

FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

ENVEJECIMIENTO VASCULAR: PAPEL DEL SULFURO DE HIDROGENO

Autor: Natalia Bartolomé Nogal

Tutor: Dra. Sara Benedito Castellote

Convocatoria: Junio 2017

INDICE

1. Resumen	2
2. Introducción y antecedentes	2
3. Objetivos	6
4. Material y métodos	7
5. Resultados y discusión	7
5.1. Principales mecanismos de envejecimiento vascular	7
5.1.1. Aumento del estrés oxidativo:	7
5.1.2. Disminución de los niveles NO:	8
5.1.3. Descompensación en la producción de factores vasodilatadores y vasoconstrictores:	9
5.1.4. Aumento en la producción de factores pro-inflamatorios	10
5.1.5. Descenso de los procesos de angiogénesis	10
5.1.6. Permeabilidad vascular.....	10
5.1.7. Senescencia de células endoteliales:.....	10
5.2. Papel del H ₂ S	11
5.3. Papel del H ₂ S en patologías	16
6. Conclusiones	18
7. Bibliografía	19

1. Resumen

Con el paso del tiempo los distintos sistemas sufren una serie de alteraciones funcionales. En el caso del sistema vascular, una de las localizaciones más afectadas por el paso del tiempo es el endotelio. Esta capa desarrolla funciones esenciales para el buen funcionamiento de los vasos sanguíneos y a medida que las células envejecen diversos procesos se ven alterados. Como consecuencia del envejecimiento de la población, son cada vez más las personas que sufren patologías relacionadas con el sistema vascular por lo que se ha convertido en una necesidad la búsqueda de nuevas herramientas terapéuticas para combatir estos trastornos. En esta búsqueda se ha descubierto al H₂S como una de las moléculas implicadas en los mecanismos de envejecimiento vascular. Los principales mecanismos sobre los que actúa el H₂S son el estrés oxidativo, la liberación y el efecto de sustancias vasoactivas, los procesos angiogénicos y aquéllos que modulan la longevidad de la célula. Con el paso del tiempo los niveles de H₂S van disminuyendo en las células y esto favorece el desarrollo de los problemas asociados a la edad, lo que sugiere que la utilización de sustancias que aumenten la concentración de este gas podría ser útil para tratar el envejecimiento vascular. Aún es pronto para el establecimiento del H₂S como una medida terapéutica, ya que las evidencias científicas de su utilidad no están suficientemente consolidadas. Por ello, es necesario continuar estudiando este gas y sus potenciales aplicaciones en enfermedades tan presentes en la actualidad como la hipertensión arterial, la aterosclerosis o la diabetes mellitus tipo II.

2. Introducción y antecedentes

Se entiende el envejecimiento como el declive progresivo a lo largo del tiempo de numerosos procesos fisiológicos y el aumento de los patológicos. Con el paso del tiempo los mecanismos de defensa del organismo van disminuyendo haciendo que este se encuentre más vulnerable ante diferentes agresiones. Según la OMS desde un punto de vista biológico, el envejecimiento es la consecuencia de la acumulación de una gran variedad de daños moleculares y celulares a lo largo del tiempo, lo que lleva a un descenso gradual de las capacidades físicas y mentales, un aumento del riesgo de enfermedad, y finalmente a la muerte.

Gracias a los avances en distintas áreas de la medicina y la tecnología, la esperanza de vida aumenta cada vez más, fue en 2014 de 83.03 años en España. La edad es considerada como uno de los principales factores de riesgo para múltiples enfermedades cardiovasculares,

por lo que este envejecimiento de la población supone que, cada vez son más las personas que padecen este tipo patologías. Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de mortalidad en nuestro país, por delante de las neoplásicas o enfermedades del sistema nervioso. Este hecho ha provocado que sean muchas las líneas de investigación que se centran en estudiar el envejecimiento del sistema vascular y en buscar alternativas terapéuticas para estas patologías

A la hora de hablar del envejecimiento del sistema cardiovascular es necesario referirse a las paulatinas deficiencias que ocurren tanto en el **corazón** como en los **vasos sanguíneos**, ya que ambos están estrechamente relacionados y las alteraciones que ocurren se ven reflejadas en ambos. Asimismo, los cambios que van ocurriendo se producen tanto a nivel estructural como a nivel funcional (Jackson y Wenger, 2011; North y Sinclair, 2012). Ambos cambios se encuentran estrechamente relacionados ya que, aquellas estructuras que sufran modificaciones también verán afectada su funcionalidad, como consecuencia de la adaptación a dichos cambios. De manera homóloga, cuando se producen cambios en la funcionalidad de algún sistema, sus tejidos y estructuras se modifican morfológicamente con el fin de adecuarse y compensarlos (Ocampo y Gutierrez, 2005).

A medida que se envejece el organismo intenta compensar los procesos que se ven deteriorados mediante mecanismos compensatorios que, *a priori* son productivos y mejoran la situación. Sin embargo, con el paso del tiempo estos mecanismos dejan de ser eficaces y pueden llegar a ser perjudiciales (North y Sinclair, 2012).

Para comprender el envejecimiento vascular, es necesario mencionar previamente los componentes fundamentales de la pared vascular (Figura 1). Esta se compone de tres capas a las que se las denomina tunicas. La proporción de estas tunicas y de sus componentes varían en función del vaso del que se trate. Estas tres capas descritas desde la parte más externa hasta la luz son:

a) Túnica adventicia: compuesta por tejido conjuntivo. Contiene colágeno que se dispone de manera longitudinal y algunas fibras elásticas. Además del tejido conjuntivo también presenta una serie de vasos que irrigan las propias paredes vasculares (“*vasa vasorum*”). El grosor que presenta esta capa es variable en función del vaso del que se trate.

- Entre esta capa y la siguiente se encuentra la membrana elástica externa, una lámina de elastina que separa ambas capas.

b) Túnica media: está formada por células de músculo liso. Entre estas células también pueden encontrarse elastina, fibras reticulares y proteoglicanos.

Las zonas donde se concentra la elastina son fenestradas y se disponen en capas circulares concéntricas. Estas fenestraciones permiten que las sustancias puedan difundir hasta la capa más íntima.

c) Túnica íntima que consta de tres partes, desde la luz al exterior son:

- Endotelio: compuesto por células planas o escamosas
- Lámina basal: de las células endoteliales
- Capa subendotelial: tejido conjuntivo laxo, que puede encontrarse entremezclado con células musculares de la túnica media. (Ross et al., 2012)

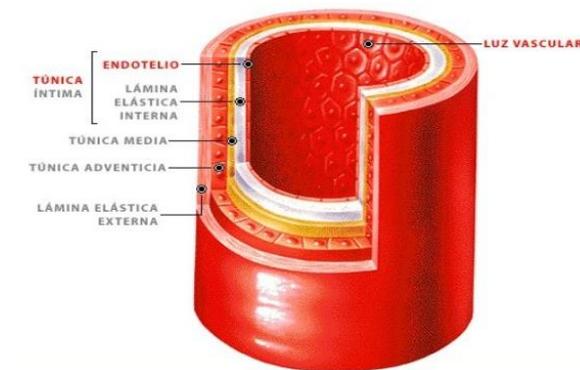


Figura 1: Estructura de la pared vascular. Obtenido en: <https://qoo.gl/images/qaaz9c>

El **endotelio** es una de las estructuras más dañadas con el paso del tiempo, y su deterioro puede desencadenar una **disfunción endotelial**, lo que ocasiona importantes alteraciones debidas a la gran importancia de esta capa de la pared vascular. El término disfunción endotelial hace referencia a diversas situaciones patológicas en las que se incluyen: alteraciones en la coagulación de la sangre, pérdida de las propiedades anti-inflamatorias del endotelio, variaciones en la modulación del crecimiento vascular y desregulación del remodelado vascular (Cai y Harrison, 2000).

Durante años se pensó que la función del endotelio era únicamente estructural o de defensa, sin embargo, en la actualidad se sabe que cumple con multitud de funciones fisiológicas: posee propiedades anticoagulantes, reguladoras del tono de los vasos y contribuye a la homeostasis de la sangre. Además, constituye la localización donde se produce la síntesis de muchas moléculas con acciones anti-ateroscleróticas que participan en la adhesión leucocitaria y la formación y proliferación de las células endoteliales (Brandes, et al., 2005). El estudio de los procesos y mecanismos implicados en el envejecimiento y deterioro del endotelio son esenciales para poder evitar y /o retrasar la disfunción endotelial.

De manera general el **envejecimiento endotelial** se asocia a la senescencia de las células endoteliales (debido al acortamiento de los telómeros), la apoptosis, la disminución de

la angiogénesis, el aumento del grosor de la pared vascular, el incremento de la síntesis de sustancias vasoconstrictoras y a la disminución de moléculas vasodilatadoras, como el NO o el H₂S (Silverthon et al., 2008; Pemberthy López et al., 2016).

El óxido nítrico (NO) se sintetiza en el endotelio a cargo de tres enzimas: la óxido nítrico sintasa neural (nNOS), la óxido nítrico inducible (iNOS) y la que actúa en el endotelio; la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS). Es considerado como el principal derivado endotelial con propiedades anti-ateroscleróticas, vasodilatadoras e inhibidoras de la adhesión leucocitaria. Además se le pueden atribuir propiedades sobre la agregación trombocítica, la proliferación del músculo liso en la pared vascular y efectos antioxidantes que permiten evitar la peroxidación de los lípidos de las membranas. (North y Sinclair, 2012)

La principal molécula sintetizada por el endotelio es el óxido nítrico (NO), aunque no es la única. Estudios recientes muestran como es en el endotelio donde se produce la síntesis del H₂S, cuyas funciones se asemejan a las atribuidas al NO.

Hasta hace relativamente poco tiempo, el sulfuro de hidrógeno (H₂S), era conocido por su toxicidad y utilizado como un gas venenoso en conflictos bélicos. Hoy en día se sabe que es un gasotransmisor generado endógenamente en los mamíferos, que actúa como segundo mensajero y que se relaciona con importantes funciones a nivel de las paredes de los vasos sanguíneos. Las propiedades que se le atribuyen son: antioxidante, antiaterogénica, antiapoptosis, antiinflamatorio, así como propiedades antiproliferativas. Además, también se señala esta molécula como neuromoduladora y citoprotectora (Rubio-Ruiz et al., 2014).

Para iniciar el estudio del sulfuro de hidrogeno, es necesario esclarecer su producción en el organismo humano. En las células de los mamíferos la síntesis de H₂S se produce de manera endógena mediante sucesivas transulfuraciones a partir de L-cisteína o en algunas ocasiones a partir de L-metionina. Se ha atribuido la síntesis de este gas a dos enzimas dependientes de piridoxal 5 fosfato: cistationina β-sintasa (CBS) y cistationina γ-liasa (CSE) (Figura 2). Ambas enzimas se encuentran localizadas de manera general en hígado, riñón, cerebro, aorta y endotelio, aunque de manera más específica tienen diferentes localizaciones. CBS predomina en el sistema nervioso y el cerebro, mientras que CSE se expresa principalmente en el músculo liso vascular y el corazón. Actualmente la enzima más estudiada es la CBS que se regula de manera postranscripcional por nucleótidos cíclicos y por glucocorticoides. Algunas moléculas son capaces de activar esta enzima como el óxido nítrico o el monóxido de carbono. En el caso de la otra enzima encargada de la síntesis del H₂S, CSE, no existen tantos datos sobre cómo se regula, pero algunos estudios atribuyen su regulación a endotoxinas bacterianas (Szabó, 2007; Rubio-Ruiz et al., 2014).

Además de estas dos enzimas principales, existen otras dos enzimas (3- mercaptopiruvato sulfotransferasa (3MST) y cisteína aminotransferasa) cuya localización es endotelial y participan en la síntesis de H₂S (Kanagy et al., 2017).

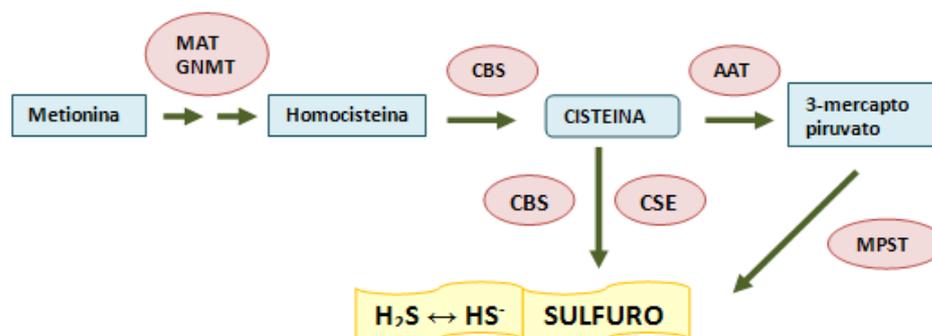


Figura 2: Principal ruta de síntesis del sulfuro de hidrógeno mediada por las enzimas CBS y CSE

Aunque se sintetiza por cuatro enzimas, todas están presentes en mayor o menor medida en el endotelio, donde va a ser liberado para actuar como uno de los principales gasotransmisores implicados en la longevidad de las células.

Con el paso del tiempo se producen alteraciones en las concentraciones de sulfuro de hidrógeno. Existen evidencias recientes que muestran la relación entre el declive en la producción de este gas con procesos debidos al envejecimiento vascular y con estados patológicos cuyo principal factor de riesgo es la edad (Chen et al., 2005).

Los principales trastornos sobre los que ejerce una acción beneficiosa son la hipertensión arterial y la aterosclerosis. Ambas, son enfermedades cardiovasculares con una gran prevalencia a nivel mundial por lo que es esencial estudiar nuevas moléculas con capacidad para actuar sobre estas patologías.

3. Objetivos

1. Estudiar los principales cambios funcionales que ocurren a nivel vascular, principalmente en el endotelio, y que están asociados al envejecimiento
2. Identificar el sulfuro de hidrógeno como uno de los nuevos gasotransmisores y su posible implicación en el envejecimiento endotelial
3. Relacionar el H₂S con las principales patologías relacionadas con la edad
4. Determinar la posibilidad de utilizar este gas como una posible herramienta terapéutica.

4. Material y métodos

El presente trabajo se trata de una revisión bibliográfica, la cual se ha llevado a cabo utilizando libros de texto obtenidos en la biblioteca de la facultad de farmacia de la Universidad Complutense de Madrid y en bases de datos científicas tales como: PubMed, Med Line, Web o Science, Bucea. En estas fuentes se introdujeron para la búsqueda las siguientes palabras clave: envejecimiento vascular, endotelio, sulfuro de hidrogeno, patologías asociadas a la edad, terapia sulfuro de hidrogeno, disfunción endotelial, enfermedad en el anciano.

Las publicaciones revisadas han sido escritas en inglés y en español y se han priorizado aquéllas más recientes.

A las bases de datos citadas se puede acceder mediante los siguientes links:

PubMed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc>)

Med Line (<https://www.nlm.nih.gov/bsd/pmresources.html>)

Web of Science (<https://login.webofknowledge.com>)

Bucea (<https://biblioteca.ucm.es/>)

Cisne (<https://cisne.sim.ucm.es/>)

5. Resultados y discusión

A partir de la revisión bibliográfica realizada se han determinado los principales mecanismos que participan en el envejecimiento vascular. Se han obtenido como resultado que los principales cambios que ocurren como consecuencia del envejecimiento se producen en el endotelio.

5.1. Principales mecanismos de envejecimiento vascular

5.1.1. Aumento del estrés oxidativo:

A medida que las células de la pared vascular van envejeciendo se ve aumentada la síntesis de radicales libres. Esto hace que vayan acumulándose en su interior, lo que se considera como uno de los principales factores que contribuyen al envejecimiento celular y a la aparición de enfermedades relacionadas con el envejecimiento (Pemberthy López et al., 2016).

Las principales moléculas que contribuyen al estrés oxidativo en el endotelio son las especies reactivas de oxígeno (ROS) y las de nitrógeno (RNS). Los radicales libres causan alteraciones en las células afectando rutas metabólicas y promoviendo la oxidación de

proteínas, lo que conduce en última instancia a la alteración de macromoléculas y la descompensación de rutas celulares que pueden desembocar en la aparición de disfunción endotelial (Zhang et al., 2013).

La edad contribuye a una disminución en la actividad funcional de las mitocondrias que incrementa la producción de ROS. Las mitocondrias producen de manera continuada radicales superóxido (O_2^-), por lo que durante la vida de la célula el DNA mitocondrial se encuentra expuesto a sufrir daños derivados de estos radicales libres. A medida que pasa el tiempo el DNA ha estado expuesto de manera continuada a estos radicales por lo que finalmente acaba alterado. Esto desemboca en una alteración en el número de mitocondrias y en que aquéllas que perduran no sean funcionales. Las mitocondrias alteradas acaban por producir proteínas anómalas que conducen a una disminución en la energía de la célula y en la formación de radicales libres con el fin de compensar la depleción de energía (Brandes et al., 2005) (Zhang et al., 2013).

Asimismo, esta situación se ve acentuada por la atenuación de los mecanismos antioxidantes de la célula. El ejemplo más representativo es la disminución de las concentraciones plasmáticas de la enzima superóxido dismutasa (SOD) encargada de generar peróxido de hidrógeno a partir del radical superóxido (O_2^-) para posteriormente ser reducido a H_2O y O_2 por la catalasa (Brandes et al., 2005).

5.1.2. Disminución de los niveles NO:

El NO es considerado una de las principales moléculas señalizadoras del organismo, y una pérdida en su funcionalidad se considera como un indicador esencial de que está ocurriendo una alteración. Diversos estudios han revelado cómo el descenso en el efecto de NO está directamente relacionado con el envejecimiento de las células endoteliales, esto hace que no sea de extrañar la correlación entre este descenso y múltiples patologías como la hiperlipemia, diabetes o hipertensión arterial (North y Sinclair, 2012).

El motivo del declive en el efecto de esta molécula señalizadora puede deberse bien a una disminución en la síntesis o a un aumento de la degradación.

Cuando el descenso del efecto del NO se debe a una **disminución de la síntesis**, existen tres causas a las que se les asocia este hecho. Por un lado puede deberse a una deficiencia de sustratos o de cofactores, por otro lado se asocia a la presencia de inhibidores endógenos de la enzima de síntesis y en último lugar, se relaciona con una menor expresión o actividad de la eNOS.

Existen numerosos procesos que pueden modular la actividad de la eNOS; uno de los principales inductores de esta enzima es la fuerza hemodinámica de la sangre actuando sobre las células endoteliales. Con el paso del tiempo la presión que lleva la sangre circulando por los vasos es menor, lo que resulta en una menor activación de la eNOS y por tanto una menor producción de NO (North y Sinclair, 2012).

Como ya se ha indicado, existen moléculas con la capacidad de inhibir la eNOS entre las que se encuentra un análogo de la L-arginina, la dimetil arginina (ADMA). En relación a esta molécula, diversos estudios muestran una fuerte correlación entre los niveles de ADMA y la edad. Otra de las moléculas de la que depende la actividad del NO es la tetrahidrobiopterina (BH4), que actúa como cofactor para la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS), la actividad de este cofactor se ve reducida significativamente con el paso del tiempo, aunque el mecanismo que explica este declive progresivo no está descrito (Rubio-Ruiz et al., 2014).

Otro motivo de la disminución de los niveles de óxido nítrico puede deberse a un **aumento en la degradación** de esta molécula. Este proceso se produce como consecuencia del aumento del estrés oxidativo en la célula, que lleva a la formación de peroxinitrito (ONOO⁻) y su siguiente degradación. A partir de este hecho se puede observar como los procesos de envejecimiento vascular están interrelacionados (van der Vilet et al., 1995).

5.1.3. Descompensación en la producción de factores vasodilatadores y vasoconstrictores:

Cuando el endotelio se encuentra en óptimas condiciones, es el responsable de la producción de multitud de sustancias anti ateroscleróticas. Cuando la funcionalidad del endotelio se ve afectada a causa de alguna patología o del propio envejecimiento, se produce una descompensación entre los factores vasodilatadores y los vasoconstrictores. Los primeros se ven disminuidos mientras que los segundos se ven aumentados. En este sentido son muchas las moléculas que se ven afectadas (Rubio-Ruiz et al., 2014):

- Sustancias vasodilatadoras:
 - Óxido nítrico (NO), anteriormente descrito
 - Endoteliana-1 (ET1): el envejecimiento se asocia con un aumento en la concentración de ET1.
 - H₂S
 - EDHF
- Sustancias vasoconstrictoras:
 - Sistema renina- angiotensina: existen evidencias de que este sistema, encargado de la vasoconstricción del sistema cardiovascular, se ve aumentando con la edad. Esto se debe al incremento en la concentración de la enzima

convertidora de angiotensina (ECA), lo que en última instancia da lugar a un aumento de la angiotensina II. La angiotensina II es un potente inductor de disfunción endotelial y colabora en el estrés oxidativo que sufre la célula (Yoon et al., 2014).

El paso del tiempo no solo afecta a la producción de moléculas vasodilatadoras y vasoconstrictoras si no que también afecta a la respuesta que las células endoteliales tienen ante estas sustancias.

5.1.4. Aumento en la producción de factores pro-inflamatorios:

La inflamación de los tejidos es un mecanismo estrechamente relacionado con la edad y con aquellas patologías relativas a la misma. De manera fisiológica el endotelio se encarga de la síntesis de moléculas como las prostaglandinas o el tromboxano, ambas son moléculas mediadoras de la inflamación. Múltiples estudios muestran como a medida que envejece la pared vascular se producen alteraciones en los niveles de eicosanoides endoteliales, lo que, como en los casos anteriores se relaciona con la disfunción endotelial (Qian et al., 2012).

5.1.5. Descenso de los procesos de angiogénesis

En condiciones normales, las células endoteliales poseen la capacidad de responder frente a agresiones como el estrés oxidativo o la isquemia, mediante la formación de nuevos vasos sanguíneos. Un ejemplo de esta cualidad de las células endoteliales se ve reflejado en patologías tales como la diabetes, la psoriasis o la artritis. Ante el ataque que sufren los tejidos resultado de la enfermedad, los procesos de angiogénesis se ven aumentados. En el caso del envejecimiento ocurre de manera contraria, estos procesos se ven disminuidos (Rubio-Ruiz et al., 2014).

5.1.6. Permeabilidad vascular

El papel de las células endoteliales es esencial en la permeabilidad vascular ya que constituyen una barrera entre la sangre y los tejidos adyacentes. Dentro de un mismo vaso sanguíneo existen diferencias en la permeabilidad vascular en función del extremo del que se trate. Con el paso del tiempo la selectividad de la pared vascular se ve alterada y esto afecta a múltiples procesos patológicos como la remodelación de los tejidos, la inflamación y la carcinogénesis (Kanagy et al., 2017).

5.1.7. Senescencia de células endoteliales:

La senescencia de las células se encuentra directamente relacionada con la longitud de sus telómeros. A medida que transcurre el ciclo celular, los telómeros se acortan y la célula

pierde la capacidad de reproducirse, aunque mantenga sus funciones metabólicas. Este proceso finalmente desencadena que las células entren en apoptosis. La edad puede elevar la sensibilidad de las células endoteliales ante los estímulos proapoptóticos hasta en tres veces, en comparación con las células jóvenes (Zhang et al., 2013).

Existen múltiples genes implicados en la longevidad de la célula entre los que destacan:

SIR

Los mamíferos contamos con 7 genes pertenecientes a este grupo, cuyo cometido se basa en regular diversas funciones celulares tales como: reparar el DNA en caso de que esté dañado, regular el ciclo celular o participar en respuestas metabólicas. La actividad de este conjunto de genes se fundamenta en su capacidad enzimática como desacetilasas y ribosiltransferasas (North y Sinclair, 2012; Pemberthy López et al., 2016).

Dentro de este amplio grupo, es el gen SIRT1 el que más importancia tiene en los mamíferos y el que más protagonismo merece en el envejecimiento vascular.

SIRT se localiza en el núcleo de la célula y se encarga de silenciar el ciclo celular y estabilizar los cromosomas, regulando así la supervivencia de las células endoteliales. Este gen ejerce su acción mediante la acetilación y la desacetilación de serina/treonina quinasas. Específicamente, actúa en la desacetilación de un factor reparador del DNA (ku70), que produce el secuestro del factor proapoptótico Bax fuera de la mitocondria, evitando que la célula entre en apoptosis (Zhang et al, 2013) (A Ocampo et al,2016).

5.2. Papel del H₂S

Hasta aquí, se han descrito los principales mecanismos implicados en el envejecimiento de la pared vascular que conducen a la pérdida de funcionalidad del endotelio y a la aparición de enfermedades cardiovasculares. Por este motivo, es necesaria la búsqueda y el estudio de nuevas moléculas que puedan ayudar a mantener la integridad del endotelio, y que incluso puedan usarse como una alternativa terapéutica para aquellas patologías directamente relacionadas con el desarrollo de disfunción endotelial. Una de las últimas moléculas en las que se ha centrado la atención para estudiar su papel en el envejecimiento vascular es el sulfuro de hidrógeno.

Los niveles de H₂S van disminuyendo con la edad, y estudios en individuos de 50 a 60 años muestran una depleción importante en los niveles de H₂S en comparación con otros más jóvenes (Szabó, 2007). Esto, lleva a pensar que su déficit puede estar relacionado con el envejecimiento de la pared vascular, por lo que se consideró interesante llevar a cabo una

revisión sobre los principales mecanismos a partir de los cuales actúa este gas y como pueden afectar al envejecimiento vascular.

El H₂S es un gas sintetizado en el endotelio. Es soluble en agua y en lípidos lo que facilita su paso a través de las membranas y le permite actuar en dianas tanto intracelulares como extracelulares. Las dianas sobre las que actúa son: quinasas, fosfatasas, canales iónicos y factores de transcripción. A través de estas dianas, va a actuar sobre muchos de los mecanismos implicados en el envejecimiento de las células endoteliales (Kanagy et al., 2017).

Una de las principales propiedades del H₂S, es su capacidad como molécula **vasodilatadora e hiperpolarizante**. Actúa en las células del músculo liso vascular, mediante la activación de canales de potasio dependientes de ATP (K_{ATP}). Debido a esta característica, hay estudios que han situado el H₂S como un candidato para considerarse el EDHF (Factor hiperpolarizante derivado del endotelio). Para llegar a esta conclusión se basaron en la capacidad de este gas para hiperpolarizar membranas celulares, su capacidad biológica para interactuar con canales de potasio, y su elevada potencia vasodilatadora en diferentes vasos.

Con el fin de conocer más sobre las propiedades vasodilatadoras del H₂S, se llevaron a cabo experimentos en los cuales se procedió a la perfusión de H₂S en arterias cerebrales y mesentéricas porcinas, consiguiéndose como resultado una dilatación de los vasos solo revertida por glibenclamida (bloqueante de K_{ATP}). A partir de aquí se realizaron otros estudios que también avalaron la capacidad del H₂S para activar canales de potasio produciendo en última instancia la relajación de los vasos sanguíneos (Kanagy et al., 2017).

La capacidad vasodilatadora del H₂S no se limita a lo descrito en el párrafo anterior si no que también se conoce su participación en otras rutas que llevan a producir vasodilatación. Uno de los principales problemas que ocurrían en el endotelio como consecuencia del paso del tiempo era la disminución en el efecto del NO, por lo que el hecho de que el H₂S actúe a este nivel le confiere una notable importancia. Se ha observado que otra de la vía fundamental donde actúa esta molécula vasoactiva es la mediada por el NO/eGMP. Se ha visto como el H₂S tiene la capacidad de incrementar la actividad de la eNOS mediante la fosforilación del sitio de activación S1177, además también actúa estabilizando el dímero activo de la enzima favoreciendo así, que se lleve a cabo la síntesis de óxido nítrico (Kanagy et al., 2017).

Con el paso del tiempo el endotelio va perdiendo la capacidad de sintetizar y responder a moléculas vasodilatadoras y vasoconstrictoras por lo que el H₂S podría convertirse en una alternativa ante los problemas del tono vascular relacionados con la edad. Como se ha mencionado anteriormente, entre los factores vasoconstrictores que se ven alterados se encuentra la angiotensina II, resultado del aumento de la enzima convertidora de

angiotensina (ECA). La ECA es una enzima dependiente de Zn^{+} , y el H_2S es capaz de inhibirla interfiriendo con el Zn^{+} en el centro activo de la enzima (Laginner et al., 2007).

Otra de las funciones esenciales del H_2S es su **papel como antioxidante** en las células endoteliales. Como se ha mencionado anteriormente, con la edad se produce un aumento en los radicales libres en el interior de las células. Esto, puede generar alteraciones en el endotelio, pudiendo comprometer la salud cardiovascular. El H_2S actúa evitando el estrés oxidativo a distintos niveles:

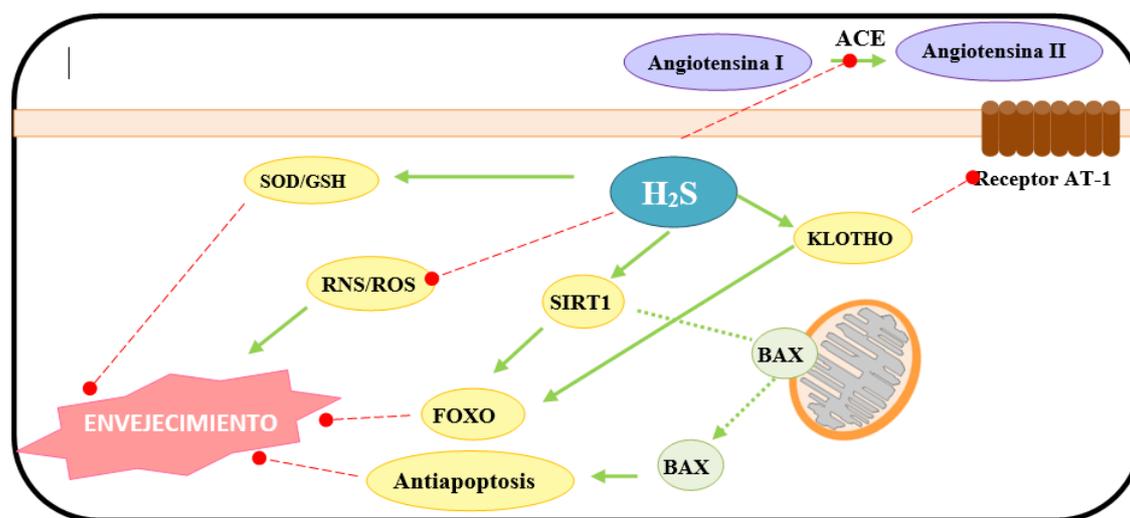
- a) Degradando los radicales libres
- b) Evitando la formación de radicales libres
- c) Favoreciendo la expresión de sistemas antioxidantes

De manera endógena se produce la síntesis de H_2S que se hidroliza para dar tanto hidrosulfuro como iones sulfuro. Ambas especies moleculares participan activamente en la reducción de la peroxidación de lípidos y la reducción de los productos procedentes de la oxidación de proteínas (Zhang et al., 2013).

Una de las principales ROS generada en el organismo es el $ONOO^{-}$, un potente oxidante y citotóxico que produce la nitración de proteínas en residuos de tirosina. El H_2S a bajas concentraciones tiene la capacidad de degradar estas especies, inhibiendo la nitración de las proteínas. Este efecto es comparable al que realizan en la célula otras moléculas antioxidantes de gran importancia como es el caso del glutatión (GSH) (Kanagy et al., 2017).

El papel del H_2S interfiriendo con el estrés oxidativo no se limita a la degradación de radicales libres si no que también actúa favoreciendo la síntesis de complejos antioxidantes. El H_2S lleva a cabo una serie de reacciones de reducción en la matriz extracelular que tienen como resultado un aumento de las concentraciones de cisteína. Este incremento en las concentraciones de cisteína favorece una mayor producción de GSH y la distribución de este en el interior de la mitocondria con el fin de evitar el daño oxidativo que se produce en esta localización (Szabó, 2007; Kanagy et al., 2017).

Además, el H_2S también se encarga de reducir el transporte de electrones, evitando así la formación de ROS.



→ : Activación - - - - -● : Inhibición
 Figura 3: Principales efectos del H₂S en el envejecimiento. Modificado de Zhang et al., (2013).

Entre los problemas asociados al envejecimiento vascular destaca el descenso de los procesos de angiogénesis. Estudios *in vivo* y estudios *in vitro* han demostrado que el H₂S estimula el crecimiento de las células endoteliales, y favorece su organización y movilidad hacia la **formación de nuevos vasos**. Los estudios realizados *in vitro* siguieron dos líneas. Por un lado, se incubaron células endoteliales con las enzimas y sustratos necesarios para la formación de H₂S, en este caso se observó como se producía un incremento en la angiogénesis. Por otro lado, cuando se incubaron con inhibidores farmacológicos de las enzimas CSE, CBS y 3MST se describió como se veían refrenados los procesos angiogénicos. En el caso de los estudios que se realizaron *in vivo* en tejidos de aves, los resultados fueron al igual que en el caso anterior, que en presencia de H₂S se favorece la formación de nuevos vasos. En los estudios *in vivo* también se demostró que el hecho de que se potencien los procesos angiogénicos es independiente de la enzima implicada en la síntesis del gas, tanto la CBS como la CSE e incluso la 3MST son capaces de generar H₂S implicado en la angiogénesis (Kanagy et al., 2017).

El VEGF es el factor de crecimiento endotelial y se considera como uno de los principales factores implicados en la síntesis de nuevos vasos. Un gran número de estudios establecen que a través del VEGF, el H₂S ejerce su acción. Cuando el H₂S es administrado de manera exógena, incrementa la expresión del factor de crecimiento endotelial, y cuando procede de la síntesis endógena participa en la preservación de las respuestas mediadas por dicho factor.

La pared vascular es responsable de mediar el paso de sustancias desde la sangre a los tejidos, la **permeabilidad vascular** sufre alteraciones debido al envejecimiento de las células de la pared. Recientes estudios revelan como la inhalación de H₂S disminuye la permeabilidad

en los vasos cerebrales. Este efecto se atribuye a la reducción de la expresión del VEGF y de MMP-9 que aumentan la expresión de un factor reductor de la permeabilidad: angipoyetina-1 (Wang et al., 2012).

Otro de los procesos implicados en el envejecimiento vascular es la **senescencia de las células endoteliales**. En este aspecto el gen SIRT1 desempeña un papel esencial, donde el H₂S puede actuar manteniendo los ritmos circadianos y realizando la actividad de SIRT1. De manera sinérgica con el H₂S actúa la restricción calórica ya que por un lado incrementa la actividad de SIRT1 al igual que el H₂S y por otro lado, actúa sobre CSE y CBS aumentando la producción de H₂S. De esta manera la restricción calórica puede contribuir al mantenimiento de la señalización mediada por el H₂S durante el envejecimiento (Zhang et al., 2013).

El H₂S es capaz de actuar a través de diferentes genes. Su acción no se limita únicamente al gen SIRT1 si no que, recientes estudios han establecido una relación entre este gas y la activación de los factores de transcripción “*Forkhead*” (FOXO), lo que tiene una estrecha relación con la longevidad de las células. Los FOXO juegan un papel esencial en la regulación de la expresión de genes implicados en el crecimiento celular, la proliferación y la longevidad. Además actúan sobre receptores de insulina IGF-1 (North & Sinclair, 2012). La activación de los FOXO se produce mediante su desacetilación. Sin embargo, el mecanismo que regula esta activación aún está en por describirse (Zhang et al., 2013).

Otro de los genes sobre los que actúa el H₂S es el gen KLOTHO, encargado de inhibir la expresión de múltiples procesos asociados a la edad. Este gen es el encargado de aumentar la resistencia de las células endoteliales frente al estrés oxidativo, actuando sobre receptores de insulina y sobre el sistema renina-angiotensina (Zhang et al., 2013).

PARÁMETRO	EDAD	H ₂ S
Presión arterial	↑	┆
Daño oxidativo	↑	┆
Inflamación	↑	┆
Apoptosis	↑	┆
Producción NO	↓	↑
Angiogénesis	↓	↑
↑: aumenta; ↓: disminuye; ┆:impide el aumento		

Tabla 1 : Tabla resumen de los principales cambios asociados a la edad en relación al H₂S. Modificado de Zhang et al., (2013).

5.3. Papel del H₂S en patologías

Hasta ahora, se ha mencionado la implicación que el H₂S tiene sobre el envejecimiento del endotelio vascular. A día de hoy son muchos los estudios que respaldan la idea de que la progresiva disminución de H₂S contribuye a la aparición de diversos desordenes fisiológicos relacionados con el envejecimiento. De igual manera, se puede pensar que la presencia de este gasotransmisor puede ser beneficiosa para el tratamiento o prevención de estas patologías.

Los principales trastornos sobre los que ejerce una acción positiva son la hipertensión arterial, la aterosclerosis y la diabetes. Tres enfermedades cardiovasculares con gran prevalencia a día de hoy a nivel mundial, en las cuales, la edad constituye uno de los principales factores de riesgo (Zhang et al., 2013).

Con respecto a **la hipertensión arterial** se ha observado como los niveles de H₂S en ratas hipertensas es menor que en ratas normotensas. Existen varios mecanismos que explican el papel del H₂S en el desarrollo de la hipertensión.

Aquéllos individuos que padecen hipertensión sufren un aumento de la resistencia vascular y es en esta alteración donde ejerce su acción. El H₂S tiene la capacidad de producir relajación e hiperpolarización en la pared vascular mediante la apertura de canales de potasio dependientes de ATP (K_{ATP}). La apertura de estos canales K_{ATP} se produce por la unión de las subunidades Kir a la molécula fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato (PIP₂) y por la reducción de la unión de ATP a esta molécula. El H₂S, a través de una S-sulfhidración de cisteína es capaz de conseguir potenciar la unión Kir-PIP₂ y reducir la unión Kir-ATP lo que se traduce en la hiperpolarización del músculo liso y la vasodilatación. Es debido a este mecanismo lo que hace pensar que la administración de fármacos capaces de actuar sobre la ruta de síntesis del H₂S podrían considerarse como una alternativa terapéutica para tratar la hipertensión arterial (Mustafa et al., 2011).

Otra de las patologías mencionadas, la **aterosclerosis** además de ser una de las principales responsables de la afectación cardíaca y vascular, es una de las patologías a las que más afecta el envejecimiento. La aterosclerosis cursa con disfunción endotelial, infiltración de monocitos, altera la diferenciación de los monocitos a macrófagos, e induce la conversión de macrófagos a células espumosas (compuestas por lipoproteínas LDL oxidadas) (Llorente et al., 1998). Existen evidencias de que el descenso progresivo de las concentraciones plasmáticas de H₂S contribuye a la patogénesis de la aterosclerosis. El principal punto donde actúa este gas es disminuyendo la generación de células espumosas a partir de macrófagos. Para ello actúa sobre las vías de oxidación de las LDL reduciendo la

producción de LDL oxidadas. El mecanismo por el cual se disminuye la producción de LDL oxidadas implica canales de K dependientes de ATP y una menor expresión de CD36 un receptor “*scavenger*” (Zhang et al., 2013; Kanagy et al., 2017).

La **diabetes mellitus tipo II**, es otra de las patologías en la que la edad constituye uno de los factores de riesgo más relevantes. Se trata de una enfermedad metabólica en la que los tejidos presentan una resistencia a la acción de la insulina, generando elevados niveles de glucosa. Esta patología afecta a múltiples sistemas, entre los que se encuentra el sistema cardiovascular. Los pacientes que padecen esta enfermedad presentaban una disminución en los niveles de H₂S, que favorece la inflamación vascular que presentan los pacientes diabéticos. Como se ha indicado a lo largo de esta revisión bibliográfica el progresivo declive de los niveles de H₂S contribuye de manera significativa a la aparición de disfunción endotelial. Esta disfunción está directamente implicada con la aparición de complicaciones vasculares en pacientes diabéticos. El tratamiento con derivados de azufre (NaHS) ha revelado que confiere una acción protectora contra la apoptosis de las células endoteliales, inducida por niveles elevados de glucosa. Esto se consigue mediante el incremento de la SOD, y el descenso de los niveles de ROS. Estos hallazgos se corresponden con otros estudios que describen como en condiciones *in vitro* de hiperglucemia se produce un aumento de la degradación del H₂S. Como principal responsable de esta disminución del H₂S se establece la superproducción de ROS mitocondrial. Al igual que en experimentos anteriores, al aportar una fuente de H₂S se consiguen efectos protectores sobre las células endoteliales (Suzuki et al., 2011; Zhang et al., 2013; Kanagy et al., 2017).

Con respecto a la diabetes tipo II, se puede determinar que el H₂S tiene un efecto protector frente a la disfunción endotelial mediante:

- Disminuyendo la formación de ROS y aumentando su degradación
- Atenuando el daño en el DNA
- Mejorando la viabilidad de las células

La diabetes también puede ocasionar daño renal, que puede afectar directamente al sistema cardiovascular. Los niveles tanto de H₂S como de CSE se encuentran disminuidos en la corteza renal de ratas diabéticas, lo que produce una pérdida de la capacidad para inhibir la ECA, que contribuye al desarrollo de nefropatías diabéticas.

6. Conclusiones

Tras llevar a cabo esta revisión bibliográfica se puede concluir que:

1. Los principales cambios que ocurren como consecuencia del envejecimiento en el endotelio están relacionados con el aumento del estrés oxidativo, la disminución en los niveles de NO, la descompensación entre factores vasodilatadores y vasoconstrictores, el aumento de la producción de sustancias pro-inflamatorias, el descenso de la angiogénesis, el aumento de la permeabilidad vascular y la alteración en la senescencia de las células.
2. El H₂S es un gas sintetizado de manera endógena en el endotelio y con capacidad de actuar sobre los cambios asociados al envejecimiento revirtiéndolos o frenándolos .
3. Como consecuencia de la conclusión 2 se podría considerar al H₂S como una posible herramienta terapéutica frente a patologías como la hipertensión arterial, la aterosclerosis o la diabetes mellitus tipo II.

No obstante, es necesario llevar a cabo mas estudios ya que aun no están esclarecidos los efectos que puede tener el H₂S en el organismo.

7. **Bibliografía**

- Brandes, R., Fleming, I., y Busse, R. (2005). Endothelial aging. *Cardiovascular Research* , 66 - 286- 294.
- Cai, H., y Harrison, D. (2000). Endothelial Dysfunction in Cardiovascular Diseases: The Role of Oxidant Stress. *Journal of the American Heart Association* , 87:840-844.
- Chen, Y., Geng , B., Yao, W., Ding , Y., Lu, M., Zhao, M., et al. (2005). Endogenous hydrogen sulfide in patients with COPD. *Chest* , 128(5):3205-11.
- Jackson, C., y Wenger, N. (2011). Enfermedad cardiovascular en el anciano. *Revista Española de Cardiología* , 64(8): 697-712.
- Kanagy, N., Szabo, C., y Papapetropoulos, A. (2017). Vascular Biology of Hydrogen Sulfide. *Am J Physiol Cell Physiol*, 312(5):C537-C549.
- Lagnner, H., Hermann, M., Esterbauer, H., Muellner, M., Exner, M., Gmeiner, B et al. (2007). The novel gaseous vasorelaxant hydrogen sulfide inhibits angiotensin-converting enzyme activity of endothelial cells. *J Hypertens* , 25 (10):2100-4.
- Llorente, V., y Badimon, L. (1998). Bases celulares y moleculares de la acumulación de colesterol en la pared vascular y su contribución a la progresión de la lesión aterosclerótica. *Revista Española de Cardiología* , Vol 51.Núm 8.
- Mustafa, A., Sikka, G., Gazi, S., Steppan, J., Jung, S., Bhunia, A., et al. (2011). Hydrogen sulfide as endothelium-derived hyperpolarizing factor sulfhydrates potassium channels. *Circ Res* , 109:1259-1268.
- North, B., y Sinclair, D. (2012). The Intersection Between Aging and Cardiovascular Disease. *Circ Res* , 110 (8): 1097-1108.
- Ocampo, A. et al. (2016). In Vivo Amelioration of Age-Associated Hallmarks by Partial Reprogramming. *Cell* , 167 (7), 1719-1733.
- Ocampo, J., y Gutierrez, J. (2005). Envejecimiento del sistema cardiovascular. *Revista Colombiana de Cardiología* , Vol. 12 No.2.
- Pemberthy López, C., Jaramillo-Gómez, N., Velasquez Mejía, A., Cardona-Vélez, J., Contreras-Martínez, H., y Jaramillo-Restrepo, V. (2016). Conceptos actuales sobre el envejecimiento y la enfermedad cardiovascular. *Revista Colombiana de Cardiología* , 23(3):210-217.
- Qian, H., Luo, N., y Chi, Y. (2012). Aging-shifted prostaglandin profile in endothelium as a factor in cardiovascular disorders. *J. Aging Res* , 121390.
- Ross, M., Kaye, G., y Pawlina, W. Capítulo 12 en: *Histología. Texto y Atlas Color con Biología Celular y Molecular*.(2012). Panamericana.
- Rubio-Ruiz, M., Pérez-Torres, I., Soto, M., Pastelín, G., y Guarner-Lans, V. (2014). Aging in blood vessel. Medicinal agents for systemic arterial hypertension in the elderly. *Ageing Research Reviews* , 18(2014): 132-147.
- Silverthorn, D., Ober, W., Silverthorn, A., y Johns (2008). Capítulo 14 en: *Fisiología Humana. Un enfoque integrado*. Panamericana.
- Suzuki, K., Olah, G., Modis, K., Kulp, G., Coletta, C., Göro, D., et al. (2011). Hydrogen sulfide replacement therapy protects the vascular endothelium in hyperglycemia by preserving mitochondrial function. *Proc Natl Acad Sci U.S.A* , 108(33):13829-34.

- Szabó, C. (2007). Hydrogen sulfide and its therapeutic potential. *Nature Reviews* , 6(11):917-35.
- van der Vliet, A., Eiserich , J., O'Neill , C., Halliwell , B., et al, C. (1995). Tyrosine modification by reactive nitrogen species: a closer look. *Arch Biochem Biophys* , 319 (2): 341-9.
- Wang, T., Wang, L., Zaidi, S., Sammani, S., Siegler, J., Moreno-Vinasco, L., et al. (2012). Hydrogen Sulfide Attenuates Particulate Matter-Induced Human Lung Endothelial Barrier Disrupción via Combined Reactive Oxygen Species Scavenging and Akt Activation. *Am J Respir Cell Mol Biol* , 47: 491-496.
- Yoon, H., y Choi, B. (2014). The renin-angiotensin system and aging in the kydney. *Korean J. Intern Med* , 29 (3)- 291-295.
- Zhang, Y., Tang, Z.-H., Ren, Z., Qu, S.-L., Liu, M.-H., Lu-Shan, L., et al. (2013). Hydrogen Sulfide, the Next Potent Preventive and Therapeutic Agent in Aging and Age-Associated Diseases. *American Society for Microbiology* , 1104-1113.