

- cytokines // *Biochem. J.* 1998. Vol. 330, No. 3. P. 1405–1409.
47. Sastre M., Regunathan S., Galea E. et al. Agmatinase activity in rat brain: a metabolic pathway for the degradation of agmatine // *J. Neurochem.* 1996. Vol. 67, No. 4. P. 1761–1765.
48. Satriano J. Agmatine: at the crossroads of the arginine pathways // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2003. Vol. 1009. P. 34–43.
49. Schaible H.G., Schmidt R.F. Neurophysiology of chronic inflammatory pain: electrophysiological recordings from spinal cord neurons in rats with prolonged acute and chronic unilateral inflammation at the ankle // *Prog. Brain. Res.* 1996. Vol. 110. P. 167–176.
50. Su R.-B., Li J., Qin B.-Y. A biphasic opioid function midulator: agmatine // *Acta Pharmacol. Sin.* 2003. Vol. 24, No. 7. P. 631–636.
51. Tabor C.W., Tabor H. Polyamines // *Ann. Rev. Biochem.* 1984. Vol. 53. P. 749–790.
52. Uzbay T.I. The pharmacological importance of agmatine in the brain // *Neuroscience and Biobehavioral Reviews.* 2012. Vol. 36, No. 1. P. 502–519.
53. Vega-Agapito V., Almeida A., Heales S.J. Peroxynitrite anion stimulates arginine release from cultured rat astrocytes // *J. Neurochem.* 1999. Vol. 73, No. 4. P. 1446–1452.
54. Wiesinger H. Arginine metabolism and the synthesis of nitric oxide in the nervous system // *Progress in Neurobiology.* 2001. Vol. 64, No. 4. P. 365–391
55. Wigdor S., Wilcox G.L. Central and systemic morphine-induced antinociception in mice: contribution of descending serotonergic and noradrenergic pathways // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1987. Vol. 242, No. 1. P. 90–95.
56. Zhen J.-Q., Weng X.-C., Gai X.-D. et al. Mechanism underlying blockade of voltage-gated calcium channels by agmatine in cultured rat hippocampal neurons // *Actapharmacol. Sin.* 2004. Vol. 25, No. 3. P. 281–285.

Поступила в редакцию 16.07.2013.

#### NEUROTRANSMITTER ROLE OF AGMATINE, ITS INTERACTION WITH CLASSIC NEUROMEDIATORS AND CONTRIBUTION TO MECHANISM OF PAIN DEVELOPMENT

I.V. Dyuzhen<sup>1,2</sup>, T.V. Balashova<sup>1</sup>, N.E. Lamash<sup>2</sup>, L.A. Mnatsakanyan<sup>1</sup>, V.B. Shoumatov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pacific State Medical University (2 Ostryakova Av. Vladivostok 690950 Russian Federation), <sup>2</sup> Institute of Marine Biology named after A.V. Zhirmunsky (17 Palchevskogo St. Vladivostok 690041 Russian Federation)

**Summary** – The paper reviews the literature data and in-house researches on neurotransmitter agmatine and distribution of agmatinase defined as the agmatine-degrading enzyme in mammalian and human brain. The in-house studies are indicative of agmatinase known to occur in spinal and supraspinal motoneurons, cortical interneurons and hippocampal interneurons. The agmatinergic neurons are lacking in the posterior horn of the spinal cord. The immunocytochemical agmatinase is found in this region on neuron body and process. The authors have identified a population of initially sensitive neurons in spinal ganglions known to change the activity level, given the inflammatory and neuropathic pain. The agmatinase has been found in a small population of large neurons of rostral ventromedial medulla that formed part of endogenous monoamine analgesic systems in brain. The literature data analysis allows supposing that the antinociceptive action of agmatine arises from its rather close relationship with nitrooxidergic and monoamine systems in brain and spinal cord.

**Key words:** neurotransmitters, agmatinase, nitric oxide, spinal cord.

Pacific Medical Journal, 2013, No. 4, p. 22–27.

УДК 616.8-091.81:616-008.7: 616.12-008

## НОВЫЕ НЕЙРОТРАНСМИТТЕРЫ И ИХ РОЛЬ В ЦЕНТРАЛЬНЫХ МЕХАНИЗМАХ РЕГУЛЯЦИИ КРОВООБРАЩЕНИЯ

*В.М. Черток, А.Е. Коцюба*

Тихоокеанский государственный медицинский университет (690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2)

**Ключевые слова:** нейроны, оксид азота, монооксид углерода, сероводород.

В обзоре рассмотрены современные представления о роли газообразных посредников (оксида азота, монооксида углерода, сероводорода) в центральных механизмах регуляции гемодинамики. Обобщены результаты собственных исследований, а также данные литературы по организации «вазомоторных» ядер ромбовидного мозга, нейроны которых участвуют в обмене этих веществ.

В центральных механизмах регуляции кровообращения особенно важное значение придается бульбарному отделу сердечно-сосудистого центра, морфологическим воплощением которого является небольшой участок ромбовидного мозга, лежащий каудальнее нижнего четверохолмия [8, 12, 32]. Здесь находится большое количество ядер, нейроны которых используют для передачи нервного импульса многие классические медиаторы: ацетилхолин, норадреналин, серотонин и т.д. Решающее значение этих веществ в центральных механизмах управления сердечно-сосудистой

системой долгое время не подвергалось сомнению. Однако представления о роли нейротрансмиттеров в процессах регуляции кардинально изменились после того, как их список в конце 70-х годов прошлого века пополнился монооксидом азота. Эту небольшую молекулу, обладающую амфифильными свойствами и свободно проникающую через клеточные мембраны, отнесли к новому классу нейротрансмиттеров – газообразных посредников. В начале 90-х годов в него включили монооксид углерода, а несколькими годами позже – сероводород.

Газообразные посредники, удовлетворяя основным критериям передатчиков нервного импульса, в то же время имеют коренные отличия от «классических» нейротрансмиттеров. Они не накапливаются в синаптических пузырьках, не освобождаются экзоцитозом, могут выделяться из любого участка клетки, у них нет «собственных» рецепторов на постсинаптической мембране [94]. Одним из уникальных свойств газотрансмиттеров является молекулярный механизм, за счет которого данные вещества передают сигнал.

Черток Виктор Михайлович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой анатомии человека ТГМУ; тел.: +7 (423) 245-09-05, e-mail: chertokv@mail.ru

В отличие от классических мессенджеров, передающих сигнал по принципу каскада, газотрансмиттеры химически модифицируют внутриклеточные протеины, быстро изменяя таким способом клеточный метаболизм [50, 86].

Газообразные нейротрансмиттеры осуществляют межклеточную и внутриклеточную регуляцию, что позволяет им участвовать в разнообразных физиологических процессах [49, 79, 86]. Однако о значении этих веществ в нейрогенных механизмах регуляции известно совсем немного. Особенно мало таких данных в отношении монооксида углерода и сероводорода, функциональные свойства и механизмы действия которых до сих пор вызывают противоречивые оценки [34, 59, 60]. В мозгу обнаружены довольно высокие концентрации сероводорода (от 50 до 160 мкМ) и монооксида углерода (10–30 мкМ), что послужило основанием для предположения о большом вкладе этих газов в работу нервной системы [76]. В отличие от NO, время полужизни которого в среднем составляет 5 с, а расстояние диффузии – около 100 мкм, CO и H<sub>2</sub>S обеспечивают развитие не столь мощного, зато долговременного возбуждения с более широкой зоной воздействия [62]. Высказывается мнение, что CO и H<sub>2</sub>S обеспечивают кальциевый гомеостаз в нейронах, регулируя его поступление в цитозоль через кальциевые каналы [34]. Нарушение этого процесса сопровождается изменениями в работе нервных клеток, и прежде всего их сигнальной функции.

В нервных центрах нейроны, синтезирующие NO, CO и H<sub>2</sub>S, образуют единую систему, внутри которой оказывают друг на друга синергистическое и антагонистическое влияние [52, 69, 70]. Их тесное функциональное взаимодействие в различных отделах мозга как между собой, так и с нервными клетками другой медиаторной принадлежности объясняет многообразное действие газотрансмиттеров на органы-мишени. При этом они ведут себя не как классические нейротрансмиттеры, оказывая свое влияние через поверхностные рецепторы целевых клеток, а как объемные передатчики, создающие вокруг себя «поле воздействия», модулируя активность окружающих клеток [56, 80]. В ответ на стимуляцию нейронов концентрация газов повышается, причем локально и кратковременно, а затем быстро снижается, что ограничивает зону их воздействия относительно небольшим участком мозга [63, 74]. Учитывая специфику функционирования нервных центров, это свойство газов нередко приобретает решающее значение, особенно в обеспечении механизмов срочных адаптаций, в основе которых лежит высокая пластичность нейронов и многообразие межнейронных связей.

Вовлечение газообразных посредников в пространственные взаимоотношения между различными популяциями нейронов позволяет им в качестве объемного нейромодулятора стимулировать высвобождение классических медиаторов, оказывая тем самым опосредованное влияние на целевые объекты,

весьма удаленные от места синтеза газов [46, 65, 74]. Открытие объемной нейропередачи, при которой происходит диффузное воздействие биологически активных веществ на различные популяции клеток мозга, и феномена спиловера, т.е. выхода нейротрансмиттера за пределы синаптической щели и диффундирование к соседним клеткам, доказали существование несинаптического механизма межнейронной коммуникации [85]. При объемной нейропередаче распространение сигнала происходит не только в зоне синапса, но и в пределах экстрацеллюлярного пространства с перемещением молекулярного носителя сигнала током экстрацеллюлярной и цереброспинальной жидкости. Поэтому любая клетка мозга может быть источником или мишенью объемной нейротрансмиссии. В отличие от синаптической передачи, которая представляет собой специализированную систему адресной информации в цепи нейронов, внесинаптическая диффузная нейропередача способна изменять активность широкого пула клеток, не связанных между собой специализированными соединениями и расположенных на относительно большом расстоянии от источника нейротрансмиссии [55, 94].

Пластическая реорганизация синапсов обеспечивает адаптацию нейронов к изменениям информационного потока, проходящего через его афферентные входы, оптимизирует работу нейронных сетей и, как следствие, – возможность приспосабливаться к новым условиям функционирования нервных центров. Участие газотрансмиттеров в пластических перестройках наиболее ярко проявляется в таких процессах, как долговременная потенция и долговременная депрессия, детально исследованные в гиппокампе и в коре мозжечка [31, 80]. С долговременной потенцией связывают прежде всего пластичность межнейронных связей, лежащих в основе памяти и обучения. В гиппокампе газотрансмиттеры повышают чувствительность NMDA-рецепторов к глутамату – наиболее распространенному возбуждающему нейромедиатору в мозге, вызывая повышение эффективности проведения возбуждения через синапс для каждого последующего импульса. В гиппокампе и мозжечке обнаружен наиболее высокий уровень экспрессии ферментов, участвующих в синтезе NO, CO и H<sub>2</sub>S, а иммуногистохимическим методом показано наличие соответствующих групп нейронов в указанных отделах мозга у крыс и мышей [72, 75]. Ингибиторы газообразных молекул блокируют индукцию долговременной потенции и прекращают уже возникшую потенцию [63]. Газотрансмиттеры вовлечены и в другие функции мозга, обеспечивая пластические перестройки нейронов, входящих в состав соответствующих нервных центров [30, 34, 81]. Это постоянно происходит в обычных условиях жизнедеятельности организма и обеспечивает ремоделирование нервных центров при патологии [7, 14].

В центральной нервной системе газотрансмиттеры играют важную роль в межнейронных коммуникациях

и в качестве сигнальных трансдукторов организуют деятельность разнообразных нервных центров [72, 75, 76]. Имеются немногочисленные факты, указывающие на участие этих газов в функционировании сердечно-сосудистого центра [79]. В его бульбарном отделе установлен высокий уровень экспрессии ферментов, обеспечивающих образование NO, CO и H<sub>2</sub>S [6, 26, 40–42], а введение стимуляторов или блокаторов синтеза этих газов вызывает дозозависимые гемодинамические эффекты [17, 73]. Неслучайно в работах последних лет среди основных участников регуляторного процесса все чаще упоминаются газотрансмиттеры [34, 49, 79]. Тем не менее имеющиеся на этот счет логические построения лишены материального подтверждения ввиду отсутствия убедительных данных о наличии газобразных посредников в ядрах сердечно-сосудистого центра. Не представлен морфологический субстрат и для обеспечения промежуточных процессов, проходящих при участии этих веществ в нервном центре, посредством которых сенсорная информация превращается в соответствующие нервные и сосудистые реакции. Потому большое место в наших исследованиях отведено изучению топохимии и распределения нейронов в вазомоторных ядрах, участвующих в обмене этих сигнальных молекул.

#### Нитроксидергические нейроны

В настоящее время накоплен огромный объем информации по нейронной организации нитроксидергических систем мозга. Повышенный интерес исследователей к NO во многом объясняется его участием в обеспечении функций нейрона, включая регуляцию гемодинамики [47, 57, 96]. В связи с этим приобретают особую важность объективные данные о распределении NO-нейронов в мозге.

О локализации нейрональной NO-синтазы в структурных образованиях мозга часто судят по наличию в них активности NADPH-диафоразы. В начале 60-х годов XX века гистохимический метод для выявления NADPH-диафоразы предложили E. Thomas и A. Pearse [89]. В различных отделах мозга ими было описано небольшое количество (около 2 %) редко расположенных нейронов с интенсивной ферментативной реакцией, за что они получили название «одиночные активные клетки». Но подлинный интерес к этому ферменту возродился после публикаций прежде всего B.T. Hope и S.R. Vinsent – авторов усовершенствованной версии использованного ранее метода о том, что высокой активности NADPH-диафоразы в отдельных нейронах сопутствует экспрессия конститутивных форм NO-синтаз, участвующих в синтезе одного из важнейших представителей нового класса передатчиков нервного импульса – оксида азота [43, 53, 54]. Нашлось и объяснение этому феномену. Оказалось, что в некоторых случаях конститутивные NO-синтазы, кроме способности катализировать образование оксида азота, обладают NADPH-диафоразной активностью, используя восстановленную форму NADPH как кофактор – донор

электронов при синтезе этого газа. Позднее как-то забылось, что речь шла об «отдельных клетках» и о «высокой активности NADPH-диафоразы», явление распространили на всю популяцию NO-нейронов. NADPH-диафору стали отождествлять с конститутивными NO-синтазами, в частности, с нейрональной, несмотря на то что это два разных фермента, которые отличаются не только функционально и биохимически, но и распределением на клеточном и субклеточном уровнях [5, 29, 33, 36, 57, 96]. Неслучайно при изучении нескольких отделов мозга у различных видов животных многие клетки, обладающие активностью NADPH-диафоразы, при двойном маркировании остаются иммунонегативными после использования антисыворотки против нейрональной NO-синтазы [36, 91, 96]. Однако эти интересные наблюдения оставляли сомнения, поскольку в большинстве случаев не были подкреплены количественными данными.

Восполняя этот пробел, мы провели сравнительное изучение топографии и количественного распределения нейронов, выявленных каждым из указанных выше методов, в нескольких ядрах продолговатого мозга у крыс. Полученные материалы показывают, что в стволе мозга NO-нейронов распределены крайне неравномерно, но во всех ядрах наряду с NADPH-диафоразопозитивными клетками находятся нейроны с положительной реакцией на нейрональную NO-синтазу (рис. 1, а–г, на с. 38). Вместе с тем установлены выраженные отличия численности каждого из этих двух типов клеток в одноименных ядрах (рис. 2). Гистохимическим методом определяется, как правило, намного больше NO-нейронов, чем при иммуногистохимическом. При этом в двигательных ядрах доля нейронов, обладающих активностью NADPH-диафоразы, всегда выше, чем в чувствительных и ассоциативных ядрах. Например, из 696 нейронов, которые выявляются окраской метиленовым синим в проекции ядра одиночного пути, 170 (24,4 %) обладают активностью NADPH-диафоразы и лишь 88 (12,6 %) являются иммунопозитивными. В то же время в спинно-мозговом ядре тройничного нерва на долю NADPH-диафоразопозитивных нейронов приходится 18,9 %, а на долю нейронально-NO-синтазопозитивных – лишь 9,7 %. В ретикулярном мелкоклеточном ядре гистохимическим методом выявляется 287 (40,8 %), иммуногистохимическим – 201 (28,6 %) нейронов. Еще более существенные различия между количеством этих типов клеток наблюдаются в двигательных ядрах медиального поля ретикулярной формации продолговатого мозга (гигантоклеточное, парагигантоклеточное ядра) и каудальном ядре моста (рис. 2). Но наиболее резкие отличия, связанные с методом выявления, установлены в двойном ядре и ядре подъязычного нерва: в первом – на долю NADPH-диафоразопозитивных клеток приходится 75,8 %, а на долю нейронально-NO-синтазопозитивных – около 8 %, во втором – 87,9 и 5,8 % соответственно.

Заметим, что специфичность иммуногистохимического исследования для определения локализации

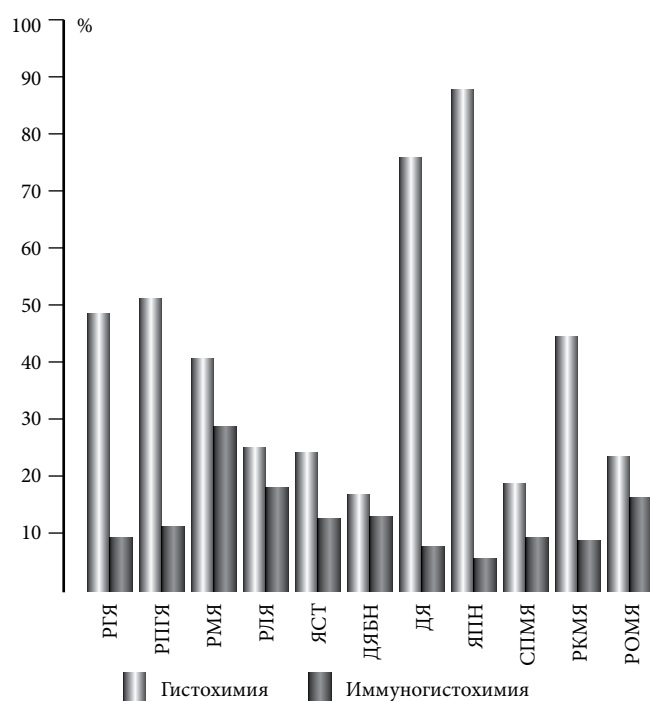


Рис. 2. Доля нитроксидагических нейронов, выявленных гистохимическим и иммуногистохимическим методами, в ядрах продолговатого мозга и моста крысы.

Здесь и на рис. 2: РГЯ – ретикулярное гигантоклеточное ядро, РПГЯ – ретикулярное парагигантоклеточное ядро, РМЯ – ретикулярное мелкоклеточное ядро, РЛЯ – ретикулярное латеральное ядро, ЯСТ – ядро солитарного тракта, ДЯБН – дорсальное ядро блуждающего нерва, ДЯ – двойное ядро, ЯПН – ядро подъязычного нерва, СПМЯ – спинномозговое ядро тройничного нерва, РКМЯ – ретикулярное каудальное мостовое ядро, РОМЯ – ретикулярное оральное мостовое ядро.

нейрональной NO-синтазы доказана многочисленными работами и сомнений не вызывает. Для идентификации NO-ергических нейронов иммуногистохимический метод имеет несомненное преимущество перед гистохимическим, при котором количество выявленных клеток зависит от немалого числа факторов [51, 54]. Сравнительное изучение клеточного состава ядер, проведенное нами на параллельных срезах, обработанных метиленовым синим, а также для гистохимического и иммуногистохимического исследования, позволило установить еще одно отличие в распределении двух типов нейронов. Оказалось, что нейрональная NO-синтаза находится преимущественно в мелких клетках, тогда как NADPH-диафороза выявляется и в многочисленной группе средних и крупных нейронов. И в том и в другом случаях процентное соотношение мелких, средних и крупных клеток отличается от соответствующих значений, вычисленных на препаратах, окрашенных метиленовым синим.

Отдельный вопрос об отростках NO-нейронов. При гистохимическом исследовании постоянно выявляются клетки с многочисленными длинными и короткими отростками (рис. 1, а, б, на с. 38). Наличие хорошо развитой системы чувствительных и эфферентных проводников с разной степенью активности NADPH-диафорозы неоднократно выявлялось в головном и спинном мозге, в составе сосудистых и

интрамуральных нервных сплетений, методами световой и электронной микроскопии [5, 9, 16, 24, 47, 66]. Иммуногистохимический метод позволяет выявить ограниченное число отростков (рис. 1, в, г, на с. 38), которые, по оценкам специалистов, являются исключительно дендритами нервных клеток [33, 36, 57].

Таким образом, несмотря на некоторые общие признаки клеточной организации NADPH-диафорозы и нейрональной NO-синтазы в ядрах продолговатого мозга, существуют явные особенности топографии и количественного распределения нейронов, участвующих в обмене каждого из этих ферментов, что заставляет с должной осмотрительностью относиться к материалам, полученным при изучении NO-нейронов гистохимическим методом. Тем не менее только при гистохимическом изучении NADPH-диафорозы можно вычислить такой важный показатель, как активность фермента в нейроне, что нельзя сделать при иммуногистохимическом исследовании, когда количество фермента определяется только как концентрация белка в клетке. Очень часто концентрация фермента не совпадает с уровнем его активности. Мы неоднократно убеждались, что в расположенных рядом нейронах может находиться большое количество фермента при его низкой активности и наоборот [6, 40]. Поэтому полную и достоверную картину организации нитроксидагических систем в мозге можно получить при параллельном использовании гистохимического и иммуногистохимического методов.

#### H<sub>2</sub>S-продуцирующие нейроны

В отличие от оксида азота о нейрогенной функции H<sub>2</sub>S известно совсем немного. Предположение о важной физиологической роли сероводорода в центральной нервной системе человека было высказано на основании того, что в его мозге после смерти определяется значительное содержание сульфидов [95]. В мозгу человека, быка и крысы концентрации сероводорода по разным оценкам колеблется от 50 до 160 мкМ [28, 34, 93]. При ряде нейродегенеративных заболеваний отмечено снижение концентрации этого газа, а при болезни Дауна – его избыточный синтез в мозге [61]. Иммуногистохимические исследования локализации H<sub>2</sub>S-продуцирующих структур в головном мозге единичны. Недавно появились сообщения о наличии таких нейронов в гиппокампе и мозжечке [49, 72].

Эндогенно H<sub>2</sub>S синтезируется в нервной системе из L-цистеина пиридоксаль-5'-фосфат-зависимыми ферментами – цистатионин-β-сиазой (CBS) и цистатионин-γ-лиазой (CSE). Участие CBS в синтезе H<sub>2</sub>S связано с конденсацией гомоцистеина с цистеином, что приводит к образованию цистатионина и сероводорода. CSE катализирует превращение цистеина в тиоцистеин, пируват и аммоний, после чего тиоцистеин неферментным путем разлагается на цистеин и H<sub>2</sub>S [39]. CBS участвует в синтезе H<sub>2</sub>S в нервной, а CSE – в кардиоваскулярной системе [37, 49]. В таких органах, как печень, почки, тонкая кишка, в этот процесс

вовлекаются оба фермента [61, 93]. Экспрессия CSE в периферической нервной системе отмечена в нейронах и нервных проводниках брыжеечного сплетения, т.е.  $H_2S$ , подобно NO, может быть нейротрансмиттером в холинергических, неадренергических нервах [72]. В центральной нервной системе отмечают очень низкий уровень активности CSE, за исключением белого вещества головного мозга [34, 48]. Этот газ синтезируется в основном при участии CBS, о чем свидетельствует его транскрипционная экспрессия в мозгу крысы, а также эксперименты с животными с накаутом гена CBS [48, 64]. У инбредных мышей развиваются нарушения долговременной синаптической потенциации [48]. Со снижением концентрации этого фермента связана гомотистеинурия – болезнь, обусловленная мутациями в гене CBS, локализованного в 21-й хромосоме [87]. Иммуногистохимические исследования тканевых структур мозга, в которых определяется экспрессия CBS, единичны и ограничиваются демонстрацией таких нейронов преимущественно в гиппокампе и мозжечке мелких лабораторных животных [72, 83].

Проведенное нами исследование свидетельствует, что во многих ядрах продолговатого мозга и моста, имеющих отношение к центральной регуляции сосудистого тонуса, постоянно находятся CBS-позитивные нейроны (рис. 1, д, е, на с. 38). При специфической иммуноцитохимической реакции они отличаются структурой, плотностью и цветом выпавшего осадка. На основании этих признаков определяются клетки с низкой, умеренной или высокой плотностью отложения продукта реакции. Клетки с низким содержанием фермента составляют не менее 50 % от общего количества CBS-позитивных нейронов в чувствительных и ассоциативных ядрах (ядро одиночного пути, ретикулярные мелкоклеточное и латеральное ядра). В этих нейронах выпадает мелкозернистый преципитат светло-коричневого цвета, который в цитоплазме представлен отдельно лежащими или слившимися гранулами, концентрирующимися на периферии клетки. В нейронах с умеренным содержанием CBS продукт реакции формирует более плотный цитоплазматический осадок коричневого цвета, сливающийся иногда в сплошное кольцо в околоядерной зоне. Таких нейронов много в ядрах моста, но особенно часто они встречаются в дорсальном ядре блуждающего нерва, где на их долю приходится 45,7 %.

Клетки с высокой интенсивностью реакции преобладают в двигательных ядрах продолговатого мозга и моста, где их доля колеблется от 28 до 43 %. Эти нейроны характеризуются наличием плотного крупногранулярного осадка темно-коричневого цвета, который равномерно заполняет всю цитоплазму клеток, оставляя свободной лишь зону ядра. Осадок выпадает также в отростках нейронов, маркируя их на большем или меньшем протяжении. Помимо нейронов, активность фермента наблюдается в нервных волокнах, эндотелии артериол и капилляров. Экспериментальные работы, выполненные на культуре тканей мышей, позволяют

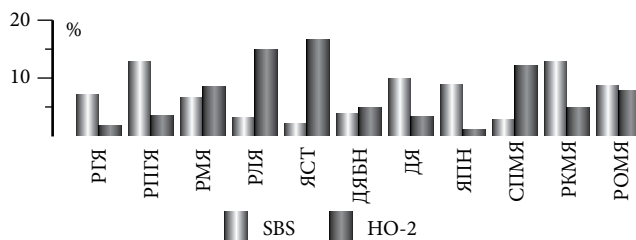


Рис. 3. Доля CBS- и NO-иммунопозитивных нейронов в ядрах продолговатого мозга и моста крысы.

говорить о возможной экспрессии CBS и в глиальных клетках, в частности, астроцитах [77].

Результаты сравнительного исследования показывают, что численность иммунопозитивных нейронов в разных ядрах колеблется довольно значительно – от 2 до 14 % (рис. 3). Намного чаще они выявляются в ядрах медиального эффекторного поля (ретикулярные гигантоклеточное и парагигантоклеточное ядра, ядра моста). Экспериментально установлено, что  $H_2S$  усиливает высвобождение медиатора из двигательных нервных окончаний мотонейронов спинного мозга [1]. Среди этих клеток нами обнаружена наиболее многочисленная группа CBS-позитивных нейронов с высокой плотностью продукта реакции [41], что является еще одним доказательством того, что нейротрансмиттерная функция  $H_2S$  в большей степени связана с двигательными нейронами.

За счет действия сероводорода происходит активация кальциевых каналов, благодаря чему на короткое время увеличивается внутриклеточная концентрация  $Ca^{2+}$ , вызывая выброс медиатора из нейрона и активацию внутриклеточных сигнальных каскадов [50, 86]. Сходные механизмы лежат в основе высвобождения из нейронов мозга норадреналина и серотонина. Хорошо известно участие этих моноаминов во многих физиологических процессах нервной системы, включая регуляцию гемодинамики и артериального давления. Ключевую роль в многообразном действии классических нейротрансмиттеров современные исследователи отводят NO, который способен регулировать содержание моноаминов в мозге [10]. Вместе с тем не так давно появились сообщения, во-первых, о тесном взаимодействии в мозгу нейронов, аккумулирующих NO и  $H_2S$ , во-вторых, о нейромодуляторной функции эндогенного сероводорода, который так же, как и оксид азота, может контролировать уровень серотонина и норадреналина в мозге [34, 79, 81, 93]. В поле СА I гиппокампа и в дорсальном ядре шва  $H_2S$  способен индуцировать гиперполяризацию нейронов, увеличивая приток в клетки ионов калия через АТФ-зависимые  $K^+$ -каналы [82].

$H_2S$  принимает участие в восприятии и передаче болевой информации [88], хотя долгое время считалось, что рецепцию и проведение возбуждения к нервным центрам обеспечивает ацетилхолин, а холинергический механизм является едва ли не единственным участником этих процессов. Затем список веществ, включенных в механизмы восприятия и проведения

нервного импульса, значительно расширился. В него попали некоторые кинины, аминокислоты, другие биологически активные вещества (брадикинин, адениновые нуклеотиды, аспартат, глутамат), а не так давно – и оксид азота [3, 15, 90]. Вместе с тем экспрессия CBS отмечена нами также в интернейронах чувствительных корешков спинного мозга, в немногочисленных клетках ядра солитарного тракта, воспринимающих импульсы от баро- и хеморецепторов, и ретикулярного латерального ядра, в которое поступают афферентные импульсы из спинного мозга [41]. В основе этого эффекта  $H_2S$ , по-видимому, лежит активация им кальциевых каналов как в ноцицептивных рецепторах, так и нейронах задних корешков спинного мозга, передающих болевую информацию в головной мозг [88].

### СО-продуцирующие нейроны

Наименее изученным из нового класса передатчиков нервного импульса по разным причинам оказался монооксид углерода. Несколько лет назад появились сообщения, что в центральной нервной системе он играет важную роль в обеспечении эффекта долговременной потенциации, ноцицептивной сигнализации и предположительно регуляции гемодинамики [75].

Непосредственным и, возможно, единственным субстратом для эндогенного образования СО является молекула гема, расщепление которой катализируется гемоксигеназой (НО). При этом высвобождаются также биливердин, быстро превращающийся под действием биливердинредуктазы в билирубин, и двухвалентное железо, участвующее в синтезе активных форм кислорода [34]. Установлены три изоформы гемоксигеназы: одна индуцибельная – НО-1 (белок теплового шока HSP32, который играет важную роль в адаптации клеток к действию стрессорных факторов) и две конститутивные – НО-2 и НО-3. Последняя в синтезе СО участия не принимает, и ее функциональное значение в организме пока неизвестно.

В головном мозге крыс определяется высокая активность НО-2 [58]. Наибольший уровень экспрессии этого фермента отмечен в конечном мозге, мозжечке, гиппокампе, а также в обонятельной луковице, где концентрация СО достигает значительной величины – 10–30 мкМ [58]. Однако биохимические методы, с помощью которых был получен основной объем информации о СО, не позволяют судить о наличии и доле энзимопозитивных нейронов в соответствующих отделах мозга, локализации и функциональной принадлежности ядер, клетки которых участвуют в синтезе СО, и других характеристиках, необходимых для формирования более полного представления о свойствах этой сигнальной молекулы. Вместе с тем иммуногистохимическими исследованиями НО-позитивных нейронов мозга немного, причем выполнены они преимущественно на новой коре и гиппокампе мелких лабораторных животных [75].

Полученные нами данные свидетельствуют, что в качестве нейротрансмиттера СО может играть заметную

роль в реализации центральных механизмов регуляции кровообращения. Во многих ядрах вазомоторного центра выявляются НО-позитивные нейроны различных размеров, формы с различной интенсивностью иммуногистохимической реакции (рис. 1, ж, з, на с. 38). Доля этих клеток в исследованных ядрах варьирует от 0,5 до 16%. Выявлена определенная зависимость между функциональной принадлежностью ядер и количеством в них иммунопозитивных нейронов (рис. 3). В двигательных ядрах доля НО-позитивных нейронов в несколько раз меньше, чем в чувствительных. Наибольшее количество таких клеток находится в ядре одиночного пути, в котором и наиболее часто встречаются клетки с высокой интенсивностью реакции. При унилатеральной микроинъекции гемина в область ядра солитарного тракта, которая приводит к освобождению СО, наблюдается значительное снижение кровяного давления и частоты сердечных сокращений [73]. Эти эффекты не проявляются при предварительном введении Zn-протопорфирина IX – ингибитора НО. Исследование клеточных механизмов регуляции активности НО показало, что синтез СО увеличивается в ответ на повышение цитозольной концентрации кальция, активацию протеинкиназы С и тирозинкиназ [34]. В центральной нервной системе это происходит при активации метаботропных глутаматных рецепторов I типа [59, 60].

В стволе мозга метаботропные рецепторы, активированные в ядре солитарного тракта, способны регулировать проведение сигнала через специфические цГМФ-зависимые механизмы к ядрам, которые обеспечивают эфферентные влияния на сердце и кровеносные сосуды. В этом случае СО выступает в качестве модулятора, усиливая спонтанную или вызванную секрецию ацетилхолина, серотонина, некоторых других медиаторов и гормонов, что может проходить непосредственно через изменение внутриклеточной концентрации цАМФ и активирования аденилатциклазы или опосредованным путем через цГМФ-зависимые фосфодиэстеразы [79]. В двигательных ядрах мишенью для таких воздействий могут быть как крупные иммунопозитивные клетки, так и небольшие нейроны, которые обычно располагаются на периферии этих ядер или между крупными нейронами и помимо НО содержат НО-синтазу и CBS [14, 41].

Несколько лет назад было установлено, что СО, так же как и NO и  $H_2S$ , инициирует развитие долговременной потенциации в гиппокампе [31]. Добавление СО во время слабой тетанической или низкоамплитудной стимуляции приводило к развитию долговременной потенциации. Ингибиторы НО блокировали индукцию долговременной потенциации и прекращали уже возникшую потенцию. Иммуногистохимическими исследованиями показано наличие морфологического субстрата для осуществления этой функции в головном мозге: НО постоянно присутствует в пирамидных и гранулярных нейронах гиппокампа мышей [75].

Нейротрансмиттерная и модуляторная функция СО может быть задействована в ноцицептивной

сигнализации. Полученные нами материалы свидетельствуют о том, что экспрессия НО наблюдается в тех клетках спинного мозга, которые участвуют в реализации указанной функции [26]. Среди чувствительных образований заднего рога особый интерес представляют нейроны студенистого вещества небольшой и средней величины, отличающиеся высоким содержанием продукта иммуногистохимической реакции. Как известно, аксоны многих из этих клеток заканчиваются в ретикулярном латеральном ядре и нижней оливе, в которых нами установлено относительно высокое содержание НО-позитивных нейронов. По некоторым данным, эти нейроны продуцируют энкефалин-пептид опиоидного типа, интегрирующий болевые эффекты [45]. В пределах студенистого вещества дискриминируются болевые рецепторы. Эксперименты, проведенные с использованием метода нозерн-блоттирования, показали 2–7-кратное повышение НО-2 матричной РНК в гомогенате ткани спинного мозга крыс при хроническом применении опиоидов, в то время как у животных, толерантных к ним, наблюдали лишь 3-кратное повышение уровня гемоксигеназы [71]. С помощью метэнкефалина и нейротензина нейроны I–III пластин уменьшают или снимают болевые эффекты, индуцируемые импульсами тонких корешковых волокон с веществом Р. Кроме того, не менее 10 % нервных клеток, окружающих центральный канал, имеют прямой ноцицептивных вход, о чем свидетельствует появление в их цитоплазме после болевой стимуляции Fos-белка [68]. Заметим, что, по нашим данным, доля НО-позитивных клеток в области X пластины спинного мозга также колеблется около 10 % [26]. Нисходящий контроль боли осуществляется церебральными системами, которые при помощи коллатералей связаны с восходящими ноцицептивными путями, образуя таким образом важную систему «обратной связи». При этом происходит торможение ноцицептивных нейронов заднего рога спинного мозга и активация тех нейронов студенистого вещества, которые участвуют в пресинаптическом торможении ноцицептивной информации [67].

Анатомически нисходящие системы представлены в основном рафеспинальным и ретикулоспинальным путями, образованными аксонами крупных клеток ядер шва и ретикулярного крупноклеточного ядра. Особая роль в антиноцицепции в этих системах принадлежит серотонину – нейротрансмиттеру с широким спектром действия. В области указанных ядер сосредоточено большее количество серотонинергических нейронов [6, 42, 67] и, как показали наши наблюдения, НО-позитивных клеток. В нейронах этих же ядер выявляется и НО-синтаза, активность которой значительно возрастает при развитии травматической болезни [2]. Усиление ноцицептивной сигнализации при травмах активирует соответствующие ферментные системы, приводя к увеличению синтеза оксида азота и монооксида углерода, которые каждый своим путем активируют растворимую гуанилатциклазу с последующим увеличением уровня цГМФ в ткани. Однако СО является слабым

активатором растворимой гуанилатциклазы, однако за счет своей химической стабильности может оказывать хотя и слабые, но долговременные эффекты.

#### Газотрансмиттерные нейроны и артериальная гипертензия

Участие газотрансмиттеров в пластических перестройках нейрогенного компонента сердечно-сосудистого центра рассмотрены нами на примере развития артериальной гипертензии. Как уже упоминалось, все газобразные посредники обладают вазорелаксирующим эффектом, что позволяет им принимать непосредственное участие в регуляции артериального давления. При подавлении активности ферментов, отвечающих за синтез указанных выше газов в стенке сосудов, развивается гипертензия [17, 23, 46, 78]. К примеру, снижение уровня или отсутствие у инбредных животных CSE или НО-2 приводит к повышению систолического давления на 12–30 мм рт. ст. [37, 84]. Тем не менее в отличие от НО морфологических доказательств участия  $H_2S$  и СО в нарушении центральных механизмов регуляции кровотока представлено не было. Отсутствие материалов о концентрации CBS или НО-2 в вазомоторных ядрах или особенностях распределения в них  $H_2S$ - и СО-продуцирующих клеток при развитии артериальной гипертензии не позволяло установить возможный вклад этих нейронов в нарушение работы нервного центра.

Собственное исследование показало наличие субстрата, с помощью или посредством которого указанные выше нейроны могут участвовать в реализации центральных механизмов управления гемодинамикой. В процессе развития артериальной гипертензии в проекции многих, хотя и не всех, вазомоторных ядер происходят последовательные изменения численности газотрансмиттерных нейронов и интенсивности реакции в них соответствующих ферментов [7, 14, 19–21, 25]. При этом во всех случаях наблюдается сходная последовательность отмеченных преобразований: вначале изменяется концентрация ферментов, позднее – количество иммунопозитивных клеток. Установлены и отличительные признаки пространственного распределения НО-, СО- и  $H_2S$ -продуцирующих нейронов. При гипертензии в большинстве ядер изменения количественных показателей в CBS- или НО-позитивных нейронах наступают позднее и выражены в меньшей степени, чем в нитроксидергических нейронах. В результате происходит изменение пространственного положения в ядрах различных типов газотрансмиттерных нейронов, что отражается как на характере связей между ядрами, так и на организации работы нервного центра в целом. Изменение взаимоотношений между сигнальными молекулами на ранних стадиях болезни, очевидно, приводит к компенсаторному замещению недостаточности функции одних газотрансмиттерных систем другими и, как следствие, – к временной стабилизации артериального давления. Дальнейшее сокращение активности НО-синтазы, CBS и НО-2

в нейронах, а затем и концентрации этих клеток, поддерживает длительно текущую гиперактивацию симпатической нервной системы не только на центральном, но и периферическом уровне, способствуя ремоделированию сосудистой стенки, повышению артериального давления и стабилизации его на новом уровне [4, 18, 20, 24, 25, 40, 42].

Рассматривая морфофункциональное состояние головного мозга при артериальной гипертензии, В.И. Скворцова и др. [11] предложили выделять два аспекта этой проблемы: участие головного мозга в формировании артериальной гипертензии и влияние, которая она оказывает на состояние головного мозга. Если основными участниками нейрогенных механизмов патологического процесса, по мнению авторов, являются молекулярные регуляторы, синтезируемые в нервной ткани, в том числе нейрональная NO-синтаза, дефицит которой оказывает ингибирующее влияние на симпатическую активность, то во втором случае особую значимость приобретает прямое действие повышенного артериального давления на молекулярные, биохимические и клеточные механизмы функционирования головного мозга. Многие исследователи связывают появление артериальной гипертензии с усилением адренергических процессов внутри «бульбарного отдела» [13, 27, 44]. Обнаружение в этом отделе мозга компактных скоплений норадренергических нейронов явилось морфологическим подтверждением высказанного предположения. Однако позднее было установлено, что количество норадренергических нейронов в стволе мозга крайне незначительно и составляет около 1–3% от общего числа клеток [22, 38, 92], что вызвало обоснованное сомнение в большой значимости этих нейронов в регуляции кровообращения.

Впрочем, по современным представлениям, эффективность и многообразие нейромедиаторного воздействия в немалой степени обеспечивают нейромодуляторы. Нейромедиаторы и нейромодуляторы активно взаимодействуют между собой, образуя сложную индукционную сеть, управляющую интеграционными процессами в мозге [35]. Поэтому даже небольшого количества клеток, депонирующих известные медиаторы, может оказаться достаточным для оказания существенного влияния на вазомоторику. В этой связи большое внимание уделяется нейромодуляторному воздействию газообразных посредников. Воздействуя на нейроны, участвующие в обмене классических медиаторов, они выполняют в мозге многообразные функции – от управления сложными каскадными процессами, создающими условия для функционального объединения отдельных нейронов в нервные центры, до локальной регуляции нейронной активности и ее сопряжения с интенсивностью местного кровотока [6, 22, 75, 79]. Проверка и систематизация данных, относящихся к этим гипотезам, а их к настоящему времени накопилось немало, является очередной важной задачей учения о центральных механизмах регуляции кровообращения.

#### Литература

1. Герасимова Е.В., Ситдикова Г.Ф., Зефилов А.Л. Сероводород как эндогенный модулятор освобождения медиатора в нервно-мышечном синапсе лягушки // *Нейрохимия*. 2008. Т. 25, № 1–2. С. 138–145.
2. Дюйзен И.В., Мотавкин П.А. Нитроксидагические механизмы формирования боли // *Дальневосточный мед. журнал*. 2003. № 2. С. 11–16.
3. Коцюба А.Е. Активность NADPH-диафоразы и ацетилхолинэстеразы в рецепторном аппарате артерий мягкой оболочки головного мозга человека и ее изменения при артериальной гипертензии // *Дальневосточный мед. журнал*. 2009. № 2. С. 99–101.
4. Коцюба А.Е., Бабич Е.В., Черток В.М. Вазомоторная иннервация артерий мягкой оболочки головного мозга человека разного диаметра при артериальной гипертензии // *Журн. неврол. и психиатрии*. 2009. № 9. С. 56–62.
5. Коцюба А.Е., Черток В.М. Нитроксидсодержащие элементы чувствительной иннервации артерий головного мозга // *Тихоокеанский мед. журнал*. 2009. № 2. С. 69–72.
6. Коцюба А.Е., Черток В.М. Пространственная организация серотонинергических и нитроксидагических нейронов в некоторых ядрах бульбарного отдела сердечно-сосудистого центра человека // *Тихоокеанский мед. журнал*. 2010. № 4. С. 43–46.
7. Коцюба А.Е., Черток В.М. Иммуногистохимическое исследование H2S-позитивных нейронов в некоторых структурах мозга человека при артериальной гипертензии // *Журн. неврол. и психиатрии*. 2012. № 1. С. 54–59.
8. Лебедев В.П. Бульбоспинальный уровень нервной регуляции сосудов. В кн.: Физиология кровообращения. Регуляция кровообращения. Л.: Наука, 1986. С. 230–267.
9. Порсева В.В., Шилкин В.В. NADPH-диафоразопозитивные структуры спинного мозга и спинномозговых узлов // *Морфология*. 2010. Т. 137, № 2. С. 13–17.
10. Салей А.П., Рецкий М.И. Роль оксида азота в формировании мотивационного поведения и обучения // *Вестник ВГУ. Серия: химия, биология, фармакология*. 2003. № 1. С. 75–80.
11. Скворцова В.И., Боцина А.Ю., Кольцова К.В. и др. Артериальная гипертензия и головной мозг // *Журн. неврол. и психиатрии*. 2006. № 10. С. 68–78.
12. Хаятин В.М. Традиционные и новые представления о вазомоторном центре // *Физиол. журн. СССР*. 1982. Т. 68, № 8. С. 1032–1040.
13. Цырлин В.А. Бульбарный вазомоторный центр – морфофункциональная и нейрохимическая организация // *Артериальная гипертензия*. 2003. Т. 9, №3. С. 77–81.
14. Черток В.М., Коцюба А.Е. NO-позитивные нейроны в некоторых ядрах бульбарного вазомоторного центра человека при артериальной гипертензии // *Бюл. экспер. биол.* 2009. Т. 147, № 5. С. 571–575.
15. Черток В.М., Коцюба А.Е. Возрастные особенности вазомоторной регуляции артерий мягкой оболочки мозга у крыс // *Бюл. экспер. биол.* 2010. Т. 149, № 3. С. 340–344.
16. Черток В.М., Коцюба А.Е. Оксид азота в механизмах афферентной иннервации артерий головного мозга // *Цитология*. 2010. Т. 52, № 1. С. 24–29.
17. Черток В.М., Коцюба А.Е. Изменение нейронов в ядрах продолговатого мозга при хроническом подавлении активности NO-синтазы // *Бюл. экспер. биол.* 2011. Т. 151, № 1. С. 116–120.
18. Черток В.М., Коцюба А.Е. Эндотелиальный (интимальный) механизм регуляции мозговой гемодинамики: трансформация взглядов // *Тихоокеанский мед. журнал*. 2012. № 2. С. 17–26.
19. Черток В.М., Коцюба А.Е. Иммуногистохимическая характеристика H2S-позитивных нейронов в ядрах бульбарного отдела сердечно-сосудистого центра при артериальной гипертензии // *Вестник РАМН*. 2012. № 4. С. 50–54.



20. Черток В.М., Коцюба А.Е. Характеристика H<sub>2</sub>S-позитивных нейронов в ядрах бульбарного отдела сердечнососудистого центра при развитии вазоренальной гипертензии // Бюл. экспер. биол. 2012. № 7. С. 116–119.
21. Черток В.М., Коцюба А.Е. Особенности распределения гемоксигеназы-2 в нейронах сосудодвигательного центра человека при артериальной гипертензии // Журн. неврол. и психиатрии. 2013. № 2. С. 44–48.
22. Черток В.М., Коцюба А.Е. Структурная организация бульбарного отдела сердечно-сосудистого центра. Владивосток: Медицина ДВ, 2013. 164 с.
23. Черток В.М., Коцюба А.Е., Беспалова Е.П. Роль оксида азота в реакции артериальных сосудов на лазерное облучение // Бюл. экспер. биол. 2008. Т. 145, № 6. С. 699–703.
24. Черток В.М., Коцюба А.Е., Бабич Е.В. Эфферентная иннервация артерий мягкой оболочки мозга человека при артериальной гипертензии // Морфология. 2009. Т. 135, № 3. С. 35–41.
25. Черток В.М., Коцюба А.Е., Бабич Е.В. Ультраструктура интимы артерий мягкой мозговой оболочки человека при артериальной гипертензии // Морфология. 2009. № 5. С. 50–54.
26. Черток В.М., Коцюба А.Е., Коцюба Е.П. Гемоксигеназа-2 в нейронах головного и спинного мозга человека // Вестник РАМН. 2012. № 6. С. 36–41.
27. Шляхто Е.В., Конради А.О. Причины и последствия активации симпатической нервной системы при артериальной гипертензии // Артериальная гипертензия. 2003. Т. 9, № 3. С. 1–20.
28. Abe K., Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator // J. Neurosci. 1996. Vol. 16. P. 1066–1071.
29. Abudara V., Ferna A., Chase M.H., Morales F. Nitric Oxide as an Anterograde Neurotransmitter in the Trigeminal Motor Pool // J. Neurophysiol. 2002. Vol. 88. P. 497–506.
30. Andresen J.J., Shafi N.I., Durante W., Bryan R.M. Effects of carbon monoxide and heme oxygenase inhibitors in cerebral vessels of rats and mice // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. 2006. Vol. 291. P. 223–230.
31. Alkadi K.A., Al-Hijailan R.S. Malik K. et al. Retrograde carbon monoxide is required for induction of long-term potentiation in rat superior cervical ganglion // J. Neurosci. 2001. Vol. 21, No. 10. P. 3515–3520.
32. Anderson E.A., Sinkey C.A., Lawton W.J. Elevated sympathetic nerve activity in borderline hypertension: evidence from direct intraneural recordings // Hypertension. 1989. Vol. 14. P. 177–183.
33. Atkinson L., Batten T.F., Corbett E.K. et al. Subcellular localization of neuronal nitric oxide synthase in the rat nucleus of the solitary tract in relation to vagal afferent inputs // Neuroscience. 2003. Vol. 118, No. 1. P. 115–122.
34. Boehning D., Snyder S.H. Novel neural modulators // Annu. Rev. Neurosci. 2003. No. 6. P. 105–131.
35. Böhlen T.T., Halbach O., Dermietzel R. Neurotransmitters and Neuromodulators: Handbook of Receptors and Biological Effects. Germany: WILEY-VCH Verlag. GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2006. 386 p.
36. Brüning G., Katzbach R., Mayer B. Histochemical and immunocytochemical localization of nitric oxide synthase in the central nervous system of the goldfish, *carassiusauratus* // J. Comp Neurol. 1995. Vol. 358, No. 3. P. 353–82.
37. Catalano C., Rastelli S. Blood pressure control: hydrogen sulfide, a new gasotransmitter, takes stage // Nephrology Dialysis Transplantation. 2009. Vol. 24, No. 5. P. 1394–1396.
38. Chamba G., Fety R., Astier B. et al. Adrenaline and noradrenaline neurons in rat lower brain stem: anatomical and pharmacological neurochemistry // Clin. and Exper. Hyper. - Theory and Practice. 1984. A6. P. 259–271.
39. Chen X., Jhee K.H., Kruger W.D. Production of the neuromodulator H<sub>2</sub>S by cystathionine beta-synthase via the condensation of cysteine and homocysteine // J. Biol. Chem. 2004. Vol. 279. P. 52082–52086.
40. Chertok, V.M., Kotsyuba A.E., Babich E.V. Nitroxidergic Neurons in Nuclei of Rat and Human Medulla Oblongata // Cell and Tissue Biol. 2009. Vol. 3, No. 4, P.335–339
41. Chertok V.M., Kotsyuba A.E., Kotsyuba E.P. Cystathionine β-Synthase in Structural Elements of Human Brain and Spinal Cord // Cell and Tissue Biol. 2011. Vol. 5, No. 6. P. 573–579.
42. Chertok, V.M., Kotsyuba A.E., Kotsyuba E.P. Serotonergic and Nitroxidergic Neurons in the Nuclei of the Medulla Oblongata in the Rat // Neuroscience and behavioral physiology. 2012. Vol. 42, No. 5. P. 526–531.
43. Dawson T.M., Bredt D.S., Fotuhi M. et al. Nitric oxide synthase and neuronal NADPH diaphorase are identical in brain and peripheral tissues // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1991. Vol. 88. P. 7797–7801.
44. De Jong W., Nijkamp F.P. Centrally induced hypotension and bradycardia after administration of α-methylnoradrenaline into the area of the nucleus tractus solitarii of the rat // B. J. Pharmacol. 1976. Vol. 58. P. 593–598.
45. Dickenson A.H. Where and How Do Opioids Act? // Proceed. of the 7th World Congress on Pain. Seattle, 1994. P. 525–552.
46. Eshima K., Hirooka Y., Shigematsu H., et al. Angiotensin in the nucleus tractus solitarii contributes to neurogenic hypertension caused by chronic nitric oxide synthase inhibition // Hypertension. 2000. Vol. 36, No. 1. P.259–263.
47. Esplugues J.V. NO as a signalling molecule in the nervous system // British J. Pharm. 2002. Vol. 135, No. 5. P. 1079–1095.
48. Eto K., Ogasawara M., Umemura K. et al. Hydrogen sulfide is produced in response to neuronal excitation // J. Neurosci. 2002. Vol. 22. P. 3386–3391.
49. Gadalla M.M., Snyder S.H. Hydrogen sulfide as a gasotransmitter // J. Neurochem. 2010. Vol. 113. P. 14–26.
50. Garcia-Bereguian M.A., Samhan-Arias A.K., Martin-Romero F.J., Gutierrez-Merino C. Hydrogen sulfide raises cytosolic calcium in neurons through activation of L-type Ca<sup>2+</sup> channels // Antioxid. Redox. Signal. 2008. Vol. 10, No. 1. P. 31–42.
51. Giraldez-Perez R.M., Gaytan S.P., Ruano D. et al. Distribution of NADPH-diaphorase and nitric oxide synthase reactivity in the central nervous system of the goldfish (*Carassiusauratus*) // J. Chem. Neuroanat. 2008. Vol. 35, No. 1. P. 12–32.
52. Hartsfield C.L. Cross talk between carbon monoxide and nitric oxide // Antioxid. Redox. Signal. 2002. No. 4. P. 301–307.
53. Hope B.T., Michael G.J., Knigge K.M., Vincent S.R. Neuronal NADPH diaphorase is a nitric oxide synthase // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1991. Vol. 88. P. 2811–2814.
54. Hope B.T., Vincent S.R. Histochemical characterization of neuronal NADPH-diaphorase // J. Neurochem. Cytochem. 1989. Vol. 37. P. 653–661.
55. Huang C.-C., Chan S.H.H., Hsu K.-S. cGMP/Protein kinase G-dependent potentiation of glutamatergic transmission induced by nitric oxide in immature rat rostral ventrolateral medulla neurons in vitro // Molecular Pharmacol. 2003. Vol. 64. P. 521–532.
56. Huang C.-C., Chan S.H.H., Hsu K.-S. 3-Morpholinylsydnonimine Inhibits Glutamatergic Transmission in Rat Rostral Ventrolateral Medulla via Peroxynitrite Formation and Adenosine Release // Molecular Pharmacol. 2004. Vol. 66. P. 492–501.
57. Huynh P., Boyd S.K. Nitric oxide synthase and NADPH diaphorase distribution in the bullfrog (*ranacatesbeiana*) CNS: pathways and functional implications // Brain Behav. Evol. 2007. Vol. 70. P. 145–163.
58. Ingi T., Chiang G., Ronnett G.V. The regulation of heme turnover and carbon monoxide biosynthesis in cultured primary rat olfactory receptor neurons // J. Neurosci. 1996. Vol. 16, No. 18. P. 5621–5628.
59. Ishikawa M., Kajimura M., Adachi T., Maruyama K. Carbon monoxide from heme oxygenase-2 is a tonic regulator against NO-dependent vasodilatation in the adult rat cerebral microcirculation // Circ Res. 2005. Vol. 97. P. 104–119.

60. Jones W., Durante W., Korhuth R.J. Heme Oxygenase-1 deficiency leads to alteration of soluble guanylate cyclase redox regulation // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2010. Vol. 335, No. 1. P. 85–91.
61. Kamoun P. Endogenous production of hydrogen sulfide in mammals // *Amino Acid.* 2004. Vol. 26. P. 243–254.
62. Kerchner G.A., Nicoll R.A. Silent synapses and the emergence of a postsynaptic mechanism for LTP // *Nat. Rev. Neurosci.* 2008. Vol. 9, No. 11. P. 813–825.
63. Kimura Y., Hirooka Y., Sagara Y. et al. Overexpression of inducible nitric oxide synthase in rostral ventrolateral medulla causes hypertension and sympathoexcitation via an increase in oxidative stress // *Circulation research.* 2005. Vol. 96. P. 252–260.
64. Kimura H. Hydrogen sulfide induces cyclic AMP and modulates the NMDA receptor // *Biochem. Biophys. Res Commun.* 2000. Vol. 267. P. 129–133.
65. Kishi T., Hirooka Y., Kimura Y. et al. Over expression of eNOS in RVLM improves impaired baroreflex control of heart rate in SHRSP // *Hypertension.* 2003. Vol. 41. P. 255–260.
66. Kotsyuba A.E., Kotsyuba E. P., Chertok V.M. Nitroxidergic nerve fibers of intracerebral vessels // *Neuroscience and behavioral physiology.* 2010. Vol. 40, No. 4. P. 451–455.
67. Kotsyuba A.E., Chertok V.M., Kotsyuba E.P. Comparative Characteristics of Serotonergic Neurons in Some Nuclei of Rat Medulla // *Cell and Tissue Biology.* 2011. Vol. 5, No. 4, P. 503–510.
68. Lee J.H., Price R.H., Williams F.G. et al. Nitric oxide synthase is found in some spinothalamic neurons and neuronal processes that appose spinal neurons that express Fos induced by noxious stimulation // *Brain Res.* 1993. Vol. 608, No. 2. P. 324–333.
69. Li L., Moore P.K. An overview of the biological significance of endogenous gases - New roles for old molecules // *Biochem. Soc Trans.* 2007. Vol. 35. P. 1138–1141.
70. Li L., Hsu A., Moore P.K. Actions and interactions of nitric oxide, carbon monoxide and hydrogen sulphide in the cardiovascular system and in inflammation – a tale of three gases! // *Pharmacology & Therapeutics.* 2009. Vol. 123. P. 386–400.
71. Li X., David C.J. Chronic morphine exposure and the expression of heme oxygenase type 2 // *Brain Res Mol Brain Res.* 2000. Vol. 75, No. 2. P. 179–184.
72. Linden D.R., Sha L., Mazzone A. et al. Production of the gaseous signal molecule hydrogen sulfide in mouse tissues // *J. Neurochem.* 2008. Vol. 106. P. 1577–1585.
73. Lo W.C., Lu P.J., Ho W.Y. Cysteine 184 of endothelial nitric oxide synthase is involved in heme coordination and catalytic activity // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2006. Vol. 318, No. 1. P. 8–16.
74. Ma S.-X., Fang Q., Morgan B. et al. Cardiovascular regulation and expressions of NO synthase-tyrosine hydroxylase in nucleus tractus solitaries of ovine fetus // *Am. J. Physiol. Heart Circ Physiol.* 2003. Vol. 284, No. 4. P. 1057–1063.
75. Maines M.D. The heme oxygenase system, past, present and future // *Antioxidant Redox. signaling.* 2004. Vol. 6, No. 5. P. 797–801.
76. Mustafa A.K., Gadalla M.M., Snyder S.H. Signaling by Gasotransmitters // *Sci. Signal.* 2009. Vol. 68, No. 2. P. 1–8.
77. Nagai Y., Tsugane M., Oka J., Kimura H. Hydrogen sulfide induces calcium waves in astrocytes // *FASEB J.* 2004. Vol. 18. P. 557–559.
78. Olson K.R. Hydrogen sulfide and oxygen sensing: implications in cardiorespiratory control // *J. of Experimental Biology.* 2008. Vol. 211. P. 2727–2734.
79. Olson K.R., Donald J.A. Nervous control of circulation – The role of gasotransmitters, NO, CO, and H<sub>2</sub>S // *Acta Histochemica.* 2009. Vol. 111, No. 3, P. 244–256.
80. Patel K.P., Li Y.-F., Hirooka Y. Role of nitric oxide in central sympathetic outflow // *Experimental Biology and Medicine.* 2001. Vol. 226. P. 814–824.
81. Perry S.F., McNeill B., Elia E. et al. Hydrogen sulfide stimulates catecholamine secretion in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.* 2009. Vol. 296, No. 1. P. 133–140.
82. Reiffenstein R.J., Hulbert W.C., Roth S.H. Toxicology of hydrogen sulfide // *Fnuu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1992. Vol. 32. P. 109–134.
83. Robert K., Vialard F., Thiery E. et al. Expression of the Cystationin  $\beta$ -syntase (CBS) gene during mouse development and immunolocalization in adult brain // *J. Histochemistry & Cytochemistry.* 2003. Vol. 51, No. 3. P. 363–371.
84. Roth S.H., Skrajny B., Reiffenstein R.J. Alteration of the morphology and neurochemistry of the developing mammalian nervous system by hydrogen sulfide // *Clin. Exp Pharmacol. Physiol.* 1995. Vol. 22. P. 379–380.
85. Rusakov D.A., Kullmann D.M. Extrasynaptic glutamate diffusion in the hippocampus: ultrastructural constraints, uptake, and receptor activation // *J. Neurosci.* 1998. Vol. 18, No. 9. P. 3158–3170.
86. Samhan-Arias A.K., Garcia-Bereguain M.A., Gutierrez-Merino C. Hydrogen sulfide is a reversible inhibitor of the NADH-oxidase activity of synaptic plasma membranes // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2009. Vol. 388, No. 4. P. 718–722.
87. Szabó C. Hydrogen sulphide and its therapeutic potential // *Nature Reviews.* 2007. Vol. 6. P. 917–935.
88. Tan B.H., Wong P.T.-H., Bian J.-S. Hydrogen sulfide: a novel signaling molecule in the central nervous system // *Neurochem. Int.* 2010. Vol. 56. P. 3–10.
89. Thomas E., Pearse A.G.E. The solitary active cells: histochemical demonstration of damage-resistant nerve cells with TPN-diaphorase reaction // *Acta Neuropathologica.* 1964. Vol. 3. P. 238–249.
90. Toda N., Okamura T. The pharmacology of nitric oxide in the peripheral nervous system of blood vessels // *Pharmacol. Rev.* 2003. Vol. 55. P. 271–324.
91. Traub R.J., Solodkin A., Meller S.T., Gebhart G.F. Spinal cord NADPH-diaphorase histochemical staining but not nitric oxide synthase immunoreactivity increases following carrageen in produced hind paw inflammation in the rat // *Brain Res.* 1994. Vol. 668. P. 204–210.
92. Viljoen M., Panzer A. The central noradrenergic system: an overview // *African Journal of Psychiatry.* 2007. No. 10. P. 135–141.
93. Wang R. Two's company, three's a crowd: can H<sub>2</sub>S be the third endogenous gaseous transmitter? // *FASEB J.* 2002. Vol. 16. P. 1792–1798.
94. Wang R. Signal transduction and the gasotransmitters. NO, CO and H<sub>2</sub>S in biology and medicine. Canada: Humana Press Saskatoon, 2004. 377 p.
95. Warenycia M.W., Goodwin L.R., Benishin C.G. et al. Acute hydrogen sulfide poisoning: demonstration of selective uptake of sulfide by the brainstem by measurement of brain sulfide levels // *Biochem. Pharmacol.* 1989. Vol. 38. P. 973–981.
96. Wolf G. Nitric oxide and nitric oxide synthase: biology, pathology, localization // *Histology and Histopathology.* 1997. Vol. 12. P. 251–261.

Поступила в редакцию 09.07.2013.

#### NEW NEUROTRANSMITTERS AND THEIR ROLE IN CENTRAL MECHANISMS OF LOCAL BLOOD FLOW REGULATION

V.M. Chertok, A.E. Kotsyuba  
Pacific State Medical University (2 Ostryakova Av. Vladivostok 690950 Russian Federation)

**Summary** – The paper reviews the present-day ideas of the role that the gaseous mediators like nitric oxide, carbon monoxide and hydrogen sulphide play in the central mechanisms of hemodynamic regulation, and summarises the results of in-house studies and literature data about the structure of hindbrain ‘vasomotor’ nuclei, the neurons of which are known to contribute to the exchange of these substances.

**Key words:** *neurons, nitric oxide, carbon monoxide, hydrogen sulphide.*

Pacific Medical Journal, 2013, No. 4, p. 27–36.

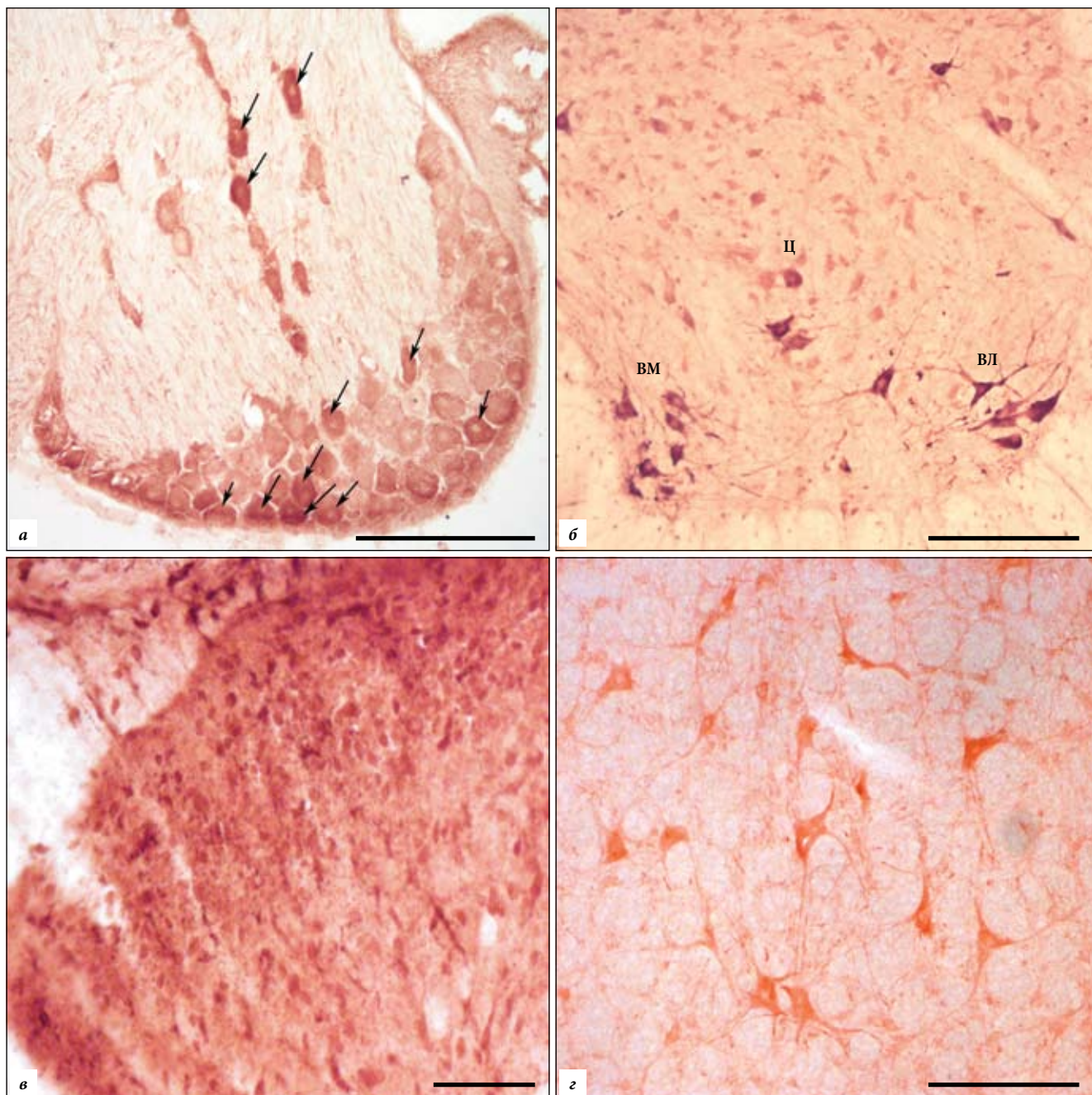


Рис. к статье И.В. Дюйзен и др. (с. 22–27). Иммуногистохимическая локализация агматиназы в нервных центрах мозга крысы, участвующих в проведении и модуляции болевого сигнала:

*а* – спинно-мозговой ганглий, фермент со средней и высокой активностью локализуется в крупных псевдоуниполярных нейронах (стрелки); *б* – локализация агматиназы в мотонейронах вентромедиального (ВМ), вентролатерального (ВЛ) и центрального (Ц) ядер переднего рога спинного мозга; *в* – агматиназопозитивные (агматинцептивные) нейроны поверхностных пластин заднего рога спинного мозга крысы; *г* – агматиназа в популяции крупных мультиполярных нейронов рострального вентромедиального ядра ретикулярной формации продолговатого мозга. Масштаб: *а*, *б*, *г* – 100 мкм, *в* – 50 мкм.

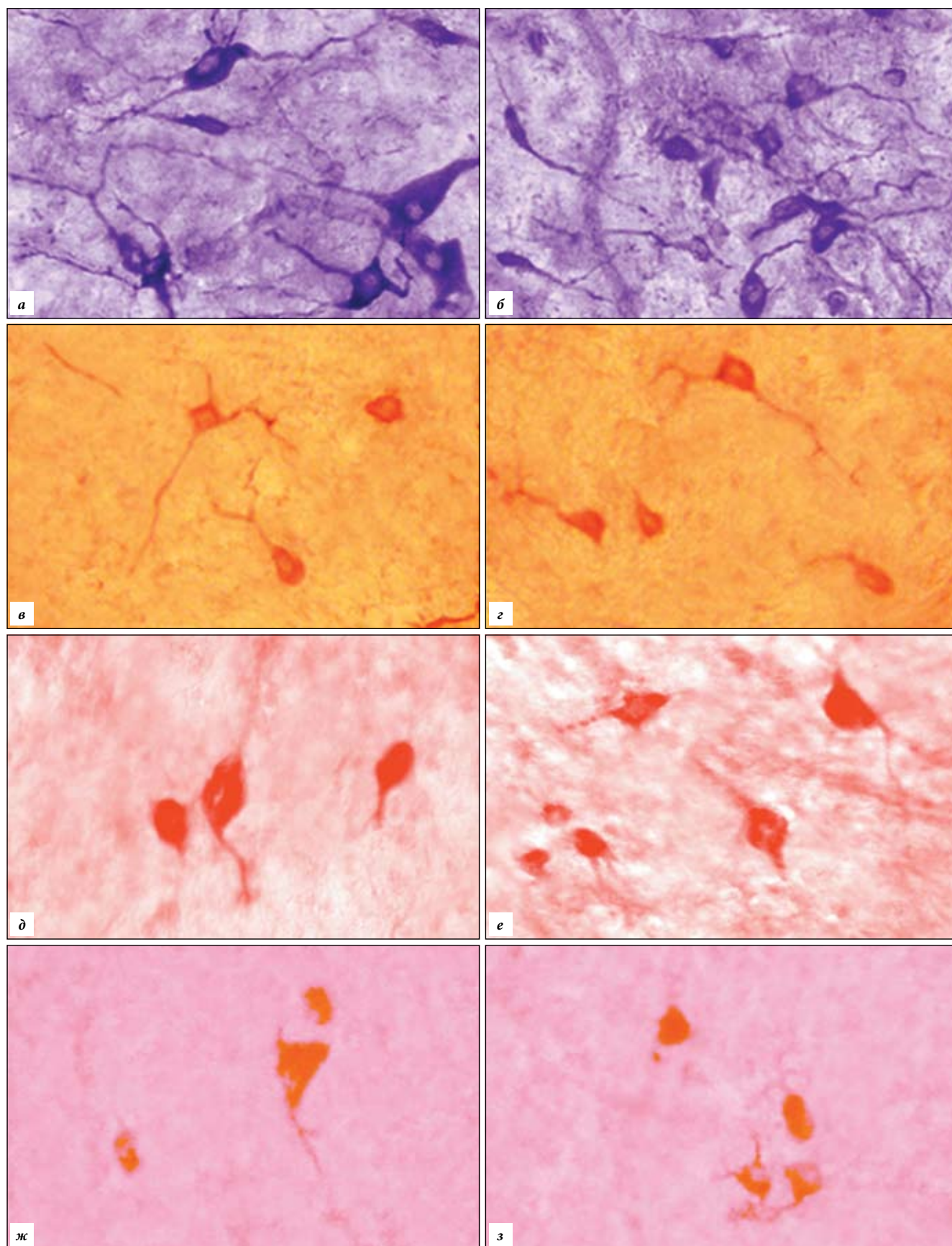


Рис. 1 к статье В.М. Чертока и Е.А. Коцюбы (с. 27–36). Локализация газотрансмиттеров в нейронах ядра подъязычного нерва (а, в, д, ж) и спинно-мозгового ядра тройничного нерва (б, г, е, з). Нитроксидаергические нейроны при выявлении гистохимическим методом на НАДФН-диафору (а, б) и иммуногистохимическим методом на нейрональную NO-синтазу (в, г). CBS- (д, е) и NO-иммунопозитивные (ж, з) нейроны.  $\times 300$ .