= ФИЗИОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ =

УДК 611.818-018:577.95:546.172.6-31

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НИТРОКСИДЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ В НЕКОТОРЫХ ЯДРАХ ПРОДОЛГОВАТОГО МОЗГА КРЫСЫ

© 2010 г. В. М. Черток, А. Е. Коцюба

Владивостокский государственный медицинский университет 690600 Владивосток, проспект Острякова, д. 2 E-mail: akotc@mail.ru Поступила в редакцию 03.11.09 г.

Окончательный вариант получен 17.12.09 г.

Проведено сравнительное исследование NO-нейронов ядра одиночного пути, ретикулярного гигантоклеточного и ретикулярного латерального ядер у крыс в возрасте 4, 7, 10, 14, 30, 45 и 60 сут, а также 3, 6, 12, 18 и 24 мес. Установлено, что в изученных ядрах проходят активные количественные и качественные преобразования NO-позитивных нейронов на протяжении всего постнатального онтогенеза. Активность фермента невысока в 1-е сут жизни, достигает максимальных значений к 1–3 мес жизни крыс, после чего постепенно снижается. До 3-месячного возраста происходит увеличение размеров и абсолютного количества нитроксидергических нейронов при уменьшении значений относительной плотности этих клеток. Выявлены локальные отличия онтогенетического развития NO-нейронов в исследованных ядрах. Наиболее высокими темпами развивается ядра одиночного пути, однако у старых животных в нем наблюдаются более ранние и выраженные изменения NO-нейронов по сравнению с другими исследованными ядрами продолговатого мозга.

Ключевые слова: возрастные изменения, нитроксидергические нейроны, продолговатый мозг.

Оксил азота (NO) широко представлен в центральной нервной системе, что объясняется его способностью выступать в качестве эффективного мессенджера, облегчающего высвобождение различных нейромедиаторов (Huang et al., 2003). При этом NO часто ведет себя не как обычный нейромедиатор, например ацетилхолин или норадреналин, оказывающие свое влияние через поверхностные рецепторы целевых клеток, а как объемный нейропередатчик, создавая вокруг себя "поле воздействия" и модулируя активность близлежащих нейронов (Patel et al., 2001; Huang et el., 2004). Вовлечение NO в пространственные взаимоотношения между нейронами связано прежде всего с обеспечением регуляции систем внутри- и межклеточной сигнализации (Kimura et al., 2005). Значение NO в синаптической пластичности нейронов наиболее ярко проявляется в таком процессе, как длительная синаптическая потенциация. В этом случае Са²⁺ под влиянием нейротрансмиттера возбужденного нейрона входит в клетку, где связывается в единый комплекс с каль-модулином в цитозоле. Комплекс кальций-кальмодулин выступает как кофактор, активирующий NO-синтазу (NOS), что приводит к увеличению синтеза NO. NO, диффундируя в сосесуте клетки, активизирует в них образование цГМФ, под влиянием которого изменяется проводимость ионных каналов, а следовательно, и электрогенез нейронов. Этот процесс обеспечивает усиление и увеличение длительности выделения из пресинапса нейромедиатора, который в свою очередь оказывает возбуждающее действие на постсинаптический нейрон и приводит к возникновению

обратной положительной связи с постоянным усилением (Patel et al., 2001).

Несмотря на возрастающий поток информации об организации и распределении NO-позитивных систем в различных отделах головного мозга, возрастные аспекты этой проблемы ограничиваются единичными и противоречивыми сообщениями. NO-нейроны, хотя и в небольшом количестве, обнаружены уже в эмбриональном периоде в мозгу крыс (Ma et al., 2003); по мере его развития относительное количество, а также размеры нитроксидергических клеток, по осутм данным, увеличиваются (Kuo et al., 1997), по другим – практически не изменяются или уменьшаются (Colas, 2006; Sander et al., 2007). Нет ясности и в отношении возрастных преобразований активности нейрональной NOS. Есть сведения о том, что интенсивность реакции, очень высокая в мозгу плодов, прогрессивно снижается в 1-е сут жизни (Bustamante et al., 2008). В других исследованиях, напротив, утверждается, что активность NOS в пренатальном онтогенезе остается низкой и увеличивается лишь после рождения крысы (Tsukada et al., 1995). Неоднозначны данные и об изменениях нитроксидергических систем старых животных. Кавамата с соавт. (Kawamata et al., 1990) отметили значительное уменьшение размеров НАДФ-позитивных нейронов в мозгу старых крыс, но не нашли изменений в количестве этих клеток. Другие авторы не обнаружили изменений размеров, плотности NO-нейронов или активности в них фермента у старых крыс (Kuo et al., 1997). Отмеченные выше противоречия в оценке возрастных преобразований NO-нейронов могут быть обусловлены местными особенностями обмена нейрональной NOS. Однако Силес с соавт. (Siles et al., 2002) при изучении возрастных изменений нитроксидергических систем в шести, а Луи с соавт. (Liu et al., 2003) – в трех структурах мозга крыс локальных отличий активности NOS не обнаружили.

В нашей работе исследованы локальные особенности возрастных изменений нитроксидергических нейронов в ядрах продолговатого мозга.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Исследовали дорсомедиальную часть ядра солитарного тракта (ЯСТ), ретикулярное латеральное ядро (РЛЯ) и ретикулярное гигантоклеточное ядро (РГЯ) у белых крыс-самцов линии Wistar-Kyoto следующих возрастных групп: 1-4 (8 особей), 2-7 (8), 3-10 (8), 4-14 (9), 4-30 (10), 5-45 (8), 6-60 (8) сут; 7-3(10), 8-6(12), 9-12(10), 10-18(9), 11-24 Mec(8).Эвтаназию животных осуществляли введением внутримышечно раствора нембутала (5 мг/100 г массы). Из продолговатого мозга на криостате делали срезы двух уровней, позволяющих наиболее полно изучать ядра. Препараты исследовали раздельно в двух микроскопах ("Karl Zeiss", Германия), в окуляры которых помещали одинаковые сетки с равновеликими квадратами. Изучаемое ядро в обоих микроскопах ориентировали по характерным признакам в сагиттальной и фронтальной плоскостях, а затем полученное изображение переносили на миллиметровую бумагу.

Для гистохимического исследования NOS образцы обрабатывали по методу Хопе и Витсента (Норе, Vinsent, 1989), для чего материал фиксировали 2 ч при 4°С в 4%-ном растворе параформальдегида на 0.1 М натрий-фосфатном буфере (рН 7.4) и промывали в 15%-ном растворе сахарозы в течение 1 сут. Затем образцы инкубировали в среде, содержащей 0.5 мМ β-НАДФ, 0.5 мМ нитросинего тетрозолиевого и 0.3% Тритона X-100 в 0.15 М *трис*-HCl-буфере (pH 8.0) в термостате при 37°С в течение 1 ч. После инкубации срезы промывали в дистиллированной воде, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и заключали в канадский бальзам. Контрольные препараты помещали в среду с добавлением ингибитора NO-синтазы – N[®]-нитро-L-аргинина (10 мМ). Специфичность гистохимической реакции проверяли инкубацией нескольких срезов в растворах, не содержащих нитросиний тетразолий или НАД Φ , а также в растворе, содержащем НАД вместо НАДФ. Поскольку химическая основа реакции заключается в образовании преципитата формазана при восстановлении солей тетразолия в присутствии НАДФ-диафоразы, то гистохимическая реакция не должна наблюдаться при отсутствии в инкубационной среде любого из основных ее компонентов.

Реакция на НАДФ-диафоразу дает возможность идентифицировать NOS в нейронах (Hope, Vincent, 1989; Bredt, 1990). Плотность образующегося осадка диформазана пропорциональна молекулярному со-

ОНТОГЕНЕЗ том 41 № 4 2010

держанию NOS, что позволяет судить об активности фермента в нервных клетках исследуемых ядер (Vincent, 1994). В каждом ядре при помощи окраски срезов 0.5%-ным раствором метиленового синего по Нисслю выявляли нейроны в проекции среза, а также долю в них NO-нейронов. Для этого в сериях из 10 срезов, взятых у каждого животного, один окрашивали метиленовым синим, а другой – как описано выше для выявления NOS. Количественную обработку материалов проводили с использованием автоматизированной системы анализа изображений Allegro MC (Черток и др., 2003), с помощью которой определяли абсолютное количество нейронов в проекции ядра, число клеток из расчета на 1 мм² (относительную плотность), площадь профильного поля и средний показатель активности NOS в нейронах каждого ядра. Для оценки значимости цифровых данных использовали *t*-критерий Стьюдента.

В работе использовали следующие реактивы: Тритон X-100 ("Serva", Германия); *трис*-HCl-буфер, β-HAДΦ (β-никотинамидадениндинуклеотидфосфат), нитросиний тетрозолиевый и парафенилендиамин ("Sigma", США); кедровый бальзам, метиленовый синий ("Биовитрум", Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В 1-е сут жизни большинство NO-нейронов представлены небольшими (5-10 мкм) клетками округлой или овальной формы (рис. 1, *a*, б). Между 14-30 сут жизни крысы форма и размеры нитроксидергических нейронов становятся более разнообразными. Помимо овальных и веретеновидных клеток во всех ядрах выявляются треугольные или полигональные нейроны средних (13–16 мкм) и крупных (24–27 мкм) размеров (рис. 1, *в*, *г*). При этом у крыс одной возрастной группы процентное соотношение крупных или мелких клеток в ядрах существенно не отличается, во всяком случае оно в большей степени зависит от возраста животных, чем от исследованного ядра (рис. 2). Так, если в 1-е сут жизни наиболее многочисленную группу во всех ядрах составляют мелкие клетки с профильным полем до 80 мкм², то к 30-м сут этот показатель смещается в сторону нейронов площадью 100-150 мкм, а у 3-месячных животных он составляет 200 мкм². Между 3 и 6 мес постнатального онтогенеза увеличивается доля клеток с профильным полем 250-300 мкм².

В ЯСТ и РГЯ 4-суточных животных около 80– 85% составляют мелкие NO-нейроны, тогда как в РЛЯ доля таких клеток достигает 94–99%. У 14-суточных крыс в ЯСТ и 30-суточных – в РГЯ доля мелких нейронов сокращается более чем на треть, а у 45-суточных во всех случаях не превышает 38–40%. Начиная с 3 и вплоть до 12 мес соотношение мелких, средних и крупных NO-нейронов в исследованных ядрах практически не меняется: количество первых составляет 20–29, вторых – 54–62, третьих – 8–12%. У крыс старших возрастных групп вновь увеличивается доля мелких нейронов, в основном за счет уменьшения крупных NO-позитивных клеток. В



Рис. 1. Нейроны ретикулярного латерального ядра крыс разного возраста, сут: $a, \delta - 4, s, e - 14, d, e - 30$. Окраска по: Нислю (a, s, d) и Хопе-Винсенту (δ, e, e) .

большей степени эти процессы затрагивают нейроны в ЯСТ. В РГЯ перераспределение процентного соотношения клеток различных размерных групп у крыс старших возрастных групп выражено в наименьшей степени.

У 4-суточных крыс во всех ядрах преобладают нейроны с низкой активностью фермента (рис. 1, δ). В цитоплазме клеток откладывается мелкозернистый преципитат голубовато-синего цвета и лишь в ЯСТ встречается небольшое количество нейронов, которые отличаются более высокой интенсивностью окраски. Однако уже между 7- и 14-ми сут в каждом ядре выявляются клетки с умеренной и высокой активностью NOS (рис. 1, г). Такие нейроны отличаются большей плотностью выпавшего осадка, в результате чего их цитоплазма окрашивается в различные оттенки синего цвета. Клетки с интенсивной реакцией особенно часто встречаются между 30-45-ми сут развития. В этот период выявляются также небольшие группы нейронов с очень высокой активностью NOS (рис. 1, e), которые редко встречаются в ядрах у 6-12-месячных животных, особенно

в ЯСТ. и никогда – на более поздних этапах онтогенеза. В нейронах, обладающих высокой активностью NOS, окраска распространяется на отростки клеток в виде обособленных гранул, обладающих высокой активностью энзима, придавая отросткам неравномерно-прерывистый вид. У 18-24-месячных крыс в ростральном отделе ЯСТ большинство клеток обладают низкой активностью NOS (рис. 1, ϵ). В каудальном отделе ядра на уровне срдней трети нижней оливы, кроме того, можно встретить небольшие группы нейронов с умеренной активностью фермента. В РГЯ NO-позитивные клетки локализуются в основном в его вентральном отделе (по границе с ядром лицевого нерва и медиальной петлей) и имеют преимущественно низкую и умеренную активность фермента. В его медиальной части иногда определяются группы из двух-трех интенсивно окрашенных клеток. В дорсальном отделе ядра энзимопозитивные клетки встречаются значительно реже и отличаются невысокой интенсивностью окраски. РЛЯ включает ограниченные участки сильно окрашенных клеток, лежащих главным об-





разом дорсомедиально по отношению к нижней оливе, но основную часть ядра составляют нейроны с низкой и умеренной активностью NOS.

Расчеты показывают, что в течение 30 сут после рождения во всех ядрах наблюдается быстрое увеличение значений среднего показателя активности NOS, которое наиболее высокими темпами растет в нейронах ЯСТ и РЛЯ (рис. 3, а). В нейронах ЯСТ уже у 4-суточных животных величина этого показателя выше, чем в других ядрах, и составляет около 60% дефинитивного уровня, а на 14-е сут существенно не отличается от его значений у зрелых крыс. Продолжая расти, средний показатель активности фермента у 30-45-суточных крыс более чем на 20% превышает таковой у зрелых животных, после чего начинает постепенно снижаться, достигая минимальной величины у крыс в возрасте 18-24 мес (55 и 68% соответственно). В нейронах РГЯ изменения величины показателя до 30-х сут постнатального развития про-

ОНТОГЕНЕЗ том 41 № 4 2010

исходят не менее стремительно. И, хотя в первые 7 сут после рождения средние значения показателя на 15-20% ниже, чем в ЯСТ, пик активности и величины фермента приходится на те же возрастные группы, что и в ЯСТ. Повышение среднего показателя активности фермента в РГЯ проходит медленнее (до 45-60 сут) и не достигает столь высоких значений, как в других ядрах. После 6-месячного возраста у крыс во всех ядрах отмечается снижение активности фермента: у 18-24-месячных наблюдается уменьшение величины показателя в среднем на 19-44%.

Несмотря на то что NO-позитивные нейроны определяются во всех исследованных ядрах с 1-х сут постнатального онтогенеза, количество таких клеток зависит от возраста животного и локализации ядра (рис. 3, δ). Абсолютное количество NO-нейронов во всех ядрах быстро увеличивается в течение 1-го мес жизни, достигая наибольших значений в



Рис. 3. Изменения нейронов ядра солитарного тракта (●), ретикулярных гигантоклеточного (●) и латерального (○) ядер у крыс разного возраста: *a* – активность NOS в нейронах; *б* – абсолютное количество NO-нейронов; *в* – абсолютное количество нейронов, окрашенных метиленовым синим; *г* – доля NO-нейронов от общего количества нейронов; *д* – относительное количество нервных клеток, окрашенных метиленовым синим; *е* – относительное количество NO-нейронов (за 100% приняты соответствующие показатели у 6-месячных животных); ост. обозначения см. на рис. 2.

промежутке 30 сут-3 мес. После 12 мес наблюдается снижение величины этого показател, при этом в ЯСТ уже у 4–7-суточных животных NO-нейронов достаточно много (62-71%), а у 14-суточных – уже 94% от дефинитивных значений. На 30-е сут развития величина показателя на 16% превышает эти значения, после чего постепенно снижается, достигая минимальных цифр (65%) к 24 мес. В других ядрах у крыс 1-х сут жизни количество NO-нейронов не столь велико, колеблется от 32 до 54%, а дефинитивного уровня достигает только к 30 сут. Между 45 сут и 3 мес жизни крыс в обоих ядрах установлены максимальные значения абсолютного количества NO-нейронов (в среднем 106-110%), сменяющиеся умеренным снижением величины показателя у животных старших возрастных групп (в РГЯ – на 8.7, в РЛЯ — на 20.6%).

В иной последовательности изменяется абсолютное количество нейронов, окрашенных метиленовым синим (рис. 3, в). В первую неделю жизни во всех ядрах таких нейронов очень много, тогда как показатель доли NO-нейронов в этот период, наоборот, особенно низкий, не превышающий 8% от общего количества клеток, выявленных в ядрах с помощью окраски метиленовым синим (рис. 3, г). Затем количество последних прогрессивно снижается, что соответственно приводит к увеличению показателя доли NO-нейронов, значение которого на 30-е сут развития достигает дефинитивного уровня в ЯСТ, а между 45 сут и 3 мес жизни – в РГЯ и РЛЯ, после чего абсолютное количество нейронов, окрашенных метиленовым синим, существенно не меняется. Лишь у 24-месячных животных определяется небольшое (4-6%) снижение величины этого показателя. В то же время доля NO-позитивных клеток после 12 мес во всех ядрах значительно сокращается. Особенно выраженное уменьшение доли клеток отмечается у старых животных в РЛЯ (24–34%).

Динамика преобразований относительной плотности нейронов в течение постнатального онтогенеза также связана с методом выявления нервных клеток (рис. 3, ∂ , e). Величина этого показателя напрямую зависит от абсолютного количества и размеров клеток, поэтому большое количество нейронов даже при небольших средних размерах клеток, выявляемых в проекции ядер у 4-7-суточных крыс при окраске метиленовым синим. приводит к тому, что цифры относительной плотности нейронов в этом возрасте в четыре-пять раз в ЯСТ и в шесть-девять раз – в ретикулярных ядрах, чем в соответствующих ядрах 6-месячных животных (рис. 3, ∂). Затем наблюдается выраженное снижение абсолютного количества нервных клеток и относительной плотности нейронов. Между 30-60-ми сут величина этого показателя во всех ядрах соответствует уровню дефинитивных значений, незначительно (на 4-6%) сокращаясь у старых животных в связи с уменьшением абсолютного числа клеток. В РГЯ размеры и количество клеток меняются меньше, чем в других ядрах, поэтому в нем отклонения величины относительной плотности нейронов выражены в меньшей степени, чем в РЛЯ и ЯСТ. Иная динамика изменений этого показателя наблюдается при выявлении NO-позитивных нейронов (рис. 3, e). В течение 10-14 сут постнатального онтогенеза идет постепенное увеличение плотности клеток, которое сменяется вначале небольшим, а затем все более выраженным сокращением величины показателя. В ЯСТ относительная плотность клеток уменьшается быстрее, чем в ретикулярных ядрах: у 18-24-месячных крыс она составляет 62-68% от его значений, установленных для 6-месячных животных.

ОБСУЖДЕНИЕ

Как известно, у незрелорождающих животных, в том числе и у крысы, активные процессы структурной перестройки продолговатого мозга приходятся на первые недели постнатального онтогенеза (Никитенко, 1969; Пигарева, 1972). На этом основании считалось, что регуляторные центры, ядра которых расположены в продолговатом мозгу созревают достаточно быстро и уже в раннем возрасте осуществляют свои функции в полном объеме (Вальдман, 1976; Ефимович и др., 2006). Проведенное нами исследование свидетельствует, что активные процессы становления нитроксидергических нейронов в ядрах сосудодвигательного центра у крысы продолжаются в течение 2–3 мес после рождения. В этот период усложняется структура нейронов, в них увеличивается активность фермента, возрастает абсолютное количество NO-позитивных клеток и их доля от общего количество выявленных нейронов, стабилизируются показатели относительной плотности клеток.

ОНТОГЕНЕЗ том 41 № 4 2010

Иначе говоря, созревание медиаторных систем, частью которых являются и нитроксидрегические нейроны, происходит не так быстро, как цитоархитектоническая дифференцировка соответствующих ядер. Об этом свидетельствуют наши данные, полученные при изучении параллельных срезов продолговатого мозга, когда один из срезов окрашивали метиленовым синим, применение которого позволяет визуализировать все нейроны, находящиеся в проекции среза, а другой обрабатывали для выявления нервных клеток, обладающих активностью NOS. Использование метода параллельного окрашивания срезов различными красителями позволило составить объективное представление и о динамике изменений количественных параметров NO-нейронов в процессе старения. Подсчеты показали, что абсолютное количество нейронов, маркированных метиленовым синим, а также относительная плотность этих клеток в ядрах продолговатого мозга у старых крыс уменьшаются в среднем на 6-8%, что соответствует опубликованным ранее данным (Блинков, Глезер, 1968; Hornberger et al., 1985; Mesulam et al., 1987; Smith et al., 1993). В то же время значения тех же показателей, но вычисленные в отношении NO-позитивных нейронов, снижаются в соответствующих возрастных группах животных в три-четыре раза быстрее. Еще более существенным у животных старших возрастных групп оказалось уменьшение активности фермента и доли NO-нейронов. Вполне вероятно, что снижение функциональной активности нитроксидергической системы, наблюдающееся в старости, является одним из потенциальных механизмов, способствующих нарушению работы центров вазомоторной регуляции продолговатого мозга и приводит к развитию различных сосудистых нарушений, в том числе и к так называемой артериальной гипертензии пожилых людей (Кушаковский, 1986; Гельцер, Котельников, 2002).

Как известно, бульбарный вазомоторный центр приобретает функциональную значимость после созревания и включения в процесс управления его главных регуляторов – ЯСТ и некоторых ядер ретикулярной формации, прежде всего РЛЯ и РГЯ. Максимальные реакции возникают при активации ЯСТ – основного звена афферентной сосудистой иннервации (Pilowski, Goodchild, 2002; Paton, St.-John, 2007). Установлено, что дорсомедиальная часть ЯСТ является областью вторичных нейронов барорецепторной рефлекторной дуги, которые отвечают возбуждением на стимуляцию механо- и хеморецепторов артерий (Spyer, 1990). Многочисленными волокнами ЯСТ соединено с ядрами медиальной зоны ретикулярной формации, крупные нейроны которых образуют эфферентные связи с интермедиолатеральным ядром спинного мозга. В большом количестве такие нейроны встречаются в составе медиальной и центральной части РГЯ (Вальдман, 1976; Marlinskii, Voitenko, 1991). Важная роль в регуляции тонуса сосудов отводится также РЛЯ: с одной стороны, оно является местом интеграции гипоталамических сосудистых и соматических афферентных входов, с другой — принимает участие в медиации кардиоваскулярных ответов, возникающих в спинном мозгу во время активации соматомоторной системы (Webster, 2001).

Несмотря на то что все три ядра функционально объединены в единую интегративную систему регуляции гемодинамики, каждое из них имеет собственную шкалу возрастных изменений. Полученные нами данные показывают, что наиболее высокими темпами развитие и становление NO-позитивных клеток проходит в ЯСТ. На ранних стадиях развития в этом ядре клетки более разнообразны по величине и форме, чем в других ядрах, кроме того, здесь выше абсолютное и относительное содержание NO-нейронов. Активность фермента в этот период составляет не менее 60% от значений, установленных у зрелых животных. К 2 мес постнатального развития качественная и количественная характеристика нейронов в этом ядре в основном соответствует дефинитивному уровню. Фактором, способствующим опережающему развитию ЯСТ, может быть более интенсивное поступление к нему потока информации разной функциональной принадлежности по сравнению с другими ядрами (Marlinskii, Voitenko, 1991).

В 1-е сут жизни в РГЯ и особенно в РЛЯ NO-нейронов не так много, причем большинство из них представлено мелкими клетками округлой формы с низкой активностью NOS. Доля NO-нейронов, вычисленная от общего количества клеток, в этот период развития в РГЯ не превышает 19%, а в РЛЯ и того меньше – около 8% от дефинитивного уровня (в ЯСТ – около 30%). Лишь к 3-му мес постнатального онтогенеза величина большинства количественных показателей в этих ядрах соответствует значениям, уставленным у взрослых животных. Выраженные локальные отличия метрических параметров, характеризующие NO-нейроны в составе исследованных ядер, прослеживаются и при старении животных. В ЯСТ наблюдаются наиболее ранние и глубокие изменения количества NO-позитивных клеток и активности в них фермента, значения которых уменьшаются соответственно на 24-35 и 32-44%. Вполне вероятно, что столь значимое сокращение нитроксидрегической функции этого ядра вносит существенный вклад в снижение эффективности барорецепторного контроля артериального давления, наблюдающегося у лиц пожилого возраста (Elghozi et al., 2001; Gao et al., 2002). В других ядрах изменения соответствующих показателей выражены в меньшей степени. Например, в РГЯ абсолютное количество NO-нейронов сокращается в среднем на 8%, а активность фермента в них – только на 14%, что, по-видимому, связано со снижением в старости импульсного потока, поступающего к нейронам этого ядра из ЯСТ.

Вполне вероятно, что именно NO является одним из регуляторов процессов, обеспечивающих

пластичность межнейронных связей, лежащих в основе локальных функциональных отличий центральной нервной системы. Во-первых, потому что он синтезируется только при возбуждении нейрона (в ответ на поступление ионов кальция) и, диффундируя в соседние клетки, способен изменять электрогенез нейронов и инициировать выделение других нейромедиаторов (Одыванова и др., 1997). Вовторых, относится к короткоживущим медиаторам (время полужизни составляет около 5 с) и обладает небольшим (по разным данным, от 30 до 100 мкм) радиусом действия (Rand, Li, 1995; Halley et al., 1998). В-третьих, является объемным нейропередатчиком, который в отличие от большинства других нейромедиаторов, функционирующих только в плоскости синаптических контактов, способен влиять на ионные каналы по всей площади плазматической мембраны нейрона (Brenman, Bredt, 1997).

В целом приведенные выше данные позволяют заключить, что на протяжении всего постнатального онтогенеза происходят количественные и качественные преобразования NO-позитивных нейронов, входящих в состав изученных нами ядер, каждое из которых отличают определенные особенности возрастных изменений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- *Блинков С.М., Глезер Н.И*. Мозг человека в цифрах и таблицах. Л.: Медицина, 1968. 472 с.
- Вальдман А.В. Нейрофармакология центральной регуляции сосудистого тонуса. Л.: Медицина, 1976. 328 с.
- *Гельцер Б.И., Котельников В.Н.* Суточные ритмы артериального давления при артериальной гипертензии: Патофизиологические и хронотерапевтические аспекты. Владивосток: Дальнаука, 2002. 163 с.
- Ефимович И.В., Хижняк А.С., Клементьев А.В. и др. Пластичность нейронов вегетативных ядер продолговатого мозга половозрелых и неполовозрелых белых крыс в посттравматическом периоде // Морфология. 2006. Т. 129. № 4. С.50–53.
- Кушаковский М.С. Гипертоническая болезнь и вторичные гипертензии. Л.: Медицина, 1983. 288 с.
- *Никитенко М.Ф.* Эволюция и мозг. Минск : Наука и техника, 1969. 340 с.
- *Одыванова Л.Р., Сосунов А.А., Гатчев О.В. и др.* Окись азота (NO) в нервной системе // Успехи соврем. биологии. 1997. Т. 117. № 3. С. 374–389.
- *Пигарева З.Д.* Биохимия развивающегося мозга. М.: Медицина, 1972. 312 с.
- Черток В.М., Афанасьев А.А., Коцюба А.Е. Применение автоматизированной системы анализа изображений ALLEGRO-MC для морфологических исследований // Морфология. 2003. Т. 124. № 4. С. 88–93.
- Bredt D.S., Hwang P.M., Snyder S.H. Localization of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide // Nature. 1990. V. 347. P. 768–770.
- Brenman J.E., Bredt D.S. Synaptic signaling by nitric oxide // Curr. Opin. Neurobiol. 1997. V. 7. P. 374–378.
- *Bustamante J., Czerniczyniec A., Cymeryng C. et al.* Age related changes from youth rat brain cortex: nitric oxide synthase and mitochondrial respiratory function // Neurochemical. Res. 2008. V. 33. P. 1216–1223.

ОНТОГЕНЕЗ том 41 № 4 2010

- *Colas D., Gharib A., Bezin L. et al.* Regional age-related changes in neuronal nitric oxide synthase (nNOS), messenger RNA levels and activity in SAMP8 brain // BMC Neurosci. 2006. V. 7. P. 81–85.
- *Elghozi J.L., Girard A., Ribstein J.* Baroreflex failure syndrome: an uncommon case of an extreme blood pressure variability // Rev. Med. Interne. 2001. V. 22. № 12. P. 1261–1268.
- Gao S.A., Johansson M., Rundqvist B. et al. Reduced spontaneous baroreceptor sensitivity in patients with renovascular hypertension // J. Hypertens. 2002. V. 20. № 1. P. 111–116.
- Haley J.E. Gases as neurotransmitters // Essays Biochem. 1998. V. 33. P. 79–91.
- Hope B.T., Vincent S.R. Histochemical characterization of neuronal HAДΦ-diaphorase // J. Neurochem. Cytochem. 1989. V. 37. P. 653–661.
- *Hornberger J.C., Buell S.J., Rood D.G. et al.* Stability of numbers but not size of mouse forebrain cholinergic neurons to 53 months // Neurobiol. Aging. 1985. V. 6. P. 269–275.
- 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* // Mol. Pharmacol. 2003. V. 64. P. 521–532.
- Huang C.-C., Chan S.H.H., Hsu K.-S. 3-Morpholinylsydnonimine inhibits glutamatergic tansmission in rat rostral ventrolateral medulla via peroxynitrite formation and adenosine release // Ibid. 2004. V. 66. P. 492–501.
- *Kawamata T., Nakamura S., Akiguchi I. et al.* Effect of aging on HAДΦ-diaphorase neurons in laterodorsal tegmental nucleus and striatum of mice // Neurobiol. Aging. 1990. V. 11. P. 185–192.
- 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 // Circulat. Res. 2005. V. 96. P. 252–260.
- *Kuo H., Hengemihle J., Ingram D.K.* Nitric oxide synthase in rat Brain: age comparisons quantitated with HAДΦ-diaporase histochemistry // J. Gerontol. Biol. Sci. 1997. V. 52A. № 3. P. 146–151.
- Liu P., Smith P.F., Appleton I. et al. Regional variations and agerelated changes in nitric oxide synthase and arginase in the sub-regions of the hippocampus // Neuroscience. 2003. V. 119. № 3. P. 679–687.
- 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. V. 284. № 4. P. 1057–1063.

- *Marlinskii V.V., Voitenko L.P.* The participation of the medial reticular formation of the medulla oblongata in the supraspinal control of locomotor and postural activities in the guinea pig // Fiziol. Z. SSSR im. I.M. Sechenova. 1991. V. 77. № 3. P. 33–40.
- Mesulam M.M., Mufson E.J., Rogers J. Age-related shrinkage of cortically projecting cholinergic neurons: a selective effect // Ann. Neurol. 1987. V. 22. P. 31–36.
- Patel K.P., Li Y.-F., Hirooka Y. Role of nitric oxide in central sympathetic outflow // Exp. Biol. Med. 2001. V. 226. P. 814–824.
- Paton J.F., St.-John W.M. Medullary pacemaker neurons are essential for gasping, but not eupnea, in mammals // J. Appl. Physiol. 2007. V. 103. № 2. P.718–720.
- Pilowski P.M., Goodchild A.K. Baroreceptor reflex pathways and neurotransmitters: 10 years on // J. Hypertens. 2002. V. 20. P. 1675–1688.
- *Rand M.J., Li C.G.* Nitric oxide as a neurotransmitter in peripheral nerves: nature of transmitter and mechanism of transmission // Ann. Rev. Physiol. 1995. V. 57. P. 659–682.
- Sander S.E., Hamann M., Richter A. Age-related changes in striatal nitric oxide synthase-immunoreactive interneurones in the dystonic dt^{sz} mutant hamster // Neyropathol. Appl. Neurobiol. 2007. V. 32. № 1. P. 74–82.
- Siles E., Martinez-Lara E., Canuelo A. et al. Age-related changes of the nitric oxide system in the rat brain // Brain Res. 2002. V. 956. № 2. P. 385–392.
- Smith M.L., Deadwyler S.A., Booze R.M. 3-D reconstruction of the cholinergic basal forebrain system in young and aged rats // Neurobiol. Aging. 1993. V. 14. P. 389–392.
- Spyer K.M. The central nervous organization of reflex circulatory control // Central regulation of autonomic function / Eds Loewy A.D., Spyer K.M. N.Y.: Oxford Univer. Press, 1990. P. 126–144.
- *Tsukada M., Yamazaki Y., Koizumi A.* Changes in nitric oxide synthase activities in the cerebellum during development and aging of C57BL/6 mice // Tohoku J. Exp. Med. 1995. V. 176. № 2. P. 69–74.
- Vincent S.R. Nitric oxide: a radical neurotransmitter in the central nervous system // Prog. Neurobiol. 1994. V. 42. P. 129–160.
- *Webster R.A.* Neurotransmitters, drugs and brain function. N.Y.: John Willey & Sons Ltd., 2001. 520 p.

Age-Related Changes in Nitroxidergic Neurons in Some Nuclei of Rat Medulla Oblongata

V. M. Chertok, A. E. Kotsuba

Vladivostok State Medical University, pr. Ostryakova 2, Vladivostok, 690600 Russia e-mail: akotc@mail.ru

Abstract—The paper presents a comparative study of NO neurons in the solitary tract nucleus, giant-cell, and lateral reticular nuclei in rats at 4, 7, 10, 14, 30, 45, and 60 days old and 3, 6, 12, 18, 24 months old. We determine the active quantitative and qualitative changes that occur in NO-positive neurons in the studied nuclei during the course of postnatal development. A low level of enzyme activity is observed on the first day; it reaches a peak level around the first—third month, then slowly declines. The size and number of nitroxidergic neurons increases, while the relative cell density decreases until the third month of life. We reveal local differences in the ontogenetic development of NO neurons in the studied nuclei. Solitary tract neurons have the highest rate of development, while NO neurons of old animals undergo early and extreme changes as compared to other studied nuclei of rat medulla oblongata.

Key words: Age-related changes, nitroxidergic neurons, medulla oblongata

ОНТОГЕНЕЗ том 41 № 4 2010