointestinálním traktu. Při podávání donoru sulfanu (např. L-cysteinu) v krysím modelu se značně zrychlilo hojení žaludečního vředu. Naopak při potlačení syntézy H₂S se proces hojení zpomalil (Wallace, 2015).

6.3 CO v rezoluci zánětlivé reakce

Stejně jako NO a H₂S i CO vykazuje schopnost ochrany buněk a tkání díky svým antiapoptotickým, protizánětlivým a antiproliferativním vlastnostem. Inducibilní HO-1 slouží jako senzor buněčné smrti a při jejím zaznamenání začne produkovat CO. Ten pak může do jisté míry omezit poškození tkáně. V klinickém prostředí se zkoumá rozsah působení CO jednak po expozici inhalační, ale také expozici perorální po požití takzvaných molekul uvolňujících CO (CORMs) (Ryter, 2016), (Wallace, 2015).

Inhalace CO je zatím posuzována jako jeden ze způsobů, jak omezit zánět. (Chiang, 2013) a spol. uvedli, že inhalovaný CO v koncentraci 250 ppm významně redukuje infiltraci neutrofilů do pobřišnice u myšího modelu a zvyšuje aktivitu HO-1. Také ukázali na dramatický posun v produkci prorezolučních mediátorů jako je například resolvin D₁, maresin 1 a sníženou produkci leukotrienu B₄. Současně se také zvýšila aktivita makrofágů. Tato práce byla rozšířena (Dalli, 2015) a týmem na model bakteriální pneumonie u paviánů. CO ukázal terapeutický potenciál ve zvířecích modelech s akutním poraněním plic, ischemicko-reperfúzním poraněním, plicní fibrózou a v modelu transplantace plíce (Wallace, 2015).

6.4 Léčiva uvolňující gasotransmitery

Již řadu let jsou známa léčiva, která způsobují uvolnění gasotransmiterů. Například nitroglycerin uvolňující oxid dusnatý je běžně užívaným vazodilatátorem. Za posledních 25 let byl učiněn pokrok v rozvoji nových protizánětlivých a cytoprotektivních léčiv, která uvolňují jeden nebo více těchto plynných mediátorů tím, že aktivují enzymy jejich tvorby. Například mechanismus účinku léčiv uvolňující sulfan spočívá v aktivaci enzymů CBS a CSE v místě tvorby vředu žaludeční sliznice. Tyto enzymy produkují sulfan, který má cytoprotektivní a léčivé účinky (Bryan, 2019), (Wallace, 2015).

John L. Wallace založil první společnost vyvíjející léky využívající gasotransmitery v roce 1996. Dále je zakladatelem farmaceutické společnosti, která se zabývá primárně léčivy uvolňujícími sulfan. Soustředí se především na úpravu nesteroidních antiflogistik (NSAIDs).

6.4.1 Nesteroidní antiflogistika (NSAIDs)

Nesteroidní antiflogistika patří mezi nejpoužívanější léčiva při tlumení zánětu a bolesti. Mechanismus účinku spočívá v inhibici enzymu cyklooxygenázy-2 (COX-2), který stimuluje tvorbu prostaglandinů – mediátorů zánětu. Nejznámějšími NSAIDs jsou kyselina acetylsalicylová (aspirin), naproxen a ibuprofen. Bohužel, při dlouhodobém požívání například při léčbě osteoartritidy nebo revmatoidní artritidy vykazují nežádoucí účinky. Ty se nejčastěji projevují v oblasti žaludku a střev gastrointestinálním krvácením a ulcerací, způsobují také hypertenzi (Sulaieva, 2015).

Již v předchozí kapitole byla zmíněna protektivní účast gasotransmiterů v obraně sliznic. Z tohoto důvodu byly vyvinuty analogy NSAIDs obohacené o plynné mediátory.

Nesteroidní antiflogistika uvolňující NO byly vyvinuty a testovány ve zvířecích modelech. Cílem bylo vyrobit léčivo s protizánětlivým účinkem a zároveň protektivním účinkem na sliznici žaludku. Bohužel, protektivní vlastnosti nebyly tak účinné jako na zvířecím modelu (Sulaieva, 2015).

Ve vývoji jsou také NSAIDs uvolňující H₂S a uvádí se, že kombinace sulfanu s těmito látkami značně redukuje poškození gastrointestinálního traktu a zároveň nijak nepotlačuje jejich protizánětlivou aktivitu. Vyvíjí se například deriváty naproxenu nebo mesalaminu uvolňující H₂S. Mesalamin je první volbou při terapii onemocnění střev, jako je například

Crohnova choroba nebo ulcerativní kolitida. Jeho derivát ve zvířecích modelech vykazuje značně vylepšené protizánětlivé účinky a schopnost hojení oproti samotnému mesalaminu (Sulaieva, 2015).

Dále je také vyvíjen například derivát aspirinu uvolňující CO, který je syntetizován pro jeho protizánětlivé účinky a schopnost inhibice nekontrolovaného bujení buněk (Zanellato, 2013).

6.4.2 Molekuly uvolňující oxid uhelnatý

Molekuly uvolňující oxid uhelnatý (CORMs) mohou být užívány perorálně a mohou tak cíleně dopravovat a lokálně uvolňovat CO. Ve zvířecích modelech CORMs prokázaly příznivé účinky při hepatitidě, kolitidě nebo osteoartritidě, ale také v modelu gastritidy. Svou účastí v hojení sliznice tlustého střeva a v redukci zánětu sliznice by mohly hrát důležitou roli v kontrole patogeneze idiopatických střevních zánětů (Takagi, 2015), (Liu, 2020).

7 Závěr

Gasotransmitery zastoupené oxidem dusnatým (NO), oxidem uhelnatým (CO) a sulfanem (H₂S) jsou plynné signální molekuly. Každý z těchto plynů hraje důležitou roli ve fyziologických a patofyziologických procesech. Svou schopností difúze a absencí receptorů se liší od neurotransmiterů. Místo toho pronikají přes membrány a mohou interagovat s různými proteiny a geny a mají tak široký záběr účinku. Za fyziologických podmínek vznikají v organismu endogenně a jejich syntéza je zprostředkována konstitutivními isoformami, a při zánětu pak inducibilními isoformami příslušných enzymů.

Působení těchto plynů v signálních drahách může být v závislosti na jejich koncentraci buď fyziologické nebo patologické. Při nízkých koncentracích vykazují pozitivní protizánětlivé účinky na organismus. Zajišťují relaxaci hladké svaloviny ve stěně cévy a svými antiproliferačními účinky zabraňují nekontrolovatelnému množení buněk. Ve vyšších koncentracích pak působí cytotoxicky, kdy např. při vysokých koncentracích NO vznikají sloučeniny s působením oxidačním a nitrosylačním. Dále pozitivně působí v gastrointestinálním traktu, nervové soustavě, respiračním a kardiovaskulárním systému a v imunitním systému se podílí na rezoluci zánětlivé reakce. Hlavním místem působení oxidu dusnatého je kardiovaskulární systém, kde se účastní regulace průtoku krve a cévního tonu. Nejdůležitějším endogenním plynem centrální nervové soustavy je sulfan, který moduluje nervový vzruch a působí jako neuroprotektant. Oxid uhelnatý se podílí na ochraně sliznic v gastrointestinálním traktu a také pomáhá oxidu dusnatému regulovat cévní tonus.

Mechanismus protizánětlivého účinku gasotransmiterů spočívá v inhibici prozánětlivých cytokinů a regulaci apoptózy zánětlivých buněk. Také se účastní hojení tkáně. Díky těmto pozitivním účinkům mají gasotransmitery velký terapeutický potenciál. Možnosti využití těchto endogenních plynů ve farmacii jsou v posledních letech předmětem klinických studií. Velkou pozornost přitahují především nesteroidní antiflogistika uvolňující gasotransmitery.

8 Bibliografie

1. AHMED, Afsar U., 2011. An overview of inflammation: mechanism and consequences. *Frontiers in Biology* [online]. **6**(4), 274-281 [cit. 2021-06-04]. ISSN 1674-7984. Dostupné z: doi:10.1007/s11515-011-1123-9
2. BARNES, Peter J., 2001. Histamine and Serotonin. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics* [online]. **14**(5), 329-339. ISSN 10945539. Dostupné z: doi:10.1006/pupt.2000.0318
3. BASIL, Maria C. a Bruce D. LEVY, 2016. Specialized pro-resolving mediators: endogenous regulators of infection and inflammation. *Nature Reviews Immunology* [online]. **16**(1), 51-67 [cit. 2021-04-15]. ISSN 1474-1733. Dostupné z: doi:10.1038/nri.2015.4
4. BELLIN, Diana, Shuta ASAI, Massimo DELLEDONNE a Hirofumi YOSHIOKA, 2013. Nitric Oxide as a Mediator for Defense Responses. *Molecular Plant-Microbe Interactions®* [online]. **26**(3), 271-277 [cit. 2021-04-25]. ISSN 0894-0282. Dostupné z: doi:10.1094/MPMI-09-12-0214-CR
5. BRYAN, Nathan S. a David J. LEFER, 2019. Update on Gaseous Signaling Molecules Nitric Oxide and Hydrogen Sulfide: Strategies to Capture their Functional Activity for Human Therapeutics. *Molecular Pharmacology* [online]. **96**(1), 109-114 [cit. 2021-04-25]. ISSN 0026-895X. Dostupné z: doi:10.1124/mol.118.113910
6. CEBOVÁ, M., M. KOŠÚTOVÁ a O. PECHÁŇOVÁ, 2016. Cardiovascular Effects of Gasotransmitter Donors. *Physiological Research* [online]. **2016**(65), 291-307 [cit. 2021-04-15]. ISSN 1802-9973. Dostupné z: doi:10.33549/physiolres.933441
7. DALLI, Jesmond, Bryan D. KRAFT, Romain A. COLAS et al., 2015. The Regulation of Proresolving Lipid Mediator Profiles in Baboon Pneumonia by Inhaled Carbon Monoxide. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* [online]. **53**(3), 314-325 [cit. 2021-06-23]. ISSN 1044-1549. Dostupné z: doi:10.1165/rcmb.2014-0299OC

8. DENNIS, Edward A. a Paul C. NORRIS, 2015. Eicosanoid storm in infection and inflammation. *Nature Reviews Immunology* [online]. **15**(8), 511-523. ISSN 1474-1733. Dostupné z: doi:10.1038/nri3859
9. DUFTON, Neil, Jane NATIVIDAD, Elena F. VERDU a John L. WALLACE, 2012. Hydrogen sulfide and resolution of acute inflammation: A comparative study utilizing a novel fluorescent probe. *Scientific Reports* [online]. **2**(1), 1-11 [cit. 2021-06-22]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/srep00499
10. DULAK, Jozef, Jessy DESHANE, Alicja JOZKOWICZ a Anupam AGARWAL, 2008. Heme Oxygenase-1 and Carbon Monoxide in Vascular Pathobiology. *Circulation* [online]. **117**(2), 231-241 [cit. 2021-04-27]. ISSN 0009-7322. Dostupné z: doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.107.698316
11. FAGONE, Paolo, Emanuela MAZZON, Placido BRAMANTI, Klaus BENDTZEN a Ferdinando NICOLETTI, 2018. Gasotransmitters and the immune system: Mode of action and novel therapeutic targets. *European Journal of Pharmacology* [online]. **834**, 92-102. ISSN 00142999. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejphar.2018.07.026
12. FUKUTO, Jon M., Valeria Suarez VEGA, Carmen WORKS a Joseph LIN, 2020. The chemical biology of hydrogen sulfide and related hydropersulfides: interactions with biologically relevant metals and metalloproteins. *Current Opinion in Chemical Biology* [online]. **55**, 52-58 [cit. 2021-06-23]. ISSN 13675931. Dostupné z: doi:10.1016/j.cbpa.2019.11.013
13. GUPTA, Kapuganti J., Alisdair R. FERNIE, Werner M. KAISER a Joost T. VAN DONGEN, 2011. On the origins of nitric oxide. *Trends in Plant Science* [online]. **16**(3), 160-168 [cit. 2021-04-25]. ISSN 13601385. Dostupné z: doi:10.1016/j.tplants.2010.11.007
14. HAN, Yuyi, Qianwen SHANG, Jin YAO a Yong JI, 2019. Hydrogen sulfide: a gaseous signaling molecule modulates tissue homeostasis. *Cell Death & Disease* [online]. **10**(4) [cit. 2021-04-15]. ISSN 2041-4889. Dostupné z: doi:10.1038/s41419-019-1525-1

15. HEADLAND, Sarah E. a Lucy V. NORLING, 2015. The resolution of inflammation: Principles and challenges. *Seminars in Immunology* [online]. **27**(3), 149-160 [cit. 2021-04-15]. ISSN 10445323. Dostupné z: doi:10.1016/j.smim.2015.03.014
16. HOŘEJŠÍ, Václav, Jiřina BARTŮŇKOVÁ, Tomáš BRDIČKA a Radek ŠPÍŠEK, 2017. *Základy imunologie*. 6., aktualizované vydání. V Praze: Stanislav Juhaňák - Triton. ISBN 978-80-7553-250-3.
17. HOTAMISLIGIL, Gökhan S., 2006. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* [online]. **444**(7121), 860-867 [cit. 2021-06-04]. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/nature05485
18. HUANG, Zhang-Jian a Bing-He WANG, 2020. Gaseous signaling molecules as potential therapeutic agents. *Chinese Journal of Natural Medicines* [online]. **18**(4), 273-274 [cit. 2021-04-15]. ISSN 18755364. Dostupné z: doi:10.1016/S1875-5364(20)30034-0
19. CHIANG, Nan, Masakazu SHINOHARA, Jesmond DALLI, Valbona MIRAKAJ, Megumi KIBI, Augustine M. K. CHOI a Charles N. SERHAN, 2013. Inhaled Carbon Monoxide Accelerates Resolution of Inflammation via Unique Proresolving Mediator–Heme Oxygenase-1 Circuits. *The Journal of Immunology* [online]. **190**(12), 6378-6388 [cit. 2021-06-23]. ISSN 0022-1767. Dostupné z: doi:10.4049/jimmunol.1202969
20. ISHIGAMI, Mari, Keiko HIRAKI, Ken UMEMURA, Yuki OGASAWARA, Kazuyuki ISHII a Hideo KIMURA, 2009. A Source of Hydrogen Sulfide and a Mechanism of Its Release in the Brain. *Antioxidants & Redox Signaling* [online]. **11**(2), 205-214 [cit. 2021-04-27]. ISSN 1523-0864. Dostupné z: doi:10.1089/ars.2008.2132
21. JÍLEK, Petr, 2019. *Imunologie: stručně, jasně, přehledně*. 2., doplněné vydání. Praha: Grada Publishing. ISBN 978-80-271-0595-3.
22. KABIL, Omer, Nicole MOTL a Ruma BANERJEE, 2014. H₂S and its role in redox signaling. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics* [online]. **1844**(8), 1355-1366 [cit. 2021-04-25]. ISSN 15709639. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbapap.2014.01.002

23. KARPUZOGLU, Ebru a S. AHMED, 2006. Estrogen regulation of nitric oxide and inducible nitric oxide synthase (iNOS) in immune cells: Implications for immunity, autoimmune diseases, and apoptosis. *Nitric Oxide* [online]. **15**(3), 177-186 [cit. 2021-04-25]. ISSN 10898603. Dostupné z: doi:10.1016/j.niox.2006.03.009
24. KORHONEN, Riku, Aleksii LAHTI, Hannu KANKAANRANTA a Eeva MOILANEN, 2005. Nitric Oxide Production and Signaling in Inflammation. *Current Drug Targets - Inflammation & Allergy*. **4**(4), 471-479. ISSN 1568-010X.
25. KUBO, Yoshihiro, 2020. A new world of heme function. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology* [online]. **472**(5), 547-548 [cit. 2021-04-25]. ISSN 0031-6768. Dostupné z: doi:10.1007/s00424-020-02388-z
26. KUPKOVÁ, Zdeňka a Luděk BENEŠ, 2004. CHEMICKÉ VLASTNOSTI, BIOLOGICKÉ ÚČINKY A METODY DETEKCE BIOLOGICKÉHO OXIDU DUSNATÉHO. *Chemické listy*. (98), 116-122.
27. LING, Ken, Fang MEN, Wei-Ci WANG, Ya-Qun ZHOU, Hao-Wen ZHANG a Da-Wei YE, 2018. Carbon Monoxide and Its Controlled Release: Therapeutic Application, Detection, and Development of Carbon Monoxide Releasing Molecules (CORMs). *Journal of Medicinal Chemistry* [online]. **61**(7), 2611-2635 [cit. 2021-04-15]. ISSN 0022-2623. Dostupné z: doi:10.1021/acs.jmedchem.6b01153
28. LIU, Chun, Zhi DU, Mengmeng MA, Yuhuan SUN, Jinsong REN a Xiaogang QU, 2020. Carbon Monoxide Controllable Targeted Gas Therapy for Synergistic Anti-inflammation. *IScience* [online]. **23**(9) [cit. 2021-04-15]. ISSN 25890042. Dostupné z: doi:10.1016/j.isci.2020.101483
29. LOWRY, Stephen F., 1993. Cytokine Mediators of Immunity and Inflammation. *Archives of Surgery* [online]. **128**(11). ISSN 0004-0010. Dostupné z: doi:10.1001/archsurg.1993.01420230063010
30. LUIKING, Yvette, Mariëlle ENGELEN a Nicolaas DEUTZ, 2010. Regulation of nitric oxide production in health and disease. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* [online]. **13**(1), 97-104 [cit. 2021-04-25]. ISSN 1363-1950. Dostupné z: doi:10.1097/MCO.0b013e328332f99d

31. MAGIEROWSKI, Marcin, Katarzyna MAGIEROWSKA, Slawomir KWIECIEN a Tomasz BRZOZOWSKI, 2015. Gaseous Mediators Nitric Oxide and Hydrogen Sulfide in the Mechanism of Gastrointestinal Integrity, Protection and Ulcer Healing. *Molecules* [online]. **20**(5), 9099-9123 [cit. 2021-04-15]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules20059099
32. MOODY, Bridgette a John CALVERT, 2011. Emergent role of gasotransmitters in ischemia-reperfusion injury. *Moody and Calvert Medical Gas Research*. **3**(1), 1-9.
33. MOTTERLINI, Roberto a Roberta FORESTI, 2017. Biological signaling by carbon monoxide and carbon monoxide-releasing molecules. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* [online]. **312**(3), 302-313 [cit. 2021-04-25]. ISSN 0363-6143. Dostupné z: doi:10.1152/ajpcell.00360.2016
34. MUCHOVÁ, L. a J. ŠUK, 2018. Biologické účinky oxidu uhelnatého. *Klinická biochemie a metabolismus*. **26**(47), 151-156.
35. MUSTAFA, A. K., M. M. GADALLA a S. H. SNYDER, 2009. Signaling by Gasotransmitters. *Science Signaling* [online]. **2**(68), 2-2. ISSN 1937-9145. Dostupné z: doi:10.1126/scisignal.268re2
36. NAKAHIRA, Kiichi a Augustine M. K. CHOI, 2015. Carbon monoxide in the treatment of sepsis. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* [online]. **309**(12), 1387-1393 [cit. 2021-04-15]. ISSN 1040-0605. Dostupné z: doi:10.1152/ajplung.00311.2015
37. OLAS, Beata, 2015. Hydrogen sulfide in signaling pathways. *Clinica Chimica Acta* [online]. **439**, 212-218 [cit. 2021-04-15]. ISSN 00098981. Dostupné z: doi:10.1016/j.cca.2014.10.037
38. OLSON, Kenneth, John DONALD, Ryan DOMBKOWSKI a Steve PERRY, 2012. Evolutionary and comparative aspects of nitric oxide, carbon monoxide and hydrogen sulfide. *Respiratory Physiology & Neurobiology* [online]. **184**(2), 117-129 [cit. 2021-04-25]. ISSN 15699048. Dostupné z: doi:10.1016/j.resp.2012.04.004

39. OLSON, Kenneth a Karl STRAUB, 2016. The Role of Hydrogen Sulfide in Evolution and the Evolution of Hydrogen Sulfide in Metabolism and Signaling. *Physiology* [online]. **31**(1), 60-72 [cit. 2021-04-25]. ISSN 1548-9213. Dostupné z: doi:10.1152/physiol.00024.2015
40. OZAKI, Kikumi, Shoko KIMURA a Noriko MURASE, 2012. Use of carbon monoxide in minimizing ischemia/reperfusion injury in transplantation. *Transplantation Reviews* [online]. **26**(2), 125-139 [cit. 2021-04-25]. ISSN 0955470X. Dostupné z: doi:10.1016/j.trre.2011.01.004
41. PANTHI, Sandesh, Sumeet MANANDHAR a Kripa GAUTAM, 2018. Hydrogen sulfide, nitric oxide, and neurodegenerative disorders. *Translational Neurodegeneration* [online]. **7**(1) [cit. 2021-04-25]. ISSN 2047-9158. Dostupné z: doi:10.1186/s40035-018-0108-x
42. PAUL, Bindu a Solomon SNYDER, 2018. Gasotransmitter hydrogen sulfide signaling in neuronal health and disease. *Biochemical Pharmacology* [online]. **149**, 101-109 [cit. 2021-04-25]. ISSN 00062952. Dostupné z: doi:10.1016/j.bcp.2017.11.019
43. PRABHAKAR, Nanduri R., 1998. Endogenous carbon monoxide in control of respiration. *Respiration Physiology*. **1998**(114), 57-64.
44. PUNCHARD, Neville, Cliff WHELAN a Ian ADCOCK, 2004. The Journal of Inflammation. *Journal of Inflammation* [online]. **1**(1), 1-4 [cit. 2021-06-04]. ISSN 14769255. Dostupné z: doi:10.1186/1476-9255-1-1
45. RACEK, Jaroslav, 2012a. Oxid dusnatý, oxid uhelnatý a sirovodík. *Labor Aktuell* [online]. **16**(3), 14-17 [cit. 2021-04-15]. Dostupné z: https://objednavky.roche-diagnostics.cz/download/la/0312/Oxiddusnaty_profRacek.pdf
46. RACEK, Jaroslav, 2012b. Oxid uhelnatý a sirovodík. *Labor Aktuell* [online]. **16**(4), 4-7 [cit. 2021-04-15]. Dostupné z: https://objednavky.roche-diagnostics.cz/download/la/0412/CO_H2S_profRacek.pdf
47. ROSE, Jason J., Ling WANG, Qinzi XU, Charles F. MCTIERNAN, Sruti SHIVA, Jesus TEJERO a Mark T. GLADWIN, 2017. Carbon Monoxide Poisoning: Pathogenesis,

- Management, and Future Directions of Therapy. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* [online]. **195**(5), 596-606 [cit. 2021-06-22]. ISSN 1073-449X. Dostupné z: doi:10.1164/rccm.201606-1275CI
48. ROSE, Peter, Philip MOORE a Yi-Zhun ZHU, 2018. Garlic and Gaseous Mediators. *Trends in Pharmacological Sciences* [online]. **39**(7), 624-634 [cit. 2021-04-15]. ISSN 01656147. Dostupné z: doi:10.1016/j.tips.2018.03.009
49. RYTER, Stefan W. a Augustine M.K. CHOI, 2016. Targeting heme oxygenase-1 and carbon monoxide for therapeutic modulation of inflammation. *Translational Research* [online]. **167**(1), 7-34 [cit. 2021-04-25]. ISSN 19315244. Dostupné z: doi:10.1016/j.trsl.2015.06.011
50. RYTER, Stefan W., Hong Pyo KIM, Kiichi NAKAHIRA, Brian S. ZUCKERBRAUN, Danielle MORSE a Augustine M.K. CHOI, 2007. Protective Functions of Heme Oxygenase-1 and Carbon Monoxide in the Respiratory System. *ANTIOXIDANTS & REDOX SIGNALING* [online]. **9**(12), 2157-2174 [cit. 2021-06-18]. ISSN 1523-0864. Dostupné z: doi:10.1089/ars.2007.1811
51. RYTER, Stefan a Augustine CHOI, 2013. Carbon monoxide: present and future indications for a medical gas. *The Korean Journal of Internal Medicine* [online]. **28**(2) [cit. 2021-04-25]. ISSN 1226-3303. Dostupné z: doi:10.3904/kjim.2013.28.2.123
52. SANTOS, Ricardo M., Cátia F. LOURENÇO, Ana LEDO, Rui M. BARBOSA a João LARANJINHA, 2012. Nitric Oxide Inactivation Mechanisms in the Brain: Role in Bioenergetics and Neurodegeneration. *International Journal of Cell Biology* [online]. **2012**, 1-13 [cit. 2021-05-24]. ISSN 1687-8876. Dostupné z: doi:10.1155/2012/391914
53. SBODIO, Juan, Solomon SNYDER a Bindu PAUL, 2019. Regulators of the transsulfuration pathway. *British Journal of Pharmacology* [online]. **176**(4), 583-593 [cit. 2021-04-25]. ISSN 00071188. Dostupné z: doi:10.1111/bph.14446
54. SERHAN, Charles N., Sue D. BRAIN, Christopher D. BUCKLEY et al., 2007. Resolution of inflammation: state of the art, definitions and terms. *The FASEB Journal* [online]. **21**(2), 325-332 [cit. 2021-04-15]. ISSN 0892-6638. Dostupné z: doi:10.1096/fj.06-7227rev

55. SHEFA, Ulfuara, Seung YEO, Min-Sik KIM, In SONG, Junyang JUNG, Na JEONG a Youngbuhm HUH, 2017. Role of Gasotransmitters in Oxidative Stresses, Neuroinflammation, and Neuronal Repair. *BioMed Research International* [online]. **2017**, 1-15 [cit. 2021-04-15]. ISSN 2314-6133. Dostupné z: doi:10.1155/2017/1689341
56. SUGIMOTO, Michelle A., Juliana P. VAGO, Mauro PERRETTI a Mauro M. TEIXEIRA, 2019. Mediators of the Resolution of the Inflammatory Response. *Trends in Immunology* [online]. **40**(3), 212-227 [cit. 2021-04-15]. ISSN 14714906. Dostupné z: doi:10.1016/j.it.2019.01.007
57. SULAIEVA, Oksana a John L WALLACE, 2015. Gaseous mediator-based anti-inflammatory drugs. *Current Opinion in Pharmacology* [online]. **25**, 1-6 [cit. 2021-04-15]. ISSN 14714892. Dostupné z: doi:10.1016/j.coph.2015.08.005
58. TAKAGI, Tomohisa, Kazuhiko UCHIYAMA a Yuji NAITO, 2015. The Therapeutic Potential of Carbon Monoxide for Inflammatory Bowel Disease. *Digestion* [online]. **91**(1), 13-18 [cit. 2021-04-15]. ISSN 0012-2823. Dostupné z: doi:10.1159/000368765
59. TAN, Boon, Peter WONG a Jin-Song BIAN, 2010. Hydrogen sulfide: A novel signaling molecule in the central nervous system. *Neurochemistry International* [online]. **56**(1), 3-10 [cit. 2021-04-25]. ISSN 01970186. Dostupné z: doi:10.1016/j.neuint.2009.08.008
60. WALLACE, John L., Angela IANARO, Kyle L. FLANNIGAN a Giuseppe CIRINO, 2015. Gaseous mediators in resolution of inflammation. *Seminars in Immunology* [online]. **27**(3), 227-233 [cit. 2021-04-15]. ISSN 10445323. Dostupné z: doi:10.1016/j.smim.2015.05.004
61. WALLACE, John, Angela IANARO a Gilberto DE NUCCI, 2017. Gaseous Mediators in Gastrointestinal Mucosal Defense and Injury. *Digestive Diseases and Sciences* [online]. **62**(9), 2223-2230 [cit. 2021-04-15]. ISSN 0163-2116. Dostupné z: doi:10.1007/s10620-017-4681-0
62. WANG, Peng George, Ming XIAN, Xiaoping TANG, Xuejun WU, Zhong WEN, Tingwei CAI a Adam J. JANCZUK, 2002. Nitric Oxide Donors: Chemical Activities and Biological Applications. *Chemical Reviews* [online]. **102**(4), 1091-1134 [cit. 2021-06-23]. ISSN 0009-2665. Dostupné z: doi:10.1021/cr000040l

63. WANG, Zhiyong, Mignxing FANG, Jianying GUO, Yong YANG a Fengjun TIAN, 2017. The analysis on the expression of gasotransmitters in early trauma patients. *Revista da Associação Médica Brasileira* [online]. **63**(11), 988-993. ISSN 1806-9282. Dostupné z: doi:10.1590/1806-9282.63.11.988
64. YAGDI, Esmá, Claudia CERELLA, Mario DICATO a Marc DIEDERICH, 2016. Garlic-derived natural polysulfanes as hydrogen sulfide donors: Friend or foe?. *Food and Chemical Toxicology* [online]. **95**, 219-233 [cit. 2021-04-25]. ISSN 02786915. Dostupné z: doi:10.1016/j.fct.2016.07.016
65. YANG, Guangdong, Alp SENER, Yong JI, Yanxi PEI a Michael PLUTH, 2016. Gasotransmitters in Biology and Medicine: Molecular Mechanisms and Drug Targets. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [online]. **2016**, 1-2 [cit. 2021-04-15]. ISSN 1942-0900. Dostupné z: doi:10.1155/2016/4627308
66. ZANARDO, Renata C. O., Vincenzo BRANCALEONE, Eleonora DISTRUTTI et al., 2006. Hydrogen sulfide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation. *The FASEB Journal* [online]. **20**(12), 2118-2120 [cit. 2021-06-22]. ISSN 0892-6638. Dostupné z: doi:10.1096/fj.06-6270fje
67. ZANELLATO, Ilaria, Ilaria BONARRIGO, Mauro RAVERA, Elisabetta GABANO, Ronald GUST a Domenico OSELLA, 2013. The hexacarbonyldicobalt derivative of aspirin acts as a CO-releasing NSAID on malignant mesothelioma cells. *Metallomics* [online]. **5**(12), 1-6. ISSN 1756-5901. Dostupné z: doi:10.1039/c3mt00117b