

**РАСПРЕДЕЛЕНИЕ NADPH-ДИАФОРАЗА ПОЗИТИВНЫХ СТРУКТУР
ОБОНЯТЕЛЬНОЙ ЛУКОВИЦЫ КРЫС В ОНТОГЕНЕЗЕ**

© В.Е. Варенцов, Т.А. Румянцева, Т.С. Мясичева

Ярославский государственный медицинский университет,
Ярославль, Россия

Цель. Установить особенности распределения NADPH-диафороза (NADPH-d) позитивных структур в обонятельных луковицах крыс разного возраста. **Материалы и методы.** Исследование проведено на 22 белых крысах самцах. Объект исследования – обонятельные луковицы новорождённых крыс – 1-3 суток, подсосного периода – 7, 14, 21 суток, инфантильного – 30 суток, ювенильного – 60, и зрелого – 180 суток. Исследование проведено на криостатных серийных срезах обонятельных луковиц (20 мкм). Для идентификации нитроксидэргических структур использовали гистохимическое маркирование NADPH-d (методом Хоупа). На стандартном срезе измеряли площадь NADPH-диафороза позитивных клеток по 100 в каждом случае, площадь гломерул, количество позитивных нейронов, окружающих гломерулу. **Результаты.** В результате исследования установлено, что в обонятельной луковице крыс изученных возрастных групп позитивность к NADPH-d проявляют только поверхностные и глубокие короткоаксонные нейроны, и перигломерулярные нейроны. Конечный продукт реакции распределяется в телах и отростках части клеток, плотность распределения зависит от слоя обонятельной луковицы и от возраста животных. Также позитивностью к ферменту обладают центральные части гломерул, причем распределение диафороза зависит не от возраста, а от локализации гломерулы. **Заключение.** Возрастные преобразования позитивной субпопуляции нейронов обонятельной луковицы свидетельствуют об активном участии NO в процессах постнатальной дифференцировки, роста и развития обонятельного анализатора.

Ключевые слова: нейрон, обонятельные луковицы, нейрогенез, NADPH-диафороза, онтогенез.

**DISTRIBUTION OF NADPH-DIAPHORASE POSITIVE STRUCTURES
OF OLFACTORY BULB OF RATS IN ONTOGENESIS**

V.E. Varentsov, T.A. Rumyancheva, T.S. Myasishcheva

Yaroslavl State Medical University,
Yaroslavl, Russia

Aim: to identify peculiarities of distribution of NADPH-diaphorase (NADPH-d) positive structures in olfactory bulbs of rats of different age. **Materials and Methods.** The study was con-



ducted on 22 white male rats. The object of research was olfactory bulbs of newborn rats – 1-3 days, suckling period – 7, 14, 21 days, infantile – 30 days, juvenile – 60, and mature – 180 days. The study was conducted on cryostat serial sections of olfactory bulbs (20 μm). Nitroxidergic structures were identified by histochemical labelling of NADPH-d (by Hope method). In a standard section, the area of NADPH-diaphorase-positive cells (100 in each case), surface area of glomeruli, the number of positive neurons surrounding a glomerulus, were measured. **Results.** In result of study it was found that in the olfactory bulb of rats of the studied age only groups of superficial and deep short-axon neurons and periglomerular neurons showed positivity to NADPH-d. The end product of reaction was distributed in somas and extensions of a part of cells with the density of distribution depending on the layer of the olfactory bulb and on the age of animals. Besides, positivity to the enzyme was also found in the central parts of glomeruli with distribution of diaphorase depending not on age, but rather on localization of glomeruli. **Conclusion.** Age-related transformations of positive subpopulation of neurons of olfactory bulb indicate active participation of NO in the processes of postnatal differentiation, growth and development of olfactory bulb.

Keywords: neuron, olfactory bulbs, neurogenesis, NADPH-diaphorase, ontogenesis.

Изучение нейронов, содержащих нитроксидсинтазу, началось более 40 лет назад, когда гистохимически в тканях головного мозга были обнаружены клетки с высокой активностью NADPH-диафоразы (NADPH-d). Активность диафоразы в клетках определяется по восстановлению нитросинего тетразолия в диформазан и служит показателем наличия NO-синтазы [1]. Однако, возможны и ложноположительные результаты в связи с наличием нескольких изоформ данного фермента [2,3]. Наибольшая активность фермента обнаруживается в нейронах мозжечка и в астроглии. Более низкий уровень активности наблюдается в гипоталамусе, среднем мозге, стриатуме, корковых представителях, гиппокампе и продолговатом мозге [2,4]. Нитроксидсинтазы (NOS) представляют собой семейство ферментов, катализирующих производство оксида азота (NO) из L-аргинина. В настоящее время описаны три изоферментные формы NOS: нейрональная (n-NOS, или NOS-1), индуцибельная цитокинами (i-NOS,

или NOS-2) и эндотелиальная (e-NOS, или NOS-3) [2,4].

Доказано, что NO является важной клеточной сигнальной молекулой, широко представлен в структурах нервной системы и может функционировать как ретроградный нейротрансмиттер. Функции NO чрезвычайно разнообразны: контролирует осцилляторную активность нейронов, является медиатором ноцицепции, термочувствительности, обоняния, модулирует сосудистый тонус и церебральный кровоток, участвует в ангиогенезе и развитии нервной системы [3], играет центральную роль в процессах долгосрочной потенциации и, соответственно, обучения и памяти [5]. Источником NO в центральной и периферической нервной системе являются неадренергические нехолинергические нервы и глутаматные нейроны, а также эндотелиоциты сосудов, клетки микроглии и астроциты. Установлено участие этого вещества в регуляции нейрогенеза, в том числе и в зрелом организме, путем запуска апоптоза избыточных прогениторных клеток (эли-

минация «ненужного» множества) [6]. Известно, что гистохимическим маркером нитроксидэргических нейронов является NADPH-d, которая метаболически связана с нейрональной NO-синтазой. Выявление NO-синтазы и NADPH-d в клетках пролиферативных зон головного мозга подтверждает роль оксида азота как модулятора и регулятора пролиферативных процессов в центральной нервной системе (ЦНС) [4].

Обонятельные луковицы (ОЛ) являются многофункциональными образованиями, в том числе и местом миграции нейробластов из субгранулярной зоны гиппокампа и субвентрикулярной зоны латеральных желудочков по роstralно-медулярному миграционному потоку. Достигнув середины обонятельной луковицы, цепочки нейробластов распадаются, клетки начинают радиальную миграцию и достигают наружных клеточных слоев, где происходит их окончательная дифференцировка. Мигрирующие нейробласты расходятся в радиальном направлении во все слои ОЛ, формируя множественные синаптические контакты, интегрируясь в локальную нейронную сеть [5]. Известно, что нейроны, находящиеся на разных стадиях нейрогенеза, способны синтезировать множество различных специфических белков, сигнальных молекул, газомедиаторов, выявление которых свидетельствует о нейрональной дифференцировке потомков прогениторных клеток [7,8]. В настоящее время данные о влиянии нитроксидэргических соединений на течение и активность нейрогенеза неоднозначны, отсутствуют детальные данные о распределении NADPH-d позитивных структур в различных слоях обонятельных луковиц крыс, что затрудняет оценку направленности компенсаторно-приспособительных

реакций при экспериментальных воздействиях на ЦНС.

Цель исследования – установить особенности распределения NADPH-d позитивных структур в обонятельных луковицах крыс разного возраста.

Материалы и методы

Исследование проведено на 22 белых крысах самцах линии *Wistar*. Возраст исследуемых крыс выбирался в соответствии с возрастной периодизацией онтогенеза белой крысы, предложенной И.П. Западнюком с соавт. (1974) на основании физиологических особенностей животных, интенсивности их роста, поведенческих реакций, изменения характера питания, массы, функциональной зрелости системы крысы. Все этапы исследования были выполнены с соблюдением «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Directive 2010/63/EU).

Объект исследования – обонятельные луковицы новорождённых крыс – 1-3 суток, подсосного периода – 7, 14, 21 суток, инфантильного – 30 суток, ювенильного – 60 и зрелого – 180 суток. Забор материала осуществляли после предварительной транскардиальной перфузии 10% забуференным формалином с последующей фиксацией в течение 24 часов при температуре 4°C, промывки и хранения в течение суток в 30% растворе сахарозы. Исследование проведено на криостатных парасагиттальных серийных срезах правой и левой обонятельных луковиц толщиной 20 мкм. Для идентификации нитроксидэргических структур использовали гистохимическое маркирование NADPH-d. Активность NADPH-диафоразы определяли методом Хоупа (Hope, Vincent; 1989) [1]. Срезы ин-

кубировали в среде, содержащей 0,5 мМ NADPH (Sigma, США), 0,5 мМ нитросинего тетразолиевого (Sigma, США), и 0,3% Тритона X-100 в 0,15 М Трис-HCL-буфере (pH-8,0) при 37°C в течение 60 мин, после чего срезы промывали в дистиллированной воде, обезвоживали и заключали в бальзам. Микроскопировали при помощи светового микроскопа Optica DM-20 (Италия, 2015) со встроенной камерой. На каждом стандартном срезе определяли количество позитивных нейронов. Стандартным считали парасагиттальный срез максимальной площади, проходящий через центральную зону ОЛ. Измеряли площадь NADPH-диафоразы позитивных клеток по 100 в каждом случае, площадь гломерул, количество позитивных нейронов, окружающих гломерулу. По плотности распределения формазана в цитоплазме нейронов обонятельных луковиц выделяли три вида нервных клеток: нейроны с высокой, средней и низкой степенью активности NADPH-d. Анализ и обработку полученных изображений проводили с помощью программы ImageJ. Статистическую обработку данных проводили методом вариационной статистики с использованием пакетов Microsoft Excel 2010 и Statistica 10. Средние значения изучаемых показателей представлены в виде ($M \pm m$), где M – среднее арифметическое, а m – стандартная ошибка среднего. Для анализа различий показателей между группами использовали t-критерий Стьюдента. Статистически значимым считали различие сравниваемых показателей при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Использование парасагиттальных срезов, проходящих через длинный луковичицы, позволило изучить распределение позитивных клеток во всех шести цитоар-

хитектонических слоях, располагающихся в следующем порядке: слой обонятельного нерва, гломерулярный слой (клубочков), наружный плексиформный слой, слой митральных клеток, внутренний плексиформный слой, гранулярный слой (клеток зерен). В центре луковичицы располагается окончание рострального миграционного потока – субэпендимальный слой, который плавно переходит в гранулярный слой (центральную зону луковичицы).

По данным R. Spessert, S. Reuss, по морфологии в обонятельной луковичице встречаются 5 типов нервных клеток: короткоаксонные клетки поверхностные и глубокие, митральные клетки, перигломерулярные клетки и гранулярные (клетки-зерна) [9]. Поверхностные короткоаксонные нейроны (ПКАН) располагаются в перигломерулярной области и в наружном плексиформном слое. Глубокие короткоаксонные нейроны (ГКАН) залегают в гранулярном слое вблизи его перехода в субэпендимальный слой. Митральные клетки в ОЛ располагаются поясом, формируя слой. Перигломерулярные клетки локализуются в гломерулярном слое, образуют ассоциации с клубочками, гранулярные нейроны – самая многочисленная субпопуляция одноименного слоя.

У половозрелых животных активность NADPH-d выявлялась в телах нейронов. Ядра нейронов не окрашивались. Во многих случаях NADPH-d-позитивные аксоны и дендриты были видны на большом протяжении, достигали соседних нейронов. При удалении NADPH из инкубационной среды окрашивания не наблюдалось. Внутри клубочкового слоя интенсивность окрашивания значительно различалась. Наиболее ярко окрашивались клубочки, расположенные дорзально.

Активность NADPH-d выявлена в поверхностных и глубоких короткоаксонных, перигломерулярных и части гранулярных нейронах. Митральные клетки всегда негативны. Аналогичное распределение активности фермента у половозрелых крыс описывали В. Samama, С. Crespo [10,11]. Данных о возрастных особенно-

стях распределения конечного продукта реакции на диафоразу в литературе не обнаружено, но при оценке полученных данных нами выявлены различия топографии и плотности распределения конечного продукта. Рассмотрим их по слоям и по возрастам.

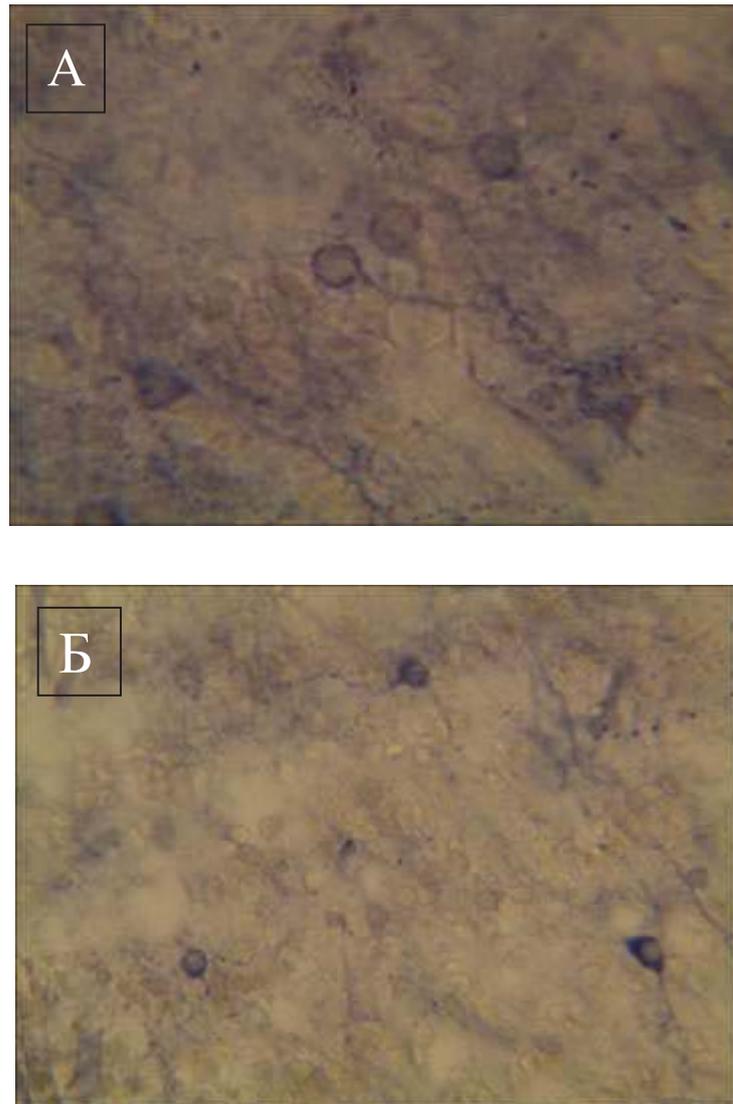


Рис. 1. NADPH-d – позитивные клетки гранулярного слоя ОЛ 14 суточных животных. А – гранулярные клетки с низкой позитивностью. Б – субпопуляция гранулярных клеток со средней позитивностью фермента. Гистохимическое окрашивание по методу Норе, Vincent (1989). Ув. об. 100 (А), 40 (Б)

В гранулярном и субэпендимальном слоях ОЛ у 1 суточных животных единственными NADPH-d позитивными нейронами являются глубокие короткоаксонные нейроны Гольджи (ГКАН) количеством $8,7 \pm 0,85$ штук на стандартном срезе. Это крупные мультиполярные нейроны с высокой плотностью распределения продукта реакции, формаazan плотно заполняет цитоплазму клеток, отчетливо маркируя отростки нейронов на значительном протяжении. Средняя площадь этих нейронов составляет $126,2 \pm 13,64$ мкм². Максимальное их скопление определяется в области перехода дистальной части рострального миграционного потока в субэпендимальный слой ОЛ (рис. 2Б).

У семисуточных крысят в гранулярном и субэпендимальном слоях ОЛ число ГКАН на стандартном срезе увеличивается до $12,7 \pm 0,50$ штук ($p < 0,05$), а также увеличивается средняя площадь их сечения до $170,4 \pm 18,30$ мкм² ($p < 0,05$).

У 14 суточных животных в гранулярном слое выявлялись нейроны с низкой и средней активностью фермента, отличающиеся крупным ядром, тонким ободком цитоплазмы, с двумя длинными позитивными отростками, направленными радиально (рис. 1А, 1Б). Остальные нейроны гранулярного слоя являются ферментонегативными. ГКАН субэпендимального слоя проявляют самую высокую активность фермента, количество их увеличивается по сравнению с новорожденными в 2 раза, достигая $16,7 \pm 0,68$ штук на стандартном срезе. Средняя площадь нейронов этой субпопуляции составляла $325,7 \pm 16,40$ мкм² (рис. 2А, 2Б). Отростки, как правило, ветвятся, в некоторых местах оплетают сосуд, формируют выраженный нейропил (рис. 2В).

В сроки от 14 до 21 суток количество ГКАН снижается до $12,1 \pm 0,60$ ($p < 0,05$).

В возрастных группах от 21 суток до 180 суток в гранулярном слое количество позитивных ГКАН на стандартном срезе достоверно не изменяется, активность фермента в цитоплазме остается высокой. Клетки со средней и низкой активностью фермента не выявляются.

Митральные клетки во всех исследуемых возрастных группах животных не обладали нитроксидазгической позитивностью. Активность NADPH-d в слое обонятельного нерва высокая и не зависит от возраста животных.

В области перехода гломерулярного слоя в наружный плексиформный слой выявляются крупные, одиночные биполярные с высокой активностью NADPH-d нейроны (поверхностные короткоаксонные нейроны Блэйнса, ПКАН). Данные клетки, ориентированы параллельно ряду митральных клеток. Количество этих нейронов на стандартном срезе не превышает 1-2 штуки, площадь колеблется от 160 до 210 мкм² независимо от возраста (рис. 2Г).

В гломерулярном слое ОЛ крысы в первом полугодии жизни также отмечаются выраженные возрастные особенности распределения фермента. Слой гломерул у новорожденных животных развит слабо и представлен расположенными в один ряд в основном на дорзальной поверхности и верхушке ОЛ сверхпозитивными овальными клубочками (рис. 3А). Площадь клубочков составляет $1107,9 \pm 117,96$ мкм². Перигломерулярные нейроны позитивностью к NADPH-d не обладают.

У семисуточных крысят клубочки выстроены в ряд по периметру луковицы, вокруг них лежат позитивные перигломерулярные нейроны. Они представляют со-

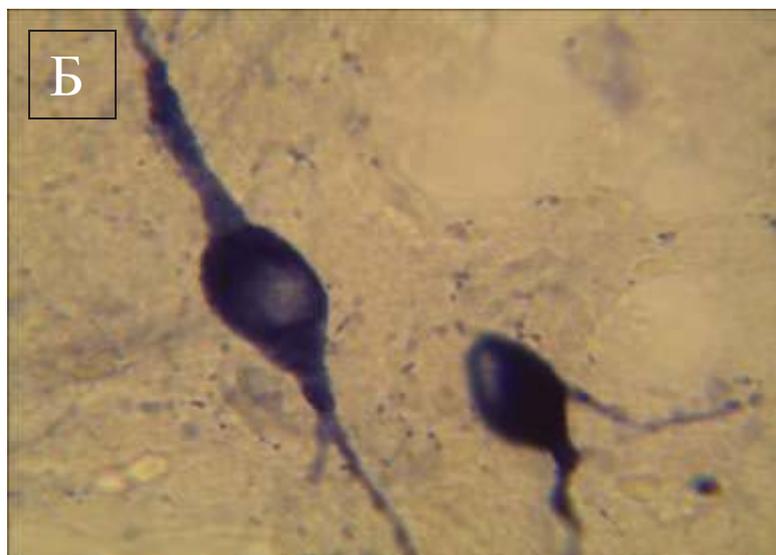
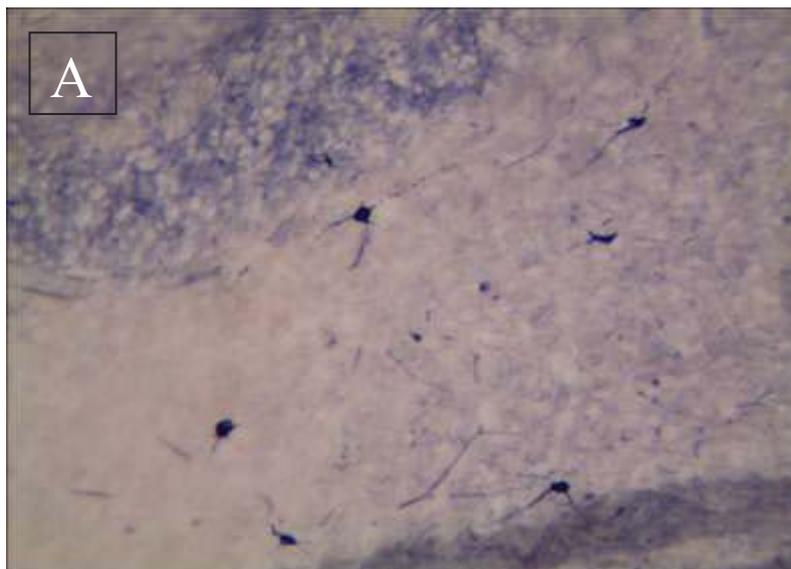




Рис. 2. NADPH-d – позитивные клетки субэпидемального слоя ОЛ 14 суточных животных. А, Б, В – субпопуляция ГКАН Гольджи с высокой позитивностью фермента и выраженным нейропилем. Г – Одиночные диафораза-позитивные ПКАН Блэйнса. Гистохимическое окрашивание по методу Норе, Vincent (1989). Ув. об. 10 (А), 100 (Б), 40 (В, Г)

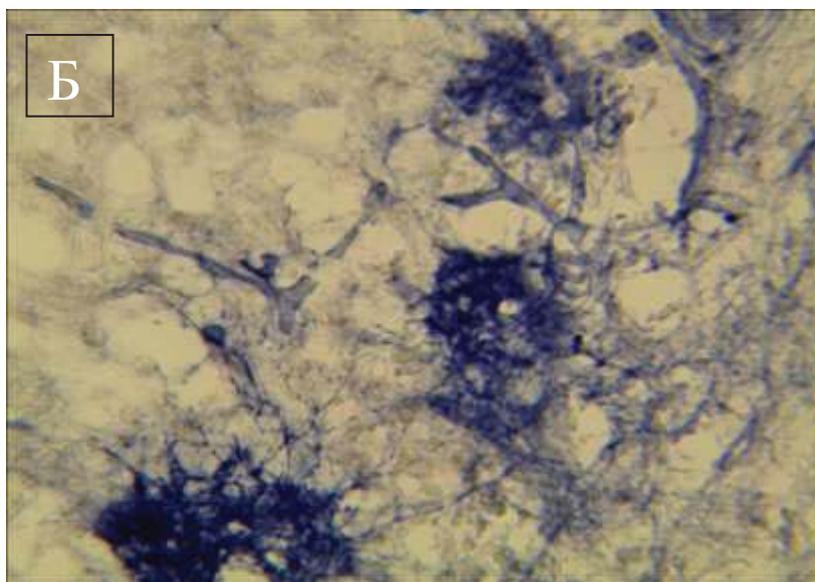
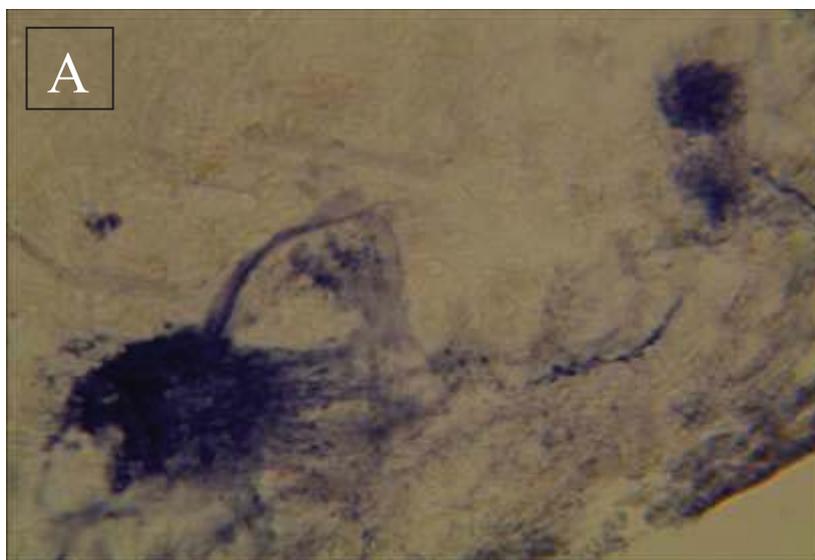
бой мелкие округлой формы клетки, большинство которых обладает средней позитивностью NADPH-d, неравномерно окружают гломерулы по 4-8 штук каждую. Средняя площадь перигломерулярных нейронов составляет $42,9 \pm 5,33$ мкм². Нейропил этих нейронов негативен (рис. 3Б).

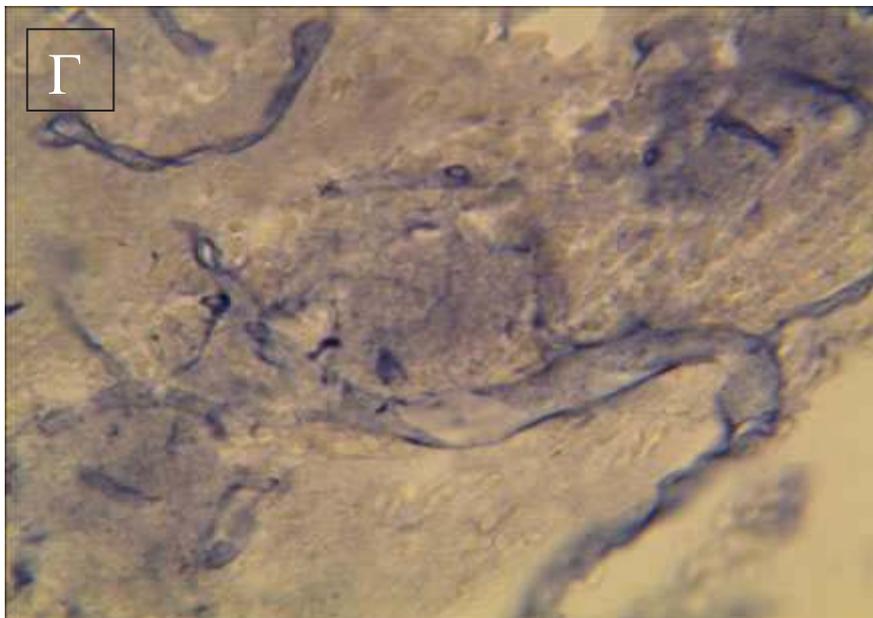
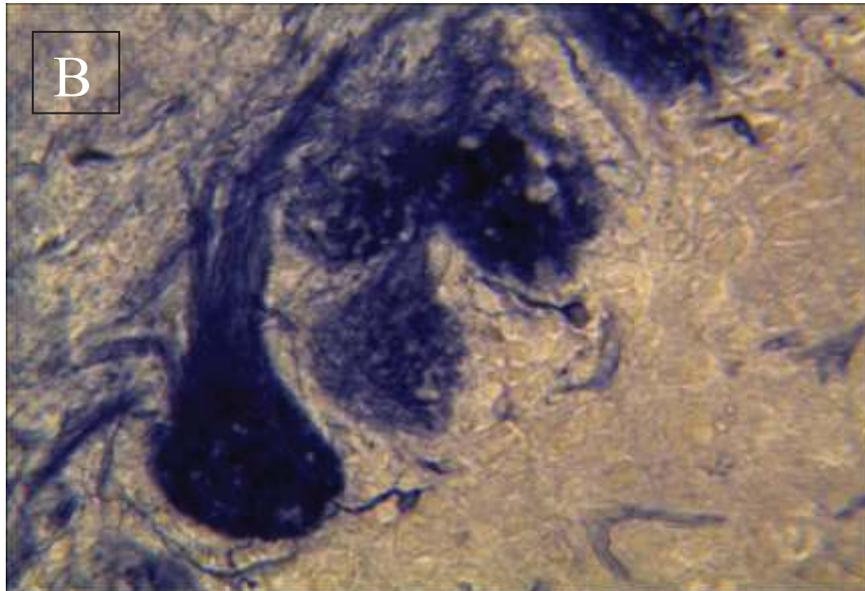
У животных двухнедельного возраста площадь клубочков увеличивается в 3 раза ($2998,1 \pm 513,13$ мкм²). Клубочки располагаются вплотную друг к другу, группируясь по 3-4 образования. Максимальной ферментопозитивностью обладают гломерулы, расположенные дорзально и на верхушке ОЛ. Гломерулы на вентральной поверхности проявляют среднюю и низкую активность. Каждую единичную гломерулу окружают 5-16 клеток, обладающих позитивным перикарионом с единственным отростком, направленным к гломеруле (рис. 3В, 3Г). Средняя площадь их сечения возрастает до $51,9 \pm 2,86$ мкм².

У животных 21 суток средняя площадь гломерул максимальна и составляет $4225,5 \pm 314,80$ мкм². Количество и морфология перигломерулярных клеток не изменяется (рис. 3Д, 3Е). Средняя площадь этих нейронов составляет $65,1 \pm 4,43$ мкм².

У одномесячных и шестимесячных животных морфология клубочков по сравнению с 21-суточными практически не меняется, размеры клубочков достигают максимума на 30 сутки ($3724,4 \pm 316,15$ мкм²), а к 180 суткам постепенно снижаются до $2504,2 \pm 133,23$ мкм². Площадь и количество перигломерулярных позитивных клеток в эти сроки наблюдения сохраняются на достигнутых значениях.

Во всех возрастных группах центральные части гломерул обладают позитивностью к NADPH-d, клубочки дорзальной поверхности и верхушки ОЛ сверхпозитивны, а на вентральной поверхности обладают средней и низкой позитивно-





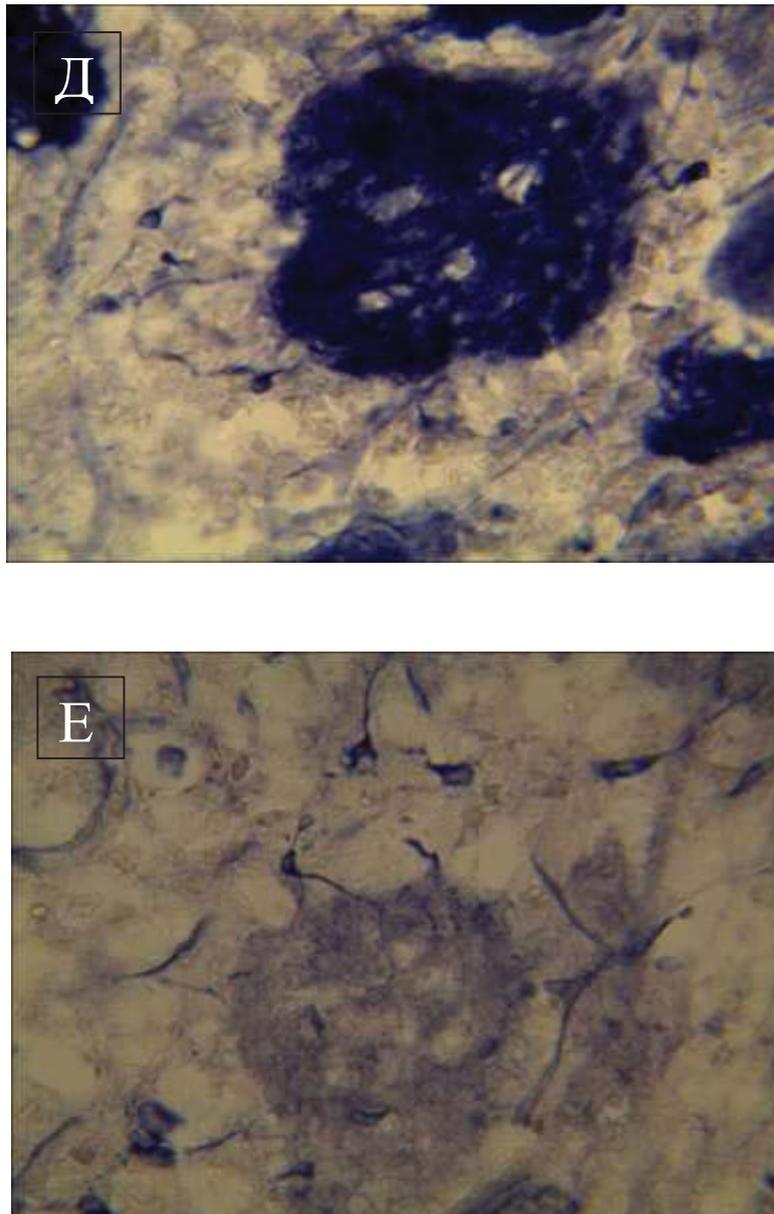


Рис. 3. Распределение NADPH-d позитивных структур в гломерулярном слое ОЛ животных разного возраста. А – гломерулы (клубочки) со средней позитивностью фермента (1 сут.). Б – гломерулы со средней позитивностью фермента с одиночными NADPH-d-позитивными перигломерулярными клетками и сосудами (7 сут.). В – гломерулы с высокой позитивностью фермента дорзальной поверхности ОЛ (14 сут.). Г – гломерулы с низкой позитивностью фермента с ассоциацией перигломерулярных клеток вентральной поверхности ОЛ. (14 сут.). Д – гломерулы с высокой позитивностью фермента дорзальной поверхности ОЛ (21 сут.). Е – гломерулы с низкой позитивностью фермента с ассоциацией перигломерулярных клеток вентральной поверхности ОЛ. (21 сут.).

Гистохимическое окрашивание по методу Норе, Vincent (1989). Ув. об. 10

стью, причем распределение диафоразы зависит не от возраста, а от локализации гломерулы: высокой активностью отличаются гломерулы дорзальной поверхности ОЛ, а низкой и средней активностью гломерулы вентральной поверхности. Это может служить дополнительным доказательством функциональных различий между клубочками обонятельной луковицы, что отмечено в работах R. Spessert и E. Layes [9]. Позитивность клубочков возможно связана с активностью диафоразы первичных обонятельных сенсорных аксонов, входящих в клубочки [12].

Т.о., NADPH-d выявляется в трех разнородных субпопуляциях нейронов ОЛ, и возрастные изменения их количества и активности этого фермента, аналогичного активности NO-синтазы [4,13], имеют специфические и общие черты.

ГКАН выявляются уже с рождения, обладают высокой активностью, их количество на стандартном срезе увеличивается на протяжении 21 суток в 2 раза и, начиная с этого возраста, не изменяется. За время наблюдения площадь нейронов этой популяции увеличивается почти в 2 раза. Локализация этих клеток в устье роstralного миграционного потока, т.е. в области максимального скопления нейрональных предшественников, указывает на их роль в регуляции клеточного состава ОЛ, а участие NO в регуляции апоптоза нейронов описано в работах H.G. Kuhn и C. Crespo [6,11]. Сходная возрастная динамика активности NADPH-d описана в некоторых ядрах гипоталамуса в работах Д.К. Обухова, В.И. Дунай, L. Villani [4,14,15], выполненных на рыбах, свинках и крысах.

ПКАН, расположенные в области перехода гломерулярного слоя в наружный

плексиформный слой являются очень малочисленными, обладают высокой активностью и не увеличиваются в размерах на протяжении 180 суток наблюдения. Учитывая параллельное поверхности направление отростков этих клеток, можно считать их субпопуляцией ассоциативных тормозящих нейронов, т.к. многие авторы описывают в этой зоне ГАМК-позитивные нейроны [8,11]. Также можно предположить, что короткоаксонные нейроны являются одиночными активными клетками, которые участвуют в регуляции кровотока в микроциркуляторном русле через газомедиаторную NO-систему.

Перигломерулярные нейроны характеризуются низким или средним уровнем активности фермента. Причем на протяжении наблюдения активность в них постепенно нарастает от нулевой у новорожденных до средней у 14 суточных крысят. Размеры и количество перигломерулярных нейронов достигают дефинитивного уровня уже к 21 суткам и более достоверно не изменяются. Такое раннее созревание субпопуляции происходит параллельно снижению активности нейрогенеза, выявленному в предыдущих работах по показателю активности его маркеров [13].

Выводы

1. В результате исследования установлено, что в обонятельной луковице крыс изученных возрастных групп, от новорожденного возраста до 180 суток, позитивность к NADPH-d проявляют только поверхностные и глубокие короткоаксонные нейроны, локализованные в субependимальном, наружном плексиформном слое, и перигломерулярные нейроны.

2. Каждая из субпопуляций обладает собственной динамикой становления активности изученного фермента.

3. Возрастные преобразования позитивных субпопуляций нейронов свидетельствуют об активном участии NO в

процессах постнатальной дифференцировки, роста и развития обонятельной луковицы.

Литература

1. Hope V.T., Vincent S.R. Histochemical characterization of neuronal NADPH-diaphorase // *J. Histochem. Cytochem.* 1989. Vol. 37. P. 653-661. doi: 10.1177/37.5.270370.

2. Одыванова Л.Р., Сосунов А.А., Гатчев Я., и др. Окись азота в нервной системе // *Успехи современной биологии.* 1997. Т. 117, №3. С. 374-389.

3. Knowles R.G., Moncada S. Nitric oxide synthases in mammals // *J. Biochem.* 1994. Vol. 298, №2. P. 249-258.

4. Обухов Д.К., Пушина Е.В. Нейрогенез и пролиферативные зоны в ЦНС взрослых позвоночных животных // *Успехи современного естествознания.* 2013. №5. С. 18-22.

5. Гомазков О.А. Нейрогенез как адаптивная функция мозга. М.: Институт биомедицинской химии, 2014.

6. Kuhn H.G., Cooper-Kuhn C., Eriksson P., et al. Signals regulating neurogenesis in the adult olfactory bulb // *Chemical Senses.* 2005. Vol. 30, №1. P. 109-110. doi: 10.1093/chemse/bjh138.

7. Račková E., Martončíková M., Mitrušková B., et al. Age-Related changes of NADPH-diaphorase positivity in the rat rostral migratory stream // *J. Cellular and Molecular Neurobiology.* 2005. Vol. 25. P. 1093-1105. doi: 10.1007/s10571-005-8191-9.

8. Аниол В.А., Степаничев М.Ю. Оксид азота и гамма-аминомасляная кислота

как регуляторы нейрогенеза в мозге взрослых млекопитающих при моделировании судорожной активности // *Нейрохимия.* 2007. Т. 24, №4. С. 279-289.

9. Spessert R., Wohlgenuth C., Reuss S., et al. NADPH-diaphorase activity of nitric oxide synthase in the olfactory bulb: Co-factor specificity and characterization regarding the interrelation to NO formation // *Journal of Histochemistry and Cytochemistry.* 1994. Vol. 42, №5. P. 569-575. doi: 10.1177/42.10.7523486.

10. Samama B., Boehm N. Ontogenesis of NADPH-diaphorase activity in the olfactory bulb of the rat // *Developmental Brain Research.* 1996. Vol. 96. P. 192-203. doi: 10.1016/0165-3806(96)00120-4.

11. Crespo C., Gracia-Llanes F.J., Blasco-Ibáñez J.M., et al. Nitric oxide synthase containing periglomerular cells are GABAergic in the rat olfactory bulb // *Neurosci. Lett.* 2003. Vol. 349, №3. P. 151-154. doi: 10.1016/s0304-3940(03)00819-x.

12. Scherer-Singler U., Vincent S.R., Kimura H., et al. Demonstration of a unique population of neurons with NADPH-diaphorase histochemistry // *J. Neurosci. Methods.* 1983. Vol. 9, №3. P. 229-234. doi: 10.1016/0165-0270(83)90085-7.

13. Варенцов В.Е., Пожилов Д.А., Чепышев Д.В., и др. Особенности распределения нейрональной NO-синтазы и NADPH-диафоразы в обонятельной луковице у крыс. В кн.: *Современные проблемы нейробиологии. Структура и функции*

нервной системы в норме и патологии: материалы II Всероссийской научной конференции с международным участием 12-14 мая 2016. Ярославль, 2016. С. 9-10.

14. Дунай В.И., Лысый Б.В., Мельнов С.Б. Филогенез NO-ергической системы головного мозга // Вестник БДПУ. 2007. Т. 54, №4. С. 40-43.

15. Villani L. Development of NADPH-Diaphorase Activity in the Central Nervous System of the Cichlid Fish, *Tilapia mariae* // Brain Behav. Evol. 1999. Vol. 54, №3. P. 147-158. doi: 10.3389/fncel.2014.00299.

References

1. Hope BT, Vincent SR. Histochemical characterization of neuronal NADPH-diaphorase. *J Histochem Cytochem.* 1989; 37:653-61. doi: 10.1177/37.5.270370.

2. Odyvanova LR, Sosunov AA, Gatchev YA, et al. Okis' azota v nervnoj sisteme. *Uspekhi sovremennoy biologii.* 1997; 117(3): 374-89. (In Russ).

3. Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide synthases in mammals. *J Biochem.* 1994; 298(2):249-58.

4. Obuhov DK, Pushchina EV. Nejrogenez i proliferativnye zony v CNS vzroslyh pozvonochnyh zhivotnyh. *Uspekhi sovremennoy estestvoznaniya.* 2013;5:18-22. (In Russ).

5. Gomazkov OA. *Nejrogenez kak adaptivnaya funkciya mozga.* Moscow: Institut biomedicinskoj himii; 2014. (In Russ).

6. Kuhn HG, Cooper-Kuhn C, Eriksson P, et al. Signals regulating neurogenesis in the adult olfactory bulb. *Chemical Senses.* 2005; 30(1):109-10. doi: 10.1093/chemse/bjh138.

7. Račková E, Martončíková M, Mitrušková B, et al. Age-Related changes of NADPH-diaphorase positivity in the rat rostral migratory stream. *J Cellular and Molecular Neurobiology.* 2005; 25:1093-105. doi: 10.1007/s10571-005-8191-9.

8. Aniol VA, Stepanichev MYu. Oksid azota i gamma-aminomaslyanaya kislota kak regulatory nejrogeneza v mozge vzroslyh mlekopitayushchih pri modelirovanii sudorozhnoj aktivnosti. *Nejrohimiya.* 2007; 24(4): 279-89. (In Russ).

9. Spessert R, Wohlgemuth C, Reuss S, et al. NADPH-diaphorase activity of nitric oxide synthase in the olfactory bulb: co-factor specificity and characterization regarding the interrelation to NO formation. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry.* 1994; 42(5):569-75. doi: 10.1177/42.10.7523486.

10. Samama B, Boehm N. Ontogenesis of NADPH-diaphorase activity in the olfactory bulb of the rat. *Developmental Brain Research.* 1996; 96:192-203. doi: 10.1016/0165-3806(96)00120-4.

11. Crespo C, Gracia-Llanes FJ, Blasco-Ibáñez JM, et al. Nitric oxide synthase containing periglomerular cells are GABAergic in the rat olfactory bulb. *Neurosci Lett.* 2003; 349(3):151-4. doi: 10.1016/s0304-3940(03)00819-x.

12. Scherer-Singler U, Vincent SR, Kimura H, et al. Demonstration of a unique population of neurons with NADPH-diaphorase histochemistry. *J Neurosci. Methods.* 1983; 9(3):229-34. doi: 10.1016/0165-0270(83)90085-7.

13. Varencov VE, Pozhilov DA, Chepyshev DV, et al. Osobennosti raspredeleniya nejronal'noj NO-sintazy i NADPH-diaforazy v obonyatel'noj lukovice u krysa. In:

Covremennye problemy nejrobiologii. Ctruktura i funkcii nervnoj sistemy v norme i patologii: materialy II Vserossijskoj nauchnoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem 12.05.2016-14.05.2016. Yaroslavl'; 2016. P. 9-10. (In Russ).

14. Dunaj VI, Lysyj BV, Mel'nov SB. Filogenez NO-ergicheskoy sistemy golovnogo

mozga. *Vestnik BDPU.* 2007; 54(4):40-3. (In Russ).

15. Villani L. Development of NADPH-Diaphorase Activity in the Central Nervous System of the Cichlid Fish, *Tilapia mariae*. *Brain Behav Evol.* 1999; 54(3):147-58. doi: 10.3389/fncel.2014.00299.

Дополнительная информация [Additional Info]

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, о которых необходимо сообщить, в связи с публикацией данной статьи. [**Conflict of interests.** The authors declare no actual and potential conflict of interests which should be stated in connection with publication of the article.]

Информация об авторах [Authors Info]

Варенцов В.Е. – ассистент кафедры анатомии человека ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России, г. Ярославль, Российская федерация. [**Varentsov ВЕ.** – Assistant of the Department of Human Anatomy, Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russian Federation.]

SPIN 8232-7696,

ORCID ID 0000-0002-4724-9466,

Researcher ID C-9761-2018

E-mail: carabidolog@mail.ru

Румянцева Т.А. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой анатомии человека ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России, г. Ярославль, Российская федерация. [**Rumyanceva ТА.** – MD, Grand PhD, Professor, Head of the Department of Human Anatomy, Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russian Federation.]

SPIN 7086-0780,

ORCID ID 0000-0002-8035-4065,

Researcher ID C-9670-2018.

Мясищева Т.С. – студентка 5 курса лечебного факультета ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России, г. Ярославль, Российская федерация. [**Myasishcheva TS.** – 5th year Student of General Medicine Faculty, Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russian Federation.]

SPIN 8232-7696,

ORCID ID 0000-0003-1731-2716,

Researcher ID C-9777-2018.

Цитировать: Варенцов В.Е., Румянцева Т.А., Мясищева Т.С. Распределение NADPH-диафоразы позитивных структур обонятельной луковицы крыс в онтогенезе // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. 2018. Т. 26, №1. С. 5-20. doi: 10.23888/PAVLOVJ20182615-20.

To cite this article: Varentsov VE, Romyanceva TA, Myasishcheva TS. Distribution of NADPH-diaphorase positive structures of olfactory bulb of rats in ontogenesis. *I.P. Pavlov Medical Biological Herald*. 2018;26(1):5-20. doi: 10.23888/PAVLOVJ20182615-20.

Принята в печать/Accepted: 31.03.2018