

УДК 612.825.014.46:546.173].019

## ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННЫХ НИТРИТОВ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ ОРГАНИЗАЦИЮ КОРЫ МОЗГА И АКТИВНОСТЬ NO-СИНТАЗЫ У КРЫСЯТ НА РАННИХ ПЕРИОДАХ РАЗВИТИЯ

*Насибуллин Б.А., Гоженко А.И.*

*Украинский НИИ медицины транспорта*

Анализ роли оксида азота (NO) в регуляции основных функций организма в норме и при патологических состояниях в последние годы находится в центре внимания многих исследователей [1-4, 5]. Особое внимание привлекает участие оксида азота (NO) в деятельности ЦНС. Это обусловлено рядом обстоятельств: во-первых, высокая диффузионная способность NO обеспечивает ему возможность быстрого связывания при- и постсинаптических нейронов; во-вторых, NO как месенджер может модулировать активность нейромедиаторов; в третьих, установлено, что наиболее высокой активностью NO характеризуется область гипоталамуса, что позволяет предположить его активное влияние на гипофизарно-гипоталамо-надпочечниковую систему и, тем самым, возможность участия в гомеостатических реакциях в организме; в четвертых, NO, как эндотелийрелаксирующий фактор принимает участие в кислородном и субстратном обеспечении деятельности мозга [5, 6].

Уровень содержания NO в организме, а, следовательно, и степень его влияния на течение процессов жизнедеятельности связаны не только с интенсивностью его регионального синтеза, но и активностью восстановления из нитрит-аниона ( $\text{NO}_2^-$ ), поскольку доказано участие NO в циклических взаимопревращениях с другими нитросоединениями в случаях функциональных нагрузок и патологических состояний [7-9]. Также возможно, что нитросоединения, во взаимопревращения с которыми вступает эндогенный NO могут иметь экзогенное происхождение.

На сегодняшний день показана активная роль NO в реализации механизмов постнатального развития репродуктивной системы [10] и в организации функциониро-

вания ЦНС. Поэтому возможно предположить влияние оксида азота и на процессы структурно-функциональной организации ЦНС, особенно на ранних стадиях постнатального развития организма.

В то же время в доступной литературе мы не встретили данных, показывающих связь уровня активности NO-синтазы (NO-S) с процессами структурно-функциональной организации коры мозга у крыс в период постнатального развития.

Исходя из вышеизложенного, целью нашей работы было выявление возможности влияния экзогенных нитритов на изменения активности NO-S и динамику структурно-функциональной активности организации сенсомоторной коры мозга крыс.

Материалом настоящего исследования послужили 36 крысят, полученных в пометах от 6 половозрелых крыс-самок весом 180-200 г. У трех крыс беременность, окот, выкармливание крысят происходило в стандартных условиях вивария. Крысята от этих самок составляли группу контроля. Три крысы в период беременности и выкармливания детенышей потребляли 0,03 % раствор нитрита натрия ( $\text{NaNO}_2$ ) ad libitum. Крысята от этих самок составляли экспериментальную группу. На 1, 7, 14, 20 сутки после рождения крысят выводили из опыта. Извлекали головной мозг, который фиксировали в параформальдегиде 1 сутки при  $t^\circ = 4^\circ\text{C}$ . Часть материала заливали в целлоидин по стандартной методике, из полученных блоков изготавливали срезы толщиной 7 мкм, которые окрашивали толлуидиновым синим по Нисслю и гематоксилин-эозином. Гистологические препараты служили для оценки структурно-функциональной организации коры и уровня дифференцировки. Часть материала после фиксации использовали для изготовления

криостатных срезов толщиной 11 мкм, на которых по прописям Коржевского Д.Е. [11, 12] определяли активность НАДФН-диафоразы-маркера NO-синтазной активности. В полученных препаратах оценку активности NO-S осуществляли на основе количества цветности, размеров гранул диформазана, а также по количеству нейронов, в которых определялась активность NOS-маркера.

При гистологическом исследовании головного мозга крысят контрольной группы обнаружено, что мягкие мозговые оболочки (ММО) новорожденных животных образуются нежноволокнистыми фиброцитами, обладающими овальными сочными ядрами средних размеров. В последующих сроках исследований (14 сутки) отмечается визуальное уменьшение количества фибробластов и уплотнение их ядер. На 20 сутки жизни ММО характеризовались большей плотностью волокон, относительно небольшим количеством фибробластов с плотными ядрами, полнокровными сосудами обычного вида.

Объем белого вещества в мозгу визуально невелик у новорожденных крысят, сосуды вещества мозга немногочисленные обычного вида. Глиальные элементы располагаются достаточно плотно, ядра олигодендроглиоцитов средних размеров сочно окрашенные. В дальнейшем (14-20 сутки жизни) объем белого вещества увеличивается, как и количество сосудов, наблюдаются многочисленные капилляры, частично кровенаполненные, частично тяжевидные. Плотность распределения глиоцитов визуальное уменьшается. Ядра олигодендроглиоцитов плотные, небольших размеров.

В коре головного мозга новорожденных крысят ламинарная структура отсутствует. Плотность распределения нейронов высокая. Различий в размерах нейронов поверхностных и глубоких не отмечается. Ядра их с диффузно распределенным хроматином, хроматильное вещество мелкоглыбчатое. В таламусе разграничение ядерных образований нечеткое. На 7 сутки жизни крысят в коре головного мозга можно наблюдать выделения нижних и верхних отделов. Различия в размерах нейронов поверхностных и глубоких слоев не отмечается. Разграничение ядерных образований таламуса визуальное более четкое, чем

в предыдущем сроке наблюдений.

На 14 и 20 сутки жизни в коре мозга крысят наблюдается ранжирование нейронов по размерам. Появляются в глубоких отделах овальные нейроны и нейроны грушевидной формы. Хроматофильное вещество в них среднеглыбчатое. В поверхностных отделах определяются мелкие округлые и грушевидные нейроны. Хроматофильное вещество в них мелкоглыбчатое. Ранжирование нейронов по размерам и отчасти по форме создает нечеткое выраженные ламинарность коры. В таламических структурах разграничение ядер достаточно четкое.

Гистохимическая реакция на активность маркера NO-синтазы показала, что в нейропиле активность этого фермента не обнаруживается. В единичных нейронах имеет место отложение гранул диформазана. У новорожденных крысят мелкие гранулы имеют серовато-желтоватую окраску и рассеяны под оболочкой. В последующие сроки наблюдений определяли гранулы такой же цветности и размеров, распределение их в цитоплазме не изменилось. В целом активность NO-синтазы можно расценивать как умеренную, а в некоторых нейронах и как более высокую.

В группе крысят, матери которых в период беременности и кормления получали 0,03 %, раствор  $\text{NaNO}_2$  морфологическая картина головного мозга была несколько иной, чем в контрольной группе. У новорожденных крысят ММО образованы нежноволокнистой соединительной тканью с большим количеством фибробластов, обладающих средних размеров овальными плотными ядрами. На 7 сутки жизни крысят их ММО характеризовались некоторым огрубением волокон и визуальным уменьшением количества фибробластов.

Количество, визуальное, белого вещества в мозге у крысят подопытной группы было большим, чем в контрольной во все сроки наблюдений. Плотность распределения глиоцитов достаточно высокая и практически не меняющаяся на протяжении эксперимента. Особенностью подопытной группы было распределение части глиоцитов цепочками, перпендикулярными поверхности мозга. Внутримозговые сосуды у новорожденных крысят тонкостенные, обычного вида, количество их невелико.

Однако уже после 7 суток жизни визуально количество сосудов значительно увеличивается, в большинстве своем они полнокровны. Часть сосудов застойно полнокровна с явлениями расширения периваскулярных пространств.

В коре мозга новорожденных крысят, матери которых потребляли 0,03 % р-р  $\text{NaNO}_2$  плотность распределения нейронов высокая. Нейроны, располагающиеся поверхностно несколько меньше, по размерам, чем находящиеся в нижней части коры. Это создает картину выделения нижних и верхних отделов коры. Форма типа нейронов по всей коре однообразно округлая, в центре у них крупное ядро с диффузным распределением хроматина, хроматофильное вещество мелкоглыбчатое. В таламических структурах разграничение ядерных образований нечеткое.

Через неделю жизни в коре мозга крысят подопытной группы отмечается разная плотность распределения нейронов в верхних и нижних отделах. Нейроны глубоких отделов характеризуются большими размерами тела, форма тела грушевидная, ядро с диффузным распределением хроматина, хроматофильное вещество среднеглыбчатое. Нейроны поверхностных отделов округлые, небольших размеров, хроматофильное вещество мелкоглыбчатое. В последующие сроки наблюдений 14 и 20 суток жизни особых отличий от вышеописанной картины не наблюдалось, однако ламинарная организация коры становится более выраженной. Разграничение ядерных образований таламических структур после 14 суток жизни у крысят подопытной группы более выражено, чем в контроле.

Гистохимическое определение активности маркера NO-синтазы у подопытных крысят выявило величие небольших темно-коричневых гранул по контуру сосудов. В телах немногочисленных нейронов 1 и 7 сутки желтовато-серые, мелкие гранулы распределены по цитоплазме. На 14 и 20 день жизни рассеянные в нейронах гранулы обладали желтовато-коричневой или коричневой окраской. В целом можно говорить, что активность NO-синтазы в головном мозгу подопытных крысят умеренная или близка к этому.

Таким образом, поступление в организм экзогенных нитритов в антенатальный

и постнатальный период развития сопровождается изменением активности NO-синтазы в сенсомоторной коре головного мозга крысят, которое коррелирует с изменениями структурно-функциональной организации коры. Последняя проявляется более ранним ранжированием нейронов коры по размерам, разграничением ядер таламуса. Особо следует отметить более раннее формирование сосудистой системы, а также то, что уже на 20-е сутки жизни нейроны приобретают вид клеток, закончивших формирование. Более раннее формирование зрелых структур в репродуктивной системе отмечает И.В. Савицкий [10] у крысят, матери которых получали эндогенные нитриты.

Можно полагать, что экзогенные нитриты способны модулировать обмен эндогенно NO, через нитроредуктазные реакции, по сути увеличивая эндогенный пул NO и, тем самым, стимулируя общую активность репаративных систем. Это сопровождается более ранним созреванием и дифференцировкой структур сенсомоторной коры головного мозга. Последнее подтверждает не только важную роль NO-зависимых механизмов в функционировании головного мозга, но и их важное значение в периоде структурно-функционального созревания органа.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ажина А.Я., Реутов В.П., Каюшин Л.П. / Известия АН СССР, серия „биология”. - 1983. - №3. - С. 408-418.
2. Ажина А.Я., Реутов В.П., Каюшин Л.П. / Физиология человека. - 1990. - т. 19. - №3. - С. 131-149.
3. Башкатова В.Г., Раевский К.С. // Биохимия. - 1998. - Т. 63. - С. 1020-1028.
4. Григлевски Р.Е. // Новости фармации и медицины. - 1997. - №1-2. - С. 2-8.
5. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Охотин В.Е., Косицын Н.С. // Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих. - М., 1998.
6. Сагач В.Ф. // Фізіологічний журнал. - 1998. - Т. 44. - №1-2. - С. 103-111.
7. Раевский К.С. // Бюллетень экспер. биологии. - 1997. - №5. - С. 484-490.

8. Реутов В.П., Сорокина Е.Г. // Биохимия. - 1998. - т. 63. - С. 1029-1040.
9. Nagane M., Schmidt H.H., Pollock I.S., et al // FEBS lett. - 1993. - V. 316. - P. 175-180.
10. Запорожан В.Н., Гоженко А.И., Насибуллин Б.А., Савицкий И.В. // Украинский журнал патологии. - 1999. - №1. - С. 34-36.
11. Коржевский Д.Э. // Морфология. - 1996. - т. 109. - №3. - С. 76-77.
12. Коржевский Д.Э., Отеллин В.А. // Морфология. - 1996. - №6. - т. 109. - С. 37-40.

### Summary

THE INFLUENCE OF EXOGENIC NITRITES ON THE STRUCTURAL AND FUNCTIONAL ORGANIZATION OF CEREBRAL CORTEX AND NO-SYNTASE ACTIVITY IN RATLINER AT THE EARLY PERIOD OF DEVELOPMENT

*Nasibullin B.A., Gozhenko A.I.*

A comparative morphological study of the cerebral cortex structural and functional organization has been performed on 36 ratlings born to female rats of two groups: those which received 0,03 % of sodium nitrite solution at the gestation period and those which did not. The study has shown that the introduction of exogenic nitrites into the body of pregnant rats lead to an earlier ranging of neurons as to their size vascular system and an earlier development of the brain in the ratlings as well as to the differentiation of the cerebral cortex areas. The described changes take place on

the brain of NO-synthase weakening activity. The authors consider that the exogenic nitrites modulate NO-metabolism by the nitrite-reductase mechanisms, which, on the one hand, simulate the reparation processes, and, on the other hand, inactivate NO-synthase activity, thus creating disbalance in the regulatory mechanisms.

### Реферат

ВПЛИВ ЕКЗОГЕННИХ НІТРИТІВ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНУ ОРГАНІЗАЦІЮ КОРИ МОЗКУ ТА АКТИВНІСТЬ NO-СИНТАЗИ У МОЛОДИХ ЩУРІВ В РАННІ ПЕРІОДИ РОЗВИТКУ

*Насибуллін Б.А., Гоженко А.І.*

Порівняльні морфологічні дослідження структурно-функціональної організації кори 36 молодих щурів від самок, що одержували і не одержували 0,03 % розчин нітриту натрію в період вагітності, показали наступне. Надходження екзогенного нітриту в організм раніше вагітних щурів викликає у новонароджених щурів більш раннє ранжирування нейронів за розмірами, а також більш ранній розвиток судинної системи мозку і диференціювання відділів кори мозку.

Описані зміни відбуваються на фоні ослаблення активності NO-синтази. Автори вважають, що екзогенний нітрит модулює обмін NO через нітритредуктазні механізми, що, з одного боку стимулює процеси репарації, а з іншого — інактивує NO-синтазу активність і, тим самим, створює дисбаланс в регуляторних механізмах.

УДК 577.121:615.099.091:546.48+546.49

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ДЕЙСТВИИ МАЛЫХ ДОЗ КАДМИЯ И РТУТИ

*Большой Д.В., Пыхтеева Е.Г.*

*УкрНИИ медицины транспорта, Одесса*

Чрезвычайная токсичность ртути и кадмия для всех типов живых организмов хорошо известна как из литературных данных [1, 2, 3], так и из наших собственных исследований [4, 5].

Кадмий и ртуть — это металлы, относящиеся к тяжёлым, которые расположены в одной подгруппе Периодической системы Д.И. Менделеева, имеют одинаковое строение внешних элементарных оболочек и потому проявляют ряд сходных хими-

ческих свойств. Неудивительно, что токсикологические свойства этих металлов также имеют много общего.

Например, ртуть и кадмий потенцируют выход кальция из нефроцитов и гепатоцитов, что ведёт к падению мембранного потенциала [6]. Кадмий и ртуть обладают высокой нефротоксичностью, что связано с их способностью депонироваться в паренхиматозных органах, особенно в корковом веществе почки [7, 8], и медленным