

Rola tlenu azotu, siarkowodoru oraz tlenu węgla w regulacji układu krążenia i ich potencjał farmakoterapeutyczny

The role of nitric oxide, hydrogen sulfide and carbon monoxide in the regulation of the circulatory system and their pharmacotherapeutic potential

Marcin Ufnal, Tymoteusz Żera

Katedra i Zakład Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa

Streszczenie

Wzmoczone zainteresowanie udziałem transmiterów gazowych w regulacji układu krążenia pojawiło się w latach 80. XX wieku, kiedy wykazano, że napięcie mięśniówki naczyń jest kontrolowane przez uwalniany ze śródbłonna tlenek azotu (NO). Obecnie wiadomo, że także dwa inne transmitery gazowe, siarkowodór (H₂S) oraz tlenek węgla, biorą udział w fizjologicznych i patologicznych procesach zachodzących w układzie krążenia. Doświadczenia kliniczne ze stosowaną od ponad 100 lat nitrogliceryną oraz bardzo korzystny profil działania nebiwololu, beta-adrenolityku trzeciej generacji zwiększającego biodostępność NO, pozwalają przypuszczać, że leki oddziałujące za pośrednictwem NO będą nadal odgrywać istotną rolę w farmakoterapii chorób układu krążenia. Lawinowo rosnąca liczba publikacji dotyczących działań sercowo-naczyniowych H₂S świadczy o tym, że w najbliższych latach zostaną podjęte badania nad związkami modulującymi stężenie H₂S w układzie krążenia i ich zastosowaniem klinicznym. W niniejszej pracy zostaną przedstawione zarys funkcji transmiterów gazowych w regulacji układu krążenia w zdrowiu i chorobie oraz ich potencjał farmakoterapeutyczny.

Słowa kluczowe: układ krążenia, tlenek azotu, siarkowodór, tlenek węgla, transmitery gazowe, choroby sercowo-naczyniowe

Abstract

In the eighties of the twentieth century nitric oxide (NO) was identified as the endothelium-derived relaxing factor. This discovery has triggered an interest in gaseous transmitters and their role in the regulation of the circulatory system. Recently, it has become evident that hydrogen sulfide (H₂S) and carbon monoxide are also involved in physiological and pathological processes in the cardiovascular system. Nitrates that have been used for over a century and nebiivolol, a third-generation β -blocker with vasodilating properties by increasing bioavailability of NO, provide convincing arguments that the compounds acting via NO pathway will remain an important class of cardiovascular drugs. A rapidly growing number of publications on functions of H₂S in the circulatory system suggests that the gaseous transmitter may become a promising target for new treatment strategies in cardiovascular diseases. This review is focused on the role of gaseous transmitters in the regulation of the cardiovascular system and their pharmacotherapeutic potential.

Key words: circulatory system, nitric oxide, hydrogen sulfide, carbon monoxide, gaseous transmitters, cardiovascular diseases

Kardiol Pol 2010; 68, supl. V: 436–440

Adres do korespondencji:

dr n. med. Marcin Ufnal, Katedra i Zakład Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Krakowskie Przedmieście 26/28, 00–927 Warszawa, tel: +48 22 828 11 55, faks: +48 22 826 45 86, e-mail: marcinufnal@poczta.onet.pl

WSTĘP

Toksyczne działania gazów znano i wykorzystywano w celach wojennych i zbrodniczych od co najmniej 3 tysięcy lat. Wzmożone zainteresowanie transmiterami gazowymi jako aktywnymi biologicznie cząsteczkami pojawiło się jednak dopiero w latach 80. XX wieku, dzięki odkryciu śródbłonkowego czynnika rozluźniającego mięśnie gładkie naczyń krwionośnych i wykazaniu, że jest nim tlenek azotu (NO). Obecnie wiadomo, że także siarkowodor (H₂S) i tlenek węgla (CO) uczestniczą w wielu procesach życiowych. Szczególnie wiele wyników badań przemawia za bardzo ważną rolą tych związków w regulacji układu krążenia.

TLENEK AZOTU

Pod koniec lat 70. XX wieku Ferid Murad stwierdził, że działanie nitrogliceryny w układzie krążenia wiąże się z powstawaniem NO [1]. W 1980 roku Robert Furchgott i John Zawadzki udowodnili kluczową rolę śródbłonka naczyń w utrzymaniu napięcia spoczynkowego mięśniówki naczyń poprzez „śródbłonkowy czynnik rozszerzający naczynia (EDRF)” [2]. Wkrótce potem Ignarro wykazał, że zależna od śródbłonka relaksacja naczyń wymaga syntezy cGMP, a w 1987 roku Ignarro i Moncada stwierdzili, że EDRF to NO [3, 4]. W 1998 roku Ignarro, Murad i Furchgott otrzymali Nagrodę Nobla w dziedzinie fizjologii lub medycyny, a następstwem ich odkrycia była lawina badań nad właściwościami NO oraz możliwością zastosowania leków oddziałujących za pośrednictwem tego związku. W prowadzonych w ostatnich latach badaniach wykazano, że oprócz regulacji napięcia mięśniówki gładkiej naczyń NO jest również ważnym transmiterem w przekaźnictwie międzykomórkowym wielu narządów, na przykład w regulacji funkcji układu endokrynnego i immunologicznego, tworzeniu pamięci, rozwoju neuronów oraz w zjawisku plastyczności synaps.

Substratem do syntezy NO jest L-arginina, a katalizatorem reakcji — syntaza tlenu azotu (NOS). Do tej pory zidentyfikowano 3 podstawowe izoformy NOS: neuronalną n-NOS (NOS-1), indukowalną i-NOS (NOS-2) oraz endotelialną e-NOS (NOS-3). Endotelialna-NOS występuje w komórkach śródbłonka naczyń i charakteryzuje się aktywnością konstytutywną, podobnie jak neuronalna-NOS, która jest obecna w neuronach ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego. Indukowalna-NOS występuje głównie w makrofagach i neutrofilach, a jej aktywacja wymaga stymulacji przez czynniki prozapalne, na przykład lipopolisacharyd lub cytokiny. Z powodu krótkiego czasu półtrwania, nieprzekraczającego 10 s, NO jest czynnikiem działającym parakrynnie. Tlenek azotu nie ma specyficznego receptora błonowego, a jego działanie wewnątrzkomórkowe zależy głównie od aktywacji cykazy guanylanowej i wzrostu syntezy cGMP, który może aktywować wiele kinaz i fosfodiesteraz w różnego rodzaju komórkach oraz zmieniać aktywność bramkowanych przez cGMP kanałów jonowych. Do innych mechanizmów działania NO należą: otwieranie kanałów potasowych i hiperpola-

ryzacja błony komórkowej, regulacja uwalniania neuroprzekazników oraz S-nitrozylacja białek regulatorowych [4, 5].

Tlenek azotu w układzie krążenia

Rola NO w obwodowej regulacji układu krążenia wiąże się głównie z działaniem naczyniorozkurczowym, które utrzymuje spoczynkowe napięcie mięśniówki naczyń krwionośnych. Wzrost syntezy NO prowadzi do zwiększenia promienia naczyń, co skutkuje wzrostem przepływu krwi oraz spadkiem oporu obwodowego w układzie krążenia. Inne istotne ze względu na prawidłowe funkcjonowanie tego układu działania NO to: hamowanie aktywacji i agregacji płytek krwi, hamowanie proliferacji komórek mięśni gładkich, redukcja oksydacji cholesterolu frakcji LDL oraz zwiększenie wrażliwości komórek na insulinę. Synteza NO w naczyniach wiąże się głównie z aktywnością e-NOS, która podlega regulacji zależnej od czynników fizycznych oraz dostępności substratów, kofaktorów i agonistów. W podstawowych warunkach najważniejszym czynnikiem wpływającym na aktywność e-NOS jest siła ścinająca (*shear stress*), która odpowiada siłom tarcia wytworzonym przez krew przepływającą wzdłuż ściany naczynia. Do zwiększenia uwalniania NO dochodzi pod wpływem zarówno nagłego, jak i powolnego wzrostu szybkości przepływu krwi. Wielkość siły ścinającej oddziałuje także na długoterminową regulację syntezy NO poprzez zmianę ekspresji genów dla e-NOS. Innym czynnikiem wpływającym na aktywność NOS może być dostępność substratu oraz kofaktora enzymu (tetrahydrobiopteryny, BH₄). Substratem do produkcji NO jest L-arginina. Obniżenie syntezy NO z powodu braku tego aminokwasu w ludzkim organizmie, a także zwiększenie syntezy NO poprzez suplementację L-argininy są jednak mało prawdopodobne, ponieważ w warunkach podstawowych stężenie L-argininy zarówno w osoczu, jak i wewnątrz komórek jest 20–200-krotnie wyższe od tego, które jest potrzebne do optymalnego funkcjonowania NOS. Do wzrostu aktywności NOS dochodzi także pod wpływem acetylocholino, bradykininy oraz substancji P. Mechanizmy tych reakcji nie są do końca poznane, wiadomo jednak, że chemiczne zablokowanie aktywności NOS w śródbłonku prowadzi do zahamowania naczyniorozkurczowego działania tych substancji. Kolejnym, obecnie powszechnie dyskutowanym, mechanizmem wzrostu aktywności NOS jest pobudzenie receptorów adrenergicznych typu β_3 oraz β_2 . Mechanizm ten wydaje się odpowiedzialny za naczyniorozkurczające działanie beta-adrenolityku trzeciej generacji, nebiwololu [6, 7].

Tlenek azotu w patologii układu krążenia

Nadciśnienie tętnicze. Zarówno w samoistnym, jak i we wtórnych postaciach nadciśnienia tętniczego często stwierdza się dysfunkcję śródbłonka naczyń krwionośnych, prowadzącą do zmniejszenia biodostępności NO. Główną przyczyną zmniejszenia dostępności NO jest jego przyspieszona inaktywacja przez wolne rodniki tlenowe, a zwłaszcza O₂⁻ i oksy-LDL,

co powoduje zwiększone wytwarzanie nadtlenoazotynów (ONOO⁻); postuluje się także wpływ niedoboru L-argininy lub tetrahydrobiopteryny. Procesom tym towarzyszą powstawanie innych reaktywnych związków tlenu (ROS) oraz wzrost syntezy czynników naczyniozwiązków, takich jak endoteliny, angiotensyna II, tromboksan A2. Może to sprzyjać zwiększeniu oporu obwodowego i utrwaleniu nadciśnienia tętniczego. W procesach tych ważną rolę odgrywają oksydazy, których aktywność wzrasta w nadciśnieniu tętniczym. Nadal jednak kwestią sporną pozostaje, w jakim stopniu zaburzona czynność śródbłonna jest jednym z czynników sprawczych nadciśnienia tętniczego, a w jakim jego skutkiem [8].

Miażdżycza tętnic. Zmniejszenie dostępności NO wynikające z dysfunkcji śródbłonna jest jednym z mechanizmów spustowych uruchomienia kaskady patologicznych reakcji prowadzących do rozwoju miażdżycy naczyń tętnicznych. W odcinkach tętnic o upośledzonym uwalnianiu NO z komórek śródbłonna z czasem rozwijają się zmiany miażdżycowe. Zmniejszone stężenie NO sprzyja przyleganiu i agregacji płytek krwi, proliferacji mięśni gładkich, skurczowi mięśni gładkich ściany naczyń oraz nasileniu utleniania lipoprotein [9].

Wstrząs septyczny. We wstrząsie septycznym stwierdza się stężenia NO przekraczające wartości fizjologiczne, które powodują rozszerzenie naczyń krwionośnych, zmniejszenie oporu naczyniowego i obniżenie kurczliwości serca. Jednocześnie w różnych obszarach mikrokrążenia dostępność NO może być obniżona wskutek zwiększonego powstawania ROS. Procesy te prowadzą do spadku ciśnienia tętniczego i zaburzenia perfuzji narządów [10].

Leki działające przez tlenek azotu

Za początek stosowania donorów tlenu azotu w chorobach układu można przyjąć 1879 rok, kiedy na łamach czasopisma *Lancet* pojawiła się publikacja autorstwa angielskiego lekarza Murrella *Nitro-glycerine as a remedy for angina pectoris* prezentująca wyniki leczenia bólu dławicowego nitrogliceryną. Obecnie stosuje się wiele leków, które są bezpośrednimi donorami NO lub częścią ich działania jest poprawa biodostępności NO w układzie naczyniowym.

Do klasycznych leków działających przez NO należą azotany. Ich działanie wiąże się głównie ze zmniejszeniem napięcia w ścianie dużych naczyń żylnych i dużych tętnic, co prowadzi do redukcji obciążenia wstępnego oraz, w mniejszym stopniu, obciążenia następczego serca, skutkując obniżeniem ciśnienia tętniczego i zmniejszeniem zapotrzebowania serca na tlen. W ostatnich latach zwraca się uwagę na zwiększanie stresu oksydacyjnego w ścianie naczyń przez tę grupę leków. Charakterystyczną cechą azotanów jest rozwój tolerancji na ich działanie. Przedstawicielem tej grupy, stosowanym od XIX wieku, jest krótkodziałająca nitrogliceryna, którą stosuje się doraźnie w celu znoszenia bólu dławicowego, obniżenia ciśnienia tętniczego oraz w leczeniu ostrej niewydolności serca. Do długodziałających azotanów należą

mono- i diazotany izosorbidu, które stosuje się głównie w leczeniu bólu dławicowego u pacjentów ze stabilną chorobą wieńcową niereagujących na inne formy leczenia. Diazotan izosorbidu w połączeniu z hydralazyną może być też podawany w terapii przewlekłej niewydolności serca u pacjentów nietolerujących typowego leczenia farmakologicznego.

Szczególnym azotanem jest pentaerytrytol, który nie wykazuje tolerancji i nie przyczynia się do zwiększania stężenia ROS w naczyniach krwionośnych. W leczeniu dolegliwości dławicowych skutecznym jest też nikorandil, który oprócz aktywowania kanałów potasowych zależnych od ATP jest również donorem NO [9, 11].

Oprócz azotanów stężenie NO może być zwiększane przez inne leki. Szczególnie interesujący jest nebiwolol, który jest beta-adrenolitykiem trzeciej generacji stosowanym w leczeniu nadciśnienia tętniczego, choroby wieńcowej oraz niewydolności serca. Nebiwolol występuje w postaci racematu izomeru D wiążącego się z receptorami β_1 oraz izomeru L stymulującego eNOS. Jest on najbardziej wybiórczym antagonistą receptorów β_1 , dzięki czemu nie zaburza istotnie wrażliwości na insulinę, odpowiedzi spastycznej oskrzeli oraz potencji. Jednocześnie wykazuje działanie agonistyczne względem receptorów β_2 i β_3 , które jest prawdopodobnie odpowiedzialne za aktywność zwiększającą biodostępność NO i zmniejszającą stres oksydacyjny. Nebiwolol poprawia również czynność śródbłonna naczyniowego i wykazuje działanie wazodylatacyjne, antyagregacyjne oraz hamujące proliferację komórek w ścianie naczyń tętnicznych. W wynikach badania SENIORS wskazuje się, że nebiwolol zmniejsza śmiertelność w niewydolności serca. Beta-adrenolityk ten jest też zarejestrowany i bardzo skuteczny w leczeniu nadciśnienia tętniczego i choroby wieńcowej [12].

Drugim powszechnie stosowanym lekiem tej grupy jest karwedilol, który nioselektywnie blokuje receptory adrenergiczne β_1 i β_2 oraz receptor α_1 . Część korzystnych efektów działania tego leku może zależeć od poprawy czynności śródbłonna i zwiększenia biodostępności NO [13, 14]. Coraz więcej danych świadczy o tym, że zwiększenie biodostępności NO może być także jednym z istotnych mechanizmów działania wielu innych leków stosowanych w farmakoterapii chorób układu krążenia, m.in. inhibitorów konwertazy angiotensyny, antagonistów receptora AT1 dla angiotensyny, statyn, antagonistów wapnia [15].

Wyniki niektórych badań sugerują, że suplementacja L-argininy może się przyczyniać do poprawy czynności śródbłonna w naczyniach ze zmianami miażdżycowymi, mimo że stężenie tego aminokwasu w komórkach i osoczu jest 20–200-krotnie wyższe od stężenia optymalnego dla czynności syntazy NO. Tłumaczy się to przyspieszonym rozkładem L-argininy przez arginazę w zmienionej ścianie tętnicy. Dostępne dane kliniczne są jednak niewystarczające, aby stosować L-argininę w leczeniu chorób sercowo-naczyniowych, i nie jest ona obecnie ujęta w wytycznych farmakoterapii [9].

SIARKOWODÓR

Siarkowodór (H₂S) to bezbarwny gaz o charakterystycznym zapachu zgniłych jaj, który, podobnie jak CO, jest znany głównie ze swoich toksycznych właściwości. Udział H₂S w ważnych procesach życiowych nie powinien jednak budzić zdziwienia, biorąc pod uwagę, że jedne z pierwszych żywych organizmów na ziemi, sinice, wykorzystują go do fotosyntezy w warunkach beztlenowych. W organizmie ssaków siarkowodór jest wytwarzany głównie z cysteiny, a jego stężenie w płynach ustrojowych i większości tkanek wynosi 50–300 μM. Najważniejszymi enzymami odpowiedzialnymi za syntezę siarkowodoru są μ-syntaza cystationiny (CBS) oraz γ-liaza cystationiny (CSE), której jest przypisywana główna rola w syntezie tego transmittera w układzie krążenia [16]. W pH typowym dla większości płynów ustrojowych siarkowodór w około 30% występuje w postaci niezdysocjowanej i jako związek lipofilny łatwo przenika przez błony komórkowe. Siarkowodór, podobnie jak NO, nie ma specyficznego receptora błonowego. Do najważniejszych mechanizmów działania H₂S zalicza się hiperpolaryzację komórek związaną z aktywacją kanałów potasowych zależnych od ATP (K_{ATP}) oraz pobudzenie syntezy NO. W ostatnich latach pojawiło się wiele badań, które dostarczają dowodów na udział siarkowodoru w regulacji licznych procesów fizjologicznych, między innymi w podziałach komórkowych i apoptozie, metabolizmie glukozy, stanie zapalnym oraz regulacji układu krążenia zarówno na obwodzie, jak i przez mechanizmy neurogenne [17, 18].

Siarkowodór w układzie krążenia

Wykazano, że obwodowe podanie donora siarkowodoru (NaHS) powoduje spadek ciśnienia tętniczego u szczurów, natomiast podawanie inhibitorów CSE wywołuje efekt przeciwny. Kolejnym dowodem wskazującym na istotną rolę H₂S w regulacji krążenia są badania, w których wykazano, że u myszy ze znokautowanym genem dla CSE rozwija się nadciśnienie tętnicze, podobnie jak u zwierząt pozbawionych genu dla e-NOS [19]. Wpływ H₂S na ciśnienie tętnicze jest prawdopodobnie związany przede wszystkim z jego działaniem naczyniowym. W badaniach Dombkowskiego i wsp. wykazano, że u różnych gatunków zwierząt, włączając ryby, płazy, gady i ssaki, H₂S w zakresie stężeń bliskich występujących w warunkach fizjologicznych wywiera działanie zarówno wazokonstrykcyjne, jak i wazorelaksacyjne w zależności od stężenia H₂S oraz gatunku zwierzęcia. W ostatnio opublikowanych badaniach Kubo i Webba stwierdzono wazokonstrykcyjny wpływ niższych (< 100 μM) stężeń H₂S i wazorelaksacyjny wpływ wyższych (> 100 μM) stężeń H₂S na naczynia tętnicze szczurów, myszy oraz ludzi. Naczyniorozszerzające działanie H₂S jest tłumaczone między innymi otwarciem kanałów potasowych (K_{ATP}), co powoduje hiperpolaryzację i rozkurcz komórek mięśniówki naczyń. Dodatkowo wazorelaksacyjne działanie H₂S może zależeć od innych związków uwalnianych ze śródbłonna pod wpływem H₂S, przede wszystkim NO. Wykazano, że zarówno usunię-

cie śródbłonna, jak i farmakologiczne zablokowanie e-NOS redukuje efekt naczyniowy H₂S [20, 21]. Za interakcją pomiędzy H₂S i NO przemawiają także wyniki badań nad rolą H₂S w stanie zapalnym [22]. Wykazano na przykład, że H₂S nasila stymulowaną przez cytokiny syntezę NO w mięśniówce gładkiej naczyń. W ostatnich latach pojawiły się także doniesienia o kardioprotekcyjnej funkcji siarkowodoru. W badaniach prowadzonych przez 3 niezależne grupy badaczy zaobserwowano, że perfuzja mięśnia sercowego donorami H₂S lub cysteiną zmniejsza obszar wytwarzanego eksperymentalnie zawału serca. Zjawisko to tłumaczy się zmniejszeniem zapotrzebowania komórek mięśnia sercowego na tlen w wyniku działań siarkowodoru — inotropowo ujemnego oraz obniżającego stężenie metabolizmu komórkowego na poziomie mitochondriów [23–25].

TLENEK WĘGLA

Tlenek węgla (CO) to bezwonny i bezbarwny gaz powstający podczas spalania związków zawierających węgiel w niewystarczającej ilości tlenu. Wysokie powinowactwo hemoglobiny do CO, około 250-krotnie wyższe niż do tlenu, powoduje, że nawet w bardzo niewielkich stężeniach CO skutecznie konkuruje z tlenem o miejsce wiązania z hemoglobina. Powstająca w wyniku reakcji CO z hemoglobina karboksyhemoglobina zmniejsza pojemność tlenową krwi, co prowadzi do niedotlenienia i śmierci komórek. Pierwsze dowody na syntezę CO w ludzkim organizmie opublikowali w 1963 roku Coburn i wsp. W tkankach ssaków CO powstaje w procesie katabolizmu hemu, prowadzonego przez oksygenazę hemową. Dotychczas zidentyfikowano 3 izoformy oksygenazy hemowej (HO). Synteza i aktywność HO-1 są indukowane przez endotoksyny, hipoksję oraz siłę ścinającą, HO-2 jest formą konstytutywną obecną w mięśniówce gładkiej naczyń, a jej aktywność zależy od kompleksu wapń–kalmodulina, HO-3 jest również formą konstytutywną, uważaną przez większość badaczy za wariant HO-2 [26–28]. Pierwszą opisaną biologiczną funkcją CO był jego udział w procesie plastyczności synaps. Co ciekawe, w badaniach doświadczalnych wykazano, że ten toksyczny w wysokich stężeniach gaz w niskich stężeniach może działać przeciwzapalnie i cytoprotekcyjnie [29]. W coraz większej liczbie badań wskazuje się, że CO podobnie do NO i H₂S może wpływać na regulację układu krążenia poprzez działanie naczyniorozkurczające. Wykazano, że w naczyniach tętniczych działanie to jest niezależne od obecności śródbłonna naczyń i może się wiązać zarówno z aktywacją cykazy guanylanowej, jak i aktywacją kanałów potasowych (K_{Ca}) mięśniówki gładkiej naczyń [30].

PERSPEKTYWY

Chociaż wyniki badań klinicznych z użyciem donorów NO wskazują na brak wpływu ich stosowania na śmiertelność, to poprawiające jakość życia pacjentów z chorobą wieńcową działanie tej grupy leków jest widoczne w codziennej praktyce lekarza. Zarówno doświadczenia ze stosowaną od ponad

100 lat nitrogliceryną, jak i bardzo korzystny profil działania nebiwololu pozwalają przypuszczać, że leki oddziałujące za pośrednictwem NO mogą odgrywać coraz istotniejszą rolę w farmakoterapii chorób układu krążenia. W momencie przygotowania niniejszej pracy przekraczająca 1000 liczba publikacji dotyczących wpływu H₂S na układ krążenia świadczy o tym, że w najbliższych latach mogą zostać podjęte badania kliniczne nad związkami modulującymi stężenie H₂S i ich zastosowaniem w farmakoterapii chorób sercowo-naczyniowych. Trudno jednak przewidzieć, czy obserwowane w badaniach eksperymentalnych działania H₂S znajdą zastosowanie w praktyce klinicznej.

Piśmiennictwo

- Katsuki S, Arnold W, Mittal C, Murad F. Stimulation of guanylate cyclase by sodium nitroprusside, nitroglycerin and nitric oxide in various tissue preparations and comparison to the effects of sodium azide and hydroxylamine. *J Cyclic Nucleotide Phosphoryl Res*, 1977; 3: 23–25.
- Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 1980; 288: 373–376.
- Ignarro LJ, Byrns RE, Buga GM et al. Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possesses pharmacological and chemical properties that are identical to those of nitric oxide radical. *Circ Res*, 1987; 61: 866–879.
- Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev*, 1991; 43: 109–142.
- Stuart-Smith K. Demystified. Nitric oxide. *Mol Pathol*, 2002; 55: 360–366.
- Broeders MA, Doevendans PA, Bekkers BC et al. Nebivolol: a third-generation beta-blocker that augments vascular nitric oxide release: endothelial beta(2)-adrenergic receptor-mediated nitric oxide production. *Circulation*, 2000; 102: 677–684.
- Dessy C, Saliez J, Ghisdal P et al. Endothelial beta3-adrenoreceptors mediate nitric oxide-dependent vasorelaxation of coronary microvessels in response to the third-generation beta-blocker nebivolol. *Circulation*, 2005; 112: 1198–1205.
- Gkaliagkousi E, Douma S, Zamboulis C et al. Nitric oxide dysfunction in vascular endothelium and platelets: role in essential hypertension. *J Hypertens*, 2009; 27: 2310–2320.
- Li H, Förstermann U. Prevention of atherosclerosis by interference with the vascular nitric oxide system. *Curr Pharm Des*, 2009; 15: 3133–3145.
- Lamontagne F, Meade M, Ondiveeran HK et al. Nitric oxide donors in sepsis: a systematic review of clinical and *in vivo* pre-clinical data. *Shock*, 2008; 30: 653–659.
- Kośmicki MA. Long-term use of short- and long-acting nitrates in stable angina pectoris. *Curr Clin Pharmacol*, 2009; 4: 132–141.
- Münzel T, Gori T. Nebivolol: the somewhat-different beta-adrenergic receptor blocker. *J Am Coll Cardiol*, 2009; 54: 1491–1499.
- Kalinowski L, Dobrucki LW, Szczepanska-Konkel M et al. Third-generation beta-blockers stimulate nitric oxide release from endothelial cells through ATP efflux: a novel mechanism for anti-hypertensive action. *Circulation*, 2003; 107: 2747–2752.
- Afonso RA, Patarrao RS, Macedo MP et al. Carvedilol action is dependent on endogenous production of nitric oxide. *Am J Hypertens*, 2006; 19: 419–425.
- Mason RP, Cockcroft JR. Targeting nitric oxide with drug therapy. *J Clin Hypertens*, 2006; (12 Suppl 4): 40–52.
- Kamoun P. Endogenous production of hydrogen sulfide in mammals. *Amino Acids*, 2004; 26: 243–254.
- Szabó C. Hydrogen sulphide and its therapeutic potential. *Nature Rev*, 2007; 6: 917–935.
- Ufnal M, Sikora M, Dudek M. Exogenous hydrogen sulfide produces hemodynamic effects by triggering central neuroregulatory mechanisms. *Acta Neurobiol Exp*, 2008; 68: 382–388.
- Yang G, Wu L, Jiang B et al. H₂S as a physiologic vasorelaxant: hypertension in mice with deletion of cystathionine-gamma-lyase. *Science*, 2008; 322: 587–590.
- Zhao W, Wang R. H₂S-induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanism. *Am J Physiol*, 2002; 283: H474–H480.
- Cheng Y, Ndisang JF, Tang G et al. Hydrogen sulfide-induced relaxation of resistance mesenteric artery beds of rats. *Am J Physiol*, 2004; 287: H2316–H2323.
- Li L, Hsu A, Moore PK. Actions and interactions of nitric oxide, carbon monoxide and hydrogen sulphide in the cardiovascular system and in inflammation — a tale of three gases! *Pharmacol Ther*, 2009; 123: 386–400.
- Salloum FN, Chau VQ, Hoke NN et al. Phosphodiesterase-5 inhibitor, tadalafil, protects against myocardial ischemia/reperfusion through protein-kinase g-dependent generation of hydrogen sulfide. *Circulation*, 2009; 120: S31–S36.
- Yong QC, Lee SW, Foo CS et al. Endogenous hydrogen sulphide mediates the cardioprotection induced by ischemic postconditioning. *Am J Physiol*, 2008; 295: H1330–H1340.
- Ji Y, Pang QF, Xu G et al. Exogenous hydrogen sulfide postconditioning protects isolated rat hearts against ischemia-reperfusion injury. *Eur J Pharmacol*, 2008; 587: 1–7.
- Applegate LA, Luscher P, Tyrrell RM. Induction of heme oxygenase: a general response to oxidant stress in cultured mammalian cells. *Cancer Res*, 1991; 51: 974–978.
- Boehning D, Moon C, Sharma S et al. Carbon monoxide neurotransmission activated by CK2 phosphorylation of heme oxygenase-2. *Neuron*, 2003; 40: 129–137.
- McCoubrey WK Jr, Huang TJ, Maines MD. Isolation and characterization of a cDNA from the rat brain that encodes hemoprotein heme oxygenase-3. *Eur J Biochem*, 1997; 247: 725–732.
- Otterbein LE, Choi AM. Heme oxygenase: colors of defense against cellular stress. *Am J Physiol*, 2000; 279: L1029–L1037.
- Wang R, Wang Z, Wu L. Carbon monoxide-induced vasorelaxation and the underlying mechanisms. *Br J Pharmacol*, 1997; 121: 927–934.