

© Л.И.Хожай, 2015  
УДК 611.018.8:612.65:599.323.4

*Л.И.Хожай*

## РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ГАМК-ЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ В ЯДРАХ ПНЕВМОТАКСИЧЕСКОГО ЦЕНТРА В РАННИЙ ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД В НОРМЕ И ПРИ ПРЕНАТАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ У КРЫС

Лаборатория онтогенеза нервной системы (зав. — чл.-кор. РАН проф. В.А.Отеллин), Институт физиологии им. И.П.Павлова РАН, Санкт-Петербург

Цель работы — изучение распределения ГАМК-ергических нейронов в структурах пневмотаксического центра (медиальном субъядре парабрахиального комплекса и ядре Кёлликера—Фюзе) в норме и при недостаточности серотонинергической системы в пренатальный период развития у крыс линии Вистар. Снижение эндогенного содержания серотонина у плодов осуществляли методом ингибирования триптофангидроксилазы параклорфенилаланином, который вводили самкам на 16-е сутки беременности. Материал из области моста у подопытных и контрольных (интактных) крысят исследовали в раннем постнатальном (на 5-, 10-, 12-е сутки) и ювенильном (20-е сутки) возрасте. В каждый срок для исследования было взято по 5–6 как подопытных, так и контрольных крысят. Для выявления ГАМК-ергических нейронов использовали антитела к ферменту его синтеза глутаматдекарбоксилазе (GAD-67). Результаты показали, что в ядре Кёлликера—Фюзе в ранние сроки постнатального развития присутствует популяция ГАМК-ергических нейронов, численность которой сохраняется к ювенильному возрасту. В медиальном субъядре парабрахиального комплекса в ранние сроки присутствует незначительное число ГАМК-ергических нейронов, которое к ювенильному возрасту немного увеличивается, но сохраняется слабая иммунная реакция нейронов. Дефицит серотонина в структурах пневмотаксического центра приводит к сокращению числа ГАМК-ергических нейронов, уменьшению количества ГАМК-ергических синапсов и их скоплений. Снижение содержания серотонина в пренатальный период может вызвать нарушение тормозной афферентации ядер пневмотаксического центра и изменение локальных тормозных ГАМК-ергических сетей в его ядрах, что в результате может приводить к нарушению тормозных процессов в структурах центра.

**Ключевые слова:** пневмотаксический центр ствола мозга, ядро Кёлликера—Фюзе, медиальное субъядро парабрахиального комплекса, серотонин

Пневмотаксический центр включает симметричные структуры дорсолатеральной области моста — медиальное субъядро медиальной части парабрахиального комплекса и ядро Кёлликера—Фюзе и представляет собой структурно-функциональный нейронный комплекс, функция которого связана с регуляцией активности нейронов дыхательного центра и генерацией дыхательного ритма [11, 13]. Механизмы генерации и регуляции дыхательного ритма у млекопитающих начинают формироваться в конце пренатального периода, при этом известно, что структуры, участвующие в становлении респираторной функции, уже на ранних стадиях развития получают иннервацию от различных моноаминергических систем, в том числе серотонинергической [8, 9]. Показано, что в пренатальный период серотонин принимает участие в формировании субъядер парабрахиального комплекса и модулирует процессы созревания нейронов, а впоследствии способен к

организации и регуляции различных параметров деятельности этих структур [2–4, 8].

Парабрахиальная область, в частности ее медиальная часть, и ядро Кёлликера—Фюзе у взрослых животных имеют обширную иннервацию, которая обеспечивается в основном нейронами каудальных ядер серотонинергической системы [2, 8].

Другая нейротрансмиттерная тормозная ГАМК-ергическая система также играет важную роль в осуществлении респираторных функций, которые опосредуются рядом стволовых структур и пневмотаксическим центром. В результате физиологических экспериментов установлено, что у взрослых млекопитающих ГАМК-ергические нейроны пневмотаксического центра, оказывая тормозное влияние на инспираторные нейроны ядер дыхательного центра и мотонейроны диафрагмального ядра, способны осуществлять ритмическую смену фаз дыхательного цикла [5]. При

### Сведения об авторе:

Хожай Людмила Ивановна (e-mail: [astarta0505@mail.ru](mailto:astarta0505@mail.ru)), лаборатория онтогенеза нервной системы, Институт физиологии им. И.П.Павлова РАН, 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6

этом, ядра пневмотаксического центра сами получают афферентные тормозные ГАМК-ергические проекции [6]. Медиальное субъядро парабрахиального комплекса и ядро Кёлликера—Фюзе имеют как структурные, так и функциональные особенности, однако, в какой степени они являются объектами ГАМК-ергического торможения на ранних этапах постнатального развития, известно мало, а вопрос о влиянии недостаточности серотонинергической системы в пренатальный период на ГАМК-ергическую иннервацию структур пневмотаксического центра практически не изучался.

Установлено, что ГАМК синтезируется из глутаминовой кислоты при участии фермента глутаматдекарбоксилазы, представленного двумя изоформами, имеющими молекулярную массу 65 килодальтон (GAD65) и 67 килодальтон (GAD67) [7]. Иммуногистохимическим методом показано, что GAD65 присутствует в терминалях аксонов, тогда как GAD67 — во всем нейроне, т.е. в теле, дендритах, аксонах, терминальных отростках и поэтому широко используется как маркер ГАМК-ергических нейронов [9].

Цель данной работы — изучение распределения ГАМК-ергических нейронов в структурах пневмотаксического центра (медиальном субъядре медиальной части парабрахиального комплекса и ядре Кёлликера—Фюзе) у крыс в норме и при недостаточности серотонинергической системы в пренатальный период развития.

**Материал и методы.** Работа выполнена на лабораторных крысах линии Вистар. Содержание животных и все экспериментальные процедуры проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР). Для снижения в организме содержания эндогенного серотонина использовали метод ингибирования триптофангидроксилазы (фермента его синтеза) парахлорфенилаланином (пХФА) (Sigma, США). пХФА в дозе 400 мг/кг самкам крыс ( $n=6$ ) вводили внутривентрально на 16-е сутки беременности, в период формирования собственной серотонинергической системы у плодов [1]. Показано, что в этой дозе как у взрослых животных, так и у развивающихся плодов, пХФА вызывает длительное снижение содержания эндогенного серотонина (до 50–80%) [10, 12].

Головной мозг у крысят исследовали в раннем постнатальном (5-, 10-, 12-е сутки) и ювенильном возрасте (20-е сутки). В качестве контроля использовали животных соответствующих сроков развития, полученных от интактных самок ( $n=5$ ). В каждый срок исследования было взято по 5–6 как подопытных, так и контрольных крысят. Материал фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде на фосфатно-солевом буфере (рН 7,4), заливали в парафин по общепринятой методике и готовили серийные поперечные срезы области моста толщиной 4–5 мкм на уровне Брега –8,88–9,12 мм.

Иммуноцитохимическую реакцию для выявления GAD-67 проводили с использованием кроличьих поликлональных антител (Spring Bioscience, США). В качестве вторичных реагентов для GAD-67 использовали реактивы из

набора EnVision+System-HRP Labelled Polymer Anti-Rabbit (DakoCytomation, США). Для визуализации продукта реакции пользовались хромогеном DAB+ (Dako, Дания). После проведения иммуноцитохимической реакции часть срезов докрашивали гематоксилином Майера (Bio-Optica, Италия) или тионином (Serva, США, Германия) и заключали в синтетическую среду Permaunt (Termo, США). Условия проведения иммуноцитохимической реакции были стандартизированы, все процедуры при иммуноокрашивании гистологических срезов, полученных от контрольных и подопытных животных, осуществляли одновременно.

На цифровых изображениях серийных срезов, полученных при помощи светового микроскопа Leica DME (Leica, Германия) и цифровой камеры Leica EC3 (Leica, Германия), подсчитывали (при об. 100, ок. 10 на стандартной площади) число GAD-67-иммунопозитивных нейронов медиального субъядра медиальной части парабрахиального комплекса и ядра Кёлликера—Фюзе, визуально определяли плотность сплетения терминальных отростков в нейропиле, плотность расположения зерен (предположительно синапсов и их скоплений соответственно [6]). Статистическую обработку полученных показателей осуществляли при помощи пакета прикладных компьютерных программ Statistica 6.0., ImageScope Color и ORIGIN50. Значимость различий определяли по величине  $t$ -критерия Стьюдента. Различия считали значимыми при  $P<0,05$ .

**Результаты исследования. Ядро Кёлликера—Фюзе.** У 5-суточных интактных крысят на срезах ядра не обнаружено меченых нейронов. В нейропиле иммунопозитивные сплетения терминальных отростков практически не определялись. На 10-е сутки на срезах ядра присутствовали  $5,0\pm 0,3$  нейрона со слабо иммунопозитивной цитоплазмой. В нейропиле выявлялись иммунопозитивные слабо окрашенные сплетения терминальных отростков и мелкие зерна. Часто встречались крупные интенсивно окрашенные иммунопозитивные гранулы, они присутствовали как в нейропиле, так и на поверхности неокрашенных нейронов (рис. 1, а).

На 12-е сутки в нейропиле значительно возрастает количество иммунопозитивных интенсивно окрашенных мелких зерен и гранул. На 20-е сутки на срезах ядра присутствуют  $6,0\pm 1,4$  иммунопозитивных нейрона с интенсивно окрашенной цитоплазмой. В нейропиле повышается интенсивность иммунной окраски сплетений терминальных отростков (см. рис. 1, б). Значительно увеличивается количество иммунопозитивных интенсивно окрашенных крупных гранул. Они встречаются в нейропиле, на поверхности как окрашенных, так и неокрашенных нейронов (в количестве от 4 до 8 на клетку).

У 5-суточных экспериментальных животных на срезах ядра Кёлликера—Фюзе меченые нейроны и иммунопозитивные сплетения терминальных отростков в нейропиле не определялись. На 10-е сутки на срезах ядра присутствовали  $3,0\pm 0,3$



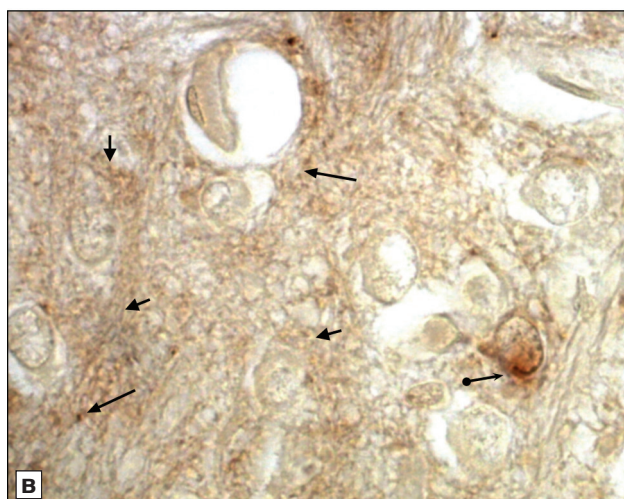
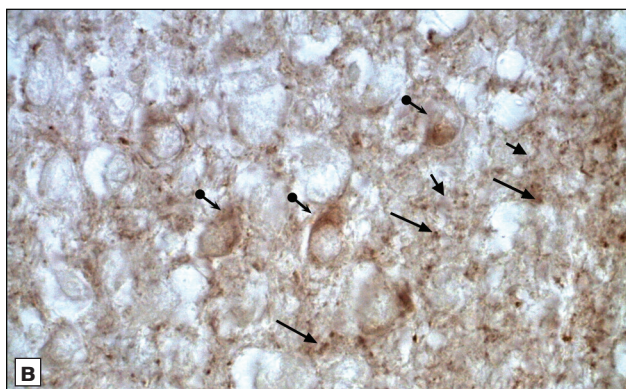
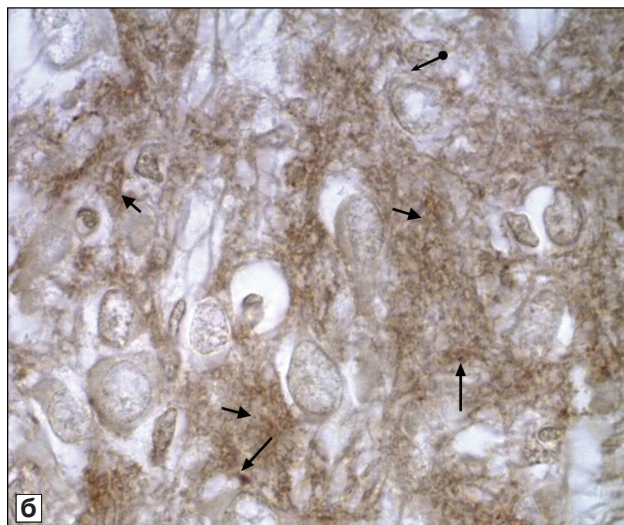
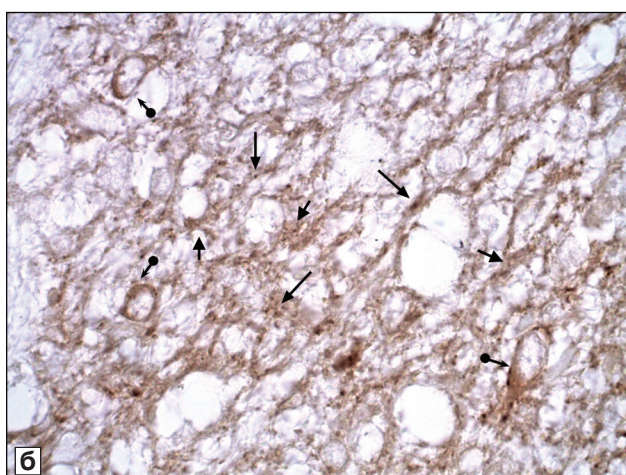
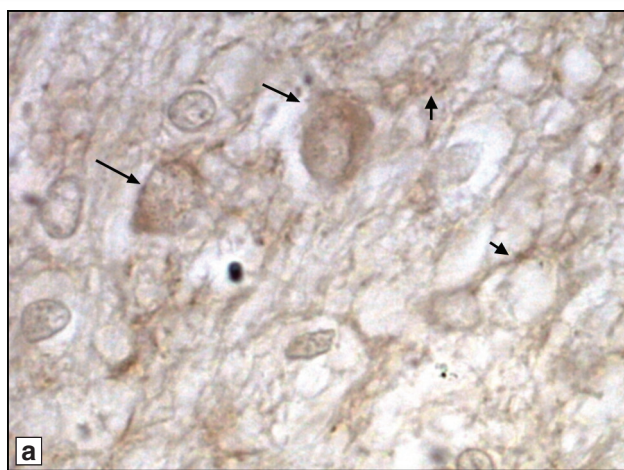
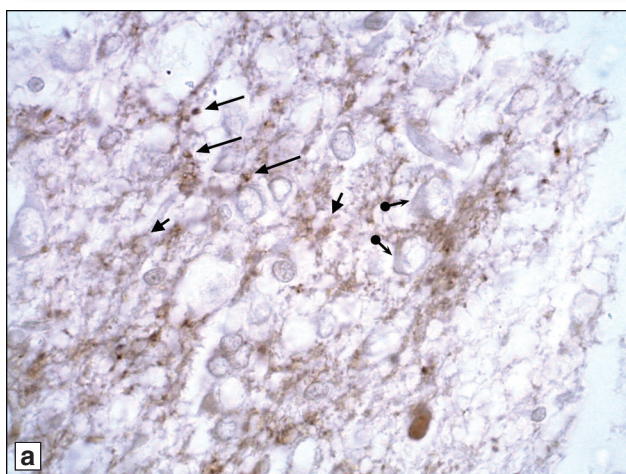


Рис. 1. Ядро Кёлликера—Фузе у intactных крыс (а, б) и развивавшихся в условиях дефицита серотонина (в) на 10-е (а) и 20-е (б, в) сутки постнатального онтогенеза. а — нейроны со слабо выраженной иммунной реакцией цитоплазмы, иммунопозитивные, слабо окрашенные сплетения терминальных отростков и крупные гранулы; б — нейроны с отчетливо выраженной иммунной реакцией цитоплазмы, интенсивно окрашенные иммунопозитивные сплетения терминальных отростков и крупные гранулы; в — иммунопозитивные нейроны, слабо окрашенные сплетения терминальных отростков и крупные гранулы. Стрелки с точкой — меченые нейроны; короткие стрелки — сплетения терминалей; длинные стрелки — крупные гранулы. Иммуноцитохимическая реакция на GAD-67. Об. 100, ок. 10

Рис. 2. Медиальное субъядро парабрахияльного комплекса у intactных крыс (а, б) и развивавшихся в условиях дефицита серотонина (в) на 10-е (а), 20-е (б, в) сутки постнатального онтогенеза.

а — иммунопозитивные нейроны и рыхлая сеть сплетений терминальных отростков; б — плотная сеть иммунопозитивных терминальных отростков; в — единичные гранулы, сплетения слабо окрашенных, иммунопозитивных терминальных отростков. Обозначения те же, что на рис. 1. Иммуноцитохимическая реакция на GAD-67. Об. 100, ок. 10



нейрона со слабо иммунопозитивной цитоплазмой. В нейропиле выявлялись рыхлая иммунопозитивная слабо окрашенная сеть терминальных отростков, редкие мелкие зерна и единичные более крупные иммунопозитивные интенсивно окрашенные гранулы. На 12-е сутки морфологическая картина соответствовала таковой предыдущего срока исследования. На 20-е сутки на срезах ядра присутствовали  $6,0 \pm 1,7$  меченых нейрона. В нейропиле слабо иммунопозитивные терминальные отростки образовывали сплетения, здесь же имелись иммунопозитивные мелкие зерна (см. рис. 1, в). Иммунопозитивные интенсивно окрашенные гранулы (в количестве 2–4 на клетку) присутствовали на поверхности неокрашенных нейронов и нейропиле.

Таким образом, у интактных животных в более ранние сроки постнатального развития (5-е сутки) GAD-67-синтезирующие нейроны не выявляются. К 10-м суткам в ядре Кёлликера—Фюзе появляется популяция GAD-67-экспрессирующих нейронов, численность которой сохраняется к ювенильному возрасту (20-е сутки). При этом, с увеличением постнатального возраста усиливается интенсивность иммунной реакции цитоплазмы нейронов и сети терминальных отростков, увеличивается количество иммунопозитивных зерен и гранул. Сниженное содержание в организме серотонина в пренатальный период приводит к уменьшению количества GAD-67-экспрессирующих нейронов в ранние постнатальные сроки, однако к ювенильному возрасту их число возрастает и достигает контрольного значения, однако плотность расположения мелких зерен и крупных гранул остается сниженной.

*Медиальное субъядро медиальной части парабрахиального комплекса.* У 5-суточных интактных крысят на срезах субъядра иммунопозитивные нейроны и терминальные отростки не выявлялись. На 10-е сутки на срезах субъядра обнаруживались  $2,0 \pm 0,4$  нейрона, содержащих GAD-67, при этом иммунная реакция цитоплазмы была слабой. В нейропиле встречалось мало иммунопозитивных терминальных отростков, мелких зерен, а также интенсивно окрашенных гранул, которые располагались преимущественно на поверхности неокрашенных нейронов (рис. 2, а).

На 12-е сутки на срезах присутствовали  $3,0 \pm 0,9$  нейрона со слабо выраженной иммунной реакцией цитоплазмы. В нейропиле сеть иммунопозитивных терминальных отростков стала плотнее по сравнению с таковой в предыдущий срок исследования. Иммунопозитивных зерен и гранул также стало больше, они распределялись в нейропиле диффузно и находились на поверхности неокра-

шенных нейронов. На 20-е сутки на срезе медиального субъядра выявлялись  $3,0 \pm 1,0$  GAD-67-экспрессирующих нейрона со слабо окрашенной цитоплазмой. В нейропиле иммунопозитивные терминальные отростки образовывали плотное сплетение. Плотность расположения иммунопозитивных мелких зерен и гранул увеличивалась, повышалось количество гранул, находящихся на поверхности неокрашенных нейронов (см. рис. 2, б).

У 5-суточных экспериментальных крысят, так же как и у интактных, на срезах субъядра иммунопозитивных нейронов и терминальных отростков обнаружено не было.

На 10-е сутки на срезе присутствовали  $2,0 \pm 0,10$  нейрона со слабо выраженной иммунной реакцией цитоплазмы. В нейропиле иммунопозитивные слабо окрашенные терминальные отростки образовывали рыхлые сплетения, здесь же выявлялись мелкие бледно окрашенные зерна. Крупные гранулы отсутствовали. На 12-е сутки морфологическая картина не отличалась от таковой в предыдущий срок исследования. На 20-е сутки на срезах присутствовали  $2,0 \pm 0,10$  нейрона, содержавшие GAD-67 и имевшие слабо окрашенную цитоплазму. В нейропиле сплетение иммунопозитивных терминальных отростков стало более плотным, чем в предыдущий срок исследования. Присутствовали мелкие бледно окрашенные зерна, при этом появлялись одиночные крупные иммунопозитивные гранулы. Они были диффузно рассеяны в нейропиле (см. рис. 2, в).

Таким образом, в медиальном субъядре парабрахиального комплекса у интактных крыс в ранние постнатальные сроки развития нейронов, экспрессирующих GAD-67, было меньше, чем в ядре Кёлликера—Фюзе, а также значительно ниже была плотность сплетений иммунопозитивных терминальных отростков и расположения зерен и гранул. К ювенильному возрасту происходило увеличение числа GAD-67-синтезирующих нейронов (почти в 2 раза), терминальные отростки в нейропиле образовывали более плотную сеть, увеличивалась плотность расположения зерен и гранул, однако оставаясь значительно ниже, чем в ядре Кёлликера—Фюзе. У животных, развивавшихся при сниженном содержании серотонина, в пренатальный период число GAD-67-синтезирующих нейронов с возрастом практически не повышалось, и интенсивность иммунной реакции оставалась слабой, однако в нейропиле сплетение иммунопозитивных терминальных отростков становилось плотнее, увеличивалось количество мелких зерен, и появлялось незначительное количество крупных гранул.

Обсуждение полученных данных. Результаты исследования показали, что у интактных (контрольных) и подопытных животных в ядрах пневмотаксического центра элементы тормозной ГАМК-ергической системы, вероятно, появляются после 5-х суток постнатального периода развития. К 10-м суткам в ядре Кёлликера—Фюзе уже присутствует популяция ГАМК-ергических нейронов, численность которой сохраняется к ювенильному возрасту. При этом, интенсивность иммунной реакции постепенно повышается как в цитоплазме нейронов, так и в терминальных отростках в нейропиле. Увеличивается также плотность сплетений терминальных отростков и плотность ГАМК-ергических синапсов и их скоплений. Считают, что выявляемые в нейропиле сплетения иммунопозитивных терминальных отростков, зерна и крупные гранулы принадлежат ГАМК-ергическим афферентным проекциям [6].

В медиальном субъядре парабрахиального комплекса тормозная ГАМК-ергическая система в ранний постнатальный период представлена в меньшей степени, чем в ядре Кёлликера—Фюзе. К 10-м суткам присутствует незначительное число ГАМК-ергических нейронов, которое к ювенильному возрасту удваивается, однако сохраняется слабая иммунная реакция цитоплазмы этих нейронов. В нейропиле интенсивность окрашивания иммунопозитивных терминальных отростков повышается незначительно, однако, увеличивается плотность их сплетения, а также возрастает плотность расположения ГАМК-ергических синапсов и их скоплений. Число ГАМК-ергических нейронов, их отростков и плотность расположения синапсов остаются значительно ниже, чем в ядре Кёлликера—Фюзе. Вероятно, более выраженная ГАМК-ергическая иннервация ядра Кёлликера—Фюзе обуславливает его функциональную значимость в ранние сроки постнатального развития.

Ядра пневмотаксического центра являются мишенями обширных ГАМК-ергических афферентных проекций, источник которых до сих пор не установлен. Несмотря на то, что во многих областях продолговатого мозга у крыс ГАМК-ергические интернейроны присутствуют в большом количестве, структуры, обеспечивающие тормозные проекции на медиальное субъядро парабрахиального комплекса и ядро Кёлликера—Фюзе, не идентифицированы [6], так же как и не определено большинство мишеней эфферентных проекций ГАМК-ергических нейронов, присутствующих в ядрах пневмотаксического центра [6].

Наблюдаемое в ядрах пневмотаксического центра повышение с возрастом плотности рас-

положения иммунопозитивных терминальных отростков, зерен и гранул в нейропиле может происходить как за счет увеличения подрастающих ГАМК-ергических афферентных терминалей, так и за счет отростков и их терминалей возрастающего числа ГАМК-ергических нейронов в исследуемых ядрах, осуществляющих, таким образом, тормозной контроль нейронов центра как извне, так и своей локальной ГАМК-ергической сетью. Вероятно, функциональная деятельность пневмотаксического центра находится под значительным тормозным контролем ГАМК-ергической системы с ранних сроков постнатального развития.

Полученные результаты показали, что по сравнению с контролем дефицит серотонина в пренатальный период приводит к снижению числа ГАМК-ергических интернейронов в ядре Кёлликера—Фюзе в ранние сроки постнатального развития, которое, однако, к ювенильному возрасту постепенно повышается и достигает такового у контрольных животных. При этом, интенсивность окрашивания цитоплазмы иммунопозитивных нейронов, терминальных отростков, плотности расположения синапсов и их скоплений остается пониженной.

Дефицит серотонина в пренатальный период развития в медиальном субъядре медиальной части парабрахиального комплекса также приводит к сокращению числа ГАМК-ергических интернейронов в раннем постнатальном и ювенильном возрасте, снижению экспрессии GAD-67 в терминальных отростках, уменьшению плотности расположения ГАМК-ергических синапсов и их скоплений по сравнению с контролем.

Таким образом, результаты исследования могут свидетельствовать о том, что снижение содержания серотонина в пренатальный период развития вызывает нарушение тормозной афферентации ядер пневмотаксического центра и изменение локальных тормозных ГАМК-ергических сетей в его ядрах, что в результате может приводить к нарушению тормозных процессов в структурах центра. Полученные данные дают возможность лучше понять причины возникновения тяжелых заболеваний в неонатальном и детском возрасте, связанных с нарушением респираторной функции.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 12-04-00658.*

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Отеллин В. А., Хожай Л. И., Ордян Н. Э. Пренатальные стрессорные воздействия и развивающийся головной мозг. СПб.: Деятка, 2007.
2. Хожай Л. И. Структурные изменения в субъядрах парабрахиального комплекса при недостаточности серотонинерги-

ческой системы в пренатальный период развития у крыс // Морфология. 2013. Т. 144, вып. 6. С. 28–32.

3. Хожай Л. И. Характеристика серотонинергических нейронов затемненного ядра шва продолговатого мозга в норме и при недостаточности серотонинергической системы в пренатальный период развития у крыс // Морфология. 2013. Т. 144, вып. 4. С. 19–24.
4. Хожай Л. И., Шишко Т. Т. Изменение структурной организации бледного ядра шва при снижении содержания эндогенного серотонина в пренатальный период развития у крыс // Морфология, 2013. Т. 143, вып. 2. С. 75–78.
5. Dutschmann M., Herbert H. NMDA and GABAA receptors in the rat Kelliker-Fuse area control cardiorespiratory responses evoked by trigeminal ethmoidal nerve stimulation // J. Physiol. 1998. Vol. 50. P. 793–804.
6. Guthmann A., Fritschy J. M., Ottersen O. P. et al. GABA, GABA transporters, GABA(A) receptor subunits, and GADmRNAs in the rat parabrachial and Kelliker-Fuse nuclei // J. Comp. Neurol. 1998. Vol. 400, № 2. P. 229–243.
7. Erlander M. G., Tillakaratne N., Feldblum S. et al. Two genes encode distinct glutamate decarboxylases // Neuron. 1991. Vol. 7, № 1. P. 91–100.
8. Hilaire G. Serotonergic modulation of the respiratory rhythm generator at birth: in the in vitro study in the rat // Neurosci. Lett. 1992. Vol. 143. P. 91–95.
9. Kaufman D. L., Houser C. R., Tobin A. J. Two forms of the gamma-aminobutyric acid synthetic enzyme glutamate decarboxylase have distinct interneuronal distributions and cofactor interactions // J. Neurochem. 1991. Vol. 56, № 2. P. 720–723.
10. Keller H. H. Depletion of cerebral monoamines by p-chlorophenylalanine in the cat // Experientia. 1972. Vol. 28, № 2. P. 177–178.
11. Kuwana S., Okada Y., Sugawara Y. et al. Disturbance of neural respiratory control in neonatal mice lacking GABA synthesizing enzyme 67-kDa isoform of glutamic acid decarboxylase // Neuroscience. 2003. Vol. 120, № 3. P. 861–870.
12. Lauder J. M., Towle A. C., Patrick K. Decreased serotonin content of embryonic raphe neurons following maternal administration of p-chlorophenylalanine: a quantitative immunocytochemical study // Develop. Brain Res. 1985. Vol. 20, № 1, P. 107–114.
13. Mutolo D., Bongiani F. Respiratory responses to chemical stimulation of the parabrachial nuclear complex in the rabbit // Brain Res. 1998. Vol. 807, № 1–2. P. 182–186.

Поступила в редакцию 25.04.2014  
Получена после доработки 12.10.2014

# **DISTRIBUTION OF GABAERGIC NEURONS IN PNEUMOTAXIC CENTER NUCLEI IN THE EARLY POSTNATAL PERIOD IN NORM AND IN PRENATAL DEFICIENCY OF SEROTONINERGIC SYSTEM IN RATS**

*L. I. Khozhai*

The aim of this study was to determine the distribution of GABAergic neurons in pneumotaxic center structures (parabrachial complex medial subnucleus and Kolliker–Fuse nucleus) in norm and in deficiency of serotonergic system during the prenatal period of development in Wistar rats. Reduction of endogenous serotonin levels in fetal rats was achieved by tryptophan hydroxylase inhibition with para-chlorophenylalanine (PCPA), which was administered to female rats on Day 16 of gestation. Material was obtained from the area of the pons from experimental and control (intact) rat pups at early postnatal (Days 5, 10 and 12) and juvenile (Day 20) periods. At each time point, 5–6 animals were studied from both experimental and control groups. To demonstrate GABAergic neurons, antibodies against glutamate decarboxylase (GAD-67), the enzyme involved in its synthesis, were used. The results have shown that Kolliker–Fuse nucleus contained a population of GABAergic neurons at early postnatal period, the size of which was preserved until juvenile age. In parabrachial complex medial subnucleus during the early postnatal period, a small number of GABAergic neurons was detected, which was somewhat increased by juvenile age. Serotonin deficiency in pneumotaxic center structures lead to a reduction of the numbers of GABAergic neurons, GABAergic synapses and their clusters. A reduction of serotonin levels during the prenatal period may cause the disturbances in the inhibitory afferent signaling of the pneumotaxic center nuclei and lead to the changes of local inhibitory GABAergic networks in its nuclei, resulting in the disturbances of the inhibitory processes in the center structures.

**Key words:** *brainstem pneumotaxic center, Kolliker–Fuse nucleus, parabrachial complex medial subnucleus, serotonin*

Laboratory of the Nervous System Ontogenesis, RAS I. P. Pavlov Institute of Physiology, St. Petersburg