

SILVIA ABIGAIL COAVOY SÁNCHEZ

Efeito de compostos doadores de sulfeto de hidrogênio (H₂S) na dermatite atópica experimental induzida em camundongos

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Farmacologia

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Nicolás Muscará

Versão corrigida

São Paulo
2021

RESUMO

Coavoy-Sánchez SA. Efeito de compostos doadores de sulfeto de hidrogênio (H₂S) na dermatite atópica experimental induzida em camundongos. [Tese (Doutorado em Farmacologia)] - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo; 2021.

A dermatite atópica (DA) é uma doença inflamatória crônica da pele caracterizada por prurido intenso e lesões eczematosas, associada a uma resposta aumentada dos linfócitos T-helper-2. Os corticosteroides são comumente usados para terapia anti-inflamatória da DA, entretanto, seu uso a longo prazo é limitado devido a vários efeitos adversos, o que faz necessário o desenvolvimento de opções terapêuticas alternativas. O sulfeto de hidrogênio (H₂S) é produzido na pele e seus efeitos benéficos no controle da inflamação e do prurido tem sido demonstrados. Neste estudo, usando um modelo murino de DA induzido por 2,4-dinitroclorobenzeno (DNCB), nós avaliamos os efeitos de compostos derivados da dexametasona liberadores de H₂S (híbridos com tiobenzamida - TBZ e anetol ditiotiona – ADT) e os doadores mitocondriais de H₂S AP39 e RT01. Camundongos BALB/c fêmeas foram sensibilizados topicamente com DNBCB nos dias 1-3. Nos dias 15, 17, 19 e 22, os camundongos foram desafiados topicamente com DNBCB na pele dorsal e na orelha direita. Nos dias 19-23 após a sensibilização, os camundongos foram tratados topicamente com 250 nmol/animal de dexametasona ou dos derivados, ou 0,2 nmol/animal de AP39 ou RT01. O tratamento tópico com dexametasona ou derivados reduziu significativamente o prurido, as lesões cutâneas, edema de orelha, eosinofilia e esplenomegalia induzidos pelo DNBCB. O tratamento com dexametasona-TBZ ou dexametasona-ADT, mas não dexametasona, inibiu o aumento de IL-4, e o tratamento com dexametasona-TBZ (mas não com dexametasona ou dexametasona-ADT), aumentou a produção de H₂S e a atividade de glutatona peroxidase (GPx) na pele. Ambos dexametasona-TBZ e dexametasona-ADT, mas não a dexametasona, inibiram o aumento dos marcadores de estresse oxidativo (nitrotirosina e proteínas carboniladas) induzidos pelo DNBCB. Além disso, enquanto a dexametasona induziu hiperglicemia, dexametasona-TBZ e dexametasona-ADT foram desprovidos desse efeito. Por outro lado, o tratamento com TBZ ou ADT-OH diminuiu a eosinofilia, e reduziu os níveis aumentados de IL-4 e da enzima alanina aminotransferase (ALT), induzidos pelo DNBCB. O tratamento

tópico com AP39 reduziu o prurido, as lesões cutâneas, edema de orelha, eosinofilia e esplenomegalia induzidos pelo DNCB. AP39 reduziu os níveis de IL-4, eotaxina-1 e proteínas carboniladas, os quais estão aumentados na pele de camundongos com DA experimental. Por outro lado, o tratamento com RT01 resultou em redução das lesões cutâneas, eosinofilia e dos níveis aumentados de IL-4. Estes resultados mostram que a presença das porções liberadoras de H₂S (TBZ ou ADT) na molécula da dexametasona, não só não interfere com os efeitos benéficos do corticoide, mas apresenta benefícios sobre a molécula parental, tais como o aumento da atividade de defesas antioxidantes no tratamento da DA e a prevenção da hiperglicemia associada aos corticosteroides. Por outro lado, a entrega específica de H₂S na mitocôndria pelo composto AP39, pode suprimir os sinais clínicos da DA via modulação imunológica e manutenção do equilíbrio redox. Em resumo, os compostos avaliados neste trabalho configuram interessantes estratégias de potencial aplicação terapêutica no tratamento de pacientes com DA.

Palavras-chave: Sulfeto de hidrogênio (H₂S). Dermatite atópica. Corticosteroides. Mitocôndria. Estresse oxidativo.

ABSTRACT

Coavoy-Sánchez SA. Effect of hydrogen sulfide (H₂S) donors on experimental atopic dermatitis induced in mice. [Ph.D thesis (Pharmacology)] - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo; 2021.

Atopic dermatitis (AD) is a chronic inflammatory skin disease characterized by pruritus and eczematous skin lesions, associated with enhanced T-helper-2 lymphocyte response. Corticosteroids are commonly used as anti-inflammatory therapy for AD, however, long-term treatment is limited due to several side-effects, thus making necessary the development of alternative therapies. Hydrogen sulfide (H₂S) is produced in the skin and its beneficial effects on the control of inflammation and pruritus have been demonstrated. In this study, we used a murine model of AD induced by 2,4-dinitrochlorobenzene (DNCB) and evaluated the effects of H₂S-releasing dexamethasone derivative compounds (hybrids with thiobenzamide - TBZ and anethole dithiolethione - ADT) and the mitochondria-targeted H₂S donors AP39 and RT01. Female BALB/c mice were topically sensitized with DNCB on days 1-3. On days 15, 17, 19 and 22, the mice were topically challenged with DNCB on both the dorsal skin and the right ear. On days 19-23 after sensitization, the mice were topically treated with 250 nmol/mice dexamethasone or its derivatives, or 0.2 nmol/mice AP39 or RT01. Topical treatment with dexamethasone and its derivatives significantly reduced itching, skin severity score, ear edema, eosinophilia and splenomegaly induced by DNCB. Treatment with dexamethasone-TBZ or dexamethasone-ADT, but not dexamethasone, inhibited IL-4 levels, and treatment with dexamethasone-TBZ (but not with dexamethasone or dexamethasone-ADT), increased the production of H₂S and the activity of glutathione peroxidase (GPx) in the skin. Both dexamethasone-TBZ and dexamethasone-ADT, but not dexamethasone, inhibited the increased oxidative stress markers nitrotyrosine and carbonylated proteins induced by DNCB. In addition, while dexamethasone induced hyperglycemia, dexamethasone-TBZ and dexamethasone-ADT prevented this effect. On the other hand, treatment with TBZ or ADT-OH decreased eosinophilia, and reduced the increased levels of IL-4 and the enzyme alanine aminotransferase (ALT), induced by DNCB. Topical treatment with AP39 reduced itching, skin severity score, ear edema, eosinophilia and splenomegaly induced by DNCB. AP39 reduced IL-4, eotaxin-1 and carbonylated proteins levels which are increased in the skin of the AD

mice. On the other hand, treatment with RT01 resulted in a reduction of skin severity score, eosinophilia and IL-4 levels. These results show that the presence of H₂S releasing portions (TBZ or ADT) in the dexamethasone molecule, not only does not interfere with the beneficial effects of the corticosteroid, but also adds benefits to the parental molecule, such as the increased activity of antioxidant defenses in the treatment of AD and prevention of hyperglycemia associated with corticosteroids. On the other hand, the specific delivery of H₂S in the mitochondria by the compound AP39, can suppress the clinical signs of AD via immune modulation and maintenance of redox balance. In summary, the compounds evaluated in this work configure interesting strategies for the potential therapeutic application in the treatment of patients with AD.

Keywords: Hydrogen sulfide (H₂S). Atopic dermatitis. Corticosteroids. Mitochondria. Oxidative stress.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Dermatite atópica

A dermatite atópica (DA) é uma doença inflamatória crônica da pele caracterizada por lesões eczematosas recorrentes e prurido intenso (Langan et al., 2020). A DA é a manifestação cutânea de uma condição sistêmica chamada “atopia”, que também dá origem à asma, rinite alérgica e alergia alimentar (Leung et al., 2004). O termo “atopia” refere-se a uma tendência pessoal e/ou familiar a desenvolver uma hipersensibilidade mediada por imunoglobulina E (IgE) em resposta a alérgenos ambientais comuns (Johansson et al., 2004).

A DA é a doença dermatológica mais comum na infância, mas pode persistir ou começar na idade adulta. A sua prevalência tem crescido exponencialmente ao longo das últimas décadas em países industrializados afetando até 25% das crianças e de 7-10% dos adultos em todo o mundo (Weidinger et al., 2018). Ambos os sexos são igualmente afetados pela DA até os 6 anos de idade, sendo que depois dos 6 anos de idade a prevalência da DA é maior no sexo feminino (DaVeiga, 2012). No Brasil, de acordo com o International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC; fase 3), a prevalência da DA avaliada em 20 cidades foi de 8,2% em crianças de 6 a 7 anos e 5% em adolescentes de 13 a 14 anos (Solé et al., 2006).

A DA tem uma etiologia complexa e multifatorial, acredita-se que fatores genéticos, imunológicos e ambientais estejam interligados para produzir uma disfunção da barreira da pele, bem como desregulação do sistema imunológico (Tollefson et al., 2014), que são consideradas cruciais para a patogênese da DA (Figura 1).

A predisposição genética é evidente em indivíduos com DA, já que a concordância entre gêmeos monozigóticos é muito maior do que entre gêmeos heterozigóticos (Schultz Larsen, 1993), além do fato de que filhos de pais com DA têm maior risco de desenvolver a doença (Dold et al., 1992). Dentre os genes envolvidos, estudos mostram uma associação significativa entre o gene da filagrina e a DA, sabe-se que 20-40% dos pacientes com DA têm uma mutação de perda de função no gene que codifica a filagrina (Palmer et al., 2006; Irvine et al., 2011). A filagrina é uma proteína estrutural expressa nas camadas externas da epiderme e

desempenha um papel fundamental na diferenciação epidérmica, na função barreira cutânea, bem como na prevenção da perda de água da pele; um produto de degradação da filagrina, o fator de hidratação natural (NMF), desempenha um papel essencial na manutenção da hidratação do estrato córneo. A mutação no gene que codifica a filagrina esta associada com alteração da função barreira, o que leva a um aumento da permeabilidade da pele a substâncias exógenas, perda transepidérmica de água, aumento do pH na superfície da pele, pele seca e maior risco de infecção microbiana (Brown, McLean, 2012; Cabanillas, Novak, 2016).

A disfunção da barreira epidérmica pode ocorrer também como resultado de outros fatores como, diminuição de peptídeos antimicrobianos (como as beta-defensinas e catelicidinas), expressão reduzida de proteínas de *tight junctions* (como a claudina-1), expressão diminuída de proteínas estruturais (loricrina e involucrina), redução de lipídios do estrato córneo (principalmente ceramidas), aumento no pH da pele, um padrão alterado de colonização da microbiota cutânea e danos mecânicos na pele (Peng, Novak, 2015; David Boothe et al., 2017; Nakahara et al., 2020). A disfunção da barreira da pele é um importante fator patogênico da DA, em vista de que uma barreira cutânea inadequada pode permitir a penetração de alérgenos (como por exemplo, os derivados de ácaros, mofo e pólen) e irritantes ambientais, e predispõe a infecção por patógenos microbianos tais como *Staphylococcus aureus* (que coloniza em aproximadamente 90% dos pacientes com DA), cujas proteases exógenas podem danificar ainda mais a barreira da pele; essa interação de fatores conduz a uma resposta inflamatória e às conseqüentes manifestações clínicas da DA (Nutten, 2015).

Estudos recentes sugerem que, a ruptura da barreira epidérmica estimula os queratinócitos a produzirem grandes quantidades de citocinas imunorreguladoras, como a linfopoiética estromal tímica (TSLP), interleucina (IL)-25 e IL-33; esses mediadores ativam as células linfoides inatas do grupo 2 (ILC2) residentes na pele e as respostas imunes mediadas por células T-helper (Th) do tipo 2, via sinalização OX40 (Salimi et al., 2013; Nakahara et al., 2020). As citocinas TSLP e IL-33 também atuam diretamente nos neurônios sensoriais cutâneos e medeiam o prurido, causando mais danos ao tecido (Mollanazar et al., 2016). As ILC2 ativadas produzem IL-5 e IL-13, que ativam eosinófilos e também promovem a resposta Th2 (Salimi et al., 2013).

Por outro lado, uma resposta imunológica pode, por sua vez, desencadear a ruptura da barreira epidérmica e ser responsável pelas manifestações cutâneas da DA. Na fase aguda da DA existe um predomínio de diferenciação de células Th2, caracterizada por maior produção de IL-4, IL-5, IL-13 e IL-31, infiltração dérmica de células T CD4+, que são consideradas as principais causas da inflamação, bem como um número aumentado de vários subconjuntos de células dendríticas (Langan et al., 2020; Nakahara et al., 2020). As IL-4 e IL-13 induzem um aumento na síntese de IgE pelas células B, levando à ativação de mastócitos e a uma resposta exagerada a alérgenos (Brandt, 2011; Gandhi et al., 2016), e regulam negativamente a expressão de proteínas epidérmicas como a filagrina, prejudicando a função barreira cutânea (Howell et al., 2007). Por sua vez, a IL-5 produz aumento da infiltração de eosinófilos na pele (Brandt, 2011). Adicionalmente, as IL-4, IL-13 e IL-31 atuam diretamente nos nervos e causam coceira e rompimento da barreira (Oh et al., 2013; Cevikbas et al., 2014; Champion et al., 2019). Além do desvio Th2, a IL-22 produzida por células Th22 também está ligada à inflamação da pele na DA. A IL-22 induz uma inibição da diferenciação nos queratinócitos e diminuição da expressão dos complexos de diferenciação epidérmica, como filagrina, loricrina e involucrina (Boniface et al., 2005; Nograles et al., 2008; Gutowska-Owsiak et al., 2011). O papel e a ativação das respostas mediadas por células Th1 e Th17 ainda não são claras, mas as citocinas associadas parecem ser superexpressas em estágios crônicos da doença (Weidinger et al., 2018).

Embora fatores genéticos e imunológicos sejam claramente importantes na DA, o aumento da prevalência global da doença destaca o papel dos fatores ambientais. Evidências indicam que uma variedade de poluentes atmosféricos tais como fumaça de tabaco, compostos orgânicos voláteis, dióxido de nitrogênio, monóxido de carbono e material particulado atuam como fatores de risco e agravantes da DA e outras doenças atópicas (Penard-Morand et al., 2010; Jedrychowski et al., 2011; Yi et al., 2012; Kim et al., 2013). Na pele a exposição a poluentes atmosféricos induz estresse oxidativo, como resultado de um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e os mecanismos de defesa antioxidantes (Ahn, 2014; Bertino et al., 2020). De fato, o estresse oxidativo desempenha um papel importante em muitas doenças da pele, incluindo a DA (Omata et al., 2001; Nakai et al., 2009; Sivaranjani et al., 2013), dado que é capaz de induzir alterações do sistema imune e disfunção da barreira da pele por peroxidação lipídica e oxidação

de proteínas epidérmicas (Ahn, 2014). Além disso, aeroalérgenos como ácaros da poeira doméstica, mofo, pólen ou pelos de animais também foram implicados como fatores desencadeantes da DA e outras doenças atópicas (Kutlu et al., 2013; Werfel et al., 2015; Cid et al., 2019). Outros fatores ambientais conhecidos por impactar a DA incluem a dureza da água e contaminantes na água, sabões e detergentes e o uso prolongado de corticosteroides tópicos (Kao et al., 2003; Perkin et al., 2016; Danby et al., 2018).

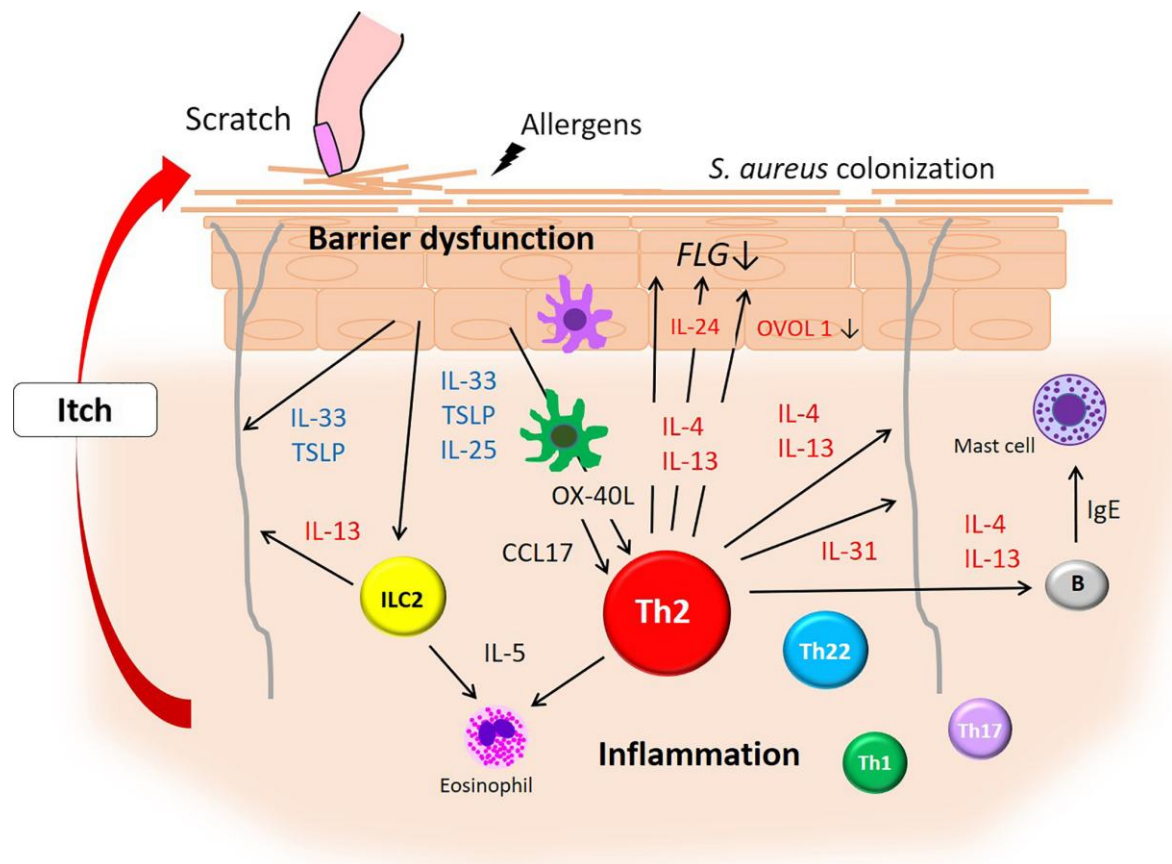


Figura 1 - Patogênese da dermatite atópica. Os queratinócitos com barreira interrompida são produtores potentes de citocinas imunorreguladoras, como a TSLP, IL-25 e IL-33. Essas citocinas induzem uma resposta imune do tipo 2. As citocinas do tipo 2, por outro lado, inibem a função barreira ao regular negativamente a expressão da filagrina (FLG). Além disso, essas citocinas atuam diretamente nos nervos causando coceira, além da indução de inflamação e rompimento da barreira.

Fonte: Nakahara et al., 2020.

Dentre as manifestações clínicas da DA, o prurido intenso é o principal sintoma, o qual pode começar antes mesmo das manifestações das lesões cutâneas. O prurido pode ocorrer durante todo o dia, mas é mais intenso à noite. Em casos graves, os pacientes arranham as áreas da pele lesionada até ocasionar escoriações e sangramento (Hong et al., 2011; Arkwright et al., 2014). Vários

mediadores do prurido e seus receptores correspondentes são relatados como responsáveis pela coceira na DA, incluindo histamina e seus receptores H1 e H4 (H1R e H4R), certas proteases, substância P, endotelina-1, citocinas (TSLP, IL-4, IL-13 e IL-31), receptores ativados por proteases do tipo 2 (PAR-2), receptores de potencial transitório anquirina do tipo 1 (TRPA1) e vanilóide do tipo 1 (TRPV1), entre outros (Darsow et al., 2011; Mollanazar et al., 2016). Os sinais clínicos da DA incluem eritema, pápulas, vesículas, escoriações, crostas, pele seca, rachada ou escamosa. As características e distribuição das lesões são distintas dependendo da idade; em lactentes, o eczema ocorre predominantemente nas bochechas, pescoço, couro cabeludo e tronco, mas não a área da fralda, enquanto que nas crianças mais velhas e nos adultos, as lesões geralmente estão localizadas nas superfícies de flexão das extremidades, dorso das mãos, pescoço e pálpebras (Thomsen, 2014; Nutten, 2015).

A DA causa sofrimento físico e emocional para os pacientes e suas famílias. Especialmente em pacientes pediátricos, a DA pode ter um impacto profundo na qualidade de vida. O prurido noturno ocasiona a perda de sono e concentração, resultando em desempenho escolar diminuído. As lesões cutâneas visíveis podem causar isolamento social, rejeição de colegas e bullying. Também foram encontradas taxas aumentadas de ansiedade e transtornos depressivos em pacientes com DA (Blome et al., 2016).

Existem várias possibilidades terapêuticas para controlar temporariamente os sinais e os sintomas da DA, mas nenhum deles é capaz de curar a doença; assim, os surtos após a suspensão do tratamento são bastante frequentes. A aplicação regular de hidratantes em combinação com corticosteroides tópicos e inibidores de calcineurina tópicos (imunomoduladores, como tacrolimus ou pimecrolimus) e prevenção de fatores de exacerbação compreendem tratamentos básicos para DA. Casos moderados a graves de DA requerem a adição de um tratamento sistêmico e/ou fototerapia ultravioleta. Corticosteroides orais, ciclosporina, metotrexato, micofenolato e azatioprina são alternativas estabelecidas quando o tratamento sistêmico é necessário (Sidbury et al., 2014). No entanto, a variabilidade da resposta do indivíduo e os conhecidos efeitos adversos dessas drogas, tais como atrofia cutânea, supressão do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, imunossupressão, reativação de uma infecção latente, entre outros, são a razão fundamental para procurar novas alternativas terapêuticas que permitam alcançar um melhor controle

da doença com menores riscos de efeitos adversos. O progresso na compreensão da imunopatologia da DA resultou em novas terapias que visam vias específicas com maior eficácia, e com menos efeitos colaterais sistêmicos. Assim, ao longo dos anos recentes, muitas drogas biológicas foram (e ainda estão) sob avaliação, no intuito de abordar de forma mais eficaz e menos tóxica o tratamento da DA. Com base em seu mecanismo de ação, estas terapias biológicas são classificadas em: terapia dirigida contra IgE (Omalizumab), agentes anti IL-4 (Dupilumab) e anti IL-4/IL-13 (Lebrikizumab, Tralokinumab), terapia dirigida contra IL-31 (Nemolizumab), anti IL-12/23 (Ustekinumab), bloqueio de IL-22 (Fezakinumab), terapia dirigida contra TSLP (Tezepelumab), inibidores da fosfodiesterase 4 (Apremilast, Crisaborol) e inibidores das vias JAK-STAT (Tofacitinib) (Deleanu, Nedelea, 2019).

1.2 Sulfeto de hidrogênio (H₂S)

A terapia com banhos de águas minerais contendo enxofre tem sido usada há séculos como procedimento de medicina popular para o tratamento e alívio de várias condições e doenças dermatológicas incluindo acne, rosácea, sarna, dermatite atópica, psoríase e urticária. Exercendo efeitos na pele como anti-inflamatório, queratoplástico, cicatrizante, antipruriginoso, antifúngico e antibacteriano (Shani et al., 1997; Farina et al., 2011; Mazzulla et al., 2013; Joly et al., 2014; Karagülle et al., 2018); tais efeitos foram atribuídos, em parte, à presença de altas concentrações de compostos derivados do enxofre, dentre os quais conta-se o sulfeto de hidrogênio (Matz et al., 2003; Carbajo, Maraver, 2017; Hamidizadeh et al., 2017), presente em concentrações semelhantes às encontradas em fluidos biológicos de mamíferos (i.e., na faixa de 0,3 a 8 mM).

O sulfeto de hidrogênio (H₂S) é um gás incolor, inflamável, solúvel em água e lipídeos com o cheiro característico de ovo podre. Durante várias décadas o H₂S recebeu muita atenção por ser um gás contaminante ambiental altamente tóxico e perigoso para a saúde humana (Smith, Gosselin, 1979; Reiffenstein et al., 1992). Entretanto, desde a detecção de sua presença e a caracterização de sua produção enzimática em mamíferos (Stipanuk, Beck, 1982), e a posterior descoberta de seu papel como um neuromodulador endógeno (Abe, Kimura, 1996), o H₂S emergiu como uma molécula de sinalização em sistemas biológicos, sendo reconhecida como membro da família de gasotransmissores, junto com o óxido nítrico (NO) e o

monóxido de carbono (CO). O H₂S participa na regulação de varias condições fisiológicas e patológicas nos diferentes sistemas, incluindo o sistema nervoso central, cardiovascular, renal, respiratório, digestivo, entre outros (para revisão, vide Cao et al., 2019). Particularmente na pele, o H₂S endógeno participa na regulação de funções importantes como vasodilatação, angiogênese, proliferação celular, apoptose e inflamação (Gobbi et al., 2009; Kutz et al., 2015; Lee et al., 2016; Xie et al., 2016).

O H₂S é facilmente dissolvido em água com uma solubilidade de 80 mM a 37°C. Em solução aquosa o H₂S é um ácido fraco, com constantes de dissociação ácida (pKa) de 6,90 e 11,96. O H₂S pode se dissociar em H⁺ e íon hidrossulfeto (HS⁻), que por sua vez pode se dissociar a H⁺ e íon sulfeto (S²⁻) como mostra a reação seguinte: $H_2S \rightleftharpoons H^+ + HS^- \rightleftharpoons 2H^+ + S^{2-}$. Em sistemas biológicos o H₂S está presente como H₂S e HS⁻, no interior da célula existem quantidades quase iguais de H₂S e HS⁻, e aproximadamente 14% de H₂S e 86% HS⁻ no fluido extracelular e no plasma a 37°C e pH 7,4 (Wang, 2012; Zheng et al., 2015; Cao et al., 2019). O H₂S é uma molécula altamente lipofílica e penetra facilmente por difusão passiva a bicamada lipídica das membranas celulares sem a necessidade de transportadores específicos (Riahi, Rowley, 2014).

A produção endógena de H₂S em mamíferos (Figura 2) ocorre principalmente por vias enzimáticas de metabolização dos aminoácidos L-cisteína e/ou homocisteína, sendo as principais vias aquelas que dependem das enzimas cistationina β-sintase (CBS) e cistationina γ-liase (CSE), que requerem do cofator piridoxal-5'-fosfato (vitamina B₆), e estão envolvidas na via de trans-sulfuração (Wang, 2012; Marutani, Ichinose, 2020). A CBS catalisa a condensação da homocisteína com L-serina para gerar cistationina. Esta, por sua vez é clivada pela CSE produzindo L-cisteína, que pode ser usada como substrato para a produção de H₂S. A CBS produz H₂S a partir de L-cisteína por meio de uma reação de β-eliminação, e a CSE gera H₂S por meio de α,β-eliminação. Além disso, ambas as enzimas podem catalisar a reação de substituição β, que condensa duas moléculas de L-cisteína ou catalisar a reação de condensação da homocisteína com L-cisteína para produzir H₂S (Chen et al., 2004; Chiku et al., 2009; Singh et al., 2009). A CSE também pode usar apenas homocisteína para gerar H₂S e é responsável pela depuração da homocisteína sob condições de hiper-homocisteinemia (Chiku et al.,

2009). A terceira via enzimática para a produção de H₂S envolve a enzima 3-mercaptopiruvato sulfotransferase (3MST) acoplada à cisteino aminotransferase (CAT). O 3MST produz H₂S a partir de 3-mercaptopiruvato (3MP) que é gerado pela CAT a partir de L-cisteína e α -cetoácidos (α -cetobutirato ou α -cetoglutarato), na presença de tiol (-SH) e agentes redutores (Nagahara et al., 2007; Shibuya et al., 2009b). Uma nova via alternativa foi descrita em roedores para a produção endógena de H₂S, a qual usa como substrato o aminoácido D-cisteína envolvendo as enzimas D-amino-oxidase (DAO) e 3MST (Shibuya et al., 2013).

Todas as enzimas estão expressas de forma ampla em vários tecidos, no entanto, as enzimas CBS e DAO são expressas principalmente no sistema nervoso, cérebro e rins (Moore et al., 2003; Kabil et al., 2011; Shibuya et al., 2013), enquanto a CSE é predominantemente expressa no sistema cardiovascular, fígado, intestino delgado e estômago (Ishii et al., 2004; Kabil et al., 2011) e o sistema 3MST/CAT está localizado em neurônios, coração, endotélio vascular, fígado, rins e músculo liso (Nagahara et al., 1998; Shibuya et al., 2009a). As enzimas CBS e CSE estão localizadas no citosol, enquanto a 3MST e CAT estão localizadas tanto no citosol quanto nas mitocôndrias, a DAO é encontrada nos peroxissomos. No entanto, CBS e CSE podem se translocar para as mitocôndrias quando a atividade do 3MST é significativamente suprimida em condições oxidativas, como a hipóxia (Kimura, 2015). Na pele, a expressão proteica das enzimas CSE e 3MST foi confirmada por análise de Western blot (Liu et al., 2014b; Kutz et al., 2015; Greaney et al., 2017), ainda, análises de expressão gênica revelaram a expressão das enzimas CSE e CBS em queratinócitos normais e níveis muito baixos de expressão das enzimas CSE, CBS e 3MST em melanócitos normais (Panza et al., 2015; Lee et al., 2016).

Além das vias enzimáticas, a produção endógena de H₂S pode ocorrer também via processos não-enzimáticos menos conhecidos. O H₂S pode ser gerado a partir de enxofre elementar, persulfetos ou polissulfetos, que são reduzidos pela glutathione envolvendo NADH ou NADPH como doadores de elétrons fornecidos por glicólise (Searcy, Lee, 1998; Szabo, Papapetropoulos, 2017; Cao et al., 2019). O tiosulfato (S₂O₃²⁻) e o sulfito (SO₃²⁻) também podem formar H₂S em uma reação redutora envolvendo o piruvato como doador de hidrogênio (Kolluru et al., 2013). O H₂S também pode ser produzido por uma reação catalisada não enzimaticamente por ferro (Fe³⁺) e vitamina B₆, com a L-cisteína servindo como substrato, essa reação produz piruvato, NH₃ e H₂S (Yang et al., 2019).

Além disso, também foi relatada a produção de H₂S pela microflora enterobacteriana, principalmente por bactérias redutoras de enxofre, a qual influencia significativamente a biodisponibilidade de H₂S no tecido do hospedeiro (Shen et al., 2013).

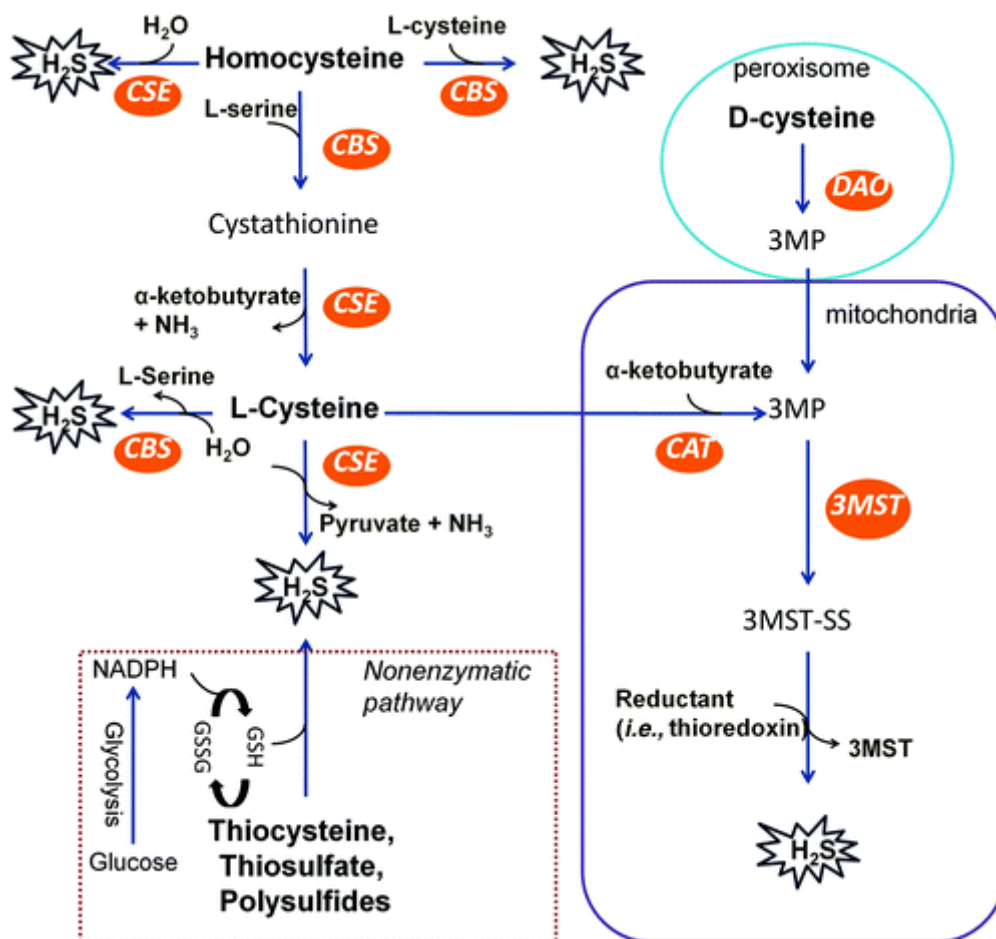


Figura 2 - Biossíntese de H₂S em mamíferos. CBS, cistationina β-sintase; CSE, cistationina γ-liase; 3MST, 3-mercaptopiruvato sulfotransferase; CAT, cisteína aminotransferase; DAO, D-amino-oxidase.

Fonte: Cao et al., 2019.

Após sua síntese, o H₂S pode ser imediatamente liberado para exercer seus efeitos biológicos através da interação com diferentes moléculas sinalizadoras, ou pode ser armazenado no meio intracelular, como ligações de enxofre sulfano (incluem polissulfetos, tiosulfato e enxofre elementar; o H₂S é liberado em condições redutoras) ou acido-lábil enxofre (incluem aglomerados ferro-enxofre e persulfetos; o H₂S é liberado em condições ácidas), e liberado mais tarde em resposta a um sinal fisiológico (Ogasawara et al., 1994; Ishigami et al., 2009; Leskova et al., 2017). Estudos mais recentes revelaram que espécies de enxofre

ligadas (polissulfetos e persulfetos) também podem ser produzidas pela 3MST e possuem vários papéis fisiológicos nas células de mamíferos, como proteção contra o estresse oxidativo e a ativação dos canais TRPA1, entre outros (Koike et al., 2017; Kimura, 2020).

Os mecanismos moleculares fisiológicos pelos quais o H₂S exerce seus efeitos incluem: 1) interações com centros metálicos das proteínas, através da redução e/ou ligação direta do H₂S às frações heme nas proteínas alvo, como citocromo c oxidase, hemoglobina, mioglobina e mieloperoxidase, resultando na formação de sulfheme (Pietri et al., 2011; Ríos-González et al., 2014; Pálinkás et al., 2015); 2) papel antioxidante, seja por eliminação direta de ROS ou de espécies reativas de nitrogênio (RNS) como peroxinitrito, peróxido de hidrogênio e superóxido, ou indiretamente através da estimulação da síntese de glutatona e ativação da expressão de proteínas antioxidantes conduzida pelo fator de transcrição Nrf2, como a tioredoxina (Belowski, 2019; Murphy et al., 2019); 3) persulfidação de proteínas (também chamado S-sulfidração), pelo qual um grupo tiol (-SH) de uma cisteína reativa é modificado para um grupo persulfeto (-SSH), resultando em alterações conformacionais nas proteínas alvo para modificar sua atividade (Mustafa et al., 2009, 2011; Filipovic, 2015). A persulfidação mediada por H₂S foi encontrada em várias proteínas celulares e enzimas, e representa o principal mecanismo de sinalização do H₂S. Os exemplos de proteínas modificadas desta forma incluem canais de potássio sensíveis a ATP (K_{ATP}) e canais de potássio ativados por cálcio (K_{Ca}; Mustafa et al., 2011), canais de potássio dependentes de voltagem Kv4.3 (Liu et al., 2014a), proteína 1 associada a ECH semelhante a Kelch (Keap1; Yang et al., 2013), subunidade p65 do fator nuclear-κB (NF-κB; Sen et al., 2012), gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (GAPDH; Mustafa et al., 2009), subunidade α da ATP sintase (Módis et al., 2016), NO sintase endotelial (eNOS; Mazza et al., 2013), proteína quinase G (PKG; Stubbert et al., 2014), MAPK/ERK quinase (MEK1; Zhao et al., 2014), lactato desidrogenase A (Untereiner et al., 2017) e canais catiônicos TRP (Liu et al., 2014c). Recentemente foi sugerido que persulfetos e polissulfetos são mais nucleofílicos do que H₂S e seriam mais eficazes na persulfidação (Murphy et al., 2019).

O acúmulo de H₂S seria tóxico para os órgãos, devido a seu efeito inibitório do Complexo mitocondrial IV (Nicholls et al., 2013); portanto, existem processos de oxidação rigidamente regulados para seu catabolismo. O mecanismo conhecido

mais eficiente de oxidação de H₂S em células de mamíferos ocorre nas mitocôndrias e requer a ação coordenada das enzimas sulfeto-quinona oxidoreductase (SQR), persulfeto dioxigenase (ETHE1), tiosulfato sulfeniltransferase (rodanase) e sulfito oxidase, e consiste em uma série de reações que catalisam sequencialmente a oxidação das espécies sulfeto (S²⁻/HS⁻) a tiosulfato e sulfato, envolvendo a participação da coenzima Q (Marutani, Ichinose, 2020), esta via também foi descrita nos fibroblastos da pele humana (Ziosi et al., 2017). O H₂S também pode ser oxidado por meio de processos químicos, como a oxidação direta de H₂S em tiosulfato na presença de O₂ e metais de transição (Chen; Morris, 1972). Em mamíferos, a eliminação das substâncias mencionadas ocorre principalmente pela urina, mas também pela exalação dos pulmões, fezes e flatos.

Considerando os extensos efeitos fisiológicos do H₂S nos diferentes tecidos, vários compostos doadores de H₂S estão sendo sintetizados especificamente para fornecer H₂S terapêutico aos tecidos, para seu uso como ferramentas biológicas e como terapêutica potencial. Com base nos mecanismos e velocidade de liberação de H₂S, os doadores de H₂S mais comumente usados podem ser divididos nos seguintes grupos: 1) substâncias inorgânicas ou sais de sulfeto, tais como hidrossulfeto de sódio (NaHS) e sulfeto de sódio (Na₂S) que hidrolisam imediatamente após a dissolução em água, fornecendo acesso direto e instantâneo às formas biologicamente relevantes de sulfeto (H₂S e HS⁻; dependendo do pH), e são assim chamados de “liberadores espontâneos”, porém, existem desvantagens para estes doadores, sua meia-vida curta, liberação rápida e descontrolada e não possuem capacidade de direcionamento, essas deficiências levaram à busca de doadores de H₂S mais controlados (Zheng et al., 2015; Szabo, Papapetropoulos, 2017; Powell et al., 2018); 2) doadores de liberação lenta, são compostos de natureza orgânica representados pelo composto GYY4137, os quais também podem liberar H₂S após a hidrólise, e quando comparados com os sais de sulfeto fornecem H₂S de forma muito mais lenta e sustentada (Li et al., 2008; Lee et al., 2011); 3) doadores com perfis de liberação regulada, incluindo doadores dependentes de pH (por exemplo os compostos JK-1 e JK-2), doadores ativados por oxidantes, onde a liberação de H₂S é desencadeada pelo estresse oxidativo (doadores a base de tiocarbamato), doadores direcionados às mitocôndrias que consiste em um cátion lipofílico trifenilfosfônio acoplado a uma porção doadora de H₂S (por exemplo os compostos AP39 e AP123), entre outros (Szczyzny et al., 2014; Gerő et al., 2016;

Kang et al., 2016; Zhao, Pluth, 2016); 4) drogas híbridas (tais como os anti-inflamatórios não esteroides - AINEs ou esteroides - AIEs liberadores de H₂S) os quais apresentam grupos doadores de H₂S (tais como o DTT - 1,2-ditiol-3-tiona, ADT - anetol ditioleiona ou TBZ - tiobenzamida) conjugados às moléculas dos anti-inflamatórios tradicionais, contando-se os compostos ATB337 (S-Diclofenaco), ACS14 e ATB340 (S-Aspirina), ATB346 (S-naproxeno) e ATB352 (S-cetoprofeno), desenvolvidas com o fim de melhorar o perfil terapêutico (segurança e/ou eficácia) dos medicamentos utilizados clinicamente (Zhao et al., 2015; Zheng et al., 2015; Szabo, Papapetropoulos, 2017).

Os efeitos da administração de H₂S exógeno foram examinados em numerosos estudos pré-clínicos, principalmente como anti-inflamatório (Zanardo et al., 2006; Ekundi-Valentim et al., 2010, 2013; Herrera et al., 2015), antinociceptivo (Distrutti et al., 2006a; Costa et al., 2020), antiagregante, anticoagulante e antitrombótico (Zagli et al., 2007; Kram et al., 2013; Grambow et al., 2014), anticancerígeno (Lee et al., 2011; Duan et al., 2015), imunomodulador (Cao et al., 2014; Yang et al., 2015), inibidor do estresse oxidativo (Yan et al., 2006; Yonezawa et al., 2007), na neuromodulação (Abe, Kimura, 1996), vasorregulação (Zhao et al., 2001; Laggner et al., 2007; Drapala et al., 2017), no tratamento da asma (Chen et al., 2009; Benetti et al., 2013; Campos et al., 2016; Mendes et al., 2019), dentre outros.

Alguns dos compostos doadores de H₂S foram testados em ensaios clínicos. Wallace et al. (2020) mostraram em um ensaio clínico de Fase 2B que o composto híbrido ATB-346, um anti-inflamatório não esteroide liberador de H₂S derivado do naproxeno, resultou em uma elevação significativa do H₂S plasmático e foi igualmente eficaz na inibição da atividade da cicloxigenase (COX), mas com menos danos gastrointestinais do que a droga parental naproxeno. Polhemus et al. (2015), em um ensaio clínico de Fase 1, mostram que uma mistura de várias moléculas ativas (SG1002) cujo principal constituinte é uma molécula α-enxofre circular de oito membros, aumentou significativamente os níveis circulantes de H₂S e nitrito plasmático em indivíduos saudáveis e pacientes com insuficiência cardíaca, além de ser bem tolerado e seguro em todas as doses testadas. Um ensaio clínico de Fase 2 controlado por placebo está atualmente em fase de planejamento.

1.3 Implicações do H₂S na fisiopatologia da pele e doenças dermatológicas

Há uma quantidade crescente de literatura associando o H₂S com diferentes condições e doenças de pele (para revisão, vide Coavoy-Sánchez et al., 2020).

Estudos prévios do nosso grupo demonstraram que o H₂S desempenha um papel importante na resposta pruritogênica e inflamatória. Rodrigues et al. (2017) revelaram que a inibição da síntese endógena de H₂S com β-ciano-L-alanina (um inibidor de CSE/CBS) resulta na potenciação significativa do comportamento de coçar induzido pelo composto 48/80 (degranulador de mastócitos) em camundongos, junto com o aumento do recrutamento de neutrófilos, medido pela atividade da mieloperoxidase. Além disso, descrevem importantes ações terapêuticas de doadores de H₂S no prurido histaminérgico e não-histaminérgico em camundongos. Na via histaminérgica, o prurido induzido pela injeção intradérmica de histamina ou do composto 48/80 é reduzido pelo Na₂S e o reagente de Lawesson, e este efeito é mediado em parte pela estabilização dos mastócitos (Rodrigues et al., 2017). Na via não-histaminérgica, o prurido secundário à ativação dos receptores PAR-2 é efetivamente reduzido pelo NaHS, atuando através da abertura dos canais K_{ATP} e envolvendo a participação do NO endógeno de uma forma independente de GMPc (Coavoy-Sánchez et al., 2016).

Utilizando uma linhagem celular derivada de queratinócitos de pele humana (células HaCaT), Yang et al. (2011) demonstraram que a aplicação de NaHS resulta em redução significativa das lesões celulares e da resposta inflamatória induzidas pelo cloreto de cobalto (II) em um modelo de lesão celular induzida por hipoxia química, e este efeito do NaHS foi associado à diminuição da geração de ROS e redução da produção de IL-1β, IL-6 e IL-8. Além disso, o NaHS reduziu significativamente a superexpressão de COX-2, produção de protaglandina E2 (PGE2) e ativação de NF-κB.

Na psoríase, uma doença inflamatória crônica da pele, Alshorafa et al. (2012) revelaram que os níveis de H₂S no soro de pacientes com psoríase progressiva crônica são mais baixos do que aqueles encontrados em indivíduos saudáveis, e estão negativamente correlacionados com a gravidade da psoríase. Ainda, o tratamento com NaHS em células HaCaT estimuladas com TNF-α, resultou na inibição significativa dos níveis de IL-6 e IL-8 de maneira dependente da dose, via supressão da ativação de p38, ERK e NF-κB. Em uma pesquisa anterior, Mirandola

et al. (2011) verificaram que, tanto nas lesões psoriáticas primárias quanto nos queratinócitos humanos, o H₂S (NaHS) inibe a produção de IL-17 e IL-22 e diminui a secreção de IL-8 para atenuar a inflamação via inibição da fosforilação de ERK. Em consonância com esses estudos, nosso grupo observou em um modelo murino de psoríase (induzida pela aplicação tópica do imunomodulador imiquimod), que os níveis de H₂S endógeno estão diminuídos em pele de camundongos com psoríase experimental (Rodrigues, 2018), e que tanto a administração sistêmica quanto tópica com o doador de H₂S de liberação lenta GYY4137 teve efeitos benéficos controlando o prurido, reduzindo o recrutamento de neutrófilos para os locais da lesão e melhorando o índice de gravidade clínica da doença (Schmidt et al., 2015; Rodrigues, 2018).

Vários estudos reconhecem o H₂S como uma molécula que acelera o processo de cicatrização de feridas cutâneas, promovendo a angiogênese e restaurando a estrutura anatômica e a função da pele lesada. Papapetropoulos et al. (2009) concluem que o H₂S endógeno é um fator pró-cura, pois este processo se mostrou significativamente atrasado em camundongos CSE^{-/-}. Nesse estudo, os camundongos tiveram 5% de sua área de superfície corporal total queimada por escaldamento e, ao longo do período de observação, as áreas da ferida em camundongos CSE^{+/+} foram significativamente menores do que em camundongos CSE^{-/-}. Além disso, a administração tópica de NaHS acelerou o processo de fechamento de feridas de pele de rato causadas por queimaduras. Empregando este mesmo modelo de queimadura de pele em ratos, um estudo anterior mostrou que a administração subcutânea do doador de H₂S IK-1001, melhorou significativamente a re-epitelização da área lesada (Pyiochou et al., 2008). Estudos de Liu et al. (2014b) detectaram que a expressão de CSE se encontrava diminuída em úlceras de pé de pacientes portadores de diabetes e que camundongos diabéticos tipo 2 db/db tratados intraperitonealmente com os doadores H₂S, NaHS e TBZ, mostraram melhora significativa na cicatrização de feridas por meio da restauração das funções das células progenitoras endoteliais e ativação da angiopoietina-1.

Outras pesquisas também demonstraram que o H₂S está envolvido na regulação do câncer de pele. Trabalhando com amostras de melanoma humano, Panza et al. (2015) mostraram que em comparação com os melanócitos epidérmicos humanos normais, a expressão de CSE está aumentada em células de melanoma, os níveis mais altos de expressão estão em tumores primários, menores em lesões

metastáticas e quase silencioso em metástases não linfonodais. Os doadores de H₂S inibem a proliferação das células de melanoma promovendo apoptose, diminuindo a expressão das proteínas anti-apoptóticas, suprimindo a atividade de NF-κB e reduzindo a fosforilação de AKT e ERK (Panza et al., 2015; De Cicco et al., 2016, 2017).

1.4 Justificativa

Apesar do aumento no número de pacientes com DA nos últimos anos, a patogênese da doença ainda não foi totalmente elucidada. As drogas anti-inflamatórias e imunossupressoras, como os corticosteroides, são eficazes para o tratamento da DA, no entanto, o uso prolongado dessas drogas está associado a reações adversas, tais como atrofia cutânea, supressão do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, hipertensão, dislipidemia, hiperglicemia e imunossupressão (Coutinho, Chapman, 2011). Desta forma, é necessária a busca contínua de alternativas terapêuticas ou complementares que ofereçam mais eficácia e segurança. O H₂S é um mediador gasoso com funções fisiológicas e fisiopatológicas em muitos órgãos, tem sido demonstrado que o H₂S é produzido também na pele e participa na regulação da inflamação e prurido, na citoproteção, promoção de angiogênese, cicatrização de feridas, e outros (Coavoy-Sánchez et al., 2020). O H₂S foi explorado na concepção de novos AINEs (AINEs liberadores de H₂S). Um derivado liberador de H₂S do naproxeno, ATB-346 mostrou ser tão eficaz quanto o fármaco original na redução da inflamação, enquanto produz significativamente menos efeitos adversos gastrointestinais (Wallace et al., 2010, 2020). Associações de doadores de H₂S com corticosteroides também têm sido propostas, um estudo em células expostas ao estresse oxidativo, sugere que doadores de H₂S podem potencializar o efeito anti-inflamatório da dexametasona quando administrados concomitantemente (Sun et al., 2015). Tendo em consideração o potencial terapêutico deste tipo de associações, acreditamos que moléculas híbridas de corticosteroides com doadores de H₂S como a dexametasona-TBZ e dexametasona-ADT, podem ser promissores agentes terapêuticos para o controle do prurido e reações inflamatórias cutâneas e sistêmicas características da DA, seja potencializando o efeito farmacológico desejado ou reduzindo a incidência de efeitos adversos. Por outro lado, dado o fato de que a DA está associada com o estresse oxidativo e com alterações da função

mitocondrial (Sivaranjani et al., 2013; Ahn, 2014; Feichtinger et al., 2014; Iyer et al., 2017), e dado o potencial terapêutico do H₂S, cremos que doadores de H₂S específicos para mitocôndria, como AP39 e RT01 podem servir para melhorar a função mitocondrial e exercer um efeito protetor na DA. A análise da participação das moléculas envolvidas na patogênese da DA e na decorrência do tratamento com os doadores de H₂S (híbridos e mitocondriais), é ponto fundamental para o aprofundamento do conhecimento sobre a farmacologia destes compostos.

1.5 Objetivos

- a) Avaliar comparativamente os efeitos da dexametasona em relação aos efeitos das moléculas híbridas doadoras de H₂S, dexametasona-TBZ e dexametasona-ADT, e suas respectivas porções liberadoras, 4-hidroxi-tiobenzamida (TBZ) e anetol ditioletona (ADT-OH) no modelo de DA induzida pela administração epicutânea do hapteno 2,4-dinitroclorobenzeno (DNCB) em camundongos, bem como investigar alguns dos mecanismos farmacológicos envolvidos e possíveis efeitos adversos.
- b) Investigar o efeito da administração dos doadores de H₂S de ação mitocondrial, AP39 e RT01 no desenvolvimento e sinais clínicos da DA induzida pela administração epicutânea de DNBCB em camundongos, bem como investigar alguns dos possíveis mecanismos farmacológicos envolvidos.

Estratégias

- Padronizar o modelo experimental da DA induzida por DNBCB em camundongos.
- Comparar os efeitos da dexametasona com os derivados liberadores de H₂S (doadores híbridos), dexametasona-TBZ e dexametasona-ADT, e suas respectivas porções liberadoras, TBZ e ADT-OH sobre o prurido, lesões da pele, edema de orelha, eosinofilia e esplenomegalia induzidos por DNBCB em camundongos.
- Avaliar os efeitos dos doadores de H₂S de ação mitocondrial, AP39 e RT01 sobre o prurido, lesões da pele, edema de orelha, eosinofilia e esplenomegalia induzidos por DNBCB em camundongos.
- Analisar as concentrações circulantes de IgE total, como também as concentrações na pele das citocinas IL-4, IL-5 e IL-13, e da quimiocina eotaxina-1

(CCL11), e os efeitos do tratamento com os doadores de H₂S sobre estes mediadores.

- Investigar os efeitos da doença sobre a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase, glutathione (G) reductase (GR), peroxidase (GPx) e S-transferase (GST) e na expressão de marcadores de estresse oxidativo (resíduos proteicos de nitrotirosina, proteínas carboniladas) na pele e os efeitos dos doadores de H₂S sobre estes parâmetros.
- Analisar a produção endógena de H₂S, assim como a expressão proteica das enzimas CSE, CBS e 3MST na pele de camundongos.
- Quantificar os níveis de glicose e os parâmetros bioquímicos hepáticos em plasma de camundongos e os efeitos dos doadores de H₂S (híbridos e suas respectivas porções liberadoras) sobre estes.

5 CONCLUSÕES

Conclui-se que:

- a) A presença das porções liberadoras de H₂S (TBZ ou ADT-OH) na molécula da dexametasona, não interfere com os efeitos benéficos deste corticoide, e apresenta um avanço sobre a molécula parental, podendo estimular a atividade das defesas antioxidantes no tratamento da DA e prevenir a hiperglicemia associada ao uso de corticosteroides. Sugerindo que essa associação possui um grande potencial terapêutico para ser empregado na prática clínica.
- b) A entrega específica de H₂S na mitocôndria por meio do doador AP39, pode suprimir os sinais clínicos da DA induzida por DNCB em camundongos através da modulação imunológica e manutenção do equilíbrio redox, e pode ser um potencial opção terapêutica para o tratamento de pacientes com DA.

REFERÊNCIAS*

- Abe K, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. *J Neurosci*. 1996 Feb 1;16(3):1066–71.
- Agarwal SK, Marshall JD. Dexamethasone promotes type 2 cytokine production primarily through inhibition of type 1 cytokines. *J Interf Cytokine Res*. 2001;21(3):147–55.
- Ahn K. The role of air pollutants in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2014 Nov;134(5):993–9; discussion 1000.
- Alshorafa AKH, Guo Q, Zeng F, Chen M, Tan G, Tang Z, et al. Psoriasis is associated with low serum levels of hydrogen sulfide, a potential anti-inflammatory molecule. *Tohoku J Exp Med*. 2012;228(4):325–32.
- Alves NO, da Silva GT, Weber DM, Luchese C, Wilhelm EA, Fajardo AR. Chitosan/poly(vinyl alcohol)/bovine bone powder biocomposites: A potential biomaterial for the treatment of atopic dermatitis-like skin lesions. *Carbohydr Polym*. 2016 Sep 5;148:115–24.
- Amerio P, Frezzolini A, Feliciani C, Verdolini R, Teofoli P, Pità O, et al. Eotaxins and CCR3 Receptor in Inflammatory and Allergic Skin Diseases: Therapeutical Implications. *Curr Drug Target -Inflamm Allergy*. 2005 Mar 25;2(1):81–94.
- Arkwright PD, Stafford JC, Sharma V. Atopic dermatitis in children. *J allergy Clin Immunol Pract*. 2014 Jul;2(4):388–95.
- Barnes PJ. Corticosteroids, IgE, and atopy. Vol. 107, *Journal of Clinical Investigation*. The American Society for Clinical Investigation; 2001. p. 265–6.
- Beltowski J. Synthesis, metabolism, and signaling mechanisms of hydrogen sulfide: An overview. In: *Methods in Molecular Biology*. Humana Press Inc.; 2019. p. 1–8.
- Benetti LR, Campos D, Gurgueira SA, Vercesi AE, Guedes CEV, Santos KL, et al. Hydrogen sulfide inhibits oxidative stress in lungs from allergic mice in vivo. *Eur J Pharmacol*. 2013 Jan 5;698(1–3):463–9.
- Bertino L, Guarneri F, Cannavò SP, Casciaro M, Pioggia G, Gangemi S. Oxidative stress and atopic dermatitis. Vol. 9, *Antioxidants*. MDPI AG; 2020.
- Blome C, Radtke MA, Eissing L, Augustin M. Quality of Life in Patients with Atopic Dermatitis: Disease Burden, Measurement, and Treatment Benefit. Vol. 17, *American Journal of Clinical Dermatology*. Springer International Publishing; 2016. p. 163–9.
- Boniface K, Bernard F-X, Garcia M, Gurney AL, Lecron J-C, Morel F. IL-22 inhibits

* De acordo com:

International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to Biomedical Journal: sample references. [Cited 2011 Jul 15]. Available from: <http://www.icmje.org>

epidermal differentiation and induces proinflammatory gene expression and migration of human keratinocytes. *J Immunol.* 2005 Mar 15;174(6):3695–702.

Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976 May 7;72:248–54.

Brandt EB. Th2 Cytokines and Atopic Dermatitis. *J Clin Cell Immunol.* 2011;02(03).

Brown SJ, McLean WHI. One remarkable molecule: Filaggrin. Vol. 132, *Journal of Investigative Dermatology.* Nature Publishing Group; 2012. p. 751–62.

Cabanillas B, Novak N. Atopic dermatitis and filaggrin. Vol. 42, *Current Opinion in Immunology.* Elsevier Ltd; 2016. p. 1–8.

Cai J, Shi X, Wang H, Fan J, Feng Y, Lin X, et al. Cystathionine γ lyase-hydrogen sulfide increases peroxisome proliferator-activated receptor γ activity by sulfhydration at C139 site thereby promoting glucose uptake and lipid storage in adipocytes. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Biol Lipids.* 2016 May 1;1861(5):419–29.

Campion M, Smith L, Gatault S, Métais C, Buddenkotte J, Steinhoff M. Interleukin-4 and interleukin-13 evoke scratching behaviour in mice. Vol. 28, *Experimental Dermatology.* Blackwell Publishing Ltd; 2019. p. 1501–4.

Campos D, Ravagnani FG, Gurgueira SA, Vercesi AE, Teixeira SA, Costa SKP, et al. Increased glutathione levels contribute to the beneficial effects of hydrogen sulfide and inducible nitric oxide inhibition in allergic lung inflammation. *Int Immunopharmacol.* 2016 Oct;39:57–62.

Cao H, Zhou X, Zhang J, Huang X, Zhai Y, Zhang X, et al. Hydrogen sulfide protects against bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats by inhibiting NF- κ B expression and regulating Th1/Th2 balance. *Toxicol Lett.* 2014 Jan 30;224(3):387–94.

Cao X, Ding L, Xie ZZ, Yang Y, Whiteman M, Moore PK, et al. A Review of Hydrogen Sulfide Synthesis, Metabolism, and Measurement: Is Modulation of Hydrogen Sulfide a Novel Therapeutic for Cancer? Vol. 31, *Antioxidants and Redox Signaling.* Mary Ann Liebert Inc.; 2019. p. 1.

Carbajo JM, Maraver F. Sulphurous Mineral Waters: New Applications for Health. *Evidence-Based Complement Altern Med.* 2017;2017:1–11.

Carlberg I, Mannervik B. Purification and characterization of the flavoenzyme glutathione reductase from rat liver. *J Biol Chem.* 1975;250(14):5475–80.

Cevikbas F, Wang X, Akiyama T, Kempkes C, Savinko T, Antal A, et al. A sensory neuron-expressed IL-31 receptor mediates T helper cell-dependent itch: Involvement of TRPV1 and TRPA1. *J Allergy Clin Immunol.* 2014 Feb;133(2):448-460.e7.

Chan C-C, Liou C-J, Xu P-Y, Shen J-J, Kuo M-L, Len W-B, et al. Effect of

dehydroepiandrosterone on atopic dermatitis-like skin lesions induced by 1-chloro-2,4-dinitrobenzene in mouse. *J Dermatol Sci*. 2013 Nov;72(2):149–57.

Chen KY, Morris JC. Kinetics of Oxidation of Aqueous Sulfide by O₂. *Environ Sci Technol*. 1972 Jun 1;6(6):529–37.

Chen X, Jhee K-H, Kruger WD. Production of the neuromodulator H₂S by cystathionine beta-synthase via the condensation of cysteine and homocysteine. *J Biol Chem*. 2004 Dec 10;279(50):52082–6.

Chen Y-H, Wu R, Geng B, Qi Y-F, Wang P-P, Yao W-Z, et al. Endogenous hydrogen sulfide reduces airway inflammation and remodeling in a rat model of asthma. *Cytokine*. 2009 Feb;45(2):117–23.

Chiku T, Padovani D, Zhu W, Singh S, Vitvitsky V, Banerjee R. H₂S Biogenesis by Human Cystathionine γ -Lyase Leads to the Novel Sulfur Metabolites Lanthionine and Homolanthionine and Is Responsive to the Grade of Hyperhomocysteinemia. *J Biol Chem*. 2009 Apr 24;284(17):11601–12.

Chung J, Oh S-Y, Shin Y-K. Association of glutathione-S-transferase polymorphisms with atopic dermatitis risk in preschool age children. *Clin Chem Lab Med*. 2009 Jan 1;47(12):1475–81.

De Cicco P, Panza E, Armogida C, Ercolano G, Taglialatela-Scafati O, Shokoohinia Y, et al. The Hydrogen Sulfide Releasing Molecule Acetyl Deacylasadisulfide Inhibits Metastatic Melanoma. *Front Pharmacol*. 2017 Feb 27;8:65.

De Cicco P, Panza E, Ercolano G, Armogida C, Sessa G, Pirozzi G, et al. ATB-346, a novel hydrogen sulfide-releasing anti-inflammatory drug, induces apoptosis of human melanoma cells and inhibits melanoma development in vivo. *Pharmacol Res*. 2016 Dec;114:67–73.

Cid BJ, Perez-Mateluna G, Iturriaga C, Zambrano MJ, Vives MI, Valenzuela PM, et al. Is there an association between indoor allergens and the severity of atopic dermatitis? *Int J Dermatol*. 2019 Apr 1;58(4):433–9.

Coavoy-Sánchez SA, Costa SKP, Muscará MN. Hydrogen sulfide and dermatological diseases. *Br J Pharmacol*. 2020 Feb 1;177(4):857–65.

Coavoy-Sánchez SA, Rodrigues L, Teixeira SA, Soares AG, Torregrossa R, Wood ME, et al. Hydrogen sulfide donors alleviate itch secondary to the activation of type-2 protease activated receptors (PAR-2) in mice. *Pharmacol Res*. 2016 Nov 1;113:686–94.

Corsello T, Komaravelli N, Casola A. Role of hydrogen sulfide in nrf2-and sirtuin-dependent maintenance of cellular redox balance. Vol. 7, *Antioxidants*. MDPI AG; 2018.

Costa SKPF, Muscara MN, Allain T, Dallazen J, Gonzaga L, Buret AG, et al. Enhanced Analgesic Effects and Gastrointestinal Safety of a Novel, Hydrogen

Sulfide-Releasing Anti-Inflammatory Drug (ATB-352): A Role for Endogenous Cannabinoids. *Antioxid Redox Signal*. 2020 Mar 13;

Coutinho AE, Chapman KE. The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights. Vol. 335, *Molecular and Cellular Endocrinology*. Elsevier; 2011. p. 2–13.

Cruz-Topete D, Cidlowski JA. One hormone, two actions: Anti- And pro-inflammatory effects of glucocorticoids. *Neuroimmunomodulation*. 2014 Nov 7;22(1–2):20–32.

Danby SG, Brown K, Wigley AM, Chittock J, Pyae PK, Flohr C, et al. The Effect of Water Hardness on Surfactant Deposition after Washing and Subsequent Skin Irritation in Atopic Dermatitis Patients and Healthy Control Subjects. *J Invest Dermatol*. 2018 Jan 1;138(1):68–77.

Darsow U, Pfab F, Valet M, Huss-Marp J, Behrendt H, Ring J, et al. Pruritus and atopic dermatitis. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2011 Dec 5;41(3):237–44.

DaVeiga SP. Epidemiology of atopic dermatitis: a review. *Allergy asthma Proc*. 2012 May 1;33(3):227–34.

David Boothe W, Tarbox JA, Tarbox MB. Atopic Dermatitis: Pathophysiology. Vol. 1027, *Advances in experimental medicine and biology*. Springer International Publishing AG; 2017. p. 21–37.

Deleanu D, Nedelea I. Biological therapies for atopic dermatitis: An update (review). *Exp Ther Med*. 2019 Feb 1;17(2):1061–7.

Distrutti E, Sediari L, Mencarelli A, Renga B, Orlandi S, Antonelli E, et al. Evidence that hydrogen sulfide exerts antinociceptive effects in the gastrointestinal tract by activating KATP channels. *J Pharmacol Exp Ther*. 2006a Jan;316(1):325–35.

Distrutti E, Sediari L, Mencarelli A, Renga B, Orlandi S, Russo G, et al. 5-Amino-2-hydroxybenzoic acid 4-(5-thioxo-5H-[1,2]dithiol-3yl)-phenyl ester (ATB-429), a hydrogen sulfide-releasing derivative of mesalamine, exerts antinociceptive effects in a model of postinflammatory hypersensitivity. *J Pharmacol Exp Ther*. 2006b;319(1):447–58.

Dold S, Wjst M, Von Mutius E, Reitmeir P, Stiepel E. Genetic risk for asthma, allergic rhinitis, and atopic dermatitis. *Arch Dis Child*. 1992;67(8):1018–22.

Drapala A, Koszelewski D, Tomasova L, Ostaszewski R, Grman M, Ondrias K, et al. Parenteral Na₂S, a fast-releasing H₂S donor, but not GYY4137, a slow-releasing H₂S donor, lowers blood pressure in rats. *Acta Biochim Pol*. 2017;64(3):561–6.

Druilhe A, Létuvé S, Pretolani M. Glucocorticoid-induced apoptosis in human eosinophils: Mechanisms of action. Vol. 8, *Apoptosis*. Apoptosis; 2003. p. 481–95.

Duan F, Li Y, Chen L, Zhou X, Chen J, Chen H, et al. Sulfur inhibits the growth of androgen-independent prostate cancer in vivo. *Oncol Lett*. 2015 Jan 1;9(1):437–41.

Ekundi-Valentim E, Mesquita FP, Santos KT, de Paula MAV, Florenzano J, Zanoni CI, et al. A comparative study on the anti-inflammatory effects of single oral doses of naproxen and its hydrogen sulfide (H₂S)-releasing derivative ATB-346 in rats with carrageenan-induced synovitis. *Med Gas Res.* 2013 Nov 16;3(1):24.

Ekundi-Valentim E, Santos KT, Camargo EA, Denadai-Souza A, Teixeira SA, Zanoni CI, et al. Differing effects of exogenous and endogenous hydrogen sulphide in carrageenan-induced knee joint synovitis in the rat. *Br J Pharmacol.* 2010 Apr;159(7):1463–74.

Farina S, Gisondi P, Zanoni M, Pace M, Rizzoli L, Baldo E, et al. Balneotherapy for atopic dermatitis in children at Comano spa in Trentino, Italy. *J Dermatolog Treat.* 2011 Dec 22;22(6):366–71.

Feichtinger RG, Sperl W, Bauer JW, Kofler B. Mitochondrial dysfunction: a neglected component of skin diseases. *Exp Dermatol.* 2014 Sep;23(9):607–14.

Filipovic MR. Persulfidation (S-sulfhydration) and H₂S. *Handb Exp Pharmacol.* 2015;230:29–59.

Fossati P, Prencipe L, Berti G. Use of 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. *Clin Chem.* 1980 Feb;26(2):227–31.

Frew AJ. Allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2010 Feb 1;125(2 SUPPL. 2):S306–13.

Gandhi NA, Bennett BL, Graham NMH, Pirozzi G, Stahl N, Yancopoulos GD. Targeting key proximal drivers of type 2 inflammation in disease. Vol. 15, *Nature Reviews Drug Discovery.* Nature Publishing Group; 2016. p. 35–50.

Gerő D, Torregrossa R, Perry A, Waters A, Le-Trionnaire S, Whatmore JL, et al. The novel mitochondria-targeted hydrogen sulfide (H₂S) donors AP123 and AP39 protect against hyperglycemic injury in microvascular endothelial cells in vitro. *Pharmacol Res.* 2016 Nov;113(Pt A):186–98.

Gobbi G, Ricci F, Malinverno C, Carubbi C, Pambianco M, Panfilis G de, et al. Hydrogen sulfide impairs keratinocyte cell growth and adhesion inhibiting mitogen-activated protein kinase signaling. *Lab Invest.* 2009 Sep 22;89(9):994–1006.

Grambow E, Mueller-Graf F, Delyagina E, Frank M, Kuhla A, Vollmar B. Effect of the hydrogen sulfide donor GYY4137 on platelet activation and microvascular thrombus formation in mice. *Platelets.* 2014;25(3):166–74.

Greaney JL, Kutz JL, Shank SW, Jandu S, Santhanam L, Alexander LM. Impaired Hydrogen Sulfide-Mediated Vasodilation Contributes to Microvascular Endothelial Dysfunction in Hypertensive Adults. *Hypertens (Dallas, Tex 1979).* 2017 May;69(5):902–9.

Guo W, Li D, You V, Li W, Hu B, Zhang S, et al. Cystathionine γ -lyase deficiency aggravates obesity-related insulin resistance via FoxO1-dependent hepatic gluconeogenesis. *FASEB J*. 2019 Mar 1;33(3):4212–24.

Gutowska-Owsiak D, Schaupp AL, Salimi M, Taylor S, Ogg GS. Interleukin-22 downregulates filaggrin expression and affects expression of profilaggrin processing enzymes. *Br J Dermatol*. 2011 Sep;165(3):492–8.

Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem*. 1974;249(22):7130–9.

Hamidizadeh N, Simaeetabar S, Handjani F, Ranjbar S, Moghadam MG, Parvizi MM. Composition of minerals and trace elements at Mamasani thermal source: A possible preventive treatment for some skin diseases. *J Educ Health Promot*. 2017;6:110.

Han N-R, Moon P-D, Jeong H-J, Kim H-M. Hydrogen sulfide diminishes the levels of thymic stromal lymphopoietin in activated mast cells. *Arch Dermatol Res*. 2016 Mar 20;308(2):103–13.

Herrera BS, Coimbra LS, da Silva AR, Teixeira SA, Costa SKP, Wallace JL, et al. The H₂S-releasing naproxen derivative, ATB-346, inhibits alveolar bone loss and inflammation in rats with ligature-induced periodontitis. *Med Gas Res*. 2015;5(1):4.

Hine C, Harputlugil E, Zhang Y, Ruckenstuhl C, Lee BC, Brace L, et al. Endogenous hydrogen sulfide production is essential for dietary restriction benefits. *Cell*. 2015 Jan 15;160(1–2):132–44.

Hong J, Buddenkotte J, Berger TG, Steinhoff M. Management of itch in atopic dermatitis. *Semin Cutan Med Surg*. 2011 Jun;30(2):71–86.

Howell MD, Kim BE, Gao P, Grant A V, Boguniewicz M, Debenedetto A, et al. Cytokine modulation of atopic dermatitis filaggrin skin expression. *J Allergy Clin Immunol*. 2007 Jul;120(1):150–5.

Hsieh CS, Macatonia SE, O'Garra A, Murphy KM. T cell genetic background determines default t helper phenotype development in vitro. *J Exp Med*. 1995 Feb 1;181(2):713–21.

Irvine AD, McLean WHI, Leung DYM. Filaggrin Mutations Associated with Skin and Allergic Diseases. *N Engl J Med*. 2011 Oct 6;365(14):1315–27.

Ishigami M, Hiraki K, Umemura K, Ogasawara Y, Ishii K, Kimura H. A Source of Hydrogen Sulfide and a Mechanism of Its Release in the Brain. *Antioxid Redox Signal*. 2009;11(2):205–14.

Ishii I, Akahoshi N, Yu X-N, Kobayashi Y, Namekata K, Komaki G, et al. Murine cystathionine gamma-lyase: complete cDNA and genomic sequences, promoter activity, tissue distribution and developmental expression. *Biochem J*. 2004 Jul 1;381(Pt 1):113–23.

Iyer D, Mishra N, Agrawal A. Mitochondrial Function in Allergic Disease. Vol. 17, Current Allergy and Asthma Reports. Current Medicine Group LLC 1; 2017. p. 1–10.

Jedrychowski W, Perera F, Maugeri U, Mrozek-Budzyn D, Miller RL, Flak E, et al. Effects of prenatal and perinatal exposure to fine air pollutants and maternal fish consumption on the occurrence of infantile eczema. *Int Arch Allergy Immunol*. 2011 Jun;155(3):275–81.

Johansson SGO, Bieber T, Dahl R, Friedmann PS, Lanier BQ, Lockey RF, et al. Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization, October 2003. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;113(5):832–6.

Joly F, Branka J-E, Lefeuvre L. Thermal Water from Uriage-les-Bains Exerts DNA Protection, Induction of Catalase Activity and Claudin-6 Expression on UV Irradiated Human Skin in Addition to Its Own Antioxidant Properties. *J Cosmet Dermatological Sci Appl*. 2014 Mar 10;04(02):99–106.

Jung M, Lee TH, Oh HJ, Kim H, Son Y, Lee EH, et al. Inhibitory effect of 5,6-dihydroergosterol-glucoside on atopic dermatitis-like skin lesions via suppression of NF- κ B and STAT activation. *J Dermatol Sci*. 2015 Sep;79(3):252–61.

Kabil O, Vitvitsky V, Xie P, Banerjee R. The quantitative significance of the transsulfuration enzymes for H₂S production in murine tissues. *Antioxid Redox Signal*. 2011 Jul 15;15(2):363–72.

Kang J, Li Z, Organ CL, Park CM, Yang CT, Pacheco A, et al. PH-Controlled Hydrogen Sulfide Release for Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury. *J Am Chem Soc*. 2016 May 25;138(20):6336–9.

Kao JS, Fluhr JW, Man MQ, Fowler AJ, Hachem JP, Crumrine D, et al. Short-term glucocorticoid treatment compromises both permeability barrier homeostasis and stratum corneum integrity: Inhibition of epidermal lipid synthesis accounts for functional abnormalities. *J Invest Dermatol*. 2003 Mar 1;120(3):456–64.

Karagülle MZ, Karagülle M, Kılıç S, Sevinç H, Dündar C, Türkoğlu M. In vitro evaluation of natural thermal mineral waters in human keratinocyte cells: a preliminary study. *Int J Biometeorol*. 2018 Sep 2;62(9):1657–61.

Kim C-G, Lee J-E, Jeong D-G, Lee Y-H, Park S-I, Lee D-G, et al. Bathing effects of east saline groundwater concentrates on allergic (atopic) dermatitis-like skin lesions induced by 2,4-dinitrochlorobenzene in hairless mice. *Exp Ther Med*. 2017 Jun;13(6):3448–66.

Kim J, Kim E-H, Oh I, Jung K, Han Y, Cheong H-K, et al. Symptoms of atopic dermatitis are influenced by outdoor air pollution. *J Allergy Clin Immunol*. 2013 Aug;132(2):495-8.e1.

Kimura H. Hydrogen sulfide and polysulfides as signaling molecules. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*. 2015;91(4):131–59.

Kimura H. Signalling by hydrogen sulfide and polysulfides via protein S-sulfuration. Vol. 177, *British Journal of Pharmacology*. John Wiley and Sons Inc.; 2020. p. 720–33.

Koike S, Nishimoto S, Ogasawara Y. Cysteine persulfides and polysulfides produced by exchange reactions with H₂S protect SH-SY5Y cells from methylglyoxal-induced toxicity through Nrf2 activation. *Redox Biol.* 2017 Aug 1;12:530–9.

Kolluru GK, Shen X, Bir SC, Kevil CG. Hydrogen sulfide chemical biology: pathophysiological roles and detection. *Nitric oxide Biol Chem.* 2013 Nov 30;35:5–20.

Kram L, Grambow E, Mueller-Graf F, Sorg H, Vollmar B. The anti-thrombotic effect of hydrogen sulfide is partly mediated by an upregulation of nitric oxide synthases. *Thromb Res.* 2013 Aug;132(2).

Ku JM, Hong SH, Kim HI, Seo HS, Shin YC, Ko S-G. Effects of *Angelicae dahuricae* Radix on 2, 4-Dinitrochlorobenzene-Induced Atopic Dermatitis-Like Skin Lesions in mice model. *BMC Complement Altern Med.* 2017 Dec 7;17(1):98.

Kuo T, McQueen A, Chen TC, Wang JC. Regulation of glucose homeostasis by glucocorticoids. *Adv Exp Med Biol.* 2015;872:99–126.

Kutlu A, Karabacak E, Aydin E, Ozturk S, Taskapan O, Aydinoz S, et al. Relationship between skin prick and atopic patch test reactivity to aeroallergens and disease severity in children with atopic dermatitis. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2013 Nov;41(6):369–73.

Kutz JL, Greaney JL, Santhanam L, Alexander LM. Evidence for a functional vasodilatory role for hydrogen sulphide in the human cutaneous microvasculature. *J Physiol.* 2015 May 1;593(9):2121–9.

Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 1970 Aug 15;227(5259):680–5.

Laggner H, Hermann M, Esterbauer H, Muellner MK, Exner M, Gmeiner BMK, et al. The novel gaseous vasorelaxant hydrogen sulfide inhibits angiotensin-converting enzyme activity of endothelial cells. *J Hypertens.* 2007;25(10):2100–4.

Langan SM, Irvine AD, Weidinger S. Atopic dermatitis. Vol. 396, *The Lancet*. Lancet Publishing Group; 2020. p. 345–60.

Lee E, Kim H-J, Lee M, Jin SH, Hong SH, Ahn S, et al. Cystathionine metabolic enzymes play a role in the inflammation resolution of human keratinocytes in response to sub-cytotoxic formaldehyde exposure. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2016 Nov 1;310:185–94.

Lee ZW, Zhou J, Chen C-S, Zhao Y, Tan C-H, Li L, et al. The slow-releasing hydrogen sulfide donor, GYY4137, exhibits novel anti-cancer effects in vitro and in

vivo. *PLoS One*. 2011;6(6):e21077.

Leskova A, Pardue S, Glawe JD, Kevil CG, Shen X. Role of thiosulfate in hydrogen sulfide-dependent redox signaling in endothelial cells. *Am J Physiol Circ Physiol*. 2017 Aug 1;313(2):H256–64.

Leung DYM, Boguniewicz M, Howell MD, Nomura I, Hamid QA. New insights into atopic dermatitis. Vol. 113, *Journal of Clinical Investigation*. The American Society for Clinical Investigation; 2004. p. 651–7.

Li L, Whiteman M, Guan YY, Neo KL, Cheng Y, Lee SW, et al. Characterization of a novel, water-soluble hydrogen sulfide-releasing molecule (GYY4137): new insights into the biology of hydrogen sulfide. *Circulation*. 2008 May 6;117(18):2351–60.

Lin L, Zhou Y, Li H, Pang D, Zhang L, Lu X, et al. Polysaccharide extracted from Chinese white wax scale ameliorates 2,4-dinitrochlorobenzene-induced atopic dermatitis-like symptoms in BALB/c mice. *Saudi Pharm J SPJ Off Publ Saudi Pharm Soc*. 2017 May;25(4):625–32.

Liu DH, Huang X, Meng XM, Zhang CM, Lu HL, Kim YC, et al. Exogenous H₂S enhances mice gastric smooth muscle tension through S-sulfhydration of KV4.3, mediating the inhibition of the voltage-dependent potassium current. *Neurogastroenterol Motil*. 2014a Dec 1;26(12):1705–16.

Liu F, Chen D-D, Sun X, Xie H-H, Yuan H, Jia W, et al. Hydrogen sulfide improves wound healing via restoration of endothelial progenitor cell functions and activation of angiotensin-1 in type 2 diabetes. *Diabetes*. 2014b May 1;63(5):1763–78.

Liu FT, Goodarzi H, Chen HY. IgE, mast cells, and eosinophils in atopic dermatitis. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2011 Dec 20;41(3):298–310.

Liu Y, Yang R, Liu X, Zhou Y, Qu C, Kikuri T, et al. Hydrogen sulfide maintains mesenchymal stem cell function and bone homeostasis via regulation of Ca²⁺ channel sulfhydration. *Cell Stem Cell*. 2014c Jul 3;15(1):66–78.

Man M-Q, Hatano Y, Lee SH, Man M, Chang S, Feingold KR, et al. Characterization of a hapten-induced, murine model with multiple features of atopic dermatitis: structural, immunologic, and biochemical changes following single versus multiple oxazolone challenges. *J Invest Dermatol*. 2008 Jan;128(1):79–86.

Marutani E, Ichinose F. Emerging pharmacological tools to control hydrogen sulfide signaling in critical illness. *Intensive Care Med Exp*. 2020 Dec 31;8(1):1–14.

Matsuda H, Watanabe N, Geba GP, Sperl J, Tsudzuki M, Hiroi J, et al. Development of atopic dermatitis-like skin lesion with IgE hyperproduction in NC/Nga mice. *Int Immunol*. 1997;9(3):461–6.

Matsumoto K, Mizukoshi K, Oyobikawa M, Ohshima H, Tagami H. Establishment of an atopic dermatitis-like skin model in a hairless mouse by repeated elicitation of contact hypersensitivity that enables to conduct functional analyses of the stratum

- corneum with various non-invasive biophysical instruments. *Skin Res Technol*. 2004 May;10(2):122–9.
- Matz H, Orion E, Wolf R. Balneotherapy in dermatology. *Dermatol Ther*. 2003;16(2):132–40.
- Mazza R, Pasqua T, Cerra MC, Angelone T, Gattuso A. Akt/eNOS signaling and PLN S-sulfhydration are involved in H₂S-dependent cardiac effects in frog and rat. *Am J Physiol - Regul Integr Comp Physiol*. 2013 May 8;305(4).
- Mazzulla S, Nicoletta V, Perrotta I, De Stefano S, Sesti S. In vivo study of biomechanical properties in psoriasis vulgaris: Effectiveness of sulfur spa therapy. *Open J Mol Integr Physiol*. 2013;(3):15–20.
- Mendes JA, Ribeiro MC, Reis Filho GJM, Rocha T, Muscará MN, Costa SKP, et al. Hydrogen sulfide inhibits apoptosis and protects the bronchial epithelium in an allergic inflammation mice model. *Int Immunopharmacol*. 2019 Aug 1;73:435–41.
- Mirandola P, Gobbi G, Micheloni C, Vaccarezza M, Di Marcantonio D, Ruscitti F, et al. Hydrogen sulfide inhibits IL-8 expression in human keratinocytes via MAP kinase signaling. *Lab Invest*. 2011 Aug 9;91(8):1188–94.
- Módis K, Ju YJ, Ahmad A, Untereiner AA, Altaany Z, Wu L, et al. S-Sulfhydration of ATP synthase by hydrogen sulfide stimulates mitochondrial bioenergetics. *Pharmacol Res*. 2016 Nov 1;113(Pt A):116–24.
- Mollanazar NK, Smith PK, Yosipovitch G. Mediators of Chronic Pruritus in Atopic Dermatitis: Getting the Itch Out? *Clin Rev Allergy Immunol*. 2016 Dec 1;51(3):263–92.
- Moniaga CS, Kamata Y, Ogawa H, Suga Y, Tominaga M, Takamori K. Hydrogen sulfide modulates the expression of axon-guidance molecules in human keratinocytes. Vol. 97, *Journal of Dermatological Science*. Elsevier Ireland Ltd; 2020. p. 232–5.
- Moore PK, Bhatia M, Moochhala S. Hydrogen sulfide: from the smell of the past to the mediator of the future? *Trends Pharmacol Sci*. 2003 Dec;24(12):609–11.
- Murphy B, Bhattacharya R, Mukherjee P. Hydrogen sulfide signaling in mitochondria and disease. *FASEB J*. 2019 Dec 1;33(12):13098–125.
- Mustafa AK, Gadalla MM, Sen N, Kim S, Mu W, Gazi SK, et al. H₂S signals through protein S-sulfhydration. *Sci Signal*. 2009;2(96):ra72.
- Mustafa AK, Sikka G, Gazi SK, Steppan J, Jung SM, Bhunia AK, et al. Hydrogen sulfide as endothelium-derived hyperpolarizing factor sulfhydrates potassium channels. *Circ Res*. 2011 Nov 11;109(11):1259–68.
- Nagahara N, Ito T, Kitamura H, Nishino T. Tissue and subcellular distribution of mercaptopyruvate sulfurtransferase in the rat: confocal laser fluorescence and

immunolectron microscopic studies combined with biochemical analysis. *Histochem Cell Biol.* 1998 Sep;110(3):243–50.

Nagahara N, Yoshii T, Abe Y, Matsumura T. Thioredoxin-dependent enzymatic activation of mercaptopyruvate sulfurtransferase. An intersubunit disulfide bond serves as a redox switch for activation. *J Biol Chem.* 2007 Jan 19;282(3):1561–9.

Nakahara T, Kido-Nakahara M, Tsuji G, Furue M. Basics and recent advances in the pathophysiology of atopic dermatitis. *J Dermatol.* 2020 Oct 29;1346-8138.15664.

Nakai K, Yoneda K, Maeda R, Munehiro A, Fujita N, Yokoi I, et al. Urinary biomarker of oxidative stress in patients with psoriasis vulgaris and atopic dermatitis. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2009 Dec;23(12):1405–8.

Nicholls P, Marshall DC, Cooper CE, Wilson MT. Sulfide inhibition of and metabolism by cytochrome c oxidase. *Biochem Soc Trans.* 2013 Oct 1;41(5):1312–6.

Nogales KE, Zaba LC, Guttman-Yassky E, Fuentes-Duculan J, Suárez-Fariñas M, Cardinale I, et al. Th17 cytokines interleukin (IL)-17 and IL-22 modulate distinct inflammatory and keratinocyte-response pathways. *Br J Dermatol.* 2008 Nov;159(5):1092–102.

Nutten S. Atopic dermatitis: global epidemiology and risk factors. *Ann Nutr Metab.* 2015;66 Suppl 1(1):8–16.

Ogasawara Y, Isoda S, Tanabe S. Tissue and subcellular distribution of bound and acid-labile sulfur, and the enzymic capacity for sulfide production in the rat. *Biol Pharm Bull.* 1994 Dec;17(12):1535–42.

Oh M-H, Oh SY, Lu J, Lou H, Myers AC, Zhu Z, et al. TRPA1-dependent pruritus in IL-13-induced chronic atopic dermatitis. *J Immunol.* 2013 Dec 1;191(11):5371–82.

Omata N, Tsukahara H, Ito S, Ohshima Y, Yasutomi M, Yamada A, et al. Increased oxidative stress in childhood atopic dermatitis. *Life Sci.* 2001 Jun 1;69(2):223–8.

Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. Vol. 87, *Physiological Reviews*. NIH Public Access; 2007. p. 315–424.

Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med.* 1967 Jul;70(1):158–69.

Pálinkás Z, Furtmüller PG, Nagy A, Jakopitsch C, Pirker KF, Magierowski M, et al. Interactions of hydrogen sulfide with myeloperoxidase. Vol. 172, *British Journal of Pharmacology*. John Wiley and Sons Inc.; 2015. p. 1516–32.

Palmer CNA, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, Zhao Y, Liao H, Lee SP, et al. Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. *Nat Genet.* 2006 Apr;38(4):441–6.

Panza E, De Cicco P, Armogida C, Scognamiglio G, Gigantino V, Botti G, et al. Role

of the cystathionine γ lyase/hydrogen sulfide pathway in human melanoma progression. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2015 Jan;28(1):61–72.

Papapetropoulos A, Pyriochou A, Altaany Z, Yang G, Marazioti A, Zhou Z, et al. Hydrogen sulfide is an endogenous stimulator of angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 Dec 22;106(51):21972–7.

Penard-Morand C, Raheison C, Charpin D, Kopferschmitt C, Lavaud F, Caillaud D, et al. Long-term exposure to close-proximity air pollution and asthma and allergies in urban children. *Eur Respir J.* 2010 Jul 1;36(1):33–40.

Peng W, Novak N. Pathogenesis of atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy.* 2015 Mar 1;45(3):566–74.

Perkin MR, Craven J, Logan K, Strachan D, Marrs T, Radulovic S, et al. Association between domestic water hardness, chlorine, and atopic dermatitis risk in early life: A population-based cross-sectional study. *J Allergy Clin Immunol.* 2016 Aug 1;138(2):509–16.

Pichette J, Fynn-Sackey N, Gagnon J. Hydrogen sulfide and sulfate prebiotic stimulates the secretion of GLP-1 and improves glycemia in male mice. *Endocrinology.* 2017 Oct 1;158(10):3416–25.

Pietri R, Román-Morales E, López-Garriga J. Hydrogen sulfide and heme proteins: Knowledge and mysteries. Vol. 15, *Antioxidants and Redox Signaling. Antioxid Redox Signal*; 2011. p. 393–404.

Piragine E, Calderone V. Pharmacological modulation of the hydrogen sulfide (H₂S) system by dietary H₂S-donors: A novel promising strategy in the prevention and treatment of type 2 diabetes mellitus. *Phytotherapy Research.* John Wiley and Sons Ltd; 2020.

Polhemus DJ, Li Z, Pattillo CB, Gojon G, Gojon G, Giordano T, et al. A Novel Hydrogen Sulfide Prodrug, SG1002, Promotes Hydrogen Sulfide and Nitric Oxide Bioavailability in Heart Failure Patients. *Cardiovasc Ther.* 2015 Aug 1;33(4):216–26.

Powell CR, Dillon KM, Matson JB. A review of hydrogen sulfide (H₂S) donors: Chemistry and potential therapeutic applications. Vol. 149, *Biochemical Pharmacology.* Elsevier Inc.; 2018. p. 110–23.

Pyriochou A, Papapetropoulos A, Olah G, Wintner E, Jeschke M, Branski L, et al. The hydrogen sulfide donor IK-1001 stimulates neovascularization and improves wound healing. *FASEB J.* 2008;22:912.42-912.42.

Reiffenstein RJ, Hulbert WC, Roth SH. Toxicology of hydrogen sulfide. Vol. 32, *Annual Review of Pharmacology and Toxicology. Annu Rev Pharmacol Toxicol*; 1992. p. 109–34.

Riahi S, Rowley CN. Why can hydrogen sulfide permeate cell membranes? *J Am Chem Soc.* 2014 Oct 29;136(43):15111–3.

- Ríos-González BB, Román-Morales EM, Pietri R, López-Garriga J. Hydrogen sulfide activation in heme proteins: The sulfheme scenario. *J Inorg Biochem.* 2014 Apr 1;133:78–86.
- Robinson CE, Keshavarzian A, Pasco DS, Frommel TO, Winship DH, Holmes EW. Determination of protein carbonyl groups by immunoblotting. *Anal Biochem.* 1999 Jan 1;266(1):48–57.
- Rodrigues L. Efeitos antipruriginosos do sulfeto de hidrogênio (exógeno e endógeno) sobre o prurido agudo e crônico em pele de camundongos. [São Paulo]: Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo; 2018.
- Rodrigues L, Ekundi-Valentim E, Florenzano J, Cerqueira ARA, Soares AG, Schmidt TP, et al. Protective effects of exogenous and endogenous hydrogen sulfide in mast cell-mediated pruritus and cutaneous acute inflammation in mice. *Pharmacol Res.* 2017 Jan;115:255–66.
- Rooman R, Koster G, Bloemen R, Gresnigt R, van Buul-Offers SC. The effect of dexamethasone on body and organ growth of normal and IGF-II-transgenic mice. *J Endocrinol.* 1999 Dec;163(3):543–52.
- Roviezzo F, Bertolino A, Sorrentino R, Terlizzi M, Matteis M, Calderone V, et al. Hydrogen sulfide inhalation ameliorates allergen induced airway hypereactivity by modulating mast cell activation. *Pharmacol Res.* 2015 Oct 1;100:85–92.
- Salimi M, Barlow JL, Saunders SP, Xue L, Gutowska-Owsiak D, Wang X, et al. A role for IL-25 and IL-33-driven type-2 innate lymphoid cells in atopic dermatitis. *J Exp Med.* 2013 Dec;210(13):2939–50.
- Schäfer M, Farwanah H, Willrodt AH, Huebner AJ, Sandhoff K, Roop D, et al. Nrf2 links epidermal barrier function with antioxidant defense. *EMBO Mol Med.* 2012 May;4(5):364–79.
- Schmidt TP, Lopes LB, Rodrigues L, Wood M, Whiteman M, Muscará MN, et al. Antipsoriatic activity of GYY4137 (a slow-releasing hydrogen sulphide donor) microemulsion system using a mouse skin model of psoriasis. *Nitric Oxide.* 2015 May 1;47:S26.
- Schultz Larsen F. Atopic dermatitis: A genetic-epidemiologic study in a population-based twin sample. *J Am Acad Dermatol.* 1993;28(5):719–23.
- Searcy DG, Lee SH. Sulfur reduction by human erythrocytes. *J Exp Zool.* 1998 Oct 15;282(3):310–22.
- Sen N, Paul BD, Gadalla MM, Mustafa AK, Sen T, Xu R, et al. Hydrogen sulfide-linked sulfhydration of NF- κ B mediates its antiapoptotic actions. *Mol Cell.* 2012 Jan 13;45(1):13–24.
- Shani J, Seidl V, Hristakieva E, Stanimirovic A, Burdo A, Harari M. Indications,

contraindications and possible side-effects of climatotherapy at the Dead-Sea. *Int J Dermatol.* 1997 Jul;36(7):481–92.

Shen X, Carlström M, Borniquel S, Jädert C, Kevil CG, Lundberg JO. Microbial regulation of host hydrogen sulfide bioavailability and metabolism. *Free Radic Biol Med.* 2013 Jul;60:195–200.

Shibuya N, Koike S, Tanaka M, Ishigami-Yuasa M, Kimura Y, Ogasawara Y, et al. A novel pathway for the production of hydrogen sulfide from D-cysteine in mammalian cells. *Nat Commun.* 2013 Dec 22;4(1):1366.

Shibuya N, Mikami Y, Kimura Y, Nagahara N, Kimura H. Vascular Endothelium Expresses 3-Mercaptopyruvate Sulfurtransferase and Produces Hydrogen Sulfide. *J Biochem.* 2009a Nov 1;146(5):623–6.

Shibuya N, Tanaka M, Yoshida M, Ogasawara Y, Togawa T, Ishii K, et al. 3-Mercaptopyruvate Sulfurtransferase Produces Hydrogen Sulfide and Bound Sulfane Sulfur in the Brain. *Antioxid Redox Signal.* 2009b Apr;11(4):703–14.

Sidbury R, Davis DM, Cohen DE, Cordoro KM, Berger TG, Bergman JN, et al. Guidelines of care for the management of atopic dermatitis: section 3. Management and treatment with phototherapy and systemic agents. *J Am Acad Dermatol.* 2014 Aug;71(2):327–49.

Simon D, Braathen LR, Simon HU. Eosinophils and atopic dermatitis. Vol. 59, *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology.* John Wiley & Sons, Ltd; 2004. p. 561–70.

Singh S, Padovani D, Leslie RA, Chiku T, Banerjee R. Relative Contributions of Cystathionine β -Synthase and γ -Cystathionase to H₂S Biogenesis via Alternative Trans-sulfuration Reactions. *J Biol Chem.* 2009 Aug 14;284(33):22457–66.

Sivaranjani N, Rao SV, Rajeev G. Role of Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Atopic Dermatitis. *J Clin DIAGNOSTIC Res.* 2013 Dec;7(12):2683–5.

Smith RP, Gosselin RE. Hydrogen sulfide poisoning. *J Occup Med.* 1979 Feb;21(2):93–7.

Solé D, Wandalsen GF, Camelo-Nunes IC, Naspitz CK, ISAAC - Brazilian Group I-B. Prevalence of symptoms of asthma, rhinitis, and atopic eczema among Brazilian children and adolescents identified by the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) - Phase 3. *J Pediatr (Rio J).* 2006 Aug 28;82(5):341–6.

Stewart D, Fulton WB, Wilson C, Monitto CL, Paidas CN, Reeves RH, et al. Genetic contribution to the septic response in a mouse model. *Shock.* 2002;18(4):342–7.

Stipanuk MH, Beck PW. Characterization of the enzymic capacity for cysteine desulphhydration in liver and kidney of the rat. *Biochem J.* 1982 Aug 15;206(2):267–77.

Stubbert D, Pryszyzna O, Rudyk O, Scotcher J, Burgoyne JR, Eaton P. Protein kinase G α oxidation paradoxically underlies blood pressure lowering by the reductant hydrogen sulfide. *Hypertension*. 2014;64(6):1344–51.

Sun Y, Wang K, Li MX, He W, Chang JR, Liao CC, et al. Metabolic changes of H₂S in smokers and patients of COPD which might involve in inflammation, oxidative stress and steroid sensitivity. *Sci Rep*. 2015 Oct 12;5(1):14971.

Suzuki T, Arakawa H, Mizuno T, Muramatsu K, Tadaki H, Takizawa T, et al. Differential regulation of eotaxin expression by dexamethasone in normal human lung fibroblasts. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2008 Jun 1;38(6):707–14.

Szabo C, Papapetropoulos A. International union of basic and clinical pharmacology. CII: Pharmacological modulation of H₂S levels: H₂S donors and H₂S biosynthesis inhibitors. *Pharmacol Rev*. 2017 Oct 1;69(4):497–564.

Szczesny B, Módis K, Yanagi K, Coletta C, Le Trionnaire S, Perry A, et al. AP39, a novel mitochondria-targeted hydrogen sulfide donor, stimulates cellular bioenergetics, exerts cytoprotective effects and protects against the loss of mitochondrial DNA integrity in oxidatively stressed endothelial cells in vitro. *Nitric Oxide - Biol Chem*. 2014 Sep 15;41:120–30.

Takahashi N, Wei FY, Watanabe S, Hirayama M, Ohuchi Y, Fujimura A, et al. Reactive sulfur species regulate tRNA methylation and contribute to insulin secretion. *Nucleic Acids Res*. 2017;45(1):435–45.

Thomsen SF. Atopic Dermatitis: Natural History, Diagnosis, and Treatment. *ISRN Allergy*. 2014;2014:1–7.

Tollefson MM, Bruckner AL, Section On Dermatology. Atopic dermatitis: skin-directed management. *Pediatrics*. 2014 Dec;134(6):e1735-44.

Tsuhako MH, Augusto O, Linares E, Chadi G, Giorgio S, Pereira CA. Tempol ameliorates murine viral encephalomyelitis by preserving the blood-brain barrier, reducing viral load, and lessening inflammation. *Free Radic Biol Med*. 2010 Mar 1;48(5):704–12.

Ukeda H, Hasegawa Y, Ishi T, Sawamura M. Inactivation of Cu,Zn-superoxide dismutase by intermediates of Maillard reaction and glycolytic pathway and some sugars. *Biosci Biotechnol Biochem*. 1997 Dec;61(12):2039–42.

Untereiner AA, Oláh G, Módis K, Hellmich MR, Szabo C. H₂S-induced S-sulfhydration of lactate dehydrogenase a (LDHA) stimulates cellular bioenergetics in HCT116 colon cancer cells. *Biochem Pharmacol*. 2017 Jul 15;136:86–98.

Wallace JL, Caliendo G, Santagada V, Cirino G. Markedly reduced toxicity of a hydrogen sulphide-releasing derivative of naproxen (ATB-346). *Br J Pharmacol*. 2010 Mar;159(6):1236–46.

Wallace JL, Caliendo G, Santagada V, Cirino G, Fiorucci S. Gastrointestinal Safety and Anti-Inflammatory Effects of a Hydrogen Sulfide-Releasing Diclofenac Derivative in the Rat. *Gastroenterology*. 2007;132(1):261–71.

Wallace JL, Nagy P, Feener TD, Allain T, Ditrói T, Vaughan DJ, et al. A proof-of-concept, Phase 2 clinical trial of the gastrointestinal safety of a hydrogen sulfide-releasing anti-inflammatory drug. *Br J Pharmacol*. 2020 Feb 11;177(4):769–77.

Wang R. Physiological Implications of Hydrogen Sulfide: A Whiff Exploration That Blossomed. *Physiol Rev*. 2012 Apr;92(2):791–896.

Waters A, Torregrossa R, Gero D, Perry A, Wood ME, Whiteman M. RT01, A Novel Derivative of the Mitochondria-targeted Hydrogen Sulfide Donor AP39, Reversed Hyperglycaemia-induced Mitochondrial Dysfunction in Murine Brain Microvascular Endothelial Cells. *Free Radic Biol Med*. 2017 Nov 1;112:157–8.

Wei W, Wang C, Li D. The content of hydrogen sulfide in plasma of cirrhosis rats combined with portal hypertension and the correlation with indexes of liver function and liver fibrosis. *Exp Ther Med*. 2017 Nov 1;14(5):5022–6.

Weidinger S, Beck LA, Bieber T, Kabashima K, Irvine AD. Atopic dermatitis. Vol. 4, *Nature Reviews Disease Primers*. Nature Publishing Group; 2018. p. 1–20.

Werfel T, Heratizadeh A, Niebuhr M, Kapp A, Roesner LM, Karch A, et al. Exacerbation of atopic dermatitis on grass pollen exposure in an environmental challenge chamber. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;136(1):96-103.e9.

Wu R, Yao W, Chen Y, Geng B, Tang C. [Plasma level of endogenous hydrogen sulfide in patients with acute asthma]. *Beijing Da Xue Xue Bao*. 2008 Oct 18;40(5):505–8.

Wu W, Hou CL, Mu XP, Sun C, Zhu YC, Wang MJ, et al. H₂S Donor NaHS Changes the Production of Endogenous H₂S and NO in D-Galactose-Induced Accelerated Ageing. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017.

Wu W, Peng G, Yang F, Zhang Y, Mu Z, Han X. Sulforaphane has a therapeutic effect in an atopic dermatitis murine model and activates the Nrf2/HO-1 axis. *Mol Med Rep*. 2019;20(2):1761–71.

Xie X, Dai H, Zhuang B, Chai L, Xie Y, Li Y. Exogenous hydrogen sulfide promotes cell proliferation and differentiation by modulating autophagy in human keratinocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2016 Apr 8;472(3):437–43.

Xue R, Hao DD, Sun JP, Li WW, Zhao MM, Li XH, et al. Hydrogen sulfide treatment promotes glucose uptake by increasing insulin receptor sensitivity and ameliorates kidney lesions in type 2 diabetes. *Antioxidants Redox Signal*. 2013;19(1):5–23.

Yan SK, Chang T, Wang H, Wu L, Wang R, Meng QH. Effects of hydrogen sulfide on homocysteine-induced oxidative stress in vascular smooth muscle cells. *Biochem*

Biophys Res Commun. 2006 Dec 15;351(2):485–91.

Yang C, Yang Z, Zhang M, Dong Q, Wang X, Lan A, et al. Hydrogen Sulfide Protects against Chemical Hypoxia-Induced Cytotoxicity and Inflammation in HaCaT Cells through Inhibition of ROS/NF- κ B/COX-2 Pathway. Agarwal S, editor. PLoS One. 2011 Jul 14;6(7):e21971.

Yang G, Zhao K, Ju Y, Mani S, Cao Q, Puukila S, et al. Hydrogen sulfide protects against cellular senescence via s-sulfhydration of keap1 and activation of Nrf2. Antioxidants Redox Signal. 2013 May 20;18(15):1906–19.

Yang J, Minkler P, Grove D, Wang R, Willard B, Dweik R, et al. Non-enzymatic hydrogen sulfide production from cysteine in blood is catalyzed by iron and vitamin B6. Commun Biol. 2019 Dec 1;2(1):1–14.

Yang R, Qu C, Zhou Y, Konkel JE, Shi S, Liu Y, et al. Hydrogen Sulfide Promotes Tet1- and Tet2-Mediated Foxp3 Demethylation to Drive Regulatory T Cell Differentiation and Maintain Immune Homeostasis. Immunity. 2015 Aug 18;43(2):251–63.

Yi O, Kwon H-J, Kim H, Ha M, Hong S-J, Hong Y-C, et al. Effect of environmental tobacco smoke on atopic dermatitis among children in Korea. Environ Res. 2012 Feb;113:40–5.

Yonezawa D, Sekiguchi F, Miyamoto M, Taniguchi E, Honjo M, Masuko T, et al. A protective role of hydrogen sulfide against oxidative stress in rat gastric mucosal epithelium. Toxicology. 2007 Nov 20;241(1–2):11–8.

Zagli G, Patacchini R, Trevisani M, Abbate R, Cinotti S, Gensini GF, et al. Hydrogen sulfide inhibits human platelet aggregation. Eur J Pharmacol. 2007 Mar 15;559(1):65–8.

Zanardo RCO, Brancaleone V, Distrutti E, Fiorucci S, Cirino G, Wallace JL. Hydrogen sulfide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation. FASEB J. 2006 Oct;20(12):2118–20.

Zhang G, Wang P, Yang G, Cao Q, Wang R. The Inhibitory Role of Hydrogen Sulfide in Airway Hyperresponsiveness and Inflammation in a Mouse Model of Asthma. Am J Pathol. 2013 Apr 1;182(4):1188–95.

Zhao K, Ju Y, Li S, Altaany Z, Wang R, Yang G. S-sulfhydration of MEK1 leads to PARP-1 activation and DNA damage repair. EMBO Rep. 2014;15(7):792–800.

Zhao W, Zhang J, Lu Y, Wang R. The vasorelaxant effect of H₂S as a novel endogenous gaseous KATP channel opener. EMBO J. 2001 Nov 1;20(21):6008–16.

Zhao Y, Pacheco A, Xian M. Medicinal chemistry: Insights into the development of novel H₂S donors. Handb Exp Pharmacol. 2015;230:365–88.

Zhao Y, Pluth MD. Hydrogen Sulfide Donors Activated by Reactive Oxygen Species.

Angew Chemie - Int Ed. 2016;55(47):14638–42.

Zheng Y, Ji X, Ji K, Wang B. Hydrogen sulfide prodrugs-a review. Vol. 5, Acta Pharmaceutica Sinica B. Chinese Academy of Medical Sciences; 2015. p. 367–77.

Ziosi M, Di Meo I, Kleiner G, Gao X-H, Barca E, Sanchez-Quintero MJ, et al. Coenzyme Q deficiency causes impairment of the sulfide oxidation pathway. EMBO Mol Med. 2017 Jan 1;9(1):96–111.