

**В.В. Даценко, В.Б. Павлюченко, О.О. Мойбенко,  
О.І. Пілявський, О.І. Костюков, В.О. Майський**

## **Особливості розподілу нейронів, що містять синтазу оксиду азоту в медулярних серцево-судинних центрах собак і щурів**

*Изучали видовые различия (у собак и крыс) распределения синтазы оксида азота (NOS) в регионах продолговатого мозга, которые принимают участие в регуляции симпатического и парасимпатического тонуса. Было получено два главных результата: среднее количество NOS-содержащих нейронов на срез в этих регионах увеличивалось в порядке собака > крыса, а плотность их была обратной собака < крыса. В пределах дорсального моторного ядра вагуса большое количество NO-генерирующих нейронов (преганглионарные вагусные нейроны) было обнаружено только у собаки. Видовые отличия в распределении NO-генерирующих нейронов и гетерогенность базового уровня продукции NO в медулярных сердечно-сосудистых центрах мозга могут быть основной причиной в различных изменениях гемодинамических реакций в ответ на применение ингибиторов NOS у собак и крыс.*

### **ВСТУП**

Серед різних впливів, які викликає оксид азоту (NO), його дія на серцево-судинну систему є однією з найбільш важливих [20, 26]. Численні дослідження розподілу NO-синтази (NOS-утримуючих нейронів) показали, що такі клітини досить щільно сконцентровані у межах серцево-судинних центрів стовбура мозку; багато NO-генеруючих нейронів розташовано у дорсомедіальному та вентролатеральному відділах довгастого мозку [6, 28]. Нещодавно ми використали новий метод дослідження нейрональної активації у мозку, за допомогою вивчення експресії раннього протоонкогена *c-fos*. Таким чином, можна визначити ті супраспінальні ділянки, які включаються у здійснення пресорних рефлексів у щурів [14]. Було доведено, що багато медулярних барочутливих нейронів є NO-генеруючими. З іншого боку, аплікація попередників, як і донорів NO,

або блокаторів NO-синтази (NOS) у дорсомедіальну чи вентролатеральну ділянку довгастого мозку, помітно змінює хід гемодинамічних реакцій. Наприклад, мікроін'єкція інгібіторів NOS не у каудальну вентролатеральну ділянку (CVLM), а в ядро поодинокого тракту (NTS) чи ростральну вентролатеральну ділянку довгастого мозку (RVLM) стимулюють підвищення симпатичної активності та артеріального тиску. Водночас локальна мікроін'єкція донорів NO у це ядро й ділянку, призводить до зниження як симпатичної активності, так і артеріального тиску [9]. Вважається, що NOS-вмісні нейрони відіграють вирішальну роль у розвитку барорецепторних рефлексів, які працюють як система з негативним зворотним зв'язком для компенсації перехідних змін артеріального тиску, викликаних з артеріальних чи серцево-легеневих рецепторних зон [4]. NO-генеруючі нейрони, які

виявляються у дорсомедіальній та вентролатеральній частинах довгастого мозку, беруть участь у регуляції симпатичної і парасимпатичної еферентної активності [9, 27]. Незважаючи на те, що було відмічено переважно симпатогальмівну та симптоактивуючу дії NO у RVLM і CVLM протилежні реакції після дії NO також спостерігалися. Характер цих ефектів залежав не тільки від місця ін'єкції донорів NO, а також від дози та способу їх застосування [15]. На відміну від класичних нейромедіаторів, NO не накопичується у синаптичних пухирцях, а його дія не зумовлена залученням специфічних мембранних рецепторів. Відомо, що NO може поширюватися з місця розташування NO-генеруючих нейронів на декілька сот мікрон і, таким чином, впливати на нейрони близько оточуючих структур або діяти на відростки нейронів із сусідніх ядер. Наприклад, ін'єкція донора NO у NTS може впливати на прегангліонарні нейрони дорсального моторного ядра вагуса (DMV), розташованого поблизу NTS.

Слід зазначити, що спостерігаються видові відмінності у NO-залежних механізмах кардіогенних депресорних рефлексів [15]. Так, у собак депресорний рефлекс Бецоляда – Яріша після системного інгібування синтезу NO за допомогою блокатора NOS – N<sup>o</sup>-нітро-L-аргініну (L-NNA) суттєво послаблюється, але у щурів за цих умов згаданий рефлекс не змінюється або навіть посилюється [1]. На відміну від собак, у щурів кардіогенні депресорні рефлекси зменшуються після селективного інгібування нейрональної NOS за допомогою 7-нітроіндазолу (7-NI) [2]. Більше того, ефективність дії NO у різних видів тварин може залежати від вагосимпатичного балансу. Вважається, що така перевага є однією з причин брадикардії при дії інгібіторів NOS у собак [19].

Тому дуже важливо проводити пошук можливих анатомічних корелятивів, які бе-

руть участь у відтворенні видових розбіжностей у дії NO або інгібіторів NOS на серцево-судинні рефлекси. У проведеному дослідженні ми застосували гістохімічну методику для кількісної оцінки нейронів, що містять NOS, щільності їх розподілу у довгастому мозку та для порівняльної оцінки їх наявності в окремих медулярних ядрах/під'ядрах, які включаються в ініціацію автономних функцій у собак та щурів.

## МЕТОДИКА

Експерименти проведено на 4 щурах-самцях лінії Вістар масою 240 – 300 г і 3 собаках масою 10,0 – 12,5 кг. Усі експериментальні процедури були виконано згідно з Європейською Директивою Ради Громад від 24 листопада 1986 р. (86/609/ЕЕС). Перед перфузією щурів анестезували пентобарбіталом натрію (75 мг/кг внутрішньоочеревинно). Суміш хлоралоузи та уретану (70 мг/кг і 200 мг/кг відповідно, внутрішньовенно) використовувалася для анестезії собак. Перфузію тварин проводили через висхідну аорту спочатку сольовим фосфатним буфером (СФБ), який містив 0,2 % нітриту натрію та 25000 од/л гепарину. Потім перфузію продовжували 4%-м параформальдегідом, розчиненим у 0,1 моль/л фосфатному буфері (рН 7,3). Блоки довгастого мозку швидко виділяли, додатково фіксували протягом 12 год. З метою кріопротекції тканини мозку витримували протягом 48 год при +4°C у 30%-му розчині сахарози на фосфатному буфері. Фронтальні зрізи довгастого мозку (40 мкм завтовшки) у кількості 40 – 80 від кожної частини мозку збирали у десять лунок, заповнених холодним СФБ, для подальшого гістохімічного їх фарбування на нікотинамід-аденін-динуклеотид-фосфат-діафорузу (НАДФ-д).

**НАДФ-діафоразна гістохімія.** Ми використовували цей метод, щоб оцінити роз-

поділ нейронів, що містять NOS у мозку. Раніше встановлено, що така методика є селективною для NOS різних видів тварин, коли застосовується фіксація мозку формальдегідом [25]. Вільно плаваючі зрізи фарбували протягом 3 год при 37°C у 0,1 моль/л фосфатному буфері (рН 7,3), який містив 0,3 % тритона X-100, 0,2 мг/мл нітроблакитного тетразолію ("Sigma", США) та 0,5 мг/мл редукованого нікотинамід-аденін-динуклеотид-фосфату ( $\beta$ -НАДФ). Для підсилення гістохімічної реакції у розчин додавали 1,2 мг/мл дво-натрієвої солі яблучної кислоти ("Sigma", США). Після фарбування зрізи відмивали у СФБ, розміщували на покритих желатиною предметних скельцях, висушували на відкритому повітрі, просвітлювали у ксилолі та занурювали у бальзам під накривними скельцями. Назви регіонів і структур використовувалися згідно з атласами мозку собак і шурів [12, 18] і попередніх анатомічних досліджень на собаках [21].

**Статистичний аналіз.** Кількість НАДФН-д-позитивних нейронів підраховували в окремих ядрах і під'ядрах дорсомедіальної та вентролатеральної ділянок. Для підрахунків використовували близько 12 забарвлених зрізів з окремої структури однієї тварини. Розраховували середню кількість позитивних клітин і стандартну помилку середнього на одному боці у 40-мікрометровому зрізі. Порівнювали середні кількості забарвлених нейронів на 4-х відстанях довгастого мозку від засувки у собак (n=3) і шурів (n=4) за допомогою двопараметричного методу оцінки достовірності різниць (ANOVA). Фактори варіації включали дві умови (два види тварин) і 4 рівня (комісуральний, задня ділянка або area postrema, каудальний і ростральний рівні 4-го шлуночка). Різницю між видами визначали за допомогою тесту Н'юман – Келса. У разі необхідності також використовували однопараметричний метод ANOVA. Значення  $P < 0,05$  приймали

як достовірні. Можлива помилка подвійного мічення одних і тих самих забарвлених нейронів у сусідніх зрізах мозку коректувалася за допомогою рівняння Аберкромбі [3] тільки вибірково для медіального під'ядра NTS і DMV.

## РЕЗУЛЬТАТИ

По всьому довгастому мозку були широко розсіяні НАДФН-д-реактивні нейрони. Їх морфологія була більш або менш подібна у різних видів тварин (рис. 1 – 3). Проте спостерігалися великі розбіжності у розподілі та щільності нейронів у різних регіонах, а саме: ретикулярних ядрах, NTS, DMV та обопільному ядрі (n. ambiguus, Amb). Забарвлені нейрони були особливо численні на всьому ростро-каудальному продовженні NTS, а також у межах латерального та медіального тегментальних полів, латеральному парагігантоцелюлярному ядрі у шура або субретрофасіальній ділянці у собаки.

**НАДФН-діафоразна реактивність у дорсомедіальній частині довгастого мозку.** Більшість реактивних клітин у дорсомедіальній частині довгастого мозку характеризувалися специфічним блакитним забарвленням соми та відростків нейронів. Ядра клітин, звичайно, не були зафарбовані. Інтенсивність НАДФН-д-реактивності у суб'ядрах NTS мала таку послідовність: медіальне > центральне > желатинозне > вентролатеральне > дорсолатеральне > комісуральне під'ядра. Особливо цікавим виявилось те, що у собак багато реактивних нейронів локалізувалось у межах DMV на всьому ростро-каудальному продовженні довгастого мозку (див.рис. 1). Кількісний розподіл реактивних нейронів у DMV і суб'ядрах NTS на різних фронтальних рівнях по відстані від засувки, представлено на рис. 4 та 6, А, Б. У медіальному суб'ядрі NTS, та особливо у DMV, переважну більшість пози-

тивних нейронів було зареєстровано на ростральних рівнях у обох видів тварин ( $P < 0,01$ ). Реактивні клітини у медіальному суб'ядрі були головним чином довгастими за формою і мали середні (між довгими та короткими осями) діаметри приблизно 10 – 20 мкм. Значна кількість (25 %) круглих клітин також спостерігалась у цьому суб'ядрі. Забарвлені нейрони у комісуральному та желатинозному суб'ядрах були представлені переважно маленькими круглими клітинами. У собак у межах вентролатерального підрозділу NTS реактивні клітини були більші за розміром. Однак значна кількість цих реактивних нейронів за діаметром сягала тільки 15 – 25 мкм, але не реєструвалися так звані гігантські клітини, які описані у цій ділянці при вивченні зрізів, зафарбованих за Ніслем [21]. Слід зазначити, що у кау-

дальній і медіальній частинах NTS комісуральне, медіальне, дорсальне та центральне під'ядра NTS мали нейропіль темно-синього кольору, який був сформований щільною сіткою аферентних НАДФН-д-реактивних волокон (див.рис. 1, А, В і 3, В). Більш виражені видові відмінності у кількості реактивних нейронів у дорсо-медіальній частині довгастого мозку були виявлені у межах DMV. Так, у собаки щільність НАДФН-д-реактивності у DMV була високою та досить одноманітною на всьому ростро-каудальному подовженні довгастого мозку. І навпаки, у щура НАДФН-д-реактивність була мало виражена, та обмежувалася тільки ростральною частиною довгастого мозку (рис. 6, А). Морфологія реактивних клітин у DMV (парасимпатичні прегангліонарні нейрони) була подібна у різних видів тварин. Це були

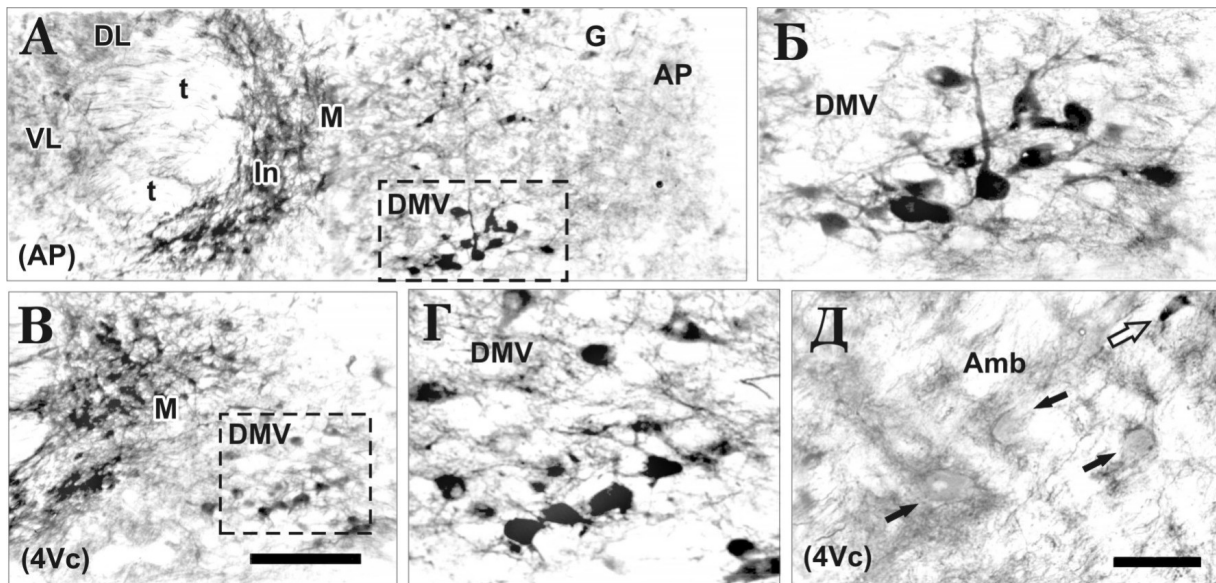


Рис. 1. НАДФН-д-реактивні нейрони у серцево-судинних структурах дорсомедіальної частини довгастого мозку собаки. А – розподіл реактивних клітин у різних суб'ядрах ядра поодинокого тракту на рівні задньої зони (area postrema, AP), В – на каудальному рівні 4-го шлуночка (4Vc). У рамках (А) та (В) показано маркіровані парасимпатичні нейрони у дорсальному моторному ядрі вагуса (DMV), як на (Б) та (Г) при великому збільшенні. Відмічаються поодинокі реактивні клітини в обопільному ядрі (Amb) на каудальному рівні 4-го шлуночка (Д). Суб'ядра: DL – дорсолатеральне; In – інтермедіальне; G – желатинозне; М – медіальне; t – поодинокий тракт (пучок); VL – вентролатеральне. Чорними стрілками (Д) позначені незафарбовані парасимпатичні нейрони обопільного ядра, білою – зафарбована клітина. Масштабна лінія на (В) становить 200 мкм для (А); масштабна лінія на (Д) – 100 мкм для (Б, Г)

великі (20 – 40 мкм) округлені клітини у собак, або округлені клітини середніх розмірів (15 – 30 мкм) у щурів. Підрахунок відсоткового вмісту NO-генеруючих нейронів у DMV відносно всіх прегангліонарних нейронів цього ядра довів, що у собаки цей показник на рівні задньої ділянки та роstralної частини четвертого шлуночка сягав 12,6 і 42,5 % відповідно. Водночас у щура цей показник становив тільки 1,9 % на рівні задньої ділянки і 18,6 %

на рівні роstralної частини четвертого шлуночка. За нашими підрахунками площа зрізів довгастого мозку у собаки на різних рівнях коливалася у межах 70 – 82 мм<sup>2</sup>, а у щура тільки в межах 14 – 20 мм<sup>2</sup>. Якщо прийняти порівняльний коефіцієнт щільності NO-генеруючих нейронів у щура за одиницю, то цей коефіцієнт у собаки буде приблизно становити тільки 0,2. Тобто у собаки при однаковій середній кількості на зріз зафарбованих клітин, їх

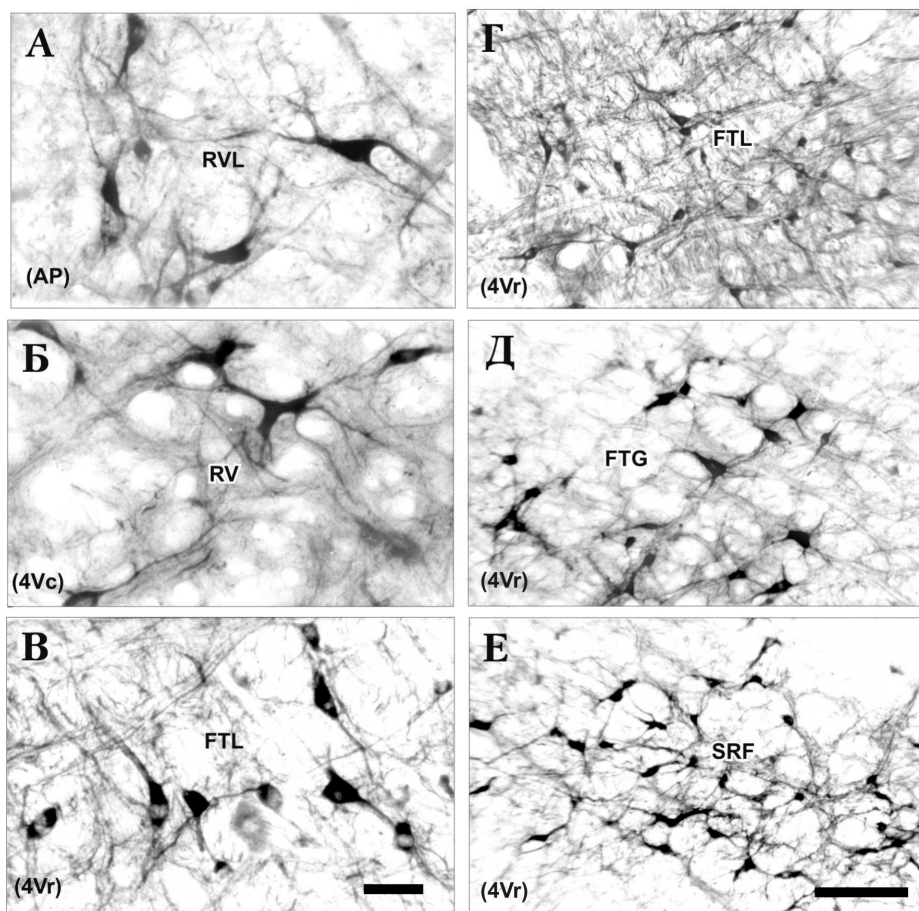


Рис. 2. НАДФН-д-реактивні нейрони у серцево-судинних структурах венролатеральної частини довгастого мозку собаки.

А – реактивні клітини у роstralному венролатеральному ретикулярному ядрі (RVL) при великому збільшенні на рівні area postrema (AP); Б – у венральному ретикулярному ядрі (RV) на каудальному рівні 4-го шлуночка (4Vc); В – у латеральному тегментальному полі (FTL) на роstralному рівні 4-го шлуночка (4Vr); Г – у латеральному тегментальному полі на роstralному рівні 4-го шлуночка при малому збільшенні; Д – у гігантоцелюлярному тегментальному полі (FTG) на роstralному рівні 4-го шлуночка; Е – у субретрофациальному ядрі (SRF) на роstralному рівні 4-го шлуночка. Масштабна лінія на (В) становить 50 мкм для (А, Б); масштабна лінія на (Е) – 200 мкм для (Г, Д)

щільність у структурі мозку буде знижуватись у п'ять разів. Аналогічні коефіцієнти щільності розподілу реактивних нейронів ми використовували для аналізу розподілу реактивних клітин у різних під'ядрах NTS, а також у ядрах DMV і у ядрах вентролатеральної частини довгастого мозку на 40 мкм зріз (рис. 4 – 6). Коли ми використовували кореляційний фактор

[3] була можливість оцінити реальну середню кількість НАДФН-д-позитивних нейронів у 40 мкм зрізі в межах деяких під'ядер NTS або DMV. У цьому випадку реальна середня кількість забарвлених нейронів для медіального під'ядра NTS становила 70 – 80 % від її загальної підрахованої кількості у нашій роботі (рис. 6, Б) і навіть 50 – 70 % для DMV (рис. 6, А) у собак і щурів.

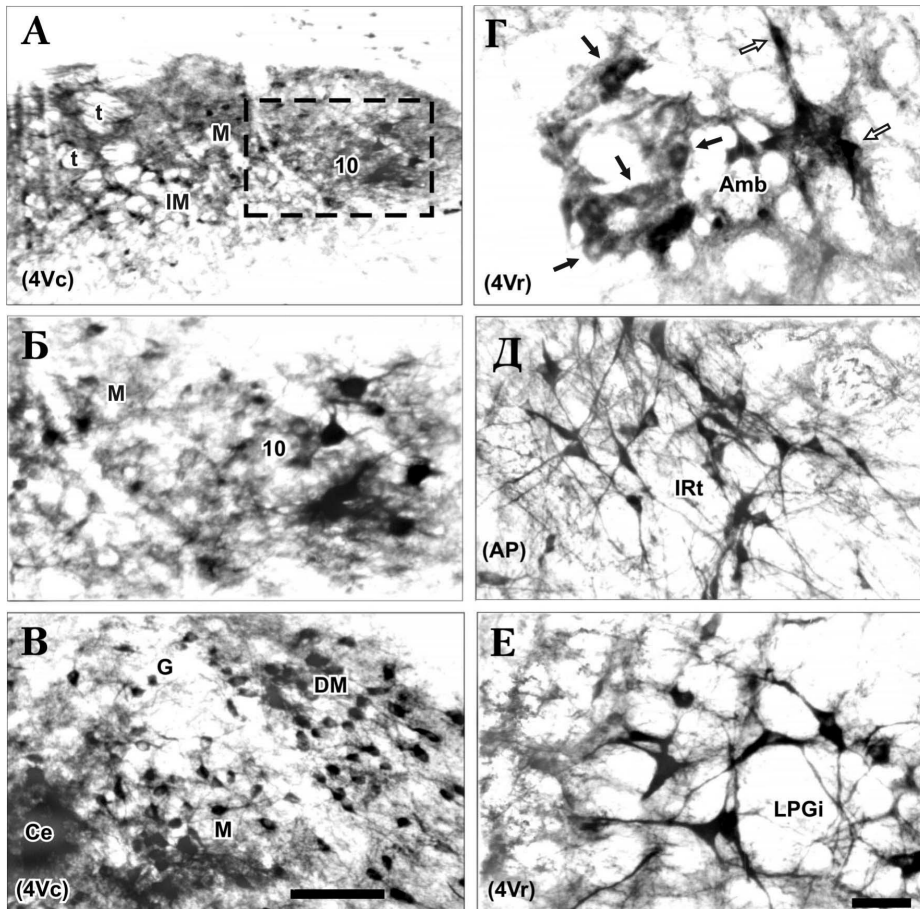


Рис. 3. НАДФН-д-реактивні нейрони у серцево-судинних структурах довгастого мозку щура. А, В – розподіл реактивних клітин у різних суб'ядрах ядра поодинокого тракту на каудальному рівні 4-го шлуночка; у рамці (А) показані маркіровані парасимпатичні нейрони у дорсальному моторному ядрі вагусу (10), а на (В) ці ж нейрони при великому збільшенні. В – центральна та латеральна частини ядра поодинокого пучка на каудальному рівні 4-го шлуночка. Г – поодинокі нейрони в обопільному ядрі (Amb) на ростральному рівні 4-го шлуночка. Д – маркіровані нейрони в інтермедіальному ретикулярному ядрі (IRt) на рівні area postrema (AP). Е – реактивні клітини у латеральному парагігантоцелюлярному ядрі (LPGi) на ростральному рівні 4-го шлуночка. Суб'ядра: Се – центральне; DM – дорсомедіальне; IM – інтермедіальне; 10 – дорсальне моторне ядро вагусу. Чорними стрілками (Г) позначені непофарбовані парасимпатичні нейрони обопільного ядра, білими – реактивні клітини. Масштабна лінія на (В) становить 200 мкм для (А); масштабна лінія на (Е) становить 50 мкм для (Б, Г, Д). Інші позначення див. на рис. 1, 2

**НАДФН-діафориазна активність у вентральній частині довгастого мозку.** Велику щільність активності у цьому регіоні було виявлено у щура (див. рис. 5 і 6, В). Водночас у собаки число реактивних нейронів на одиницю площі зрізу було помітно меншим. Видові відмінності розподілу НАДФН-д ясно відмічалися в ділянках, які тісно пов'язані з кардіоваскулярною функцією, тобто RVLM та CVLM. Видові відмінності розподілу NO-генеруючих клітин знайдено й у субретрофасіальному полі (латеральне парагігантоцелюлярне ядро у щура [18]), де дуже висока щільність активності відмічалась як у щура, так і собаки (див.рис. 6, В). У собаки щільність розподілу становила приблизно 20 % від щільності розподілу NO-генеруючих клітин у цьому ядрі у щура. Рівень реактивності у RVLM і CVLM мав видову пос-

лідовність: у собаки вище, ніж у щура, але щільність реактивності була у зворотному порядку (див.рис. 6, В). Багато реактивних нейронів були розсіяні в межах медіального, інтермедіатного, вентрального та латерального ретикулярних ядер, включаючи також гігантоцелюлярне ретикулярне ядро та латеральне парагігантоцелюлярне ядро на ростральному рівні довгастого мозку. Групи великих реактивних нейронів з інтенсивно розгалуженими дендритами спостерігались у всіх ретикулярних ядрах у щура, особливо в латеральному тегментальному та субретрофасіальному полях у собаки (див.рис. 2, 3). Позитивні клітини демонстрували подібну морфологію (мультиполярні нейрони) від середнього до великих розмірів (25 – 60 мкм). Вони були інтенсивно забарвлені та мали кілька помітних дендритів, які

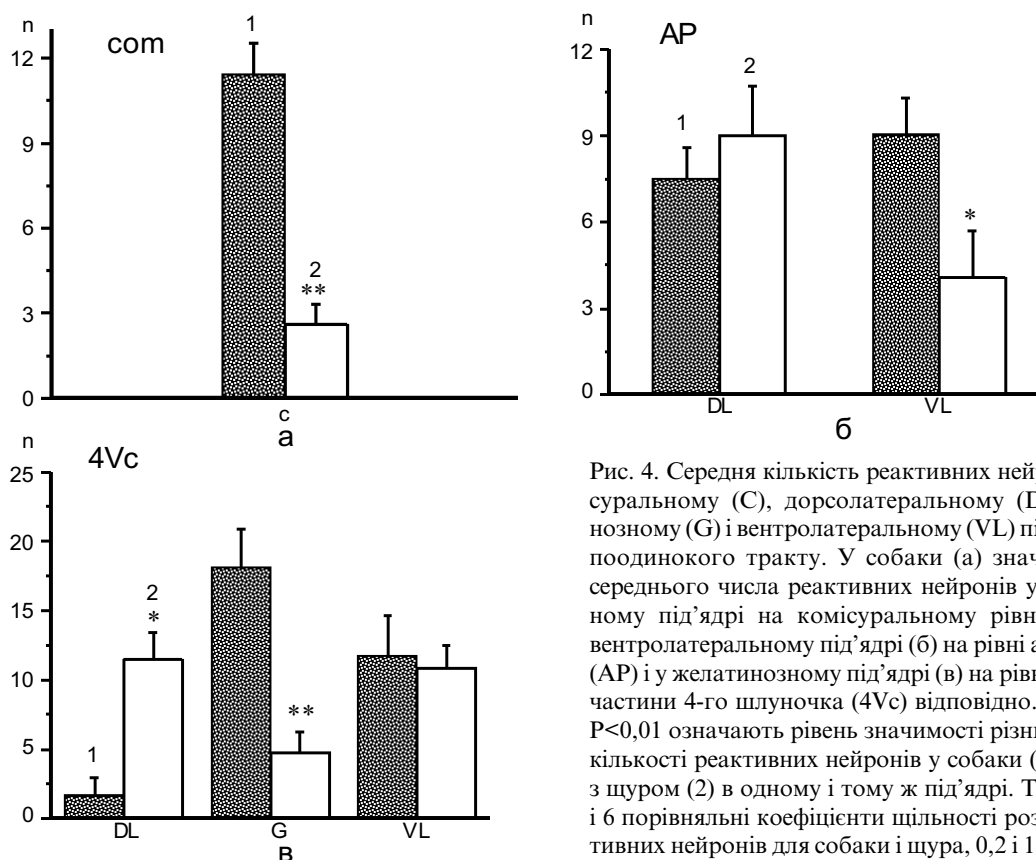


Рис. 4. Середня кількість реактивних нейронів у комісуральному (C), дорсолатеральному (DL), желатинозному (G) і вентролатеральному (VL) під'ядрах ядра поодинокого тракту. У собаки (а) значна перевага середнього числа реактивних нейронів у комісуральному під'ядрі на комісуральному рівні (com), а у вентролатеральному під'ядрі (б) на рівні area postrema (AP) і у желатинозному під'ядрі (в) на рівні каудальної частини 4-го шлуночка (4Vc) відповідно. \* P<0,05, \*\* P<0,01 означають рівень значимості різниці середньої кількості реактивних нейронів у собаки (1) порівняно з щуrom (2) в одному і тому ж під'ядрі. Тут і на рис. 5 і 6 порівняльні коефіцієнти щільності розподілу реактивних нейронів для собаки і щура, 0,2 і 1,0 відповідно

розходилися від тіла клітини на 400 мкм (див.рис. 2, Е і 3, Е). У обох видів тварин обопільне ядро (Amb) містило кілька малих або середніх (за розміром) реактивних нейронів, великі клітини цього ядра (прегангліонарні парасимпатичні нейрони) мали неспецифічне бліде руде забарвлення (див.рис. 1, Д і 3, Г).

## ОБГОВОРЕННЯ

Одержані кількісні показники розподілу NO-генеруючих нейронів на різних рівнях довгастого мозку є важливими для встановлення видових відмінностей і щільнос-

ті розподілу цих клітин у різних медулярних серцево-судинних центрах, деталізації ролі NO в модуляції збудження та гальмування у різних ланцюгах симпатичної та парасимпатичної систем.

Головним результатом цієї роботи було встановлення видових відмінностей щільності NOS у структурах довгастого мозку собаки та щура. В межах дорсомедіальної частини довгастого мозку видові відмінності середнього числа реактивних нейронів на зріз були чітко виявлені тільки у DMV. Кількість мічених нейронів у DMV собаки була більшою порівняно з цим показником у щурів. Оскільки це ядро міс-

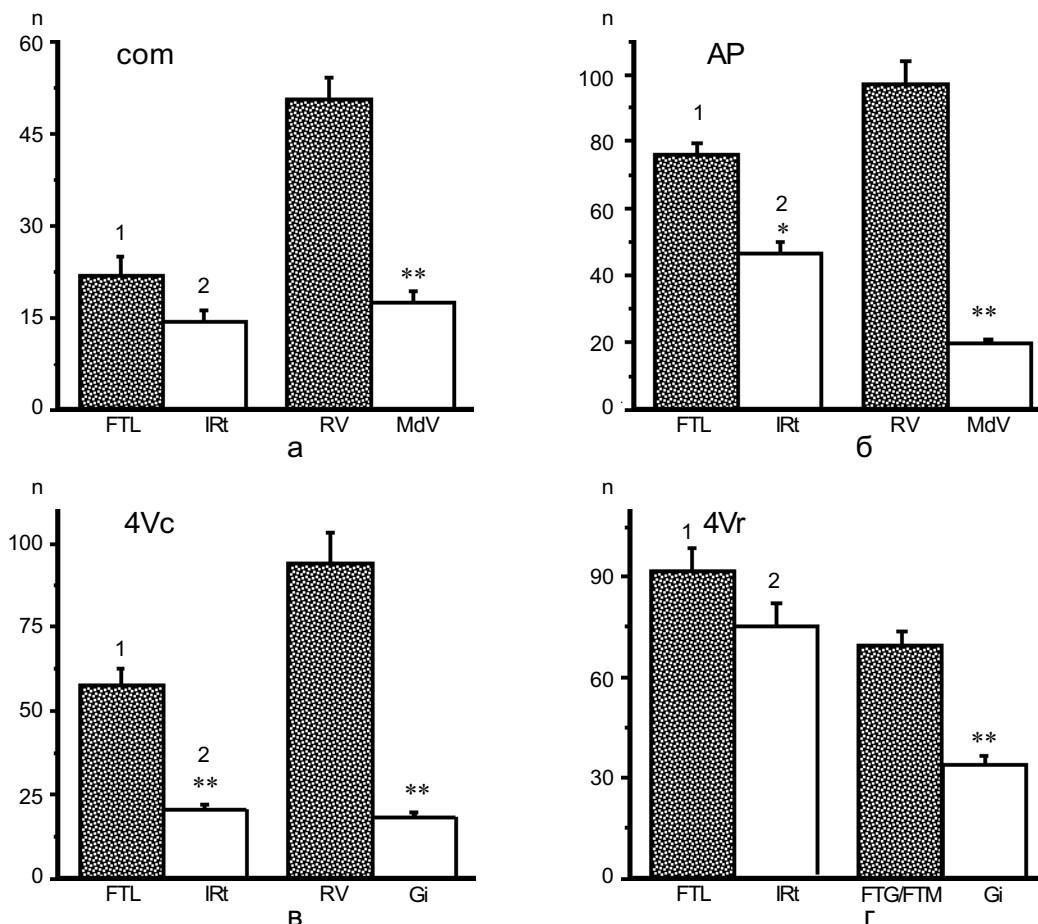


Рис. 5. Середня кількість реактивних нейронів у різних ядрах вентральної частини довгастого мозку на комісуральному (а), area postrema (б), каудальному і ростральному рівнях 4-го шлуночка (в, г): 1 – собака FTG, 2 – щур гігантоцелюлярне тегментальне поле; FTM – великоклітинне тегментальне поле; Gi – гігантоцелюлярне ретикулярне ядро; RV – вентральне ретикулярне ядро; IRt – інтермедіатне ретикулярне ядро; FTL – латеральне тегментальне поле; MdV – ретикулярне ядро



тять прегангліонарні парасимпатичні нейрони, можна припустити, що їх активність може бути NOS-залежною. Добре відомо, що центральна дія NO, як міжклітинного месенджера, полягає в модуляції активності нейронів DMV [24]. Більше того, введення донорів NO в ділянку NTS генерує депресорні серцево-судинні реакції через проєкції з цієї ділянки до блукаючого нерва та симпатичних нейронів, які знаходяться у вентролатеральній частині довгастого мозку. Недавно було показано, що nNOS відіграє головну роль у вагусному контролі змін серцевого ритму у неанестезованих собак [19]. Таким чином, переважання NOS у DMV, як нами встановлено, є відповідно відображенням високого рівня парасимпатичного тону у в

спокійному стані у собаки.

Порівняно з щуром, RVLM і CVLM собаки містять більше NO-генеруючих нейронів, як на зрізі, так і на всьому подовженні довгастого мозку. Але щільність NO-генеруючих нейронів у переважній кількості ядер на зрізі мозку була більшою у щура (див.рис. 5 і 6, В). Нами раніше було показано [10, 13], що ці регіони містять катехоламінергічні нейрони, які формують прямі проєкції на прегангліонарні симпатичні нейрони спинного мозку, і, таким чином, можуть брати участь у контролі симпатичного тону.

Слід зазначити, що на відміну від гризунів, у собак, адренергічні нейрони групи C1 та норадренергічні нейрони групи A1 відносно менше концентруються у межах

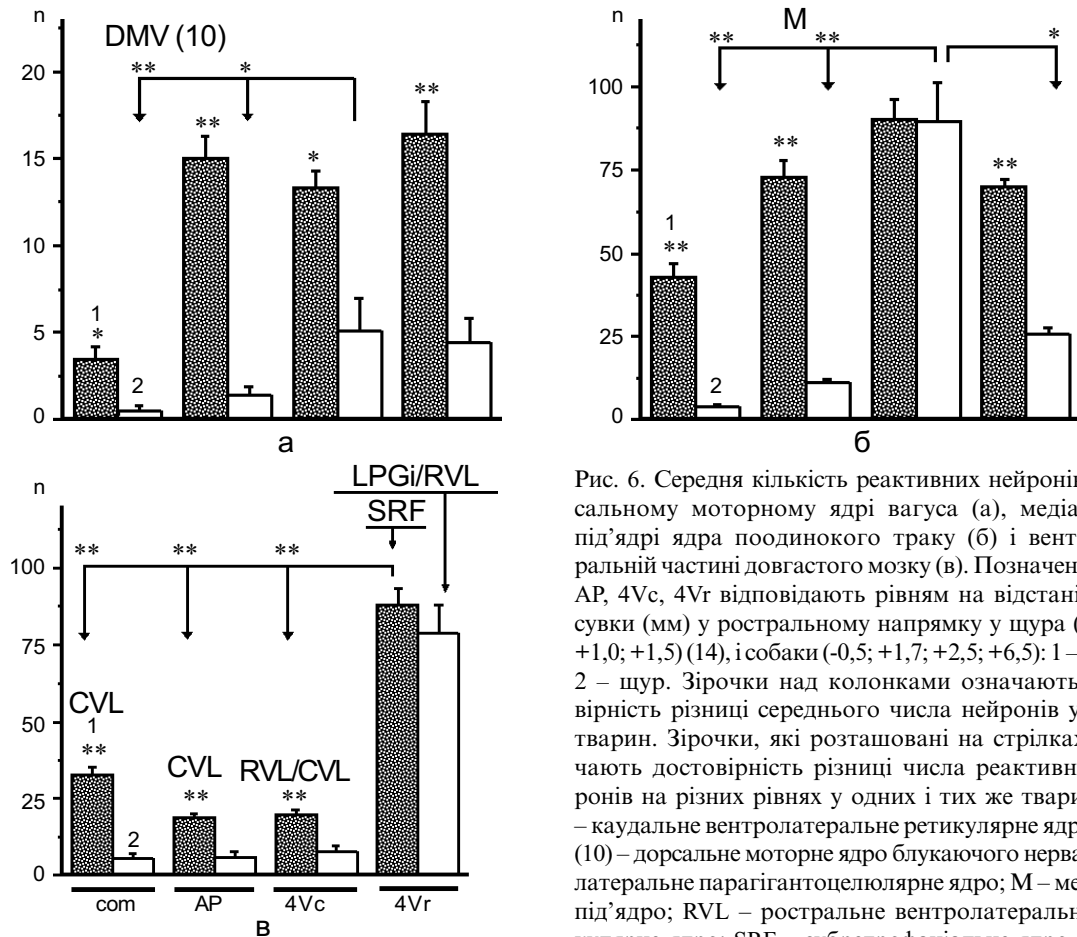


Рис. 6. Середня кількість реактивних нейронів у дорсальному моторному ядрі вагуса (а), медіальному під'ядрі ядра поодинокого тракту (б) і вентролатеральній частині довгастого мозку (в). Позначення: com, AP, 4Vc, 4Vr відповідають рівням на відстані від закрутки (мм) у ростральному напрямку у щура (0; +0,5; +1,0; +1,5) (14), і собаки (-0,5; +1,7; +2,5; +6,5): 1 – собака, 2 – щур. Зірочки над колонками означають достовірність різниці середнього числа нейронів у різних тварин. Зірочки, які розташовані на стрілках, означають достовірність різниці числа реактивних нейронів на різних рівнях у одних і тих же тварин. CVL – каудальне вентролатеральне ретикулярне ядро; DMV (10) – дорсальне моторне ядро блукаючого нерва; LPGi – латеральне парагігантоцелюлярне ядро; M – медіальне під'ядро; RVL – ростральне вентролатеральне ретикулярне ядро; SRF – субретрофасціальне ядро

RVLM і CVLM. У щура групи нейронів C1 та A1 локалізуються переважно в ядрах RVL та CVL відповідно [18]. Однак велика кількість нейронів групи C1 у собаки локалізується вище, у межах FTL [5]. У собаки багато нейронів що містять NOS у FTL були зареєстровані на ростральному рівні довгастого мозку (див.рис. 5, Г). Крім того, на відміну від щура, у собаки норадренергічні нейрони групи A1 не обмежені тільки CVLM. Велика кількість цих нейронів виявляється у каудальній частині FTL, де вони були розсіяні у ділянці між DMV та CVLM [5]. На рис. 2, В, Г видно, що ця ділянка довгастого мозку у собаки також включає велику кількість клітин, що містять NOS. Як правило, адренергічні нейрони групи C1 у межах RVLM і FTL перемішані з NO-генеруючими нейронами. Відомо [7], що тільки невелика кількість клітин, котрі містять NOS у межах RVLM, ретроградно мітилися після ін'єкції люмінесцентних забарвників (флюороголд) у торакальну частину спинного мозку.

Кінцевий ефект NO у контролі симпатичної системи включає послаблення її еферентної активності [26]. Більшість попередніх досліджень підтверджували думку, що у щура NO, який ендогенно генерується у RVLM, знижує симпатичний тонус через зміни виділення глутамату у цій структурі [8]. Крім того, NO у RVLM може збільшувати позаклітинну концентрацію ГАМК, що також послаблює симпатичну активність. З іншого боку, NO у RVLM зменшує позаклітинну концентрацію ГАМК і збільшує вивільнення глутамату і, таким чином, також знижує рівень симпатичної активності [8, 17]. Пресорні ефекти, які описані вперше Шаповал та співавт. після мікроін'єкції донорів NO у CVLM [22], пов'язані не з послабленням активності у цій структурі, а з активацією гіпоталамічних структур і вивільненням вазопресину, як було показано нині [11].

У RVLM симпатичні нейрони не є фенотипічно гомогенними. Хоча більшість ретикуло-спінальних нейронів цієї ділянки є адренергічні клітини, очевидно, що збуджувальним нейромедіатором, який вивільнюється з їх закінчень, є глутамат [16]. Сучасні дослідження [23] підтвердили, що 79 % ретикуло-спінальних C1 нейронів містять везикулярний глутаматний транспортер, тобто ці клітини є дійсно глутаматергічними.

Одержані результати дозволяють зробити висновок, що видові відмінності у розподілі NO-генеруючих нейронів, базального рівня вивільнення NO у дорсальному вагальному комплексі та вентролатеральній частині довгастого мозку у собак і щурів є причиною помітної різниці у динаміці розвитку кардіогенних рефлексів при інгібуванні NOS, наприклад рефлексу Бецоляда – Яріша [2]. Можливо, що відсутність виразних змін кардіогенного рефлексу Бецоляда – Яріша у собак (дані не опубліковані), на відміну від щурів, після введення селективного інгібітора нейрональної NOS – 7 – NI [1, 2], може бути результатом не тільки розгальмування преангліонарних парасимпатичних нейронів у DMV, але також змін в активації вазодепресорних нейронів, які розташовані в гальмівних ланках рефлексу. NO, який генерується нейронами довгастого мозку може ефективно впливати на активність багатьох нейронів, які розташовані на відстані до 500 – 1000 мкм [14]. Проте кінцевий збуджувальний, як і гальмівний, ефекти NO у таких специфічних регіонах мозку як NTS, RVLM та CVLM може залежати від просторово-часової взаємодії концентрації NO та його метаболітів у нейрональній тканині як уже підкреслювалося раніше [15, 26].

Робота виконана за підтримки гранту INTAS 01-2130, гранту ДФФД № 05.07/00065 Міністерства освіти та науки, гранту „Молекулярні основи функціонування геному” НАН України.

**V.V. Datsenko, V.B. Pavlyuchenko, A.A. Moibenko,  
A.I. Pilyavskii, A.I. Kostyukov, V.A. Maisky**

**PECULIARITIES OF DISTRIBUTION OF NOS-CONTAINING NEURONS IN THE MEDULLARY CARDIOVASCULAR CENTERS OF DOGS AND RATS**

The aim of the study was to characterize species-related differences in the distribution of nitric oxide synthase (NOS)-containing neurons in the medullary structures of dogs and rats involved in the regulation of the sympathetic or parasympathetic drives. Two main results have been obtained, namely: (i) the average number of NOS-containing neurons in the dorsomedial and ventrolateral medulla per section in dog was larger than that in rat, while the density of the positive cells in the both regions in dog was less than that in rat. (ii) Within the dorsal motor nucleus of vagus a lot of NOS-containing cells (preganglionic vagal neurons) were observed only in dog. Differences in the distribution of NO-generating neurons in the medullary cardiovascular centers, and heterogeneity in the basal level of NO release may contribute to the peculiarities of the hemodynamic responses induced by NOS inhibitors in these species.

*A.A. Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev*

**СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Мойбенко О.О., Павлюченко В.Б., Даценко В.В., Юзьків М.Я. та ін. Дослідження ролі ендотелій-залежних факторів у реалізації кардіогенних рефлексів за нормальних і патологічних умов // Фізіол. журн. – 2000. – **46**, № 2. – С. 19 – 32.
2. Мойбенко А.А., Павлюченко В.Б., Даценко В.В. Роль оксида азота в рефлекторній саморегуляції кровообращення // Досягнення біології та медицини – 2003. – № 1. – С. 72 – 79.
3. Abercrombie M. Estimation of nuclear population from microtome section // *Anat. Rec.* – 1946. – **94**. – P. 239 – 247.
4. Averill D.B., Diz D.I. Angiotensin peptides and baroreflex control of sympathetic outflow: pathways and mechanisms of the medulla oblongata // *Brain. Res. Bull.* – 2000. – **51**. – P. 119 – 128.
5. Dormer K.J., Anwar M., Ashlock S.R., Ruggiero D.A. Organization of presumptive catecholamine-synthesizing neurons in the canine medulla oblongata // *Brain. Res.* – 1993. – **601**. – P. 41 – 64.
6. Dun N.J., Dun S.L., Forstermann U. Nitric oxide synthase immunoreactivity in rat pontine medullary neurons // *Neurosci.* – 1994. – **59**. – P. 429 – 445.
7. Iadecola C., Paris P.L., Hartman B.K., Xu X. Localization of NADPH-diaphorase in neurons of the rostral ventral medulla: possible role of nitric oxide in central autonomic regulation and oxygen chemoreception // *Brain. Res.* – 1993. – **603**. – P. 173 – 179.
8. Ishide T., Hara Y., Maher T.J., Ally A. Glutamate neurotransmission and nitric oxide interaction within the ventrolateral medulla during cardiovascular responses to muscle contraction // *Ibid.* – 2000. – **874**. – P. 107 – 115.
9. Krukoff T.L. Central actions of nitric oxide in regulation of autonomic functions // *Brain. Res. Rev.* – 1999. – **30**. – P. 52 – 65.
10. Kuypers H.G.J.M., Maisky V.A. Funicular trajectories of descending brain stem pathways in cat // *Brain. Res.* – 1977. – **136**. – P. 159-165.
11. Lage R.S., Campagnole-Santos M.J., Fontes M.A.P., Santos R.A.S. Cardiovascular effects produced by nitric oxide-related drugs in the caudal ventrolateral medulla // *NeuroReport.* – 1999. – **10**. – P. 731 – 735.
12. Lim R.K.S, Liu C-N., Moffitt R.L. A Stereotaxic Atlas of The Dog's Brain. – Springfield: Thomas Publ, 1960.
13. Maisky V.A., Doroshenko N.Z. Catecholamine projections to the spinal cord in the rat and their relationship to central cardiovascular neurons // *J. Auton. Nerv. Syst.* – 1991. – **34**. – P. 119 – 128.
14. Maisky V.A., Pilyavskii A.I., Kalezic I. et al. NADPH-diaphorase activity and c-fos expression in medullary neurons after fatiguing stimulation of hindlimb muscles in the rat // *Auton. Neurosci. Basic and Clinic.* – 2002. – **101**. – P. 1 – 12.
15. Matsumura K., Tsuchihashi T., Kagiya S. et al. Role of nitric oxide in the nucleus of the solitary tract of rats // *Brain. Res.* – 1998. – **798**. – P. 232 – 238.
16. Morrison S.F., Callaway J., Milner T.A., Reis D.J. Rostral ventrolateral medulla: A source of the glutamatergic innervation of the sympathetic intermediolateral nucleus // *Ibid.* – 1991. – **562**. – P. 126 – 135.
17. Nauli S.M., Pearce W.J., Amer A. et al. Effects of nitric oxide and GABA interaction within ventrolateral medulla on cardiovascular responses during static muscle contraction // *Ibid.* – 2001. – **922**. – P. 234 – 242.
18. Paxinos G., Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. – San Diego: Acad. Press, 1997.
19. Picker O., Scheeren T.W.L., Arndt J.O. Nitric oxide synthases in vagal neurons are crucial for the regulation of heart rate in awake dogs // *Basic Res. Cardiol.* – 2001. – **96**. – P. 395 – 404.
20. Prast H., Philippu A. Nitric oxide as modulator of neuronal function // *Prog. Neurobiol.* – 2001. – **64**. – P. 51 – 68.
21. Ruiz-Pesini P., Cifuentes J.M., Fernandez-Troconiz P. The nucleus of the tractus solitarius of the dog. A morphological and morphometric analysis // *J. Anat.* – 1991. – **176**. – P. 113 – 132.
22. Shapoval L.N., Sagach V.F., Pobegailo L.S. Nitric oxide influences ventrolateral medullary mechanisms of vasomotor control in the cat // *Neurosci. Lett.* – 1991. – **132**. – P. 47 – 50.
23. Stornetta R.L., Sevigny C.P., Schreihof A.M. et al. Vesicular glutamate transporter DNPI/VGLUT2 is expressed by both C1 adrenergic and nonadrenergic presympathetic vasomotor neurons of the rat medulla // *J. Comp. Neurol.* – 2002. – **444**. – P. 207 – 220.

24. Travagli R.A., Gillis R.A. Nitric oxide-mediated excitatory effect on neurons of dorsal motor nucleus of vagus // Amer. J. Physiol. – 1994. – **266**. – G154 – G160.
25. Vincent S.R., Kimura H. Histochemical mapping of nitric oxide synthase in the rat brain // Neurosci. – 1992. – **46**. – P. 755 – 784.
26. Zanzinger J. Role of nitric oxide in the neural control of cardiovascular function // Cardiovas. Res. – 1999. – **43**. – P. 639 – 649.
27. Zanzinger J., Czachurski J., Seller H. Inhibition of basal and reflex-mediated sympathetic activity in the RVLM by nitric oxide // Amer. J. Physiol. – 1995. – **268**. – P. R958 – R962.
28. Zanzinger J., Seller H. Species differences in the distribution of nitric oxide synthase in brain stem regions that regulate sympathetic activity // Brain. Res. – 1997. – **764**. – P. 265 – 268.

*Ин-т фізіології ім.О.О.Богомольця НАН України,  
Київ*

*Матеріал надійшов до  
редакції 29.07.2003*