

Физиологическая роль сероводорода в нервной системе Яковлев А.В.,

Ситдикова Г.Ф.

Казанский Федеральный (Приволжский) университет, институт фундаментальной медицины и биологии, кафедра физиологии человека и животных, г. Казань.

Адрес для переписки: 420008 г. Казань, Казанский Федеральный (Приволжский) университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, кафедра физиологии человека и животных. Яковлев Алексей Валерьевич. Тел. +79600502474; Email: alv.yakovlev@gmail.com

В обзоре рассматриваются современные данные литературы и результаты собственных исследований, посвященные физиологической и патологической роли нового газомедиатора — сероводорода (H_2S) в центральной и периферической нервной системе. H_2S синтезируется при помощи трех ферментов: цистатионин β -синтаза, цистатионин γ -лиаза и 3-меркаптопируват сульфотрансфера совместно с цистеин аминотрансферазой. В нервной системе синтез H_2S обеспечивает в основном фермент цистатионин β -синтаза и его высокий уровень экспрессии наблюдается в эмбриональный и ранний постнатальный период развития организма, что, по-видимому, необходимо для созревания и роста нейрональных сетей, защиты нейронов и астроцитов в условиях оксидативного стресса. Мутация гена цистатионин β -синтазы у человека приводит к аутосомальным рецессивным метаболическим заболеваниям, ментальной дисфункции, сосудистым поражениям и гипергомоцистеинемии. Рассматриваются эффекты H_2S на ионные каналы, секрецию медиатора как в центральной, так и в периферической нервной систем, участие H_2S в патогенезе различных нейродегенеративных заболеваний, а также нейропротекторное и антиоксидантное действие.

Ключевые слова: сероводород, цистатионин β -синтаза, цистатионин γ -лиаза, 3-меркаптопируват сульфотрансфера, центральная и периферическая нервная система, секреция медиатора, ионные каналы, нейродегенеративные заболевания

Physiological role of hydrogen sulfide in nervous system

Yakovlev A., Sitdikova G.

Kazan Federal University, Kazan

The review provides modern data and the results of author's research on physiological and pathological roles of the new gasotransmitter - hydrogen sulfide (H_2S) in the central and peripheral nervous system. H_2S is synthesized by three enzymes: cystathionine β -syntase, cystathionine γ -lyase and 3-mercaptopyruvate sulfotransferase/cysteine aminotransferase. In nerve systems the main source of synthesis H_2S is cystathionine β -syntase and high level enzyme expression observed in the embryonic and early postnatal period of organism development that is apparently necessary for the growth and maturation of neural networks for the protection of neurons and astrocytes in the conditions of oxidative stress. Cystathionine β -syntase gene mutation in humans leads to an autosomal recessive metabolic diseases, mental dysfunction, vascular lesions and hyperhomocysteinemia. The aim of this review is to present the current data about the effects of H_2S on ion channels, transmitter release, its participation in the pathology of various neurodegenerative diseases, as well as its antioxidative and neuroprotective action in central and peripheral nervous systems.

Key words: hydrogen sulfide, central and peripheral nerve system cystathionine β -syntase, cystathionine γ -lyase and 3-mercaptopyruvate sulfotransferase, neurotransmitter release, ion channels, neurodegenerative diseases

Введение

Сероводород (H_2S) хорошо известен как токсичный газ, в высоких концентрациях блокирующий дыхательную функцию митохондрий [1]. Однако относительно высокие концентрации H_2S были обнаружены в мозге крысы и человека, что предположило возможную физиологическую роль этого газа [2]. В дальнейшем были обнаружены важнейшие биологические эффекты H_2S , включая регуляцию кровяного давления, освобождения инсулина, расслабления гладких мышц, клеточной возбудимости, цитопротекторное действие [3-12], что позволило отнести H_2S к группе газомедиаторов, включающих также оксид азота (II) (NO) и монооксид углерода (CO) [5, 13,14].

Эндогенно H_2S синтезируется из цистеина ферментами цистатионин β -синтаза (CBS), цистатионин γ -лиаза (CSE) и 3-меркаптопируват сульфотрансфераза (MST)/ цистеин аминотрансферазой (CAT) [15-17]. Было показано, что H_2S усиливает N-метил-D-аспарта (НМДА)-опосредованные ответы в гиппокампе и облегчает индукцию долговременной потенциации (ДВП), синаптической модели памяти и обучения [15]. H_2S также модулирует синаптические ответы в серотонинергических нейронах ядер шва [18], регулирует освобождение нейромедиатора из двигательных нервных окончаний [19-24], секрецию кортикотропин-рилизинг гормона из гипоталамуса [25]. В астроцитах H_2S повышает внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} , вызывая Ca^{2+} -волны [26]. Все эти эффекты предполагают, что H_2S является сигнальной молекулой в мозге [27].

Синтез H_2S

H_2S синтезируется в значительных концентрациях во многих тканях организма. Самая высокая скорость синтеза H_2S была отмечена в мозге, сердечно-сосудистой системе, печени и почках [27-30]. CSE синтезирует H_2S в сердечно-сосудистой системе, микроглии, печени,

почках [4]. В нервной системе активность фермента CSE практически не выявляется, а экспрессия обнаружена в основном в белом веществе мозга [31]. CBS и CSE локализованы в цитоплазме и в качестве субстрата для синтеза эндогенного H_2S используют серосодержащую аминокислоту — L-цистеин, полученную из пищи или синтезируемую из другой аминокислоты L-метионин через образование промежуточного продукта гомоцистеина. Активность обоих ферментов зависит от витамина B6, но они различаются по механизму синтеза H_2S . CSE для продукции H_2S использует реакцию конверсии цистеина в тиоцистеин, пируват и аммоний, тиоцистеин является нестабильным соединением и распадается с образованием цистеина и H_2S [4]. Фермент CBS осуществляет реакцию конденсации гомоцистеина с серином с образованием цистатионина и H_2S [5], в ходе которой гидроксильная группа серина замещается тиолатом от гомоцистеина. В присутствии S-аденилметионина (SAM), который связывается с C-концом регуляторного домена CBS, скорость синтеза H_2S увеличивается во много раз, тогда как NO и CO подавляют активность фермента [15, 32].

Цинк-зависимый фермент 3-MST совместно с CAT синтезирует H_2S в ходе конверсии пирувата из 3-меркаптопирувата. 3-MST локализуется в митохондриях, имеющими pH 8, что оптимально для работы фермента [33]. Недавно был обнаружен альтернативный путь синтеза H_2S из D-цистеина, поступающего с пищей, который превращается с помощью фермента D-аминоксидаза в 3-меркаптопируват, далее используемый 3-MST [34]. Синтез сероводорода из D-аминокислоты не зависит от наличия пиридоксал-5'-фосфата (PLP) и осуществляется при pH 7.4, тогда как для превращения L-цистеина среда должна быть более щелочной [17,35].

Синтез H_2S ферментами CSE и 3-MSE/CAT регулируется Ca^{2+} ,

увеличение цитоплазматической его концентрации подавляет активность ферментов. Предполагается, что в присутствии субстрата для CSE серина PLP отсоединяется от структуры фермента, что запускает синтез H₂S [4,5].

Поскольку CBS является основным ферментом, синтезирующим H₂S в мозге, более подробно остановимся на его структуре, регуляции и экспрессии. CBS человека имеет сложную структуру и механизм регуляции [36]. В тканях человека и крысы CBS является в основном гомотетрамерным белком. Каждая субъединица связана с PLP, SAM и железосодержащим белком. Таким образом, железосодержащий белок является окислительно-восстановительным сенсором, а SAM — аллостерическим активатором фермента [31]. Ген CBS у человека состоит из 23 экзонов, расположенных в области от 42 до 209 пары азотистых оснований, полипептид CBS закодирован экзонами 1-14 и 16 [37]. Экспрессия гена, кодирующего CBS, тканеспецифична и регулируется через механизм, чувствительный к окислительно-восстановительному потенциалу, что связано с пролиферационным статусом клетки [4,38].

Большое количество мутаций в различных областях CBS было найдено у больных с гомоцистеинурией, это заболевание передается по наследству и связано с высоким уровнем в плазме L-гомоцистеина и с пониженной активностью CBS [38]. Активность CBS в мозге зависит от внутриклеточной концентрации Ca²⁺/кальмодулина. Следовательно, можно предполагать, что H₂S синтезируется в ответ на вход Ca²⁺ в клетку. В отсутствие CBS или при дефиците работа фермента ткани не способны утилизировать гомоцистеин через реакцию транссульфурации, что приводит к гиперчувствительности клеток к гомоцистеину [4]. Соответственно при гомоцистеинурии наблюдается повышение концентраций гомоцистеина и метионина в плазме и моче и снижение

уровня цистатионина и цистеина [39,40]. У мышей с генетическим дефицитом CBS проявляются признаки, сходные с гипергомоцистеинемией у человека. Наблюдалось уменьшение размеров мозжечка в частности, толщины молекулярного и внутреннего гранулярного слоев со второй недели постнатального развития [41]. В течение эмбрионального периода, уровень экспрессии CBS достаточно низкий, однако значительно возрастает на поздних пренатальных и ранних стадиях постнатального развития организма [4,27]. Исследования распределения CBS в мозге мыши в эмбриональном периоде с E9.5 по E13.5 (E — эмбриональный день развития) показали, что высокий уровень CBS наблюдается в области зачатка конечностей, хвоста, мозгового пузыря, в развивающихся органах как печень, скелетная и нервная системы. Сравнительный анализ показал, что в центральной нервной системе (ЦНС) максимальная экспрессия наблюдается в вентрикулярных областях с пролифилирующими клетками, в стриатуме, в 4 желудочке, в продолговатом мозге, а также слабый сигнал детектировался в среднем мозге, неокортексе и спинном мозге. К рождению (P0 — постнатальный день) экспрессия CBS по всему мозгу однородна, но к P2-P10 наблюдается усиление сигнала в определенных областях ЦНС, таких как мозжечок и обонятельные луковицы. В постнатальном развитии и во взрослом мозге наблюдается спад экспрессии фермента без изменения концентрации в крови L-цистеина за исключением клеток Пуркинье в мозжечке и в областях CA1/CA3 гиппокампа, астроцитах, в миндалевидном теле [15,27,41-43]. При этом иммуногистохимическими методами показано, что CBS локализуется не только в теле нейрона, но и в дендритах, аксонах и синаптических окончаниях [40]. Авторы предполагают, что высокий уровень экспрессии в период эмбрионального и раннего постнатального развития необходим для созревания и роста нейрональных сетей [38]. Кроме того, высокое

содержание H_2S и активность CBS играют важную роль в регуляции соотношения метионина и гомоцистеина в ЦНС, так как избыток гомоцистеина приводит к нарушениям развития нервной трубки [44]. Повышенный уровень также H_2S необходим для «выживания» нейронов гиппокампа во взрослом мозге мыши [40]. Известно, что гиппокамп играет важную роль в обучении и памяти, возможно, снижение уровня H_2S в зубчатом ядре гиппокампа приводит к дефициту памяти у взрослых животных [40]. Интересно отметить, что и уровень экспрессии D-аминоксидазы в мозжечке и почках мыши увеличивались с момента рождения до 8 недели, тогда как синтез H_2S при помощи 3-MST достоверно не изменялся. Максимальное использование в качестве субстрата для синтеза H_2S D-цистеина наблюдалось после 6 недель постнатального развития и затем достоверно снижалось, в то же время продукция H_2S из L-цистеина не менялась в первые месяцы после рождения. Авторы предполагают, что D-цистеин, так же как и H_2S , необходим для защиты развивающихся нейронов от оксидативного стресса и, например, в мозжечке он более эффективен по сравнению с L-цистеином [5,34]. Возможно, D-цистеин обладает нейропротекторными свойствами и способен предотвращать развитие нейродегенеративных заболеваний в развивающемся мозге, вызванных оксидативным стрессом и высоким уровнем активных форм кислорода, как, например, при аутизме [45,46].

Эндогенно генерируемый H_2S в нормальных условиях не накапливается и не оказывает токсического воздействия на клетку благодаря сбалансированному клеточному метаболизму этого газа [4]. Грань между физиологическими и токсическими эффектами H_2S очень тонкая. По-видимому, клетки млекопитающих имеют четкий регуляторный механизм контроля эндогенного уровня H_2S в физиологически допустимых пределах [4]. Концентрация свободного H_2S гомогенате клеток в головном

мозге в зависимости от методов определения составляет от 14 нМ до 9.2 мкМ [36]. В крови крыс уровень H_2S составляет от 10 мкМ (Wistar) до 50 мкМ (Sprague-Dawley) [47], а гомогенат клеток спинного мозга в присутствии субстрата фермента CBS L-цистеина продуцирует 6 нмоль/мин H_2S на грамм протеина [30]. Такой сильный разброс в концентрации связан с особенностями используемых методов определения газа, а кроме того, H_2S способен храниться в связанном виде и высвобождаться в ответ на стимуляцию. Кроме того, H_2S может образовывать полисульфиды (H_2S_n , $n=2-8$) [48, 49] в присутствии кислорода [34,48]. Было показано, что полисульфиды приблизительно в 300 раз более эффективно активируют TRPA1-каналы, чем H_2S [48].

Таким образом уровень H_2S в тканях повышается только в ответ на специфическую стимуляцию, притом локально и кратковременно. Затем его концентрация быстро снижается, так как он расщепляется ферментами, связывается с белками или реагирует с другими соединениями [4,50].

Эффекты H_2S в центральной нервной системе

Впервые физиологические эффекты H_2S на нейрональную активность в мозге была показана группой Н. Kimura [15,16,51]. Было установлено, что физиологические концентрации H_2S (<130 мкМ) при «слабой» тетанической стимуляции (15 пульсов с частотой 100 Гц) вызывали ДВП в клетках пирамидного слоя CA1 области гиппокампа. В отсутствие донора H_2S такая же стимуляция не приводила к возникновению ДВП. При этом H_2S оказывал доза-зависимое влияние на синаптические токи через НМДА рецепторы, увеличивая их в низких концентрациях (<130 мкМ) и подавляя в высоких (>320 мкМ). Исследование механизмов действия H_2S показало, что эффект газа не связан с его восстанавливающим действием на субъединицы НМДА-рецепторов [15]. В дальнейших исследованиях было

показано, что донор H_2S оказывал стимулирующее действие на НМДА-рецепторы, экспрессированные в мембране ооцитов, в нейронах гиппокампа и глиии [15,27,51]. С помощью иммуногистохимического анализа в первичных культурах нейронов и глиии было показано, что H_2S в микромолярных концентрациях вызывал увеличение уровня цАМФ. Поскольку известно, что активация протеинкиназы А усиливает активность НМДА-рецепторов [52], было сделано заключение, что H_2S регулирует активность НМДА - рецепторов посредством увеличения внутриклеточного содержания цАМФ, который в свою очередь приводит к фосфорилированию NR1, NR2A и NR2B субъединиц НМДА-рецептора, усиливающему ток через глутаматные каналы [15]. Кроме того, H_2S способен регулировать НМДА-опосредованный выброс нейромедиатора при помощи сульфгидрирования субъединиц канала или\и за счет усиления их чувствительности к глутамату [53]. Аппликация антагонистов НМДА рецепторов или ингибиторов аденилатциклазы предотвращало действие донора H_2S и вызывало нарушение ДВД в гиппокампе, что также показано и у мышей, нокаутированных по гену CBS [15,27, 51].

С другой стороны активация рецепторов глутамата приводила к изменению активности фермента CBS в клетках. Так, аппликация L-глутамата, НМДА, α -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты в присутствии 2 мМ Ca^{2+} вызывала усиление продукции H_2S CBS в суспензии клеток мозга крысы, тогда как увеличение концентрации ионов Mg^{2+} в среде и отсутствие глицина - ко-активатора НМДА-рецепторов - снижала концентрацию H_2S . Таким образом, синтез H_2S связан с деполяризацией мембраны и увеличением концентрации Ca^{2+} в результате активации ионотропных глутаматных рецепторов [27].

Показано, что H_2S участвует в поддержании баланса между процессами возбуждения и торможения в мозге [54]. γ -аминомасляная

кислота (ГАМК) является один из основных тормозных медиаторов в ЦНС, а дефицит ГАМК-ергического торможения приводит к фебрильным судорогам. Показано, что H_2S усиливал ГАМК-опосредованное торможение, что вело к уменьшению повреждения гиппокампа, вызванного повторными фебрильными судорогами [55]. В основе этого эффекта лежит усиление под действием H_2S экспрессии мРНК и уровня белковых субъединиц ГАМК(Б) рецепторов как на пре-, так и на постсинаптических мембранах. Предполагается, что усиление скорости синтеза субъединиц ГАМК-рецептора связано с H_2S -вызванным входом Ca^{2+} в цитоплазму и инициацией Ca^{2+} -зависимой транскрипции ДНК [56].

Ca^{2+} играет важную роль в клеточной физиологии, участвуя практически во всех сигнальных процессах, таких как передача сигнала, экзо- и эндоцитоз, синтез протеинов, регуляция ионного транспорта, функций мембранных и цитозольных белков. Нарушение гомеостаза для Ca^{2+} приводит к развитию различных дисфункций нервной системы. В нервной системе существует реципрокное взаимодействие между глиальными клетками и нейронами [57]. Так глиальные Ca^{2+} -волны способны управлять нейрональной активностью, и наоборот, активация нейронов запускает выброс ионов Ca^{2+} в цитоплазму астроцитов [58]. В культуре астроцитов и нейронах среза гиппокампа и мозжечка крысы донор H_2S вызывал освобождение Ca^{2+} из внутриклеточных депо и индуцировал Ca^{2+} -волны [59,60].

В ядре одиночного тракта аппликация H_2S вызывала увеличение частоты спонтанных и амплитуды вызванных моносинаптических потенциалов без изменения характеристик потенциала действия и потенциала покоя нейронов. Данные эффекты связаны с увеличением внутриклеточной концентрации Ca^{2+} в ответ на аппликацию H_2S . Ингибирование CBS значительно снижало величину синаптических токов,

а также уровень цитоплазматического Ca^{2+} , что свидетельствует об эндогенной регуляции синаптической передачи H_2S [61].

Влияние на концентрацию Ca^{2+} в клетке может быть опосредовано через модуляцию Ca^{2+} -каналов плазматической мембраны. Так, активация Т-тип Ca^{2+} -каналов в первичных афферентных нейронах у крысы, вызванная аппликацией донора H_2S , приводила к гипералгезии [62]. В культуре нейронов гранулярного слоя мозжечка донор H_2S в концентрациях 50-100 мкМ увеличивал внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} за счет активации L-типа Ca^{2+} -каналов, в высоких концентрациях - до 300 мкМ приводил к гибели клеток [60,63].

H_2S способен напрямую действовать на ионные каналы, регулируя мембранный потенциал и возбудимость. Влияние H_2S на возбудимость было обнаружена еще в работе 1993 года, где было показано, что донор H_2S вызывал увеличение проводимости мембраны серотонинергических нейронов ядра шва ствола мозга за счет активации K-проводимости [64]. Обнаружено, что одной из мишеней действия H_2S являются АТФ-зависимые K^+ -каналы (K(АТФ)-каналы), активация которых приводит к гиперполяризации мембраны, снижению возбудимости и подавлению респираторного ритма в группе парафациальных нейронов в срезах продолговатого мозга у новорожденных крысят [47, 65]

Показано влияние H_2S на активность Ca^{2+} -активируемых K-каналов большой проводимости (BK-каналов). В культуре GN3 клеток крысы донор H_2S доза-зависимо усиливал вероятность открытия каналов и этот эффект опосредовался восстанавливающим эффектом H_2S на дисульфидные связи субъединицы каналов с внутренней стороны канала [8]. С другой стороны, донор H_2S ингибировал BK-каналы в клетках НЕК 293, экспрессирующих α субъединицу этих каналов [66]. Различия в эффектах H_2S могут быть связаны с различиями в экспрессии различных

сплайс вариантов альфа и бета субъединиц каналов. В первичной культуре тригеминальных нейронов при помощи иммуноцитохимического анализа показана колокализация CBS-позитивных и нейронов, содержащих K-каналы подтипа Kv1.1 и Kv1.4. Экзогенная аппликация донора H₂S приводила к значительной деполяризации нейронов без изменения входного сопротивления, подавлению выходящих K-токов через потенциалзависимые K-каналы. В первичных сенсорных нейронах спинного мозга крысы H₂S увеличивал возбудимость за счет активации токов через тетродотоксин-устойчивые Na⁺-каналы [67,68].

Один из возможных механизмов действия H₂S на возбудимые клетки может быть связан с образованием полисульфидов. Так показано, что донор полисульфидов - Na₂S₃ способен активировать TRPA1-каналы в астроцитах крысы, вызывая вход Ca²⁺ [48], что способствует выбросу D-серина и приводит к усилению активности нейрональных НМДА-каналов. В результате интеграция двух механизмов, активирующих НМДА-рецепторы — с помощью H₂S и полисульфидов может способствовать усилению ДВП в гиппокампе [5,32,48].

H₂S оказывает непосредственное влияние на освобождение медиатора в периферической и центральной нервной системах. Так, еще в конце 90-х годов прошлого века было показано, что летальные и сублетальные дозы H₂S ингибировали фермент синтеза катехоламинов в различных отделах мозга, в результате чего происходило повышение уровня норадреналина, адреналина и серотонина [69-71]. В гипоталамо-гипофизарной системе донор H₂S в концентрациях 0.1-10 мМ снижал выброс кортикотропин-релизинг гормона, вызванный аппликацией KCl, тогда как базальная секреция гормона не изменялась. Подобное действие оказывал и SAM, активатор синтеза H₂S. Кроме того, SAM уменьшал повышение концентраций глюкокортикоидов в плазме крови, вызванное

стрессом, что позволяет предположить участие H_2S в регуляции гипоталамо-гипофизарной системы [25].

В периферической нервной системе показано, что H_2S стимулировал капсаицин-чувствительные сенсорные нервные окончания, вызывая секрецию вещества P и нейрокина А [72]. В двигательных нервных окончаниях экзогенный и эндогенный H_2S оказывал усиление спонтанного и вызванного освобождения медиатора в синапсах холонокровных и теплокровных животных [6,7,9,13,19-24]. Анализ влияния H_2S на спонтанную секрецию медиатора показал увеличение частоты миниатюрных токов концевой пластики без изменения их амплитудно-временных параметров, что свидетельствует об отсутствии влияния газа на чувствительность постсинаптических холинорецепторов [19]. Исследование внутриклеточных механизмов действия H_2S показало участие системы аденилатциклазы, а также внутриклеточных Ca^{2+} -депо [22,24]. Возможно также, что H_2S непосредственно вмешивается в механизмы экзоцитоза синаптических везикул, связанные с трансформацией белков SNARE-комплекса, о чем свидетельствует увеличение частоты спонтанного освобождения медиатора. Можно предположить, что H_2S приводит к изменению окислительно-восстановительного статуса SNARE комплекса, что влияет на стабильность белковых взаимосвязей [74].

Таким образом, в нервной системе H_2S обладает широким спектром действия, участвуя в регуляции секреции медиатора, проведении и восприятии болевой информации, формировании долговременной синаптической пластичности. Нейропротекторные и патологические эффекты H_2S

Токсичность H_2S известна уже более 300 лет, длительные воздействия низких доз газа вызывают утомление, потерю аппетита,

головные боли, раздраженность, нарушения памяти, головокружение; приводят к заболеваниям ЦНС, сердечно-сосудистой и дыхательной систем, желудочно-кишечного тракта [4]. На моделях животных многократная экспозиция токсических доз H_2S приводила к нейрохимическим, морфологическим и электрофизиологическим изменениям в развивающемся мозге [75]. Наблюдалась демиелинизация аксонов, гибель нейронов, повреждения олигодендроцитов и усиление эндоцитоза [76]. В высоких концентрациях H_2S повреждал клетки мозга и вызывал нарушение процессов обучения и памяти [75].

Однако, в настоящее время показано, что эндогенный H_2S может оказывать и нейропротекторное действие, защищая нейроны в условиях оксидативного стресса. H_2S усиливает синтез главного внутриклеточного антиоксиданта — глутатиона, который способен связывать свободные формы кислорода в митохондриях [36,77,78].

Существуют две формы глутаматной нейротоксичности - одна связана с гиперактивацией НМДА-рецепторов, а вторая - с подавлением цистеин/глутаматного антипорта [79]. Высокая концентрация экзогенного глутамата снижает вход цистеина в клетку, и следственно происходит снижение внутриклеточного уровня глутатиона [77]. H_2S способен активировать цистеин/глутаматный антипорт и цистеиновый транспортер для увеличения внутриклеточной концентрации цистеина и продукции глутатиона [36,78,80]. Так, например, в первичной культуре кортикальных астроцитов, H_2S предотвращал H_2O_2 -вызванное повреждение клеток путем уменьшения внеклеточной концентрации глутамата, что приводило к усилению поглощения цистеина и продукции глутатиона [42].

Другой механизм, с помощью которого H_2S проявляет защитный эффект – это его антиоксидантное действие. H_2S - очень

реактивная молекула и может легко вступить в реакцию с другими соединениями, особенно с активными формами кислорода и азота [78]. Значимость реакции H_2S с O_2^- неоднозначна, так как продукт реакции сульфит может обладать как токсическими, так и антиоксидантными свойствами, что, по-видимому, зависит от его концентрации [81]. Координация клеточной пролиферации и смерти одна из важных жизненных процессов для нормального развития и жизнедеятельности клетки. Физиологическая клеточная смерть происходит через различные формы апоптоза [82]. Оказалось, что H_2S эффективно модулирует клеточную пролиферацию или апоптоз в различных системах, усиливая или предотвращая гибель клеток [83]. Так, добавление H_2S в клеточную культуру PC12 предотвращала апоптоз, индуцированный аппликацией митохондриальных нейротоксинов (MPP⁺, 6-OHDA), гомоцистеина и бета-амилоида, оказывая протекторное действие [4]. H_2S оказывал неоднозначное действие на протекание ишемического инсульта в мозге. Аппликация донора H_2S или L-цистеина ухудшало течение заболевания, тогда как ингибиторы CBS или CSE снижали объем мозгового инфаркта, вызванного односторонней окклюзией средней мозговой артерии [84]. При этом концентрация H_2S в коре головного мозга увеличилась, что предлагает негативное влияние H_2S . Однако, есть данные, указывающие на позитивное влияние H_2S , связанное с его нейропротекторным действием [85,86]. Кроме того, защитное влияние H_2S на нейроны мозга при ишемическом инсульте и глутаматной интоксикации может быть связано с активацией K(ATФ)-каналов и снижением возбудимости нейронов, усилением работы γ -глутамилцистеин синтазы и транспортера для цистеина [81].

Показано участие H_2S в развитии различных нейродегенеративных заболеваний. Нарушения регуляция фермента CBS связывают с различными заболеваниями, сходной чертой которых является отставание в

умственном развитии. При болезни Альцгеймера содержание H_2S в мозге снижено на ~55%, и этот дефицит вызван падением концентрации SAM [27]. Как было описано выше, H_2S проявляет антиоксидантные свойства и его дефицит может привести к увеличению концентрации пероксинитритов и гипохлоритов у пациентов с болезнью Альцгеймера. Кроме того, H_2S является вазорелаксантом, поэтому уменьшение уровня H_2S , вероятно, вызывает дисфункцию микроциркуляторного русла мозга, приводящую к возникновению болезни Альцгеймера [4,27].

Дефицит экспрессии фермента CBS в организме приводит к развитию гомоцистеинурии [4]. Во взрослом мозге патологическая концентрация гомоцистеина и его производных способна вызывать повреждение нейронов за счет гиперактивности НМДА-каналов, входа Ca^{2+} и продукции активных форм кислорода. Другой механизм нейротоксичности гомоцистеина связан с активацией малых ГТФаз митоген-активируемого протеинкиназного метаболического пути и апоптоза [87]. Таким образом, нейрональные клетки, чувствительные патологическим концентрациям гомоцистеина, обладают высоким уровнем экспрессии фермента CBS. Активация синтеза H_2S защищает нейроны от высокого уровня эндогенного гомоцистеина [38,87].

Показано, что уровень экспрессии CBS у больных синдромом Дауна в три раза выше по сравнению со здоровыми людьми [4]. Ген CBS расположен в 21 хромосоме, поэтому возникновение трисомии 21 хромосомы при синдроме Дауна приводит к повышенной экспрессии CBS и к увеличению синтеза H_2S в мозге. Было показано, что у людей с этим заболеванием в моче увеличена концентрация тиосульфата, продукта метаболизма H_2S [4,88]. По-видимому, избыток H_2S оказывал токсичное воздействие на нейроны посредством ингибирования цитохромоксидазы и/или гиперстимуляцией НМДА-рецепторов и, таким

образом, вносил свой вклад в прогрессивную олигофрению у больных трисомией [89]. **Заключение**

Таким образом, из приведенных данных можно заключить, что в физиологических условиях H_2S является сигнальной молекулой в нервной системе, регулирующей процессы освобождения медиатора, кратковременные и долговременные изменения в синаптических структурах, процессы памяти и обучения [4]. Предполагается, что H_2S играет важную роль в созревании и сохранении клеток в эмбриогенезе и в постнатальном морфогенезе в нервной системе, оказывая нейропротекторное, антиоксидантное воздействие как на нейроны, так и на астроциты. С другой стороны, патологическое увеличение или снижение в тканях уровня H_2S может стать причиной развития нейродегенеративных заболеваний, ишемического инсульта, оказывать цитотоксические эффекты [80]. Несмотря на разнообразие эффектов H_2S в различных тканях основные клеточные источники и механизмы его освобождения не до конца понятны. H_2S может освобождаться сразу после образования ферментами CBS, CSE и 3-MST, кроме того, H_2S , синтезируемый ферментами может связываться с протеинами и высвобождаться в ответ на физиологические стимулы [17,36]. Недавние исследования показали, что эндогенный уровень свободного H_2S в базальных условиях очень низкий и повышение его, по-видимому, происходит локально в ответ на стимуляцию, что позволяет селективно воздействовать на клеточные мишени. Несмотря на то, что выявлен целый ряд мишеней действия H_2S таких как НМДА-рецепторы, K(ATФ)-каналы, Ca^{2+} -каналы и другие, механизмы его эффектов не выяснены. Предполагается, что химическая модификация белков (S-сульфидрация) опосредует различные физиологические эффекты H_2S . Решение этих

вопросов и прояснение механизмов действия H_2S приведет к возможности его использования в терапевтических целях.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-15-00618 и выполнена в рамках государственной программы повышения конкурентоспособности Казанского (Приволжского) федерального университета среди ведущих мировых научно-образовательных центров.

Литература

1. Reiffenstein R.J., Hulbert W.C., Roth S.H. Toxicology of hydrogen sulfide. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1992; 32: 109-34.
2. Savage C., Gould D.H. Determination of sulfides in brain tissue and rumen fluid by ion-interaction reversed-phase high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr.* 1990; 526: 540–5.
3. Zhou CF, Tang XQ. Hydrogen sulfide and nervous system regulation. *Chin Med J (Engl).* 2011; 124(21): 3576-82.
4. Wang R. Physiological implications of hydrogen sulfide: A Whiff exploration that blossomed. *Physiological reviews.* 2012; 92(2): 791–896.
5. Wang R. Gasotransmitters: growing pains and joys. *Trends Biochem Sci.* 2014; 39(5): 227-32.
6. Ситдикова Г.Ф., Зефирова А.Л. Газообразные посредники в нервной системе. *Росс. Физиол. журнал им. И.М.Сеченова.* 2006; 97(7):872-882.
7. Ситдикова Г.Ф., Зефирова А.Л. Сероводород: от канализаций Парижа к сигнальной молекуле. *Природа* 2010; 9:29-37.
8. Sitdikova G.F., Weiger T.M., Hermann A. Hydrogen sulfide increases calcium-activated potassium (BK) channel activity of rat pituitary tumor cells. *Pflugers Arch - Eur J Physiol.* 2010; 459:389-97.

9. Ситдикова Г.Ф., Яковлев А.В., Одношивкина Ю.Г., Зефирова А.Л. Влияние сероводорода на процессы экзо- и эндоцитоза синаптических везикул в двигательном нервном окончании лягушки. *Нейрохимия*. 2011; 28(4): 1-7.
10. Khaertdinov N.N., Ahmetshina D.R., Zefirov A.L., Sitdikova G.F. Hydrogen Sulfide in Regulation of Frog Myocardium Contractility. *Biochemistry (Moscow)*. 2013; 7(1): 52–57.
11. Хаертдинов Н.Н., Герасимова Е.В., Ситдикова Г.Ф. АТФ-зависимые K^+ -каналы как мишень действия сероводорода в миокарде лягушки. *Естественные науки*. 2012; 1(38): 210-213.
12. Шафигуллин М.У., Зефирова Р.А., Сабируллина Г.И., Зефирова А.Л., Ситдикова Г.Ф. Эффекты донора сероводорода на спонтанную сократительную активность желудка и тощей кишки крысы. *БЭБИМ*. 2014; 157(3): 275-279.
13. Sitdikova G.F., Zefirov A.L. Gasotransmitters in Regulation of Neuromuscular Transmission. In: Hermann A., Sitdikova G., Weiger T., editors. *Gasotransmitters: Physiology and Pathophysiology*. Springer; 2012, p 139-161.
14. Яковлев А.В., Ситдикова Г.Ф., Зефирова А.Л. Внутриклеточные пресинаптические механизмы эффектов оксида азота (II) в нервно-мышечном соединении лягушки. *Нейрохимия*. 2005; 22(1): 81-7.
15. Abe K., Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. *J Neuroscience*. 1996; 16 : 1066–71.
16. Kimura H., Nagai Y., Umemura K., and Kimura Y. Physiological roles of hydrogen sulfide: synaptic modulation, neuroprotection, and smooth muscle relaxation. *Antioxid Redox Signal*. 2005; 7: 795–803.
17. Shibuya N., Tanaka M., Yoshida M., et al. 3-Mercaptopyruvate

sulfurtransferase produces hydrogen sulfide and bound sulfane sulfur in the brain. *Antioxid Redox Signal*. 2009; 11: 703–14.

18. Kombine S.B., Reiffenstein R.J., Colmers W.F. The actions of hydrogen sulfide on dorsal raphe serotonergic neurons in vitro. *J Neurophysiol*. 1993; 70: 81–96.

19. Gerasimova E.V., Sitdikova G.F., Zefirov A.L. Hydrogen sulfide as an endogenous modulator of mediator release in the frog neuromuscular synapse. *Neurochemical Journal*. 2008; 2(1): 120-126.

20. Sitdikova G.F., Gersimova E.V., Khaertdinov N.N., Zefirov A.L. Role of cyclic nucleotides in effects of hydrogen sulfide on mediator release in frog neuromuscular junction. *J. Neurochemical*. 2009; 3(4): 282-7.

21. Sitdikova G.F., Yakovlev A.V., Odnoshivkina Y.G., Zefirov A.L. Effects of Hydrogen sulfide on the exo- and endocytosis of synaptic vesicles in frog motor nerve endings. *J. Neurochemical*. 2011; 5(4): 245-50.

22. Герасимова Е.В., Яковлева О.В., Зефиоров А.Л., Ситдикова Г.Ф. Роль рианодинowych рецепторов в эффектах сероводорода на освобождение медиатора из двигательного нервного окончания лягушки. *БЭБИМ*. 2013; 155(1): 14-16.

23. Mitrukhina O.B., Yakovlev, A.V., Sitdikova G.F. The Effects of Hydrogen Sulfide on the Processes of Exo- and Endocytosis of Synaptic Vesicles in the Mouse Motor Nerve Endings. *Biochemistry (Moscow)*. 2013; 7(2): 170–173.

24. Герасимова Е.В., Ситдикова Г.Ф., Зефиоров А.Л. Сероводород как эндогенный модулятор освобождения медиатора в нервно-мышечном синапсе лягушки. *Нейрохимия*. 2008; 25(2): 138-45.

25. Dello Russo C., Tringali G., Ragazzoni E., et al. Evidence that hydrogen sulfide can modulate hypothalamo-pituitary-adrenal axis function: in vitro and in vivo studies in the rat. *J Neuroendocrinol*. 2000; 12: 225–233.

26. Nagai Y., Tsugane M., Oka J., Kimura H. Hydrogen sulfide induces

- calcium waves in astrocytes. *FASEB J.* 2004; 18: 557–559.
27. Eto K., Ogasawara M., Umemura K., Nagai Y., Kimura H. Hydrogen sulfide is produced in response to neuronal excitation. *J. Neuroscience.* 2002; 22(9): 3386–91.
28. Lu, Y., O'Dowd B.F., Orrego H., Israel Y. Cloning and nucleotide sequence of human liver cDNA encoding for cystathionine- γ -lyase. *Bioch. Bio. Res. Com.* 1992; 189; 749-758.
29. Van der Molen, E.F., Hiipakka M.J., van Lith-Zanders G. Homocysteine metabolism in endothelial cells of a patient homozygous for cystathionine beta-synthase (CS) deficiency. *Thromb. Haemost.* 1997; 78; 827-833.
30. Distrutti E., Sediari L., Mencarelli A. Evidence that hydrogen sulfide exerts antinociceptive effects in the gastrointestinal tract by activating K(ATP) channels. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2006; 316: 325-335.
31. Gadalla J., Moataz M., Snyder S.H. Hydrogen Sulfide as a Gasotransmitter. *J. Neurochemistry.* 2010; 113(1): 14–26. Morikawa T., Kajimura M., Nakamura T., et al. Hypoxic regulation of the cerebral microcirculation is mediated by a carbon monoxide-sensitive hydrogen sulfide pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012; 109: 1293–1298.
32. Shibuya N., Kimura H. Production of hydrogen sulfide from D-cysteine and its therapeutic potential. *Frontiers in Endocrinology.* 2013; 4: 87-93.
33. Nagahara N., Ito T., Kitamura H., Nishino T. Tissue and subcellular distribution of mercaptopyruvate sulfurtransferase in the rat: confocal laser fluorescence and immunoelectron microscopic studies combined with biochemical analysis. *Histochem. and Cell Biology.* 1998; 110(3): 243-250.
34. Shibuya N., Koike S., Tanaka M., et al. A novel pathway for the production of hydrogen sulfide from D-cysteine in mammalian cells. *Nature Communications.* 2013; 4: 1366.

35. Kimura H. Hydrogen Sulfide: From Brain to Gut. *Antiox. Redox Signal*. 2010; 12(9): 1111–23.
36. Shen W., McGath M.K., Evande R., Berkowitz D.B. A Continuous Spectrophotometric Assay for Human Cystathionine Beta-Synthase. *Analytical biochemistry*. 2005; 342(1): 103–10.
37. Robert K., Vialard F., Thiery E. et al. Expression of the cystathionine beta synthase (CBS) gene during mouse development and immunolocalization in adult brain. *J Histochem Cytochem*. 2003; 51: 363–371.
38. Obeid R., McCaddon A., Herrmann W. The Role of Hyperhomocysteinemia and B-Vitamin Deficiency in Neurological and Psychiatric Diseases. *Clinical chemistry and laboratory medicine* . 2007; 45(12): 1590–1606.
39. Brintjes J.J., Henning R.H., Douwenga W., van der Zee E.A. Hippocampal Cystathionine Beta Synthase in Young and Aged Mice. *Neuroscience letters*. 2014; 563: 135–39.
40. Enokido Y, Suzuki E, Iwasawa K. Et al. Cystathionine beta-synthase, a key enzyme for homocysteine metabolism, is preferentially expressed in the radial glia/astrocyte lineage of developing mouse CNS. *FASEB journal*. 2005; 19(13): 1854–56.
41. Lee M., Schwab C., Yu S., McGeer E., McGeer P.L. Astrocytes produce the anti-inflammatory and neuroprotective agent hydrogen sulfide. *Neurobiol Aging*. 2009; 30: 1523–34.
42. Vitvitsky V., Thomas M., Ghorpade A., Gendelman H., Banerjee R. A functional transsulfuration pathway in the brain links to glutathione homeostasis. *J Biol Chem*. 2006; 281: 35785–93.
43. Rosenquist T.H., Finnell R.H. Genes, folate and homocysteine in

- embryonic development. *Proc Nutr Soc.* 2001; 60: 53–61.
44. Fonnum F., Lock E.A. Cerebellum as a target for toxic substances. *Toxicol Lett.* 2000; 112-113: 9–16.
45. Sajdel-Sulkowska E.M., Xu M., Koibuchi N. Increase in cerebellar neurotrophin-3 and oxidative stress markers in autism. *Cerebellum.* 2009; 8: 366–72.
46. Zhao W., Ndisang J.F., Wang R. The modulation of endogenous production of H₂S in rat tissues. *Can J Physiol Pharmacol.* 2003; 81: 848–53.
47. Kimura H. Physiological role of hydrogen sulfide and polysulfide in the central nervous system. *Neurochem. International.* 2013; 63(5): 492–7.
48. Greiner R., Pálinkás Z., Bäsell K., et al. Polysulfides link H₂S to protein thiol oxidation. *Antioxidants & Redox Signaling.* 2013; 19(15): 1749–65.
49. Ishigami M., Hiraki K., Umemura K., et al. A source of hydrogen sulfide and a mechanism of its release in the brain. *Antioxid. Redox Signal.* 2009; 11: 205–14.
50. Kimura M. Hydrogen sulfide induces cyclic AMP and modulates the NMDA receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000; 267: 129-133.
51. Kimura H. Hydrogen sulfide as a neuromodulator. *Mol Neurobiol.* 2002; 26: 13–19.
52. Tang G., Wu I., Wang R. Interaction of Hydrogen Sulfide with Ion Channels *Clinical and experimental pharmacology & physiology.* 2010; 37(7): 753–63.
53. Kaila K. Ionic basis of GABAA receptor channel function in the nervous system. *Prog Neurobiol.* 1994; 42: 489–537. Han Y., Qin J., Chang X., Yang Z., Tang X., Du J. Hydrogen sulfide may improve the hippocampal damage induced

by recurrent febrile seizures in rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005; 327: 431–436.

54. Bading H., Ginty D., Greenberg M. Regulation of gene expression in hippocampal neurons by distinct calcium signaling pathways. *Science.* 1993; 260: 181–186.

55. Dani J.W., Chernjavsky A., Smith S.J. Neuronal activity triggers calcium waves in hippocampal astrocyte networks. *Neuron.* 1992; 8; 429–440.

56. Parri H.R., Gould T.M., Crunelli V. Spontaneous astrocytic Ca^{2+} oscillations in situ drive NMDAR-mediated neuronal excitation. *Nat. Neurosci.* 2001; 4: 803–812.

57. Nagai Y., Tsugane M., Oka J., Kimura H. Hydrogen sulfide induces calcium waves in astrocytes. *FASEB J.* 2004; 18; :557–559.

58. Garcia-Bereguian M., Samhan-Arias A., Martin-Romero F., Gutierrez-Merino C. Hydrogen sulfide raises cytosolic calcium in neurons through activation of L-type Ca^{2+} channels. *Antioxid Redox Signal.* 2008; 10: 31–42.

59. Austgen J.R., Hermann G.E., Dantzer H.A., et al. Hydrogen Sulfide Augments Synaptic Neurotransmission in the Nucleus of the Solitary Tract. *J Neurophysiol.* 2011; 106(4): 1822–32.

60. Kawabata A., Ishiki T., Nagasawa K. et al. Hydrogen sulfide as a novel nociceptive messenger. *Pain.* 2007; 132: 74–81.

61. Gutierrez-Martin Y., Martin-Romero F.J., Henao F., Gutierrez-Merino C. Alteration of cytosolic free calcium homeostasis by SIN-1: High sensitivity of L-type Ca^{2+} channels to extracellular oxidative / nitrosative stress in cerebellar granule cells. *J. Neurochem.* 2005; 92: 973–89.

62. Kombian, B., Reiffenstein R.J., Colmers F. The Actions of Hydrogen Sulfide on Dorsal Raphe Serotonergic Neurons In Vitro. *J Neurophysiol.* 1993; 70(I) : 81-96.
63. Chen L., Zhang J., Ding Y., Li H. et al. K(ATP) channels of parafacial respiratory group (pFRG) neurons are involved in H₂S-mediated central inhibition of respiratory rhythm in medullary slices of neonatal rats. *Brain Res.* 2013; 1527: 141-8.
64. Telezhkin V., Brazier S.P., Cayzac S., Muller C T., Riccardi D., Kemp, P.J. Hydrogen sulfide inhibits human BK(Ca) channels. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2009; 648: 65-72.
65. Hu, S., Xu, W., Miao, X., Gao, Y., Zhu, L., Zhou, Y., Xu, G.-Y. Sensitization of sodium channels by cystathionine β -synthetase activation in colon sensory neurons in adult rats with neonatal maternal deprivation. *Experimental Neurology.* 2013; 248: 275–85.
66. Xu G.Y., Winston J.H., Shenoy M., Zhou S., Chen J.D., Pasricha P.J. The endogenous hydrogen sulfide producing enzyme cystathionine-beta synthase contributes to visceral hypersensitivity in a rat model of irritable bowel syndrome. *Mol Pain.* 2009; 5: 44.
67. Warenycia M., Smith K., Blashko C., Kombian S., Reiffenstein R. Monoamine oxidase inhibition as a sequel of hydrogen sulfide intoxication: increases in brain catecholamine and 5-hydroxytryptamine levels. *Arch Toxicol.* 1989; 63 : 131–136.
68. Roth S., Skrajny B., Reiffenstein R. Alteration of the morphology and neurochemistry of the developing mammalian nervous system by hydrogen sulfide. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 1995; 2: 379–380.

69. Skrajny B., Hannah R., Roth S. Low concentrations of hydrogen sulfide alter monoamine levels in the developing rat central nervous system. *Can J Physiol Pharmacol.* 1992; 70: 1515–18.
70. Вараксин А.А., Пушина Е.В. Значение сероводорода в регуляции функции органов. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2012; 2: 27-34.
71. Patacchini R., Santicioli P., Giuliani S., Maggi C.A. Hydrogen sulfide (H₂S) stimulates capsaicin-sensitive primary afferent neurons in the rat urinary bladder. *Br. J. Pharmacol.* 2004; 142: 31-34.
72. LoPachin, R.M., Barbe D.S. Synaptic cysteine sulfhydryl groups as targets of electrophilic neurotoxicants. *Toxicological sciences.* 2006; 94(2): 240–255.
73. Partlo L., Sainsbury R., Roth S. Effects of repeated hydrogen sulfide (H₂S) exposure on learning and memory in the adult rat. *Neurotoxicology.* 2001; 22: 177–189.
74. Solnyshkova T.B. Demyelination of nerve fibers in the central nervous system caused by chronic exposure to natural hydrogen sulfide-containing gas. *Bull. of Experimental Biology and Medicine.* 2003; 136: 328-32.
75. Kimura Y., Kimura H. Hydrogen sulfide protects neurons from oxidative stress. *FASEB J.* 2004; 18(10); 1165–7.
76. Whiteman M., Cheung N., Zhu Y. et al. Hydrogen sulphide: a novel inhibitor of hypochlorous acid-mediated oxidative damage in the brain? *Biochem Biophys Res Commun.* 2005; 326: 794–798.
77. Tan S., Schubert D., Maher P. Oxytosis: A novel form of programmed cell death. *Curr. Top. Med. Chem.* 2001; 1: 497–506.

78. Cheng-fang, Z., Xiao-quiring T. Hydrogen Sulfide and Nervous System Regulation. Chinese medical journal. 2011; 124: 3576–82.
79. Kimura Y., Dargusch R., Schubert D., Kimura H. Hydrogen sulfide protects HT neuronal cells from oxidative stress. Antioxid. Redox. Signal. 2006;. 8:. 661-670.
80. Vaux D.L, Korsmeyer S.J. Cell death in development. Cell. 1999; 96: 245-254.
81. Guang-Dong Y., Wang R. H₂S and Cellular Proliferation and Apoptosis. Acta pharmacologica Sinica. 2007; 59(2): 133–40.
82. Qu K., Chen C.P., Halliwell B. et al. Hydrogen sulfide is a mediator of cerebral ischemic damage. Stroke. 2006; 37: 889-893.
83. Lowicka E., Beltowski J., Hydrogen sulfide (H₂S)—the third gas of interest for pharmacologists. Pharmacol. Rep. 2007; 59: 4.
84. Wang, R. Two's company, three's a crowd: can H₂S be the third endogenous gaseous transmitter? FASEB J. 2002; 16:1792-1298.
85. Skovby F., Gaustadnes M., Mudd H. A revisit to the natural history of homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency, Mol. Gen. and Metabol. 2010; 99; 1–3.
86. Belardinelli M.C., Chabli A., Chadefaux-Vekemans B., Kamoun P. Urinary sulfur compounds in Down syndrome. Clin. Chem. 2001; 47: 1500-1501.
87. Kamoun P. Endogenous production of hydrogen sulfide in mammals. Amino Acids. 2004; 26: 243-254.