

**Полякова** Людмила Викторовна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры патологической анатомии, ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, д. 1, тел.: 8-906-405-80-42, e-mail: cadaver2008@yandex.ru.

**Калашникова** Светлана Александровна, ассистент кафедры патологической анатомии, ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, д. 1, тел.: 8-902-384-84-47, e-mail: kalashnikova-sa@yandex.ru.

УДК 611.832

© В.В. Порсева, 2012

**В.В. Порсева**

## **ХАРАКТЕРИСТИКА NADPH-D<sup>+</sup>-НЕЙРОНОВ КРЕСТЦОВОГО ЧУВСТВИТЕЛЬНОГО УЗЛА В ПЕРВЫЙ ГОД ЖИЗНИ БЕЛОЙ КРЫСЫ**

ГБОУ ВПО «Ярославская государственная медицинская академия» Минздрава России

Морфологические особенности NADPH-диафороза-положительных нейронов (NADPH-d<sup>+</sup>) изучены в чувствительном узле крестцового спинномозгового нерва у крыс 3-, 10-, 20-, 30-, 60-, 90-, 180- и 360-дневных возрастов. NADPH-d<sup>+</sup>-нейроны отличались по своим морфометрическим характеристикам. Положительные нейроны имели очень малые и малые размеры, в течение первого года жизни количество NADPH-d<sup>+</sup>-нейронов уменьшалось.

**Ключевые слова:** чувствительный узел, NADPH-диафороза, нейроны, онтогенез, крыса.

**V.V. Porseva**

## **THE CHARACTERISTIC NADPH-D<sup>+</sup>-NEURONS OF SACRAL SPINAL GANGLION IN THE FIRST YEAR OF LIFE OF WHITE RAT**

The morphological features of the NADPH- diaphorase-positive neurons was studied in sacral spinal ganglion in 3, 10-, 20-, 30-, 60-, 90-, 180- and 360 day-old rats. NADPH-d<sup>+</sup>-neurons differed on their morphometrical characteristics. The positive neurons had very small and small sizes, the number of NADPH-d<sup>+</sup>-neurons was reduced in the first year of life of white rat.

**Key words:** spinal ganglion, NADPH-diaforase, neurons, ontogenesis, rat.

**Введение.** Оксид азота (NO) обнаруживается в функционально различных нервных структурах, при этом возможностью синтезировать NO обладают не все популяции клеток нервной системы. О количественном синтезе NO судят по гистохимической реакции на выявление активности NADPH-диафорозы [5, 7]. Исследование активности NADPH-диафорозы в нейронах спинномозговых узлов различных сегментарных уровней у крыс указывает на различное распределение фермента, которое является зависимым от спинального уровня и от периода онтогенеза [2, 3, 4, 5].

**Цель:** установить возрастные морфометрические характеристики популяции NADPH-диафороза-положительных нейронов чувствительных узлов крестцовых спинномозговых нервов.

**Материал и методы.** Исследование проведено на 40 белых крысах-самках линии Вистар в возрасте 3, 10, 20, 30, 60, 90, 180 и 360 суток после рождения. Морфометрические и гистохимические характеристики NADPH-диафороза-положительных нейронов (NADPH-d<sup>+</sup>) изучали в чувствительных узлах второго крестцового спинномозгового нерва. Из фиксированного материала на криостате готовили срезы толщиной 20 мкм. Для выявления активности NADPH-диафорозы использовали тетразолиевый метод. Анализ препаратов проводили на микроскопе МБИ-15У4.2 (ЛОМО, Россия) с установленной цифровой фотокамерой OLIMPUS CAMEDIA C4000 ZOOM с фотоадаптером OLIMPUS C3040-ADUS (Япония). На цифровых изображениях гистологических препаратов узлов при увеличении × 400 по программе Image J (NIH, США) оценивали площадь сечения и производили подсчет NADPH-d<sup>+</sup>-нейронов на площади квадрата 100 мкм<sup>2</sup> квадратно-счетной вставки. Долю положительных нейронов определяли как их отношение к общему числу нейронов, которое принимали за 100 %. Для характеристики нейронов узла по площади сечения использовали 5 размерных классов: до 300 мкм<sup>2</sup> (очень малые), 301–600 мкм<sup>2</sup> (малые), 601–900 мкм<sup>2</sup> (средние), 901–1200 мкм<sup>2</sup> (крупные), более 1201 мкм<sup>2</sup>

(очень крупные). Анализу подвергались только клетки, срез которых прошел через ядро с видимым ядрышком, а цитоплазма имела выраженную активность фермента, что документировалось интенсивно-синим окрашиванием диформаза, превышающим фоновую окраску среза в 1,5 раза. Статистический анализ включал в себя определение средней арифметической и ее стандартной ошибки ( $\bar{x} \pm s_x$ ). О значимости различий судили по величине критерия Стьюдента ( $t$ ) при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** В чувствительных узлах изученного уровня выявлялись как NADPH-д<sup>+</sup>-нейроны, так и NADPH-д<sup>-</sup>-нейроны во всех исследуемых возрастных периодах крысы, что соответствует данным других исследований [3, 6].

В 3-дневном возрасте доля NADPH-д<sup>+</sup>-нейронов составляла 9,4 %. В 10-дневном возрасте доля позитивных нейронов увеличилась в 1,3 раза, в 20-, 30- и 60-дневных возрастах наблюдалась относительная стабильность показателя: 17–18–19 %. В 90-дневном возрасте доля позитивных нейронов незначительно снизилась до 15,2 %. В последующие возрастные периоды количество NADPH-д<sup>+</sup>-нейронов продолжало снижаться и в 360-дневном возрасте составило 6,5 %. Таким образом, на протяжении исследуемого возраста содержание NADPH-д<sup>+</sup>-нейронов в чувствительных узлах уменьшилось в 1,4 раза. При этом максимальное снижение отмечено в 6-месячном возрасте.

Анализ средней площади сечения NADPH-д<sup>+</sup>-нейронов показал, что в течение года жизни крысы наблюдалось увеличение размеров в 1,7 раза. NADPH-д<sup>+</sup>-нейроны значимо не меняли своих размеров до 30-дневного возраста крысы, в 60-дневном возрасте средняя площадь клеток увеличилась в 2,5 раза, в 90-дневном возрасте уменьшилась в 1,2 раза и в 180-дневном возрасте вновь увеличилась в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ), после чего размеры позитивных нейронов уменьшились в 360-дневном возрасте в 1,8 раза ( $p < 0,05$ ). При анализе размерных классов NADPH-д<sup>+</sup>-нейронов выявлена неоднородность клеточного состава узла в различных возрастах крысы. Так, в 3-, 10-, 20- и 30-дневных возрастах присутствовали нейроны только очень малых и малых размеров. В 60-, 90- и 180-дневных возрастах в узле выявлялись нейроны всех пяти размерных классов, при этом большая часть NADPH-д<sup>+</sup>-нейронов была представлена нейронами очень малых, малых и средних размеров. Клеточный состав в указанные возрастные периоды не менялся: в 60-, 90- и 180-дневных возрастах преобладали нейроны малых размеров – 48, 42 и 38 %, соответственно, что совпадает с данными других исследований [1, 4]. В 360-дневном возрасте в популяции NADPH-д<sup>+</sup>-нейронов количество малых нейронов увеличилось и составило 60 %, а нейроны крупных и очень крупных размеров не встречались.

**Заключение.** В течение первого года жизни крысы происходит увеличение средней площади сечения NADPH-д<sup>+</sup>-нейронов. Максимальная площадь сечения диафороза-позитивных нейронов отмечена в 2- и 6-месячном возрасте. Относительное количество NADPH-д<sup>+</sup>-нейронов в чувствительном узле с возрастом крысы уменьшается. В первый месяц жизни активность NADPH-диафорозы выявляется в нейронах очень малых размеров, в последующем – в нейронах малых размеров.

### Список литературы

1. Елисеева, Е. В. Нитрооксидсинтаза нейронов заднего ядра и узлового ганглия блуждающего нерва и ее изменения при ингаляциях ацетилхолина в норме и при экспериментальной бронхиальной астме / Е. В. Елисеева, Н. Е. Романова, В. Ф. Баранов и др. // Морфология. – 2002. – Т. 122, № 4. – С. 32–39.
2. Alm, P. Nitric oxide synthase-containing neurons in rat parasympathetic, sympathetic and sensory ganglia : a comparative study / P. Alm, B. Uvelius, J. Ekstrom // J. Histochem. – 1995. – Vol. 27, № 10. – P. 819–831.
3. Porseva, V. V. NADPH-diaphorase-positive structures in the spinal cord and spinal ganglia / V. V. Porseva, V. V. Shilkin // Neuroscience and Behavioral Physiology. – 2011. – Vol. 41, № 3. – P. 223–227.
4. Rybarova, S. Detection of peptidergic and nitrergic structures in the spinal ganglia of rabbits / S. Rybarova, D. Kluchova, M. Kocisova et al. // Bratisl. Lek. Listy. – 2000. – Vol. 101, № 5. – P. 280–287.
5. Vizzard, M. A. Localization of NADPH diaphorase in the lumbosacral spinal cord and dorsal root of the cat / M. A. Vizzard, S. L. Erdman, V. L. Erickson et al. // J. Comp. Neurol. – 1994. – Vol. 339, № 1. – P. 62–75.
6. Wetts, R. Transient expression of beta-NADPH diaphorase in developing rat dorsal root ganglia neurons / R. Wetts, J. E. Vaughn // Brain Res. Dev. Brain Res. – 1993. – Vol. 17, № 76 (2). – P. 278–282.
7. Zhou, Y. Localization of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-diaphorase reactivity and nitric oxide synthase immunoreactivity in the lumbosacral dorsal root ganglia in guinea pigs / Y. Zhou, P. O. Mack, E. A. Ling // J. Hirnforsch. – 1998. – Vol. 39, № 2. – P. 119–127.