

циальным хозяином. И наоборот, церкарии *H. elongata* и *H. militaris* заражают, литоральных двустворок, главным образом мидию. Наличие отчетливой отрицательной фотореакции позволяет личинкам держаться в менее освещенных придонных участках, где как раз и обитают мидии. На примере эхиностоматидных церкарий отчетливо видно, что у близкородственных видов необходимость инвазировать хозяев с различной биологией приводит к появлению различий в поведенческих реакциях.

Микрофаллидные личинки *Maritrema subdolum* и *Microphallus claviformes* заражают высокоподвижных литоральных гаммарид, активность которых наиболее высока в сумерки. Днем на свету рачки малоподвижны и, в силу отрицательного фототаксиса, концентрируются у дна в затененных местах. Церкарии покидают моллюска-хозяина днем в наиболее светлое время суток (Прокофьев, 2006) и, обладая отрицательной реакцией на свет (особенно в первые часы жизни во внешней среде), также концентрируются в придонных затененных участках, т.е. в зоне, где вероятность контакта с амфиподами максимальна.

Таким образом, результаты проведенных экспериментов показывают, что фотореакции церкарий служат важной адаптацией к заражению хозяина. При этом характер реакций определяется не столько систематической принадлежностью личинок, сколько биологией заражаемого хозяина.

Работа выполнена при содействии Российского Фонда Фундаментальных Исследований.

THE BEHAVIOR RESPONSE OF CERCARIAE OF TREMATODA AS THE ADAPTATION TO INFECTION OF THE HOST

V.V. Prokofiev

The Pskov state pedagogical university, Pskov, Russia
prok58@mail.ru

Behavior response to the light effect of cercariae of some intertidal Trematoda is studied. Larvae demonstrate the different phototaxis. The revealed behavior of studied species allows the larvae reach areas where a contact with the host is most possible. The difference in behavior between cercariae Trematoda species in the response to the light effect depends on the difference in habitats of their hosts.

СЕРОВОДОРОД ЭНДОГЕННЫЙ ГАЗООБРАЗНЫЙ РЕГУЛЯТОР СОСУДОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА У КОСТИСТЫХ РЫБ

Е.В. Пущина¹, Д.К. Обухов²

¹ Институт биологии моря имени А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток, Россия
puschina@mail.ru

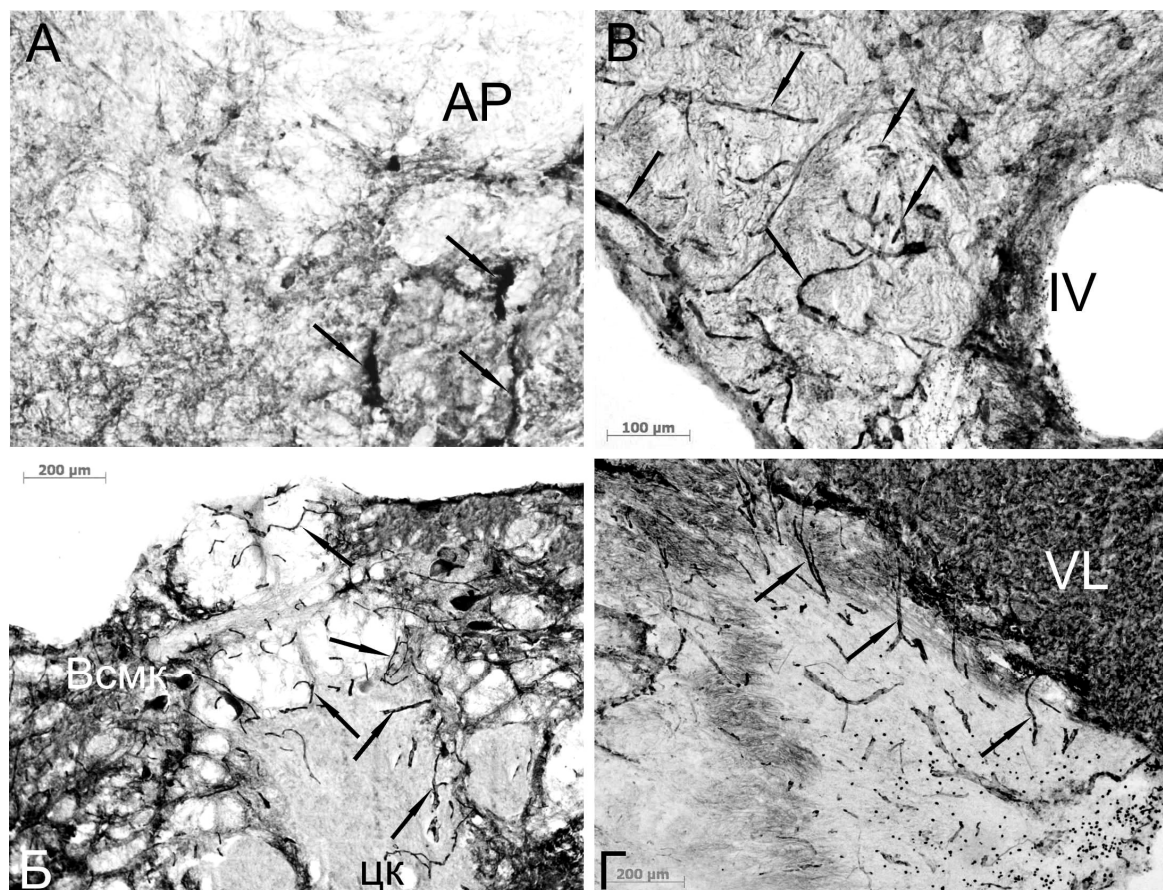
² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Большинство исследований по сероводороду (H₂S), впервые описанному в 1713 году, было посвящено его токсическим эффектам, однако недавно H₂S стал рассматриваться в качестве физиологически активного посредника. Предположения о физиологической роли H₂S возникли только в последнее время, что было связано с обнаружением высоких эндогенных концентраций сульфидов в крови и тканях мозга млекопитающих и некоторых позвоночных животных. Локализация цистатианин-β-синтазы, иммуногистохимического маркера H₂S – нового нейромодулятора/нейротрансмиттера в сосудах головного мозга костистых рыб ранее не исследовалась. Наличие H₂S в ЦНС системы рыб, интересно по нескольким причинам. Во-первых, рыбы являются наиболее древними представителями позвоночных. Во-вторых, в исследованиях на рыбах не было убедительно показано, что их сосуды продуцируют NO, или высвобождают NO-подобные факторы релаксации. В-третьих, у водных позвоночных базовый уровень продукции H₂S может быть выше, чем у наземных позвоночных, как за счет продуцирования клетками организма эндогенного H₂S, так и за счет образования экзогенного H₂S в ходе промышленных и сельскохозяйственных процессов, вследствие чего уровень H₂S в плазме рыб может превышать токсические ПДК в среде их обитания. Целью

настоящей работы стало сравнительное исследование локализации цистатианин- β -синтазы в сосудах головного мозга двух представителей костистых рыб Тихоокеанской симы *Onchorhynchus masu* и обыкновенного карпа *Carpinus carpio*.

Для идентификации H₂S-продуцирующих областей использовали метод непрямого авидин-биотиновый-пероксидазного (АВС метод) иммуногистохимического маркирования цистатианин- β -синтазы на свободно плавающих срезах. Криостатные срезы головного мозга 5 представителей Тихоокеанской симы и 4 представителей карпа инкубировали с поликлональными антителами мыши против цистатианин- β -синтазы (Vector Laboratories, Burlingame, USA) в разведении 1: 5 000 при 4° С. Срезы далее инкубировали с вторичными биотинилированными антителами лошади против иммуноглобулинов мыши (Vector Labs, Burlingame, USA) при комнатной температуре. Иммуногистохимическую реакцию проявляли с помощью стандартной авидин-биотиновой системы визуализации АВС (Vectastain Elite ABC Kit, Vector Labs, Burlingame, USA). Для выявления продуктов реакции срезы инкубировали в субстрате для выявления пероксидазы (VIP Substrate Kit, Vector Labs, Burlingame, USA), контролируя процесс развития окраски под микроскопом Axiovert Apotome, срезы промывали и монтировали на предметные стекла, обезвоживали по стандартной методике и заключали в бальзам.

В сосудах Тихоокеанской симы иммунолокализация CBS была выявлена в продолговатом мозге в области, прилежащей к *area postrema* (рис. А). Средний диаметр иммунореактивных сосудов составлял 4–7 мкм, более крупные сосуды этой области имели диаметр 13–18 мкм. У карпа иммунолокализация CBS в сосудах была выявлена на всей территории головного и спинного мозга. Наиболее крупные CBS-ир сосуды обнаружены в дорсо- и вентро-медиальной областях спинного мозга, средний диаметр составляет 20 мкм (рис. Б). Внутрисосудистая иммунолокализация CBS у карпа также была обнаружена в продолговатом мозге (рис. В), и волокнистом белом слое, окружающем долю вагуса (рис. Г). Проведенные исследования показали, что в сосудах мозга симы иммуногистохимический маркер сероводорода цистатианин- β -синтаза распространена значительно меньше чем у карпа. Это позволяет предполагать, что у симы H₂S не является основным вазорегулятором, а эту роль берут на себя другие химически реактивные молекулы, например NO. Сероводород представляет собой третий газотрансмиттер воздействующий на кровеносные сосуды млекопитающих и впервые идентифицированный в сосудах головного мозга у рыб. Немногие сосудорасширяющие молекулы, отличные от H₂S, были обнаружены в плазме рыб в физиологически значимых концентрациях, и это возможно указывает на первостепенную роль H₂S в сердечно-сосудистом гомеостазе рыб. У крыс H₂S вызывает релаксацию артерий и вен *in vitro*, и понижает уровень кровяного давления *in vivo* (Hayashi et al., 2004). В клетках гладкой мускулатуры H₂S синтезируется перидоксаль-зависимыми ферментами и уровень его содержания в плазме определяет направленность вазоактивных эффектов (Gutterman et al., 2005, Hayashi et al., 2004). Механизмы, посредством которых реализуются отсроченные эффекты H₂S исследованы далеко не полностью, однако показано, что H₂S вызывает релаксацию сосудов посредством гиперполяризации и открытия АТФ-зависимых калиевых каналов (Haesslein, 2003). В некоторых случаях H₂S вступает во взаимодействие с NO, действуя как молекулы-синергисты, таким образом, взаимоотношения между этими двумя газотрансмиттерами возможно составляют дополнительный уровень сердечно-сосудистой интеграции. Регуляция синтеза, метаболизма и экскреции сероводорода у рыб, а также вопрос о том, почему уровень H₂S в плазме рыб может превышать токсический ПДК в среде, представляют значительный исследовательский интерес. Ранее проведенные исследования на Тихоокеанской симе показали низкую активность NADPH-диафоразы в сосудах головного мозга в норме и многократное его повышение при острой гипоксии (Пушина, Обухов, 2009). Распределение CBS в сосудах мозга симы в целом соответствует низкому уровню активности NO-продуцирующих систем в норме, однако NO возможно стимулирует метаболическую активность H₂S-путей. Исследования на форели показали, что в сердечно-сосудистой системе лососевых рыб могут проявляться токсические эффекты H₂S, а способность к вазорегуляции может определяться компромиссным соотношением экзогенного и эндогенного H₂S (Dombkowski et al., 2006). В сосудах головного мозга карпа CBS иммунолокализация была обнаружена в большинстве областей, что позволяет рассматривать H₂S в качестве превалирующего вазорегулятора у карпообразных. H₂S-продуцирующие системы в мозге костистых рыб, имеют существенные особенности организации, и значительные видовые отличия, коррелирующие с особенностями нейромедиаторных, в частности NO-продуцирующих систем.



Иммунолокализация цистатианин-β-синтазы в сосудах (показаны стрелками) головного мозга Тихоокеанской симы *Onchorhynchus masu* (А) и карпа *Carpinus carpio* (Б-Г).

Обозначения: ар – area postrema, IV – четвертый делудочек, VL – вагусная доля, Всмк – вентральная спинномозговая колонна мотонейронов, ЦК – центральный канал

HYDROGEN SULFIDE IS AN ENDOGENOUS VASOREGULATOR IN THE BRAIN OF TELEOST FISHES

E.V. Pushchina¹, D.K. Obukhov²

¹ Institute of Marine Biology Far East Branch of Russian Academy of Sciences, Vladivostok
pushchina@mail.ru;

² Department Cytology and Histology, Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia

H₂S has been proposed to be an endogenous «gasotransmitter» similar to two other vasoactive gases, nitric oxide (NO) and carbon monoxide (CO). To our knowledge, the physiological function(s) of H₂S, or the presence of H₂S in the brain blood vessels, have not been investigated in nonmammalian vertebrates, and it is unclear if there is an evolutionary precedent for H₂S as a gasotransmitter. The existence of H₂S in fish is perhaps most intriguing. First, they are the most ancient of vertebrates. Second, many studies have been unable to show that fish vessels produce NO or release NO-like relaxing factors. Third, aquatic vertebrates may be subjected to substantially elevated ambient H₂S both through natural production and from a variety of industrial and agricultural processes, and vasoregulatory capability may therefore be compromised by exogenous H₂S. In the present study we examined the distribution of H₂S in the brain blood vessels of two teleost species *Onchorhynchus masu* and *Carpinus carpio*. Our findings provide strong support for H₂S as a physiologically important endogenous vasoactive "gasotransmitter" in teleost fishes.