

*В.И. Дунай<sup>1</sup>, С.Л. Кабак<sup>2</sup>*

## **Морфо-функциональное созревание центральных NO-ергических нейронов в постнатальном онтогенезе у морских свинок**

*Белорусский государственный университет<sup>1</sup>,*

*Белорусский государственный медицинский университет<sup>2</sup>*

Целью данной работы явилось выявление морфо-функциональных особенностей дифференцировки NO-ергических нейронов мозга в раннем постнатальном онтогенезе у морских свинок, как представителей зрелорождающихся млекопитающих. Установлено, что в раннем постнатальном онтогенезе у млекопитающих существует соответствие по времени между формированием основных черт в распределении нейронов, содержащих синтазу NO в гипоталамической области мозга, и функциональным созреванием NO-зависимых механизмов, участвующих в регуляции метаболизма. Ключевые слова: онтогенез, NO-синтаза, гипоталамус.

В настоящее время установлено, что NO-синтезирующие нейроны широко распространены в ЦНС млекопитающих. Большое количество таких нервных клеток содержат мозжечок, гиппокамп и ряд других структур головного мозга [1]. Доказано также участие NO в регуляции различных физиологических функций [2, 3]. Имеются предположения о том, что NO может являться одним из важнейших факторов, участвующих в развитии структуры и функции центральной нервной системы, являясь молекулой, вызывающей гибель определенных клеточных структур, а также играет важную роль в механизмах роста нервных окончаний и формирования синапсов [4]. Получены доказательства участия NO в центральных механизмах терморегуляции при перегревании и экспериментальной лихорадке [5].

Несмотря на обилие фактов, свидетельствующих об участии NO в регуляции различных физиологических функций, а также в развитии центральной нервной системы, дифференцировка центральных NO-ергических структур в онтогенезе млекопитающих остается малоизученным вопросом.

Целью данной работы явилось выявление морфо-функциональных особенностей дифференцировки NO-ергических нейронов мозга в раннем постнатальном онтогенезе у морских свинок, как представителей зрелорождающихся млекопитающих.

**Материал и методы исследования**

С целью изучения морфологического становления NO-ергической системы в онтогенезе млекопитающих эксперименты выполнены на 32 морских свинках. Первая группа - животные в возрасте 1 дня, вторая группа животных - в возрасте 3 дней, третья группа животных - в возрасте 10 дней, четвертая группа животных - в возрасте 20 дней. В работе использован метод идентификации НАДФН-д-содержащих нейронов, разработанный Scherer-Singler et al [6], в модификации Норе и Vincent [7].

Для изучения функционального созревания NO-ергической системы в онтогенезе млекопитающих выполнены эксперименты на 30 морских свинках в возрасте 1, 6, 12 и 20 дней после рождения. Животным вводили подкожно метиловый эфир

Nw-нитро-L-аргинин (L-МЭНА) в дозе 100 мкг/кг и определяли скорость потребления кислорода через 1, 2 и 3 ч после введения ингибитора синтазы NO. В качестве контроля использовали неактивный по отношению к CNO энантиомер - метиловый эфир Nw-нитро-D-аргинин (D-МЭНА) (100 мкг/кг). Скорость потребления кислорода (в мл/(кг•мин)), как показатель интенсивности теплопродукции, определяли с помощью респирометра «SCHOLANDER».

Результаты

Опыты показали, что у морских свинок в первые дни после рождения в гипоталамической области происходят значительные изменения в распределении нервных клеток, содержащих НАДФН-диафоруазу/CNO (табл.).

Таблица. Распределение нервных клеток, содержащих НАДФН-диафоруазу/CNO, в структурах гипоталамуса у морских свинок в разные сроки постнатального онтогенеза

№ п/п	Структура	1 день	3 день	10 день	20 день
1.	Medial preoptic area	-	+	+	+
2.	Lateral preoptic area	+	+	+	+
3.	Supraoptic nucleus	-	-	-	+
4.	Paraventricular nucleus	+	+	+	+
5.	Periventricular nucleus	-	-	+	+
6.	Lateral hypothalamic area	+	+	+	+
7.	Medial mammillary nucleus	-	+	+	+
8.	Supramammillary nucleus	+	+	+	+

«+» - структура содержит НАДФН-диафоруазу/CNO-позитивные нервные клетки; «-» - структура не содержит НАДФН-диафоруазу/CNO-позитивные нервные клетки.

При изучении серийных срезов гипоталамуса морских свинок в возрасте одного дня после рождения обнаружены НАДФН-д/CNO- позитивные нейроны в латеральной преоптической области, паравентрикулярном ядре, латеральной гипоталамической области и в супрамаммилярном ядре.

У морских свинок в возрасте одного дня после рождения не выявлены НАДФН-д/CNO-позитивные нейроны в ряде структур гипоталамуса, содержащих такие нейроны у взрослых организмов. Так, не обнаружены НАДФН-д/CNO-позитивные нейроны в медиальной преоптической области, супраоптическом ядре, перивентрикулярном ядре и медиальном маммилярном ядре.

У морских свинок в возрасте трех дней после рождения так же, как и у однодневных морских свинок, гипоталамус не содержит НАДФН-д/CNO-позитивных нейронов в супраоптическом ядре и перивентрикулярном ядре. Гипоталамическая область трехдневных морских свинок содержит НАДФН-д/CNO-позитивные нейроны в тех же структурах, что и у однодневных, а также в медиальной преоптической области и медиальном маммилярном ядре.

В период между третьим и десятым днем формируются основные черты в распределении НАДФН-д/CNO-позитивных нейронов гипоталамической области, характерные для взрослого организма.

Так, у десятидневных морских свинок выявляются НАДФН-д/CNO- позитивные нейроны почти во всех структурах гипоталамуса, содержащих такие нервные клетки у взрослых животных. В отличие от третьего дня, к 10-му дню развития

НАДФН-д/CNO-позитивные нейроны, появляются в перивентрикулярном ядре. Обнаружено, что гипоталамус десятидневного животного не содержит НАДФН-д/CNO-позитивных клеток в супраоптическом ядре.

Крупные, интенсивно окрашенные НАДФН-д/CNO-позитивные нейроны появляются в супраоптическом ядре в период между десятым и двадцатым днем после рождения. Таким образом, не существует различий в распределении НАДФН-д/CNO-позитивных нейронов в гипоталамусе 20-дневного животного по сравнению с взрослыми животными. Полученные данные свидетельствуют о том, что, по-видимому, между десятым и двадцатым днем после рождения происходит окончательное структурное формирование NO-зависимых систем нервных центров гипоталамуса морских свинок.

При изучении серийных срезов продолговатого мозга, окрашенных на НАДФН-д, у морских свинок, в разные сроки после рождения, НАДФН-д/CNO-позитивные нервные клетки обнаружены во всех изучаемых структурах. По-видимому, еще до рождения завершается формирование NO-зависимых систем нервных центров продолговатого мозга, структурное и функциональное развитие должно обеспечивать в первые дни жизни важнейшие вегетативные функции (дыхание, кровообращение).

У морских свинок 1-дневного возраста введение ингибитора CNO не вызывало достоверных изменений в потреблении кислорода, что говорит о функциональной незрелости NO-зависимых механизмов, участвующих в регуляции метаболизма (рис.). У животных 6-дневного возраста при действии ингибитора CNO на  $14,0 \pm 0,2$  мл/(кг·мин) через 2 ч после введения наблюдали снижение скорости потребления кислорода, что может указывать на то, что к 6 дню постнатального развития происходит функциональное созревание NO-зависимых механизмов, участвующих в регуляции метаболизма.

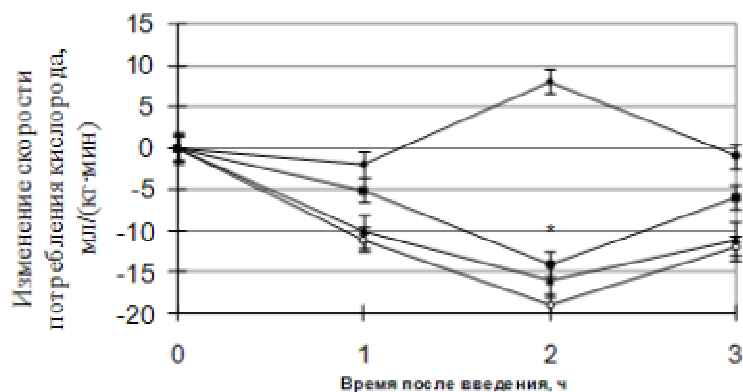


Рисунок. Влияние ингибитора синтеза NO (L-МЭНА) на скорость потребления кислорода у морских свинок: ◆ - 1-дневные морские свинки; ■ - 6-дневные морские свинки; ▲ - 12-дневные морские свинки; ○ - 20-дневные морские свинки; \* - изменения достоверны по отношению к контролю;  $p < 0,05$

Таким образом, у морских свинок формирование основных черт в распределении NO-синтезирующих нервных клеток гипоталамуса и функциональное созревание NO-зависимых механизмов, участвующих в регуляции метаболизма происходит к десятому дню постнатального развития. Эти данные могут свидетельствовать о

соответствие по времени между морфологическим и функциональным созреванием центральных NO-ергических нейронов в раннем постнатальном онтогенезе у млекопитающих.

#### Литература

1. Amir, S., De Blasio, E., English, A. M. NG-Monomethyl-L-arginine co- injection attenuates the thermogenic and hyperthermic effects of E2 prostaglandin microinjection into the anterior hypothalamic preoptic area in rats // Brain Res. 1991. Vol. 556. P. 157-160.
2. Dawson, T. M., Hwang, P. M., Snyder, S. H. Nitric oxide synthase and neuronal NADPH diaphorase are identical in brain and peripheral tissues // Proc. Natl. Acad. Sci USA. 1991. Vol. 88. № 17. P. 7797-7801.
3. Dunai, V. I., Gourine, A. V. Effect of the NO synthase inhibitor, L-NAME, on body temperature in birds in different periods of postnatal ontogenesis // Recent advances in thermal biology. Edited by V. N. Gourine. Minsk. 1999. P. 18-19.
4. Gourine, A. V. Role of nitric oxide in lipopolysaccharide-induced fever in conscious rabbits // J.Physiol. 1994. Vol. 475. P. 28.
5. Hope, B. T., Vincent, S.R. Histochemical characterization of neuronal NADPH-diaphorase // J.Histochem.Cytochem. 1989. Vol. 37. P. 653-661.
6. Scherer-Singler, U., Vincent, S. R., Kimura, H., McGeer, E. G. Demonstration of a unique population of neurons with NADPH-diaphorase histochemistry // J.Neurosci.Methods. 1983. Vol. 9. № 3. P. 229-234.
7. Hope, B. T., Vincent, S.R. Histochemical characterization of neuronal NADPH-diaphorase // J.Histochem.Cytochem. 1989. Vol. 37. P. 653-661.