

© Е. А. Колос, Д. Э. Коржевский, 2014
УДК 611.82.018.8:599.323.4

Е. А. Колос, Д. Э. Коржевский

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ХОЛИНЕРГИЧЕСКИХ И НИТРОКСИДЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ В СПИННОМ МОЗГУ У НОВОРОЖДЕННЫХ И ВЗРОСЛЫХ КРЫС

Лаборатория функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы (зав. — д-р мед. наук Д. Э. Коржевский), отдел общей и частной морфологии, Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург

Цель настоящего исследования — изучить распределение холинергических и нитроксидаергических нейронов в спинном мозгу (СМ) у новорожденных и взрослых крыс. С помощью иммуногистохимического выявления холинацетилтрансферазы (ХАТ) и нитрооксидсинтазы (NOS) исследовали шейные отделы СМ у новорожденных ($n=5$) и взрослых ($n=5$) крыс Вистар. Установлено, что ХАТ-содержащие нейроны локализируются в передних рогах СМ; отдельные клетки располагаются в задних рогах серого вещества СМ, в центральном сером веществе и на границе VI–VII пластинок Рекседа. Нитрооксидаергические нейроны располагаются в поверхностных слоях задних рогов серого вещества СМ, в центральном сером веществе и в области VI–VII пластинок Рекседа. Установлено, что в СМ у новорожденных и взрослых крыс присутствуют холинергические нейроны, экспрессирующие NOS. Обнаружение клеток, содержащих оба фермента уже в 1-е сутки после рождения, позволяет предполагать, что они формируются в СМ у крысы в пренатальном онтогенезе.

Ключевые слова: спинной мозг, холинацетилтрансфераза, нитрооксидсинтаза

Первые исследования холинергической медиаторной системы спинного мозга (СМ), выполненные еще в 30-х годах XX в. Н. Dale и соавт. [10], показали наличие ацетилхолина (АЦХ) в нервно-мышечных синапсах, образуемых двигательным нейроном СМ. В 40-х годах XX в. с применением нейрофармакологических и электрофизиологических методов было убедительно доказано участие АЦХ в передаче нервных импульсов в СМ. В настоящее время морфологические исследования холинергических нейронов ведутся с помощью иммуногистохимического выявления ключевого фермента синтеза АЦХ — холинацетилтрансферазы (ХАТ) [3, 6, 15].

Присутствие оксида азота (NO), как нейромедиатора, в СМ было установлено в 90-х годах XX в. Для выявления NO-ергических структур наиболее часто применяют иммуногистохимическую реакцию на нитрооксидсинтазу (NOS) — фермент, участвующий в синтезе NO в клетках из L-аргинина [5, 21]. До настоящего времени предметом дискуссий являются функции NO в нервной системе и взаимосвязь NO-ергической и холинергической медиаторных систем.

Цель настоящего исследования состояла в изучении и сопоставлении пространственного распределения холин- и NO-ергических структур СМ у новорожденных и взрослых крыс.

Материал и методы. При выполнении работы использовали СМ взрослых крыс ($n=5$) и новорожденных крысят ($n=5$) линии Вистар. Содержание, умерщвление животных, эксперименты осуществляли с учетом «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». Исследовали шейный отдел СМ на уровне III–V сегментов, который фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде в течение 1 сут. СМ взрослых крыс фиксировали с окружающими тканями (включая костную) и, в связи с этим, подвергали декальцинации в растворе муравьиной кислоты [2]. СМ новорожденных крысят не декальцинировали. Далее материал обезжизнявали в этаноле возрастающей концентрации и заливали в парафин. Серийные срезы толщиной 5 мкм подготавливали к иммуногистохимическим исследованиям по общепринятой методике. Перед проведением иммуногистохимической реакции на ХАТ и NOS производили тепловое демаскирование антигенов. Для выявления ХАТ использовали первичные козы поликлональные антитела (Chemicon, США) в разведении 1:250 [3]. В качестве вторичных антител использовали кроличьи антикозьи биотинилированные антитела (Dako, Дания) в разведении 1:200 и конъюгат стрептавидин — пероксидаза (Spring Bioscience, США). NO-синтазу в клетках СМ выявляли, используя кроличьи поликлональные антитела (Spring Bioscience — кат. номер E3934, США) в разведении 1:500, а также вторичные антитела «HRP conjugate» из набора Reveal Polyvalent HRP DAB Detection System (Spring Bioscience, США). Визуализацию прореагировавших антител проводили с применением диаминобензидина (DAB+Dako, Дания). Часть препаратов докрашивали астровым синим. Исследование и фотографирование препаратов, заключенных в среду Cytoseal 60 (Thermo-Scientific, США), проводили при помощи микроскопа Leica DM 750 и фото-

Сведения об авторах:

Колос Елена Андреевна, Коржевский Дмитрий Эдуардович (e-mail: iemorphol@yandex.ru), лаборатория функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы, отдел общей и частной морфологии, Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН, 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12

камеры ICC 50 (Leica, Германия). Для анализа полученных изображений использовали компьютерную программу LAS EZ (Leica, Германия), позволяющую оценить размер клеток. Локализацию иммунопозитивных структур определяли с помощью атласа СМ крыс [23]. Совместную колокализацию исследуемых ферментов в нейронах определяли на последовательных срезах, позволяющих проследить топографию клеток в СМ.

Результаты исследования. ХАТ-иммунопозитивные структуры в сером веществе шейного отдела СМ у новорожденных крысят располагаются в следующих областях: глубокие слои задних рогов, VI, IX и X пластинки Рекседа. В задних рогах серого вещества (III–V пластинки) обнаружены немногочисленные мелкие (до 16×7 мкм) нейроны с интенсивной окраской цитоплазмы. В области I–V пластинок выявляются ХАТ-содержащие волокна. Более крупные иммунопозитивные клетки локализуются в центральном сером веществе (X пластинка Рекседа). Тела клеток имеют веретеновидную или округлую форму и достигают размеров 18×14 мкм. Отростки этих клеток также содержат ХАТ и образуют сеть. В промежуточной зоне серого вещества СМ ХАТ-экспрессирующие клетки идентифицированы на границе между VI и VII пластинками Рекседа. Здесь определяются крупные (до 30×16 мкм) иммунопозитивные клетки звездчатой формы с интенсивно окрашенными толстыми отростками. ХАТ-экспрессирующие клетки передних рогов сгруппированы в области IX пластинки Рекседа (рис. 1, а). Они представляют собой клетки с крупными телами (от 17×12 до 31×27 мкм) и большим количеством иммунопозитивных отростков, образующих густую сеть. Интенсивность реакции цитоплазмы клеток данной области ниже, чем клеток центрального серого вещества и VI пластинки Рекседа. На телах отдельных клеток IX пластинки определяются ХАТ-иммунопозитивные структуры, напоминающие аксосоматические синапсы. Такие же структуры присутствуют и на дендритах нейронов, являясь, по-видимому, аксодендритными синапсами.

При изучении экспрессии ХАТ в шейном отделе СМ у взрослой крысы выявлены несколько областей с интенсивной иммуногистохимической реакцией. В области задних рогов СМ ХАТ-иммунопозитивность проявляют в основном отростки нейронов, образуя сеть в I–IV пластинках Рекседа. Однако в ходе исследования выявлено несколько мелких клеток, экспрессирующих ХАТ, расположенных во II–V пластинках. Отмечено, что ХАТ-содержащие нейроны II–III пластинок имеют веретеновидную форму (размеры от 17×6 до 20×8 мкм), а клетки IV пластинки Рекседа, преимущественно, округлые диаметром 15–16 мкм.

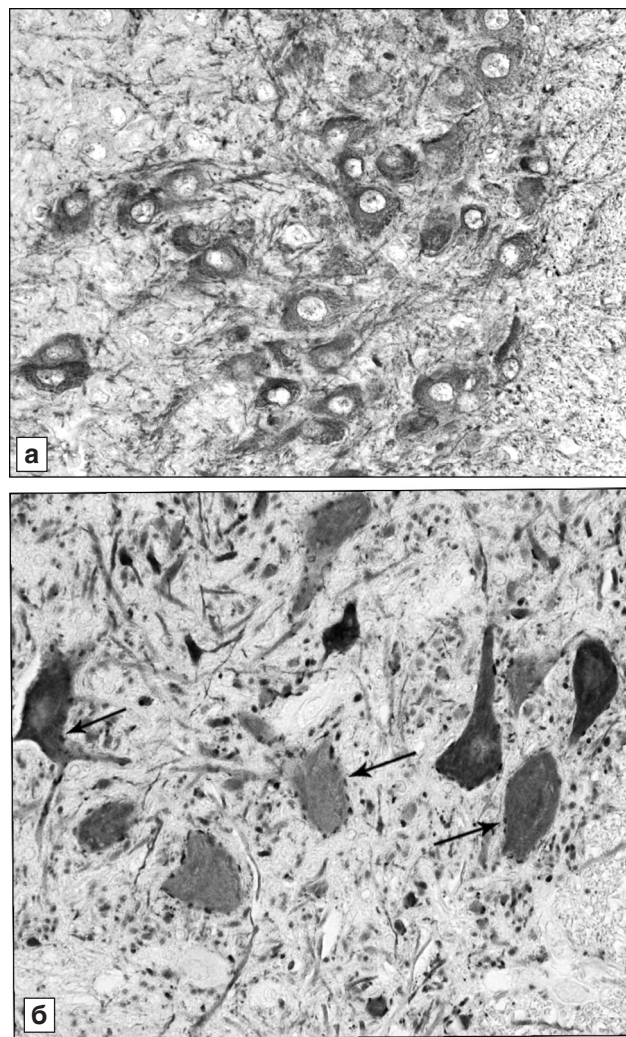


Рис. 1. Холинергические нейроны в передних рогах спинного мозга у новорожденной (а) и взрослой (б) крысы.

Стрелки — иммунопозитивные синапсы. Иммуногистохимическая реакция на холинацетилтрансферазу. Ув. 400

В центральном сером веществе (X пластинка Рекседа) экспрессия ХАТ наблюдается в цитоплазме мелких (около 25×15 мкм) интернейронов. Клетки имеют веретеновидную или овальную форму, вытянуты в медиолатеральном направлении. Отростки этих клеток также содержат ХАТ и образуют сеть. Некоторые иммунопозитивные волокна достигают области IX пластинки Рекседа. На границе между VI и VII пластинками выявлены ХАТ-иммунопозитивные веретеновидные нейроны (размер до 30×24 мкм) с интенсивной окраской цитоплазмы. Клетки ориентированы медиолатерально, отростки некоторых клеток достигают X пластинки Рекседа и области боковых рогов СМ. В передних рогах серого вещества СМ в области IX пластинки Рекседа идентифицированы ХАТ-содержащие крупные (до 44×34 мкм) и средние (до 35×27 мкм) клетки с яркоокрашенной цитоплазмой (см. рис. 1, б). Среди иммунопозитивных

нейронов присутствуют клетки с менее интенсивной окраской. Кроме того, в передних рогах серого вещества выявлена густая сеть волокон, содержащих ХАТ. Также экспрессия ХАТ отмечена в отростках нейронов, проходящих через белое вещество и образующих вентральные корешки спинномозговых нервов. На плазмолемме крупных и средних ХАТ-содержащих нейронов, а также на крупных дендритах расположены иммунопозитивные структуры, похожие на синаптические бутоны (см. рис. 1, б). Подобные структуры обнаружены и на ХАТ-иммунонегативных клетках в области VIII–IX пластинок Рекседа.

При проведении иммуногистохимического исследования шейного отдела СМ у новорожденных крысят в сером веществе выявлено несколько областей NOS-иммунореактивности. В задних рогах СМ NOS-содержащие нейроны располагаются преимущественно в III–IV пластинках Рекседа (рис. 2).

Также несколько мелких иммунопозитивных клеток обнаружено во II пластинке Рекседа. Нейроны задних рогов, содержащие NO-синтазу, представляют собой мелкие (от 8×4 до 12×6 мкм), округлые, веретеновидные или треугольные клетки с яркоокрашенной цитоплазмой и отростками. Последние образуют сеть. В области X пластинки Рекседа, окружающей центральный канал СМ, экспрессия NOS обнаруживается в цитоплазме большого количества нейронов, достигающих размеров 17×25 мкм, имеющих веретеновидную, реже звездчатую форму. Отростки этих клеток также дают позитивную иммуногистохимическую реакцию на NOS и имеют варикозности. Выявлены отдельные NOS-содержащие нейроны, локализующиеся в VII пластинке Рекседа. Эти

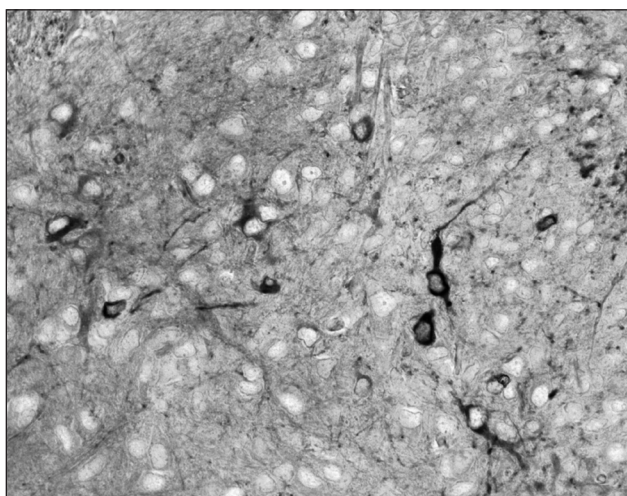


Рис. 2. Нитроксидергические нейроны в задних рогах спинного мозга новорожденной крысы.

Иммуногистохимическая реакция на NO-синтазу. Ув. 400

клетки (от 22×11 до 27×13 мкм) имеют треугольную или звездчатую форму и толстые иммунопозитивные отростки. Интенсивность окраски цитоплазмы нейронов VII пластинки значительно слабее, чем клеток задних рогов и области центрального канала.

При иммуногистохимическом выявлении NOS в шейном отделе СМ у взрослой крысы иммунопозитивные структуры были идентифицированы в его задних рогах, в области X пластинки, а также на границе между VI и VII пластинками Рекседа. В задних рогах серого вещества СМ мелкие (до 12×9 мкм), веретеновидные NOS-содержащие клетки располагаются в I–III пластинках Рекседа. Более крупные (от 13×10 до 19×12 мкм) нейроны с интенсивно окрашенной цитоплазмой локализуются в IV пластинке задних рогов. Это веретеновидные или овальные клетки, отростки которых также содержат NOS. Вокруг центрального канала СМ хорошо различимы нейроны с телами веретеновидной формы, в цитоплазме которых отчетливо выражена реакция на NOS. Отростки этих клеток также окрашены и образуют сеть. Наиболее крупные NOS-содержащие нейроны, тела которых достигают размеров 31×19 мкм, локализуются на границе между VI и VII пластинками Рекседа. В этой зоне серого вещества СМ иммунопозитивные клетки немногочисленны, имеют звездчатую форму и множество NOS-содержащих отростков.

В настоящем исследовании при иммуногистохимическом выявлении ХАТ и NOS на серийных последовательных срезах СМ у взрослых крыс и новорожденных крысят выявлены несколько клеток, содержащих оба белка. У взрослых крыс такие коэкспрессирующие клетки обнаружены в области центрального серого вещества и на границе между VI и VII пластинками Рекседа. В шейном отделе СМ у новорожденных крысят клетки, синтезирующие ХАТ и NOS, располагаются в X пластинке, окружающей центральный канал (рис. 3).

Обсуждение полученных данных. В настоящем исследовании при использовании селективного маркера холинергических нейронов — ХАТ — было установлено, что иммунопозитивные нейроны присутствуют как в задних, так и в передних рогах СМ, а также в центральном сером веществе. Иммуногистохимическая реакция на ХАТ позволила выявить крупные холинергические синапсы на мотонейронах — С-бутоны, обеспечивающие связь с холинергическими интернейронами центрального серого вещества [25], модулирующими двигательную активность мотонейронов. Данные синапсы были

выявлены и на двигательных нейронах у новорожденных крысят.

Проведенное исследование позволило установить, что нейроны моторных ядер передних рогов СМ у взрослых крыс имеют различную интенсивность окраски цитоплазмы. По-видимому, это свидетельствует о различной функциональной активности данных клеток. Физиологическими методами исследования СМ крыс было установлено, что как в норме, так и при патологии, функциональное состояние разных мотонейронов отличается. Известно, что синтезированная в перинуклеарной зоне нейрона ХАТ перераспределяется антероградным аксоплазматическим током по аксону [19]. Вероятно, уровень экспрессии фермента в перикарионе, обеспечивающий эффективную работу нервно-мышечных синапсов, не постоянен. В настоящем исследовании были выявлены особенности экспрессии ХАТ и в мотонейронах у новорожденных крысят. Оказалось, что эти нейроны имеют менее интенсивное окрашивание по сравнению с мотонейронами взрослых крыс и с нервными клетками других регионов СМ у новорожденных животных. Этот факт пока не имеет удовлетворительного физиологического объяснения.

В задних рогах СМ нам удалось выявить ХАТ-содержащие волокна и отдельные холинергические клетки. Выявленные ХАТ-содержащие нервные волокна являются, вероятнее всего, аксонами нейронов чувствительного ганглия. ХАТ-экспрессирующие клетки, описанные нами и локализованные во II–V пластинках заднего рога, являются, вероятно, холинергическими интернейронами, модулирующими болевые сигналы. Это предположение обосновано локализацией системы обработки болевых сигналов именно в I–V пластинках задних рогов СМ [11] и сведениями о том, что ацетилхолин в задних рогах является медиатором контроля боли [17, 20]. У новорожденных крысят в задних рогах СМ нам также удалось выявить ХАТ-содержащие волокна и отдельные холинергические клетки. Это свидетельствует о раннем формировании спинальной системы обработки сенсорной информации.

В представленной работе установлено, что NOS-иммунопозитивные нейроны отсутствуют в передних рогах СМ. Основные зоны иммунореактивности локализуются в задних рогах, промежуточном и центральном сером веществе. Особый интерес представляет X пластинка Рекседа, окружающая центральный канал. Ряд работ убедительно доказывают, что данная область представляет собой пролиферативную зону СМ у взрослых крыс [8], аналогичную пролиферативным зонам

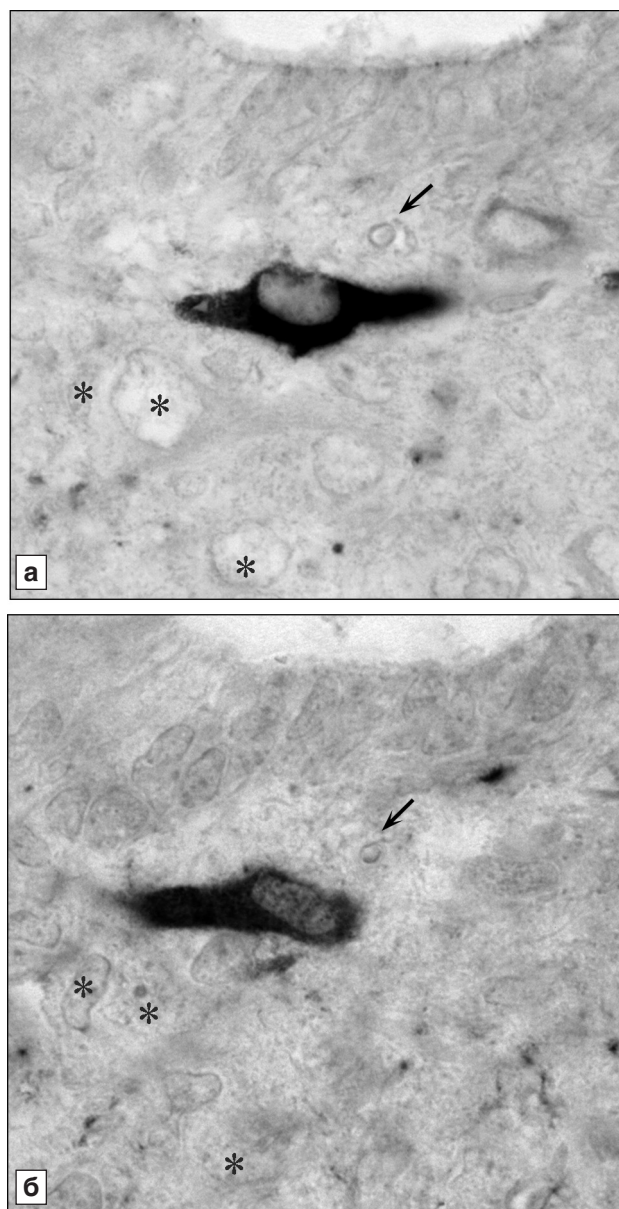


Рис. 3. Совместная локализация ферментов NO-синтазы и холинацетилтрансферазы в одной клетке спинного мозга у новорожденной крысы на последовательных срезах.

Стрелки — кровеносные капилляры; звездочки — топографические маркеры, указывающие на одни и те же клетки на рис. а и б. Иммуногистохимическая реакция на NO-синтазу (а) и холинацетилтрансферазу (б). Ув. 1000

головного мозга [4]. Известно, что NO в процессе нейрогенеза стимулирует переход клеток от пролиферации к дифференцировке [12, 14]. Так, в субвентрикулярной зоне головного мозга у взрослой мыши NO синтезируется нейронами в непосредственной близости от клеток-предшественников и участвует в постнатальном нейрогенезе [18]. Можно предположить, что выявленные в настоящем исследовании NO-ергические нейроны вблизи центрального канала участвуют в регуляции постнатального нейрогенеза в СМ.

Это подтверждает также тот факт, что NOS-иммунопозитивные клетки присутствуют в центральном сером веществе уже у новорожденных крыс.

Функция NO в СМ недостаточно ясна. Можно предположить, что NO участвует в регуляции местного кровотока, как это показано в головном мозгу. Также NO может участвовать в спинальной обработке болевых сигналов [16]. В данном исследовании NOS-экспрессирующие интернейроны, которые могут участвовать в модуляции болевых сигналов, были выявлены в задних рогах СМ у взрослых и новорожденных крыс.

В настоящей работе при сопоставлении на последовательных срезах реакции на NOS и ХАТ была обнаружена совместная локализация этих ферментов в цитоплазме отдельных нейронов. Возможность синтеза нескольких различных нейромедиаторов одной клеткой в настоящее время убедительно доказана в работах зарубежных и отечественных авторов [1, 13, 22]. Показано, что в ЦНС NO может экспрессироваться в нейронах различной медиаторной принадлежности. Так, присутствие NO описано в некоторых катехоламинергических нейронах продолговатого мозга у рыб [7], а также в холинергических нейронах головного мозга кошки [22]. Отдельные нейроны СМ, предположительно синтезирующие одновременно ацетилхолин и NO, были описаны ранее у взрослых крыс [24]. Однако для выявления активности NOS в этой работе был использован менее специфичный гистохимический метод. Относительно формирования таких нейронов в онтогенезе имеется лишь одно исследование, выполненное с применением гистохимических методов выявления NADPH-диафоразы и АЦХ-эстеразы [9]. В этой работе авторы описывают распределение АЦХ-эстеразо- и NADPH-диафоразо-позитивных клеток в разные сроки после рождения, однако им не удалось выявить нейроны, содержащие одновременно два фермента. Наше исследование позволило дополнить данные о совместной локализации ХАТ и NOS как у взрослых крыс, так и у новорожденных животных. Относительно специфики холинергических нейронов, экспрессирующих NOS, нет однозначных данных. Существует предположение, что NO-синтаза в таких клетках играет протективную роль [24]. По-видимому, на определенных этапах онтогенеза в Х пластинке Рекседа и на границе VI и VII пластинок располагаются нейроны, нуждающиеся в повышенной устойчивости к повреждению. По мнению некоторых авторов, экспрессия NO-синтазы холинергическими нейронами способствует NO-ергической модуляции выделения АЦХ [13].

Таким образом, в настоящем исследовании получены ранее неизвестные факты о распределении NOS- и ХАТ-содержащих нейронов СМ. Установлена совместная локализация двух ферментов в отдельных нейронах СМ как у взрослых крыс, так и у новорожденных животных. Обнаружение клеток, содержащих оба медиатора, уже в 1-е сутки после рождения позволяет предполагать, что это особая субпопуляция холинергических нейронов, которая формируется в СМ крысы в пренатальном онтогенезе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Амахин Д.В., Веселкин Н.П. Взаимодействие эффектов нейромедиаторов глицина и ГАМК в центральной нервной системе // Цитология. 2012. Т. 54, № 6. С. 469–477.
2. Колос Е.А., Коржевский Д.Э. Выявление нейрональных и глиальных антигенов после декальцинации в растворе муравьиной кислоты и фиксации в цинк-этанол-формальдегиде // Морфология. 2013. Т. 26, вып. 2. С. 236–241.
3. Коржевский Д.Э., Григорьев И.П., Кирик О.В. и др. Метод иммуноцитохимического определения холинергических нейронов центральной нервной системы лабораторных животных // Морфология. 2013. Т. 143, вып. 6. С. 69–72.
4. Коржевский Д.Э., Кирик О.В., Гилерович Е.Г. Постнатальный нейрогенез: идентификация клеток и терминология // Морфология. 2013. Т. 144, вып. 4. С. 88–92.
5. Коржевский Д.Э., Отеллин В.А., Григорьев И.П. и др. Иммуноцитохимическое выявление нейрональной NO-синтазы в клетках головного мозга крысы // Морфология. 2007, Т. 132, вып. 4. С. 77–80.
6. Коцюба А.Е., Черток В.М. Гистохимическая и иммуногистохимическая локализация холинацетилтрансферазы в ядрах продолговатого мозга крыс // Цитология. 2013. Т. 55, № 11. С. 821–827.
7. Пушина Е.В., Обухов Д.К. NADPH-диафороаза, нейрональная NO-синтаза и тирозингидроксилаза в ядрах промежуточного мозга горчака *Rhodeus sericeus* (cyprinidae: teleostei) // Цитология. 2010. Т. 52, № 9. С. 739–748.
8. Alfaro-Cervello C., Soriano-Navarro M., Mirzadeh Z et al. Bicyclic ependymal cell proliferation contributes to spinal cord growth // J. Comp. Neurol. 2012. Vol. 520, № 15. P. 3528–3552.
9. Bolekova A., Kluchova D., Spakovska T. et al. Postnatal development of nitrergic and cholinergic structures in rat spinal cord // Arch. Ital. Biol. 2011. Vol. 149, № 3. P. 293–302.
10. Dale H.H., Feldberg W., Vogt M. Release of acetylcholine at voluntary motor nerve endings // J. Physiol. 1936. Vol. 89, № 4. P. 353–380.
11. D'Mello R., Dickenson A.H. Spinal cord mechanisms of pain // Br. J. Anaesth. 2008. Vol. 101, № 1. P. 8–16.
12. Gibbs S.M. Regulation of neuronal proliferation and differentiation by nitric oxide // Mol. Neurobiol. 2003. Vol. 27, № 2. P. 107–120.
13. Kluchov D., Schmidov K., Rybárová S. et al. Partial colocalization of NADPH-diaphorase and acetylcholinesterase positivity in spinal cord neurons // Physiol. Res. 2000. Vol. 49. P. 151–155.
14. Matarredona E.R., Murillo-Carretero M., Moreno-López B., Estrada C. Nitric oxide synthesis inhibition increases

- proliferation of neural precursors isolated from the postnatal mouse subventricular zone // *Brain Res.* 2004. Vol. 995, № 2. P. 274–284.
15. Matsumoto M., Xie W., Inoue M., Ueda H. Evidence for the tonic inhibition of spinal pain by nicotinic cholinergic transmission through primary afferents // *Mol. Pain.* 2007. Vol. 3. P. 41–52.
 16. Meller S.T., Gebhart G.F. Nitric oxide (NO) and nociceptive processing in the spinal cord // *Pain.* 1993. Vol. 52, № 2. P. 127–136.
 17. Mesnage B., Gaillard S., Godin A.G. Morphological and functional characterization of cholinergic interneurons in the dorsal horn of the mouse spinal cord // *J. Comp. Neurol.* 2011. Vol. 19, № 16. P. 3139–3158.
 18. Moreno-Lopez B., Noval J.A., Gonzalez-Bonet L.G., Estrada C. Morphological bases for a role of nitric oxide in adult neurogenesis // *Brain Res.* 2000. Vol. 869, № 1–2. P. 244–250.
 19. Oda Y. Choline acetyltransferase: the structure, distribution and pathologic changes in the central nervous system // *Pathol. Int.* 1999. Vol. 49. P. 921–937.
 20. Pawlowski S.A., Gaillard S., Ghorayeb I. et al. A novel population of cholinergic neurons in the macaque spinal dorsal horn of potential clinical relevance for pain therapy // *J. Neurosci.* 2013. Vol. 33, № 9. P. 3727–3737.
 21. Saito S., Kidd G.J., Trapp T. Rat spinal cord neurons contain nitric oxide synthase // *Neuroscience.* 1994. Vol. 59, № 2. P. 447–456.
 22. Scheiner C., Arceneaux R., Guido W. et al. Nitric oxide synthase distribution in the cat superior colliculus and co-localization with choline acetyltransferase // *J. Chem. Neuroanat.* 2000. Vol. 18, № 4. P. 147–159.
 23. Watson C., Paxinos G., Kayalioglu G., Heise C. Atlas of the rat spinal cord. In: *The Spinal Cord: a Christopher and Dana Reeve Foundation Text and Atlas.* London: Acad. Press, 2009. P. 238–306.
 24. Wetts R., Vaughn J.E. Choline acetyltransferase and NADPH diaphorase are coexpressed in rat spinal cord neurons // *Neuroscience.* 1994. Vol. 63, № 4. P. 1117–1124.
 25. Zagoraiou L., Akay T., Martin J.F. et al. A cluster of cholinergic premotor interneurons modulates mouse locomotor activity // *Neuron.* 2009. Vol. 64, № 5. P. 645–662.

Поступила в редакцию 14.01.2014

THE DISTRIBUTION OF CHOLINERGIC AND NITROXIDERGIC NEURONS IN THE SPINAL CORD OF NEWBORN AND ADULT RATS

Ye.A.Kolos, D.E.Korzhevskiy

The aim of this study was to examine the distribution of cholinergic and nitroxidergic neurons in the spinal cord (SC) of adult and newborn rats. Using immunohistochemical demonstration of choline acetyltransferase (ChAT) and nitric oxide synthase (NOS), cervical portions of SC were studied in newborn (n=5) and adult (n=5) Wistar rats. It was found that ChAT-positive neurons were localized in the anterior horns of the SC, while individual cells were located in of SC posterior horns, in the central gray matter and at the boundary of VI–VII Rexed laminae. Nitroxidergic neurons were located in the superficial layers of SC posterior horns of grey matter, in the central gray matter and in the area of VI–VII Rexed laminae. It is found that SC of newborn and adult rats contained cholinergic neurons expressing NOS. Detection of cells containing both enzymes already at postnatal Day 1, suggests that they were formed in rat SC during prenatal ontogenesis

Key words: *spinal cord, choline acetyltransferase, nitric oxide synthase*

Laboratory of the Functional Morphology of the Central and Peripheral Nervous System, Department of General and Special Morphology, RAS North-Western Branch Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg