

На правах рукописи

ПОРСЕВА

Валентина Вячеславовна

**НЕЙРОННЫЙ СОСТАВ СЕРОГО ВЕЩЕСТВА СПИННОГО МОЗГА И
СПИННОМОЗГОВОГО УЗЛА: СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ
ОСОБЕННОСТИ**

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

03.03.01 – физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Ярославль
2020

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные консультанты:

доктор медицинских наук, профессор **Маслюков Петр Михайлович**,

доктор биологических наук, профессор, академик РАН **Ноздрачев Александр Данилович**

Официальные оппоненты:

Веселкин Николай Петрович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, научный руководитель

Одинцова Ирина Алексеевна, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, заведующая кафедрой гистологии с курсом эмбриологии

Раевский Владимир Вячеславович, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт Высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук, заведующий лабораторией нейроонтогенеза

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «___» _____ 2020 года в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 001.022.02 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» по адресу: 197376, Санкт-Петербург, Каменноостровский пр. д. 69-71.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» по адресу: 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12 и на сайте <http://iemspsb.ru/science/diss/diss001-022-02/>

Автореферат разослан «___» _____ 2020 года

Ученый секретарь диссертационного совета Д 001.022.02, д.м.н.

Киселева Екатерина Прохоровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Интегративная деятельность центральной нервной системы представляет собой многоуровневый контроль, направленный на достижение результата, адекватного действующему раздражителю и потребностям самого организма. На спинальном уровне попытки интеграции морфологических и функциональных данных ограничены либо представлениями о связи моторных структур спинного мозга с реализацией движений (Исламов и др., 2013; Григорьев, Зефирова, 2016; Тяпкина и др., 2016; Miles et al., 2007; Stepien et al., 2010; Levine et al., 2014), то есть локомоторной функции, либо представлениями о связи сенсорных структур с обработкой входящей информации (Сотников, 2008; Гилерович и др., 2009; Петрова и др. 2012; Аданина, Веселкин, 2017; Ghamdi et al., 2009; Ruscheweyh et al., 2011). В тоже время, функциональная значимость представительства различных нейронов в спинном мозге имеет дорсовентральную, медиолатеральную и ростокаудальную пространственную организацию, состоящую из пластинок и сегментов (Яценко, Лютикова, 2012; Сокульский, 2014; Klop et al., 2005; Calka et al., 2008; Bruska et al., 2010; Pytel et al., 2011; Beliez et al., 2015). Результаты работ по исследованию спинного мозга показывают противоречивость и неопределенность протяженности ядер в столбах, топографии нейронов в пластинках серого вещества (Маслюков, 2004; Меркульева и др., 2016; Grant, Koerber, 2004; Freire et al., 2008; Sengul et al., 2012; Beliez et al., 2015). Однако, на протяжении спинного мозга четко прослеживается специфика строения серого вещества, зависящая от отдела и сегмента спинного мозга. Без термина сегмент невозможно говорить ни о конкретном строении серого вещества спинного мозга, ни об особенностях его строения на различных уровнях, ни о сегментарных закономерностях иннервации органов и областей тела человека, ни об уровне и характере патологических процессов в спинном мозге.

Нейрональный состав серого вещества спинного мозга, очевидно, отражает функционально согласованные объединения клеток, которые могут быть идентифицированы морфологически как конкретные клеточные популяции, наиболее многочисленными из которых являются интернейроны, играющие ведущую роль в реализации функций нейронных сетей спинного мозга. В связи с этим представляется важным изучение клеточного состава серого вещества спинного мозга в постнатальном периоде онтогенеза.

В настоящее время первостепенное значение придается изучению особенностей нейротрансмиттеров в различном возрасте постнатального онтогенеза, что может способствовать выявлению характера обменных процессов в нейроне и возможностей адекватной его реакции на меняющиеся условия существования (Петрова, Отеллин, 2004; Обухов и др., 2011; Шабанов и др., 2012; Писалева, 2013; Маслюков и др., 2014; Григорьев, Зефирова, 2015; Колос, Коржевский, 2015; Дробленков и др., 2016; Volekova et al., 2011; Hori et al., 2012; Momose-Sato, Sato, 2013; Moiseev et al., 2019). Накопленные к настоящему времени данные, позволяют весьма условно представить топографию в сером веществе спинного мозга нейронов и их окончаний, содержащих

медиаторы и их предшественники, ферменты, белки. При этом, чаще всего констатируется какая-либо область или ядро, где локализируются клетки, содержащие тот или иной маркер, без учета анализа всех структурно-функциональных зон его серого вещества.

В последние годы большое внимание уделяется выявлению структурно-функциональных характеристик нейронов спинного мозга, гетерогенность которых выходит далеко за рамки сложившихся представлений об их делении на пучковые (проекционные) и собственные. Интернейроны промежуточной зоны серого вещества преимущественно выполняют связующую функцию, как внутрисегментарную, так и межсегментарную, благодаря ипси- и контрлатеральным соединениям, а также соединениям между интернейронами дорсальных рогов и мотонейронами вентральных рогов спинного мозга (Гилерович и др., 2007; Jankowska et al., 2009; Miles et al., 2007; Stepien et al., 2010; Skup et al., 2012). Представления о том, как эти нейрональные соединения организованы и по какому принципу происходят взаимодействия между нейронами, до сих пор ограничены. Так, если есть прямые контакты между волокнами первичных афферентов и интернейронами (Ghamdi et al., 2009; Fenselau et al., 2011; Ruscheweyh et al., 2011), то есть такие же контакты между волокнами первичных афферентов и проекционными нейронами (Grudt, Perl, 2002; Polgár et al., 2008; Todd, 2010).

Общая характеристика всех интернейронов спинного мозга, изученных на сегодняшний день, заключается в том, что они получают комплексный мультисенсорный вход от афферентов различных типов и различного происхождения (Гилерович и др. 2009; Almarestani et al., 2007; Miles et al., 2007; Liu et al., 2010; Ruscheweyh et al., 2011; Levine et al., 2014). Функциональная организация спинного мозга активно обсуждается, а структурная организация серого вещества спинного мозга с точки зрения функциональных связей не имеет морфологического подкрепления. Связь структурных и функциональных особенностей нейронов позволит осмыслить имеющееся разнообразие спинальных нейронов и учитывать изменения нейронального состава серого вещества при различных патологических процессах. Исследование структурно-функциональной организации спинного мозга диктуется требованиями нейрофизиологии, неврологии, нейрохирургии, с позиций изменения различных структур – исполнителей функций (клеток, органов, систем) (Веселкин, Наточин, 2010), что составляет обширный класс патологии, определяемый как болезни нервной регуляции (Крыжановский, 1997; Одинак и др., 2009; Цыган, 2013; Корнева, 2016; Чумасов и др. 2018; Белокоскова, Цикунов, 2018).

Данные литературы свидетельствуют о сложной организации спинномозгового узла как афферентного центра, его разнообразных связях, наличии специфических возрастных и сегментарных особенностей нейрохимической организации (Мотавкин, Охотин, 1983; Ковригина, Филимонов, 1998; Золотарев, Ноздрачев, 2001; Рагинов, Чельшев, 2003; Коржевский и др., 2010; Петрова и др., 2012; Маслюков и др., 2014; Колос, Коржевский, 2016; Liu, Ma, 2011; Ladd et al., 2012; Lloyd, 2013; Medici, Shortlan, 2015; De Moraes et al., 2017).

Сопоставление функциональных с морфологическими и изначальными нейрохимическими характеристиками может оказаться перспективным для идентификации топографии и структурно-морфофункциональных свойств нейронов спинного мозга и чувствительных узлов в их постнатальном развитии. Этапы развития определенных функций определяются пластичностью развивающейся нервной системы (Одинцова, Слуцкая, 2009; Раевский, 2011; Сотников, 2013; Бажанова и др. 2016; Мухин и др., 2017; Fitzgerald, Jennings, 1999; Fiumelli, Woodin, 2007; Wilhelm et al., 2009; Pytel et al., 2011; Punnakkal et al., 2014). Знание о точных временных периодах онтогенеза во время развития спинного мозга прольет свет на механизмы, играющие роль в определении последствий при поражениях структур, происходящих в определенный временной промежуток онтогенеза.

Степень разработанности темы исследования. Современные представления о строении серого вещества спинного мозга у млекопитающих основываются на изучении различных животных (Яценко, Лютикова, 2012; Сокульский и др., 2014; Фасухутдинова и др., 2015; Molander et al., 1984, 1989; Schoenen, Faull, 2004; Calka et al., 2008; Heise, Kayalioglu, 2009; Torres-da-Silva et al., 2016). Критерии определения границ пластинок и ядер серого вещества усложняются выявленной уровневой (сегменты), возрастной, половой и видовой специфичностью (Пивченко, 1993; Меркульева и др., 2016; Nogradi, Vrbova, 2006; Freire et al., 2008; Sengul et al., 2013; Beliez et al., 2015). Учение о строении серого вещества спинного мозга имеет свои неопределенности, противоречия и условности, число которых увеличивается при изучении формы и размера тел нервных клеток. В литературе чаще встречается их качественная характеристика: мелкие - крупные, крупнее – мельче (Ahn et al., 2006; Freire et al., 2008; Pawlowski et al., 2013). Иногда приводятся размеры конкретных нейронов (Гилерович и др., 2007; Polgár et al., 2008; Todd, 2010). В части исследований пластинки и ядра спинного мозга, помимо топографических границ, разграничивают по направленности максимальных диаметров тел нервных клеток, ориентации и нейрохимической характеристике их отростков (Yasaka et al., 2007; Freire et al., 2009; Stepien et al., 2010). Функциональную принадлежность нейронов рассматривают в совокупности размерных и топографических характеристик нейронов серого вещества, соотнося с формой клеточных тел и аксональными проекциями (Miles et al., 2007; Stepien et al., 2010; Skup et al., 2012; Alvarez et al., 2013; Beliez et al., 2015). Таким образом, систематизация нейронов серого вещества спинного мозга базируется на исходных варибельных особенностях, обусловленных неоднородностью внутри-, межсегментарных и проекционных связей, структурных (форма, размер) и топографических характеристик, что всесторонне исследуется, дискутируется, но безусловно требует комплексного изучения.

Постнатальное развитие спинного мозга изучают в основном по метрическим параметрам его серого вещества, белого вещества и их количественным соотношениям (Писалева, 2013; Сокульский, 2014; Фасухутдинова и др., 2016; Sengul et al., 2012; Rasouli, Gholami, 2018). Данные о развитии серого вещества в

постнатальном периоде далеко неполные и противоречивые, определяются лишь в конкретной структуре (рога/пластинка/ядро) серого вещества путем сравнительного анализа выборочных возрастных периодов и только по отдельным характеристикам: или по топографии, или по клеточной плотности, или по количеству нейронов, или по форме нейронов, или по их размерам (Бурдей, 1984; Писалева, 2012; Яценко, Лютикова, 2012; Molander et al., 1989; Lorenzo et al., 2008; Maya et al., 2014).

Исследования эмбриогенеза внесли существенный вклад в понимание с одной стороны – многообразия нейронов спинного мозга, с другой – сходства многих из них по нейрохимическим признакам. Нейрональные эмбриональные классы формируют функциональные группы клеток, которые могут быть определены генетически, физиологически, морфологически, нейрохимически (Pillai et al., 2007; Alaynick et al., 2011; Dyck et al., 2012; Hori, Hoshino, 2012; Lu et al., 2015; Floyd et al., 2018).

Большинство структурных типов нейронов спинного мозга характеризуется определенными нейрохимическими особенностями (Alvarez, Fyffe, 2007; Todd, 2010; Ueno et al., 2011; Polgár et al., 2013; Merkulyeva et al., 2016). Накопленные к настоящему времени данные о нейрохимической характеристике нейронов спинного мозга (Черток, Коцюба, 2013; Колос, Коржевский, 2016; Kato et al., 2009; Park et al., 2011; Kim et al., 2012; Sławińska et al., 2014; Moiseev et al., 2019) только закладывают основы их идентификации, без чего невозможно установление основы межнейронных связей. Интеграция морфологических и функциональных данных в виде общей концепции структурно-функциональной организации серого вещества спинного мозга отсутствует, установить четкое представление о их становлении в процессе нейроонтогенеза до сих пор не представлялось возможным.

Морфологическое разнообразие нейронов в узлах периферической нервной системы обычно устанавливается по неравнозначности нервных клеток по размерам, их диаметру, числу отростков, характеру базофильной субстанции, по содержанию различных белков, липидов, ферментов, медиаторов (Рагинов, Челышев, 2003; Коржевский и др., 2010; Васильева и др., 2011; Russo et al., 2010; Ghorbani et al., 2013; Russel et al., 2014; Sankaran et al., 2016; de Moraes et al., 2017; Schwarz et al., 2019). Однако анализ представляемых исследователями результатов работ затрудняется различиями в использованных методах исследования и животных, а также несопоставимостью по виду, полу и возрасту.

Цель исследования: изучить структурно-функциональную организацию серого вещества грудного отдела спинного мозга и спинномозгового узла у взрослой крысы и закономерности их развития в течение первого года жизни.

Задачи исследования:

1. Определить топографию и размеры рогов, центральных структур, пластинок и ядер в сером веществе второго грудного сегмента спинного мозга у взрослой крысы и в постнатальном онтогенезе.

2. Изучить количественный состав, плотность расположения нейронов с выделением конкретных структурных типов в пластинках и ядрах серого вещества спинного мозга у взрослой крысы и в постнатальном онтогенезе.
3. Исследовать распределение нейронов с различными морфофункциональными особенностями по их нейрохимическому составу (холинацетилтрансфераза, TRPV1, вещество Р, кальцитонин-ген-родственный пептид, белок нейрофиламентов 200 кДа, кальбиндин 28 кДа, нейрональная NO-синтаза и НАДФН-диафораза) в пластинках и ядрах серого вещества спинного мозга у крысы в постнатальном онтогенезе.
4. Изучить морфометрические и нейрохимические (выявление TRPV1, вещества Р, кальцитонин-ген-родственного пептида, белка нейрофиламентов 200 кДа, кальбиндина 28 кДа, нейрональной NO-синтазы и НАДФН-диафоразы) характеристики нейронов чувствительного узла спинномозгового нерва у взрослой крысы, в постнатальном онтогенезе и на различных сегментарных уровнях.
5. Определить структурно-функциональную организацию нейрональных «нейрохимических кластеров» спинного мозга и спинномозгового узла.

Научная новизна. Впервые определены топография и морфометрические параметры (площадь) всех областей (рогов, промежуточной зоны, центральных структур, пластинок, ядер) серого вещества второго грудного сегмента спинного мозга в постнатальном онтогенезе крысы. Впервые установлена гетерохронность периодов роста рогов и промежуточной зоны спинного мозга, обусловленная неравномерностью увеличения площадей пластинок их образующих. Впервые показана разнонаправленность постнатального развития частей спинномозгового поля X и участие пластинки IV дорсального рога спинного мозга в формировании дорсальной серой спайки. Впервые установлена гетерохронность окончательного расположения функционально различных ядер в сером веществе грудного отдела спинного мозга, обусловленная их смещением в сером веществе в вентральном направлении. Проведен полный количественный анализ нейронов пластинок и ядер с выделением структурных типов нейронов по форме их клеточных тел, что позволило персонифицировать нейроны, и может использоваться для идентификации спинальных интернейронов. Впервые показано, что уменьшение клеточной плотности сопровождается увеличением абсолютного количества нейронов в пластинках поверхностной области дорсального рога до 10 дневного возраста крысы. Выявлена более ранняя (30 дневный возраст) по сравнению с пластинками (90-дневный возраст) постнатальная стабилизация размеров нейронов, определяемая по их площади сечения, в функционально различных ядрах спинного мозга. Впервые детально рассмотрено распределение TRPV1, вещества Р, кальцитонин-ген-родственного пептида, белка нейрофиламентов 200 кДа, кальбиндина 28 кДа, нейрональной NO-синтазы и НАДФН-диафоразы в сером веществе спинного мозга и в спинномозговом узле одного сегментарного уровня, холинацетилтрансферазы в структурах серого вещества спинного мозга в постнатальном онтогенезе. Принципиально новыми

являются данные о топографической обособленности и приуроченности популяций позитивных нейронов к конкретным пластинкам и ядрам, что является определяемым в трехдневном возрасте крысы. Впервые продемонстрирована структурная чувствительность и специфика различных гистохимических методов выявления НАДФН-диафоразы в нейронах спинного мозга и спинномозгового узла различных сегментарных уровней.

Теоретическая и практическая значимость. Теоретическое значение исследования заключается в том, что впервые комплексно установлена структурно-функциональная обусловленность серого вещества спинного мозга и чувствительного узла спинномозгового нерва одного сегментарного уровня. На основе выявленных закономерностей обосновывается и формулируется необходимость в интеграции структурных и функциональных данных с целью выяснения всей совокупности местных пространственных межнейрональных взаимодействий на спинальном уровне. Полученные данные детализируют топографические особенности пластинчатой и ядерной организации второго грудного сегмента спинного мозга. Представленные структурные и нейрхимические особенности расширяют представления о развитии, строении и нейронном составе пластинок, ядер серого вещества спинного мозга и чувствительного узла спинномозгового нерва и могут быть использованы как нормативные: при изучении функциональных особенностей на этапах постнатального онтогенеза; при изучении становления центральной и периферической нервной системы в пренатальном онтогенезе; при изучении адаптивных реакций при воздействии различных средовых факторов, в том числе при изучении гипогравитации и космических полетов. На основе полученных представлений возможен анализ последствий в экспериментальных моделях сенсорной депривации с ослаблением или перерывом межнейрональных связей, генетически обусловленных или образовавшихся в индивидуальном развитии. Для экспериментальных и электрофизиологических исследований представляют интерес данные по пластинчатой цитоархитектонике, функциональной гистотопографии серого вещества спинного мозга. Практическую значимость представляют данные гистохимического выявления НАДФН-диафоразы различными методами, которые позволяют модифицировать полученные результаты. Кроме этого, полученные результаты определяют направления дальнейших исследований и могут быть применимы в сравнительных исследованиях в ряду позвоночных, при изучении процессов старения и дегенеративных болезней, которые сопровождаются дезинтеграцией центральной нервной системы. Результаты работы свидетельствуют о необходимости учета архитектоники сегментарного уровня спинного мозга и могут быть использованы для комплексной оценки в исследованиях уровневой организации спинного мозга и соответствующих спинномозговых узлов.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Пластинчатая и ядерная организация серого вещества грудного отдела спинного мозга определяется в первую неделю жизни крысенка. Установление

окончательного расположения ядер в сером веществе сопровождается их вентральным смещением. Постнатальное формирование центральных структур серого вещества спинного мозга – поля Х происходит вне связи с рогами и промежуточной зоной спинного мозга.

2. Становление количественных характеристик и структурных особенностей нейронов пластинок и ядер серого вещества является гетерохронным. Общие закономерности заключаются в уменьшении клеточной плотности и увеличении площади сечения нейронов, как в пластинках, так и в ядрах серого вещества с возрастом крысы.

3. В сером веществе спинного мозга функционирует нейрохимический кластер нейронов, различающихся по своим структурно-функциональным характеристикам. Клеточные группировки являются топографически обособленными уже в трехдневном возрасте крысенка, в большинстве своём количественно стабильны, сопровождаются гетерохронным ростом нейронов.

4. В спинномозговом узле определяется кластерная локализация нейронов, обусловленная структурной и химической гетерогенностью нейронов. При различных наборах размерных классов в популяциях нейронов узла стабилизация их количественного представительства отмечается до 90-дневного возраста.

Методология и методы исследования. Исследование выполнено в Центре нейробиологических исследований кафедры нормальной физиологии с биофизикой ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Выбор постнатальной периодизации обусловлен тем, что она включает в себя комплекс динамических показателей функционального роста белых крыс линии Вистар, которые применялись в исследовании. Комплексное исследование всех звеньев и клеточных элементов спинальной рефлекторной дуги явилось определяющим в выборе объектов одного сегментарного уровня.

Выбор второго грудного сегмента спинного мозга обусловлен как отсутствием центров иннервации конечностей на этом сегментарном уровне, так и присутствием в сером веществе функционально различных групп нейронов, которые включают не только сенсорные интернейроны и мотонейроны, но и нейроны автономной нервной системы, локализованные в промежуточной зоне спинного мозга в виде симпатических ядер (Ноздрачев, Поляков, 2001). Выбор животного в 90 дневном возрасте для первоначального анализа обусловлен имеющимися данными по видовой, уровневой архитектонике серого вещества спинного мозга у взрослых животных, что позволило в последующем детально анализировать аналогичные структуры в процессе развития крысы.

Терминология структур серого вещества приведена в соответствии с Международными: ветеринарной анатомической – МВАН (Зеленевский, 2013) и *Nomina Anatomica Veterinaria* (NAV, 2017), анатомической – МАТ (Колесников, 2003), гистологической (Банин, Быков, 2009) и нейроанатомической (ТНА, 2017,

<http://FIPAT.library.dal.ca>) номенклатурами. Вертикальная ориентация человека и горизонтальная – животных обязала использовать универсальную биологическую терминологию – вентральный, дорсальный, ростральный, каудальный, поперечный, когда речь идет об ориентации структур спинного мозга, направленности тел нейронов, их отростков у исследуемой крысы.

Для достижения поставленной цели и решения задач использованы высокоинформативные медико-биологические методы, включая статистические. Серийные срезы спинного мозга и узла были смонтированы последовательно на пяти предметных стеклах таким образом, чтобы на каждом стекле был соответственно только каждый первый, второй, третий, четвертый или пятый из серии срезов. Приготовленные таким образом свежемороженые срезы использованы одновременно для гистологического, гистохимического и иммуногистохимического методов. Данный принцип подготовки гистологических срезов позволил минимизировать количество крыс, используемых в исследовании, так как объекты, полученные от одного животного, окрашивались различными методами.

Нейрохимический анализ проведен методом флюоресцентной микроскопии с помощью программного обеспечения путем позиционирования (объединения) гистологических изображений одного и того же поля зрения, полученных мультиканальной флюоресценцией с различными спектрами флюорохромов.

Степень достоверности и апробация результатов исследования. Степень достоверности полученных научных результатов основана на использовании современных методов исследования, адекватных поставленным задачам, и математической обработке данных, полученных при анализе материала. В диссертации использованы современные иммуногистохимические методы, методы статистического анализа. Предлагаемый материал достаточен для получения аргументированных положений, выявления и установления закономерностей. Сформулированные в диссертации научные положения, выводы и рекомендации обоснованы теоретически и логично вытекают из основных положений диссертации. Выводы полностью соответствуют поставленным цели и задачам, опираются на полученные данные и результаты нейрохимического и нейроморфологического анализов.

Материалы исследований были представлены на V Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 100-летию со дня рождения академика В.Н. Черниговского (Санкт-Петербург, 2007); Международной конференции, посвященной 75-летию со дня рождения заслуженного деятеля науки РФ, члена-корреспондента РАМН, профессора Б.А. Никитюка «Проблемы современной морфологии человека» (Москва, 2008); Научной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения академика АМН СССР Д.А. Жданова (Москва, 2008); VII Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 160-летию со дня рождения И.П. Павлова «Механизмы функционирования висцеральных систем» (Санкт-Петербург, 2009);

VI Всероссийском съезде анатомов, гистологов и эмбриологов (Саратов, 2009); III Всероссийской конференции с международным участием «Медико-физиологические проблемы экологии человека» (Ульяновск, 2009); Научно-практической конференции с международным участием, посвященная 85-летию со дня рождения д.м.н. профессора П.Ф. Степанова (Смоленск, 2009); Международной научной конференции «Современные проблемы боли: механизмы возникновения и инновационные способы коррекции» (Минск, Беларусь, 2010); X Конгрессе международной ассоциации морфологов (Ярославль, 2010); Научно-практической конференции, посвященной 110-летию со дня рождения академика НАН Беларуси Д.М. Голуба «Современные аспекты фундаментальной и прикладной морфологии» (Минск, Беларусь, 2011); XIV Международном совещании и VII школе по эволюционной физиологии, посвященным памяти академика Л.А. Орбели (Санкт-Петербург, 2011); 9-ом, 10-ом, 11-ом, 12-ом, XIII, XIV, XV Международных междисциплинарных конгрессах «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, 2011; 2012; 2013; 2014; 2015; 2016; 2017; 2018; 2019); III Эмбриологическом симпозиуме Всероссийского научного медицинского общества анатомов, гистологов, эмбриологов "ЮГРА-ЭМБРИО-2011. Закономерности эмбрио-фетальных морфогенезов у человека и позвоночных животных» (Ханты-Мансийск, 2011); Международной научной конференции посв. 100-летию со дня рождения проф. Б.З. Перлина «Актуальные вопросы морфологии» (Кишинэу, Молдавия, 2012); VIII Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 220-летию со дня рождения академика К.М. Бэра «Механизмы функционирования висцеральных систем» (Санкт-Петербург, 2012); XI Конгрессе международной ассоциации морфологов (Самара, 2012); Научно-практической конференции, посвященной памяти профессора Е.Ф. Ларина «Нейрогуморальные механизмы регуляции висцеральных функций в норме и при патологии» (Томск, 2013); XXII Съезде Физиологического общества имени И.П. Павлова (Волгоград, 2013); Научно-практической конференции с международным участием, посвящ. 85-летию со дня рождения заслуж. деятеля науки РБ, лауреата Гос. премии РБ, проф., д.м.н. П.И. Лобко «Морфология – медицинской науке и практике» (Минск, Беларусь, 2014); Научной конференции с международным участием, посвященной 70-летию Ярославской государственной медицинской академии «Современные проблемы нейробиологии» (Ярославль, 2014); Объединенном XII Конгрессе международной ассоциации морфологов и VII Съезде Всероссийского научного медицинского общества анатомов, гистологов и эмбриологов (Тюмень, 2014); Всероссийской научной конференции с международным участием «Экологические аспекты морфогенеза» (Воронеж, 2015); Научно-практической конференции с международным участием, посвящ. 115-летию со дня рожд. акад. Д.М. Голуба (Минск, Беларусь, 2016); V Съезде физиологов СНГ (Сочи, 2016); XIII Конгрессе Международной ассоциации морфологов (Петрозаводск, 2016); II Всероссийской научной конференции с международным участием (Ярославль, 2016); XXIII Съезде Физиологического общества имени И.П. Павлова (Воронеж, 2017); XIV Конгрессе

Международной ассоциации морфологов (Астрахань, 2018); III международной научной конференции, посвященной памяти заслуженного деятеля науки РФ, профессора В.В. Шилкина (Ярославль, 2018); Международной конференции «Инновационные исследования в области биомедицины» памяти академика В.Н. Ярыгина (Москва, 2019); VIII Съезде Научного медицинского общества анатомов, гистологов и эмбриологов (Воронеж, 2019); 11 Congress of the International Society for Autonomic Neuroscience (California, Los Angeles, 2019), Всероссийской конференции с международным участием «Интегративная физиология», посвященной 170-летию со дня рождения И.П. Павлова, (Санкт-Петербург, 2019), VI Съезде физиологов СНГ (Сочи, 2019).

Публикации. По результатам исследований опубликовано 75 научных работ, среди которых 29 статей в рецензируемых журналах из списка ВАК, 1 глава в монографии на английском языке.

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, методической главы и четырех глав собственных исследований с описанием результатов, их обсуждения и заключениями, а также общего заключения, выводов и списка литературы. Диссертация изложена на 438 страницах, содержит 24 таблицы и иллюстрирована 66 рисунками. Список литературы включает 537 источников, из которых 125 отечественных и 412 иностранных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Исследование выполнено на 174 самках крыс линии Вистар. Животные содержались в стандартных условиях вивария. Сроки взятия материала (Табл. 1) конкретизировались в соответствии с периодизацией постнатального развития белой крысы (Махинько, Никитин, 1975). Объектами исследования служили нейроны чувствительного узла второго грудного спинномозгового нерва и серого вещества второго грудного сегмента спинного мозга, исследовались правые узлы и правая половина серого вещества спинного мозга.

Эвтаназию животных осуществляли под уретановым наркозом (3 г/кг, внутривенно) путем транскардиальной перфузии физиологического раствора с гепарином (5 Ед/л), затем 4% раствора параформальдегда на 0,1М фосфатном буфере (рН 7,4) (БиолоТ, Россия). Выделенные узел и сегмент спинного мозга дополнительно фиксировали в течение 2 часов в 4% растворе параформальдегда на 0,1М фосфатном буфере (БиолоТ, Россия), после чего промывали трехкратно по 10 мин в физиологическом растворе на 0,01 М фосфатно-солевом буфере (рН 7,4). Последующую крипротекцию проводили в 30% растворе сахарозы в течение 24 час (t 40С). На криостате Shandon E (Thermo Scientific, Великобритания) готовили поперечные срезы спинного мозга толщиной 14 мкм, узла – 20 мкм, на каждое стекло осуществляли нарезку до 10 срезов.

Таблица 1. Периоды постнатального развития белой крысы с указанием сроков взятия исследуемого материала

Фаза жизненного цикла	Функциональные периоды развития			Возраст крысы в момент забора материала (день жизни)
	Константы роста	Название периода	Возраст по периодам (сутки)	
Фаза прогрессивного роста	Первое удвоение веса	Ранний молочный	0-7	3 5 7
	Второе удвоение веса	Средний молочный	8-15	10 15
	Третье удвоение веса	Поздний молочный	16-30	20 30
	Четвертое удвоение веса	Предпубертатный	31-60	60
	Пятое удвоение веса	Пубертатный	61-120	90 120
	Шестое удвоение веса	Репродуктивный	121-210	150 180
Фаза стабильного роста	Полное развитие, рост максимальной величины	Возмужание	211-270	240
		Зрелость 1-я	271-450	360

Окраску гистологических срезов осуществляли тионином по методу Ниссля, гистохимическими методами, описанными Р. Лилли (1969) и V.T. Норе, S.R. Vincent (1989) для выявления НАДФН-диафоразы (НАДФН-д). Иммуногистохимическими методами определяли экспрессию TRPV1, вещества Р (ВП), кальцитонин-ген-родственного пептида (КГРП), холинацетилтрансферазы (ХАТ), белка нейрофиламентов 200 кДа (НФ200), кальбиндина 28 кДа (КАБ), нейрональной синтазы оксида азота (nNOS) (непрямым методом). Вторичные антитела конъюгировали с флюорохромами FITC (Jackson ImmunoResearch Laboratories, США), дающим зеленую флюоресценцию нейронов и Cy3 (Jackson ImmunoResearch Laboratories, США), дающим красную флюоресценцию нейронов. Окраску клеток всей популяции интернейронов проводили красителем, флюоресцирующим в красной области спектра, NeuroTrace Red Fluorescent Nissl Stains (Molecular Probes, США). Окрашенные иммуногистохимическим методом срезы исследовали с помощью флюоресцентного микроскопа Олимпус ВХ43 (Olympus Corporation, Япония), оснащенного набором фильтров-блоков. Гистологические срезы, окрашенные тионином и гистохимическими методами выявления НАДФН-д исследовали в светлом поле. Изображения всех окрашенных гистологических срезов получали посредством цифровой видеокамеры ТСС-5.0ICE (Tucsen, Китай).

Изображения гистологических препаратов, полученных методом флюоресцентной микроскопии, позиционировали с помощью программного

обеспечения Paint Shop Pro 7.02 в комбинациях: для выявления одного маркера FITC (зеленый) + Red Nissl Stains (красный); для выявления ко-экспрессии двух маркеров: FITC (зеленый) + Cy3 (красный). Объединенные изображения отображали зоны перекрытия зеленого и красного градиентов в виде гаммы цвета – от желто-зеленого до зеленого. Последующий анализ нейрональных структур серого вещества спинного мозга и спинномозгового узла осуществляли с помощью программы Image J (NIH, США). Проводили измерение площади пластинок и ядер серого вещества, подсчет количества нейронов с определением клеточной плотности на стандартной площади (0,001 мм²), определяли размер нейронов (площадь сечения). По значениям площади нейронов клеточный состав узлов был разбит и сгруппирован в 5 размерных классов: до 300 мкм² (очень малые), 301-600 мкм² (малые), 601-900 мкм² (средние), 901-1200 мкм² (крупные), более 1201 мкм² (очень крупные). Клеточный состав пластинок серого вещества спинного мозга был разбит на 3 размерных класса: до 200 мкм² (малые), 201-400 мкм² (средние), более 401 мкм² (крупные). Долю позитивных нейронов определяли, как их отношение к общему числу нейронов, которое принимали за 100%. Нейроны подсчитывали на изображениях срезов узлов, срезов спинного мозга в границах пластинок и ядер.

Обработку данных проводили с использованием программы Statistica, версия 10 (StatSoft, Inc., 2011). Полученные данные представлены в виде $X \pm S_x$, где X – среднее значение, S_x – стандартная ошибка среднего. Сравнения двух групп наблюдения (разных возрастов животного) проводили с использованием t-критерия Стьюдента. Учитывая количество групп сравнения (более двух) и то, что полученные выборки были разного объема, для детального поиска различий в исследовании применяли однофакторный дисперсионный анализ вариаций ANOVA и критерий Тьюки Post-hoc анализа. Различия принимали статистически значимыми при $P \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Серое вещество грудного спинного мозга у взрослой крысы

На поперечном срезе серого вещества спинного мозга у крысы в 90-дневном возрасте превалирует по размерам, и более наглядно выражен – дорсальный рог, в котором ясно видимы головка и его суженая часть – шейка, последняя без четко идентифицируемых границ основания переходит медиально в заднюю серую спайку и вентрально в промежуточную зону спинного мозга. Относительно меньшая область серого вещества выступает вперед, формируя вентральный рог. Менее отчетливо выделяется по латеральному краю промежуточной зоны латеральный рог. В научной литературе промежуточный столб спинного мозга у грызунов, в частности у крыс, не разграничивается на центральное и латеральное промежуточное вещество и однозначно трактуется как промежуточная зона спинного мозга, а имеющаяся пластинчатая организация серого вещества у млекопитающих предусматривает выделение поля X, к которому относится серое вещество окружающее центральный канал, включая серые спайки (Steiner, Turner, 1972; Barber et al., 1982, 1984; Molander et al., 1984, 1989; Grant, Koerber, 2004; Sengul et al., 2013). Анализ поля X включал

соответствующую область не только правой, но и левой половины спинного мозга в виду центральности (срединности) этой структуры спинного мозга.

Планиметрический анализ поперечного среза спинного мозга показал, что площадь правой половины серого вещества T2 сегмента составила 0,952 мм². Более половины серого вещества приходится на дорсальный рог – 0,534 мм² (56,1%), минимальную площадь занимает поле X – 0,039 мм² (4,1%). Соотношение относительных величин по средним значениям площадей промежуточной зоны и вентрального рога составило 0,204 мм² (21,4%) и 0,175 мм² (18,4%) соответственно.

Пластинчатая организация серого вещества. Выделение границ между пластинками возможно с учетом их cito- и дендроархитектоники. В области головки дорсального рога спинного мозга располагаются пластинки I, II, III, IV. Место перехода головки в шейку является наиболее суженной частью дорсального рога и одновременно границей, отделяющей пластинку IV от пластинки V. Большую, узкую часть дорсального рога – его шейку, занимает пластинка V – центральную и латеральную области рога, меньшую часть – область медиального края – пластинка IV. Таким образом, в T2 сегменте спинного мозга взрослой крысы верхушка дорсального рога образована только пластинкой I, что показано у всех млекопитающих (Molander et al., 1989; Grant, Koerber, 2004; Schoenen, Faull, 2004; Sengul et al., 2013). В головке дорсального рога располагаются пластинки II, III и IV, что характерно и для мыши (Steiner, Turner, 1982; Sengul et al., 2013), но отличается как от данных MAT (2003), так и от данных, полученных на различных млекопитающих, включая человека (Rexed, 1952; Пивченко, 1993; Schoenen, Faull, 2004), в которых головка рога образована только пластинкой II. Пластинка IV пересекает срединную линию у крысы только в сегментах L3-S4 (Molander et al., 1984, 1989; Grant, Koerber, 2004), но в части работ показано, что интернейроны области медиального края дорсального рога участвуют в формировании дорсальной комиссуральной области всего спинного мозга, соединяя правый и левый дорсальные рога спинного мозга мыши (Zhang et al., 2014). Установленная топография пластинки IV у взрослой крысы соответствует нескольким областям: дорсальной части головки – поперечное расположение, медиальным частям шейки и основания дорсального рога – продольное расположение в области медиального края рога; и дорсальной части поля X – дорсальной серой спайке – поперечное расположение.

Распределение относительных величин по средним значениям площадей пластинок к общей площади серого вещества показало, что большая часть дорсального рога представлена пластинками IV (0,155 мм²) и V (0,166 мм²), на долю которых приходится 16,3% и 17,5% соответственно, меньшую часть рога занимает пластинка I – 0,027 мм² (2,8%). Пластинки II (0,087 мм²) и III (0,089 мм²) по показателям значимо не отличаются – 9,1% и 9,4% соответственно. Пластинка VII промежуточной зоны составляет 12,5% (0,119 мм²).

Промежуточная зона спинного мозга образовано пластинкой VII, которая отделена от пластинки V дорсального рога "разделительными" интернейронами (Barber et al., 1984), формирующими клеточную цепочку от дорсальной серой спайки

поля X до латерального края серого вещества спинного мозга вблизи и чуть дорсальнее области латерального рога. Граница, отделяющая пластинку VIII вентрального рога от пластинки VII, проходит вентральнее, как от вентральной серой спайки, так и от латерального рога, но дорсальнее вентролатеральной группы мотонейронов пластинки IX. Пластинка VIII внедряется в вентральный рог и соседствует с пластинкой IX. Пластинку IX образуют крупные и мелкие многоугольные и треугольные нейроны, которые формируют две выраженные группы в апикальной (верхушечной) области рога. Одна группа локализуется в медиальной области рога – вентромедиальная группа мотонейронов, другая – в латеральной области рога – вентролатеральная группа мотонейронов.

Большая часть вентрального рога образована пластинкой VIII, на долю которой приходится 12,1% (0,115 мм²) от всей площади серого вещества, в два раза меньший процент приходится на пластинку IX, в которой вентромедиальная и вентролатеральная группы мотонейронов занимают 3,0% (0,029 мм²) и 3,3% (0,031 мм²) соответственно.

Интернейроны поля X отличаются от рядом расположенных клеток пластинок IV и VII, дорсального и промежуточно-медиального ядер, более мелкими размерами и кучностью расположения вокруг центрального канала. Граница поля X проходит дорсовентрально латеральнее центрального канала, смежно с пластинкой VII промежуточной зоны спинного мозга. Поле X топографически разделено нами на области: непосредственно дорсальную и вентральную серые спайки – области, расположенные кпереди и кзади от центрального канала (МАТ, 2003; NAV, 2017) и входящие в состав поля X (ТНА, 2017); правую и левую центральные части – области серого вещества, расположенные около центрального канала и ограниченные вентрально и дорсально соответствующими серыми спайками, а латерально пластинкой VII. Большую часть поля X занимают серые спайки, на долю которых приходится 2,9%: дорсальная серая спайка (1,5%) чуть превышает площадь вентральной (1,4%) серой спайки. Правая и левая центральные части значительно не различаются: на каждую приходится по 0,6%.

Ядерная организация серого вещества. В дорсальном роге располагаются ядра, которые соответствуют его пластинкам, топография их описана выше: краевое ядро – пластинка I; студенистое вещество – пластинка II; собственное ядро – пластинки III и IV. В медиальной области основания дорсального рога на стыке двух пластинок различных частей серого вещества спинного мозга – пластинки V дорсального рога и пластинки VII промежуточной зоны определяется область расположения нейронов дорсального ядра или заднего грудного ядра (МАТ, 2003; ТНА, 2017), или грудного ядра (NAV, 2017; МВАН, 2013), у крысы описываемого как дорсальное ядро (Barber et al., 1982, 1984; Molander et al., 1984, 1989; Grant, Koerber, 2004; Sengul et al., 2013).

Дорсальное ядро имеет овальную форму, сжатую дорсовентрально, включает клетки различных размеров с различной ориентацией клеточных тел и проксимальных частей отростков, что отличает область ядра от дорсомедиальной

направленности клеточных тел рядом располагающейся области медиального края дорсального рога спинного мозга (пластинка IV) и поперечной направленности мелких клеток дорсальной серой спайки (поле X), и от дорсовентральной направленности клеток медиальной части пластинки V. Неупорядоченная ориентация клеточных тел в ядре позволяет отличить его от разделительных клеток пластинки VII и интернейронов дорсальной серой спайки поля X. Топографически область дорсального ядра расширяется в каудальном направлении спинного мозга (Sengul et al., 2012), но не выходит за пределы дорсального рога в T2 сегменте спинного мозга, располагаясь на границе пластинок IV и V у мыши (Sengul et al., 2013). У крысы дорсальное ядро локализуется более вентрально и прослеживается в верхних грудных сегментах спинного мозга не только в дорсальном роге, но и в промежуточной зоне спинного мозга (Grant, Koerber, 2004), что также наблюдается и в нашей работе. У грызунов форма ядра является округлой, овальной или овоидной (Molander et al., 1984, 1989; Sengul et al., 2012), в отличие от кошек, у которых наблюдается шаровидная форма ядра, а уплощение ядра и смещение его в сером веществе в дорсолатеральном направлении является характерным только для самого каудального уровня его локализации – L3-L4 у кошки (Меркульева и др., 2016) и L2 у крысы (Molander et al., 1984). Расположение дорсального ядра исключительно в промежуточной зоне спинного мозга согласно современной терминологии, по-видимому, обусловлено первоначально описанной ламинарной организацией серого вещества спинного мозга с топографией столбов Кларка у кошки – более вентрально в медиальной части пластинки VII, распространяясь от T3-4 до L3-4 сегментов спинного мозга (Rexed, 1952). Дорсальное ядро имеет площадь 0,019 мм², располагается в медиальных частях пластинок V (0,0095 мм²) и VII (0,0095 мм²), медиально примыкает к дорсальной серой спайке поля X, дорсально к пластинке IV.

Промежуточно-медиальное ядро имеет шаровидную форму и является смежным, располагаясь в медиальной части промежуточной зоны на стыке пластинки VII и поля X таким образом, что оказывается встроенным в эти обе пластинки. Ядро содержит нейроны с различной ориентацией тел и направленностью их отростков, кучность расположения которых позволяет отличить нейрональный состав ядра от клеток пластинки VII и поля X, имеет площадь 0,011 мм², располагается на границе медиальной части пластинки VII (0,0095 мм²) и центральной части поля X (0,0019 мм²).

Вставочное спинномозговое ядро располагается вентральнее разделительных нейронов пластинки VII в промежуточной зоне спинного мозга в виде узкой полоски клеток с характерной медиолатеральной (поперечной) направленностью продольных размеров клеточных тел. Клетки ядра по их отросткам прослеживаются от дорсальной серой спайки поля X, располагаясь дорсальнее промежуточно-медиального ядра и вентральнее дорсального ядра, до латерального рога спинного мозга. В области латерального рога нейроны группируются в главное симпатическое ядро. Таким образом, у крысы вставочное ядро локализуется исключительно в промежуточной зоне спинного мозга – в центральной части пластинки VII, клетки которого

формируют «мостик» или «дорожку», соединяющие промежуточно-латеральное ядро с центральным автономным полем, локализованным, вероятно, в дорсальной серой спайке поля X. Площадь вставочного ядра составляет 0,030 мм².

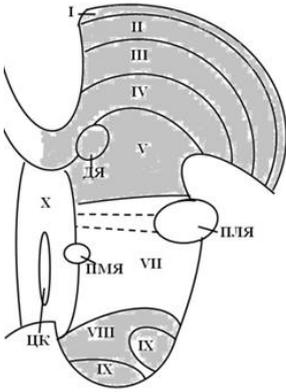
Промежуточно-латеральное ядро располагается в области латерального рога, имеет шаровидную форму. Клетки ядра четко идентифицируются в области латеральной трети пластинки VII и представлены нейронами, превышающими размеры таковых вставочного ядра, имеющие также различную ориентацию и направленность отростков. Площадь промежуточно-латерального ядра составляет 0,035 мм².

Планиметрический анализ показал, что доля серого вещества, которую занимают ядра от всей его площади, составила: для дорсального ядра – 2,0%, для промежуточно-медиального – 1,2%, для вставочного – 3,2%, для промежуточно-латерального – 3,7%.

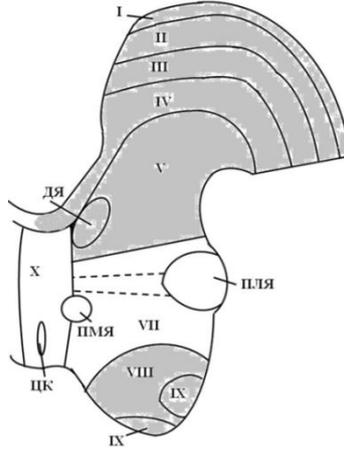
Особенности серого вещества грудного спинного мозга в постнатальном онтогенезе

Изменения в строении серого вещества на поперечном срезе спинного мозга в постнатальном онтогенезе изображены в виде схем на *Рисунке 1*. Площадь серого вещества T2 сегмента спинного мозга более интенсивно увеличивается в первые 20 дней жизни (в 2,7 раза) и менее интенсивно в последующие возраста, к 180-дневному возрасту площадь становится больше в 3,4 раза. Превалирование размеров дорсального рога над вентральным рогом и промежуточной зоной спинного мозга прослеживается в течение всего изученного постнатального онтогенеза крысы. Тем не менее, постнатальный период роста серого вещества сопровождается выраженной гетерохронностью развития его частей, что заключается в увеличении площади вначале дорсального рога (с 5-дневного возраста), затем промежуточной зоны и вентрального рога (с 7-дневного возраста). Гетерохронность объясняется и последовательным вкладом в рост всего серого вещества наибольших приростов площадей: вначале дорсального рога (7-, 10-дневный возраст), затем промежуточной зоны (10-дневный возраст) и вентрального рога (10-, 15-дневный возраст). Особенно выделяется 10-дневный возраст, когда увеличение площади серого вещества обусловлено активным ростом всех его столбов. У взрослой крысы площадь серого вещества увеличивается преимущественно за счет роста дорсального рога и только в 180-дневном возрасте. Обособлено, вне связи со столбами серого вещества, происходит постнатальное формирование поля X. Средняя площадь поля X не меняется до 15-дневного возраста, в 20-дневном возрасте наблюдается отрицательный прирост показателя. В последующие возраста площадь поля X продолжает уменьшаться, сопровождаясь отрицательными приростами, наиболее значимыми в возрасте 60 и 240 дней жизни крысы. Выделив структуры поля X, разбив его на части, мы обнаружили неоднозначные перестройки в строении его структур, переломным периодом которых явился 20 день жизни крысы.

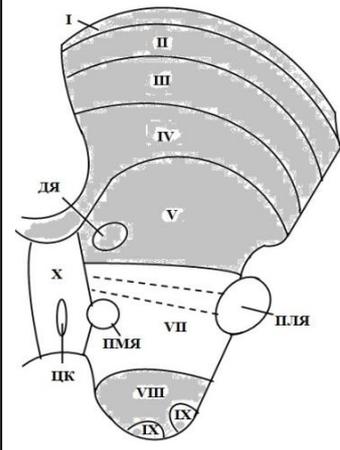
3-дневный



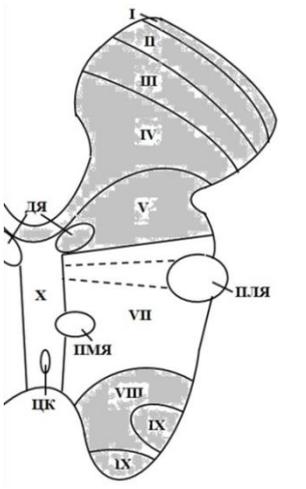
7-дневный



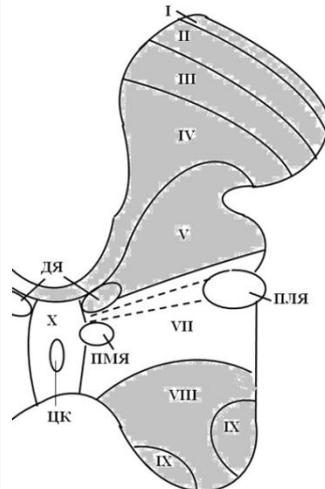
10-дневный



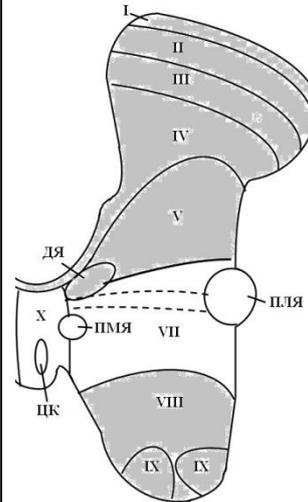
15-дневный



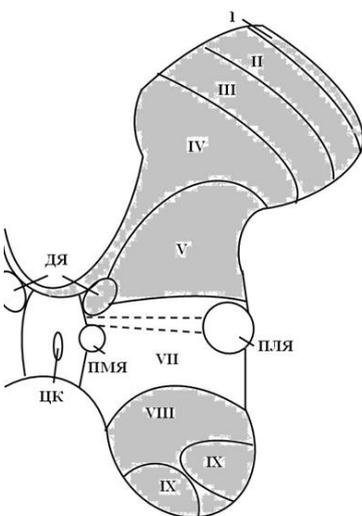
20-дневный



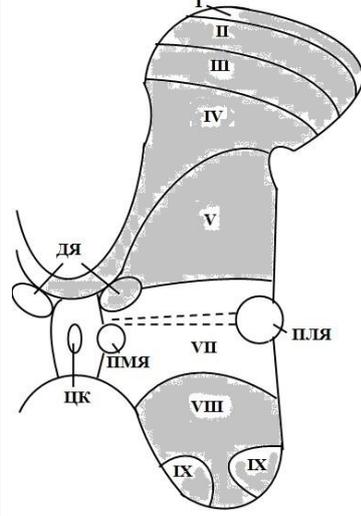
30-дневный



60-дневный



90-дневный



180-дневный

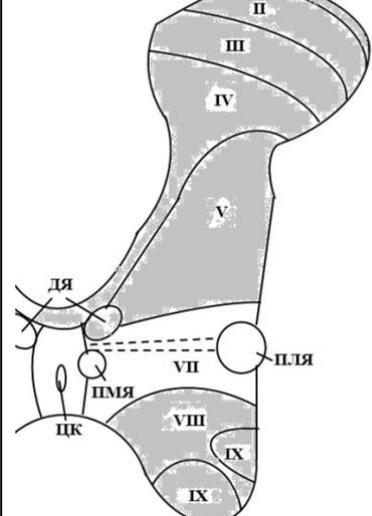


Рисунок 1. Серое вещество второго грудного сегмента спинного мозга в постнатальном онтогенезе крысы. На схемах цветом выделены пластинки и ядра дорсального рога (I, II, III, IV, V, ДЯ-дорсальное ядро) и вентрального рога (VIII, IX).

В первые 15 дней жизни отмечается увеличение площади дорсальной серой спайки, а с 20-дневного возраста площадь её уменьшается, и напротив, увеличивается площадь вентральной серой спайки, а также устанавливается стабильность размерных показателей центральных частей поля X.

При сопоставлении показателей трехдневного крысенка и крысы 90-дневного возраста обнаруживается отсутствие изменений в процентном соотношении дорсального рога и промежуточной зоны ко всему серому веществу, но увеличивается доля вентрального рога (почти в 2 раза) и уменьшается доля поля X (в 3,5 раза) (Табл. 2).

Таблица 2. Распределение частей серого вещества (%) по параметру площади на поперечном срезе второго грудного сегмента спинного мозга в различные возраста белой крысы

Возраст крысы	Дорсальный рог	Промежуточная зона	Вентральный рог	Поле X
3	56,07±0,79	20,44±0,47	9,29±0,18	14,20±0,26
5	58,42±0,90	19,85±0,43	9,13±0,16	12,60±0,13*
7	61,90±1,49	19,17±0,27	8,83±0,11	10,10±0,26*
10	55,71±1,51	24,88±0,55*	12,70±0,25*	6,71±0,06*
15	55,28±0,83	21,08±0,36	17,97±0,33*	5,67±0,15*
20	56,78±0,66	19,78±0,12	18,60±0,37	4,84±0,09*
30	56,00±0,63	20,96±0,14	18,34±0,28	4,70±0,05
60	56,21±0,37	21,38±0,16	18,20±0,31	4,21±0,04*
90	56,08±0,23	21,42±0,28	18,37±0,36	4,13±0,04
120	56,09±0,37	21,54±0,24	18,30±0,35	4,07±0,06
150	56,89±0,36	21,29±0,21	17,89±0,17	3,93±0,03
180	59,92±0,31*	20,61±0,24	15,98±0,26*	3,49±0,02*
240	60,32±0,43	20,24±0,18	16,22±0,29	3,22±0,04*
360	60,12±0,29	20,13±0,19	16,49±0,11	3,26±0,04

* - изменения достоверны в сравнении с данными предыдущего возраста, P<0.05

Как видно, возрастная перестройка процентного участия частей серого вещества в его формировании обусловлена преимущественным увеличением доли вентрального рога в раннем постнатальном онтогенезе – в возрасте 10 и 15 дней жизни, и уменьшением доли поля X в 5-, 7-, 10-, 15- и 20-дневном возрасте (максимально в 10-дневном возрасте). С 30-дневного возраста и до 150 дневного возраста процентное соотношение частей серого вещества значительно не меняется. Следующая перестройка частей серого вещества наблюдается в 180-дневном возрасте крысы вследствие увеличения доли дорсального рога и уменьшения долей других частей серого вещества, что сохраняется до 360-дневного возраста крысы.

Пластинчатая организация серого вещества второго грудного сегмента спинного мозга определяется в трехдневном возрасте крысенка, но топографического

соответствия взрослому 90-дневному возрасту крысы достигает только в 30-дневном возрасте. Конфигурация серого вещества, форма его частей, меняются в течение всего исследуемого временного отрезка постнатального онтогенеза, что возможно обусловлено изменениями плотности расположения клеток и их размеров в пластинках. Безусловно, постнатальное уменьшение клеточной плотности является неотъемлемым фактом постнатального развития органов центральной нервной системы. В связи с этим, требуется детальный количественный анализ возрастного изменения нейронального состава пластинок.

Ядерная организация серого вещества второго грудного сегмента спинного мозга также является определяемой в трехдневном возрасте крысенка для дорсального, промежуточно-медиального, вставочного и промежуточно-латерального ядер. Для всех ядер отношение их площадей ко всему серому веществу устанавливается стабильным с 10-дневного возраста и не меняется до 360-дневного возраста крысы. Наибольший прирост площади ядер наблюдается в возрасте 7 и 10 дней жизни крысы, что и определяет постнатальный период их активного роста.

Первым топографического соответствия достигает дорсальное ядро (20-дневный возраст), затем одновременно ядра симпатических преганглионарных нейронов – промежуточно-латеральное и вставочное спинномозговое (30-дневный возраст), позднее промежуточно-медиальное ядро (60-дневный возраст). Установление окончательного расположения ядер в сером веществе спинного мозга соответственно топографии взрослой 90-дневного возраста крысы обусловлено их перестройкой, вне зависимости от присущей функциональной специализации, которая сопровождается смещением ядер в вентральном направлении: для дорсального ядра – расширение его границ с локализацией в дорсальном роге и в промежуточной зоне; для промежуточно-медиального ядра – смещение из области дорсальной серой спайки в центральную часть поля X и соответствующую медиальную часть пластинки VII; для промежуточно-латерального ядра – смещение в центральную часть латеральной области пластинки VII; для вставочного спинномозгового ядра – смещение в центральную часть пластинки VII совместно с изменившейся топографией главного ядра. Тем не менее, в отличие от пластинок спинного мозга, процентное участие, определяемое по площади каждого изучаемого ядра, по отношению к площади всего серого вещества устанавливается стабильным в 10-дневном возрасте крысы.

Нейрональная организация серого вещества спинного мозга у взрослой крысы

Учение о пластинчатом строении серого вещества имеет свои неопределенности и условности, число которых увеличивается при изучении топографии, формы и размера тел нервных клеток. Несовпадение данных литературы о форме нейронов пластинок объясняется разницей в направлении срезов спинного мозга: на продольных срезах выявляется веретеновидная форма нейронов (Гилерович и др., 2007; Almarestani et al., 2007); на поперечных срезах она является округлой или овальной (Molander et al., 1989; Todd, 2010); при стереометрическом анализе нейрон

имеет пирамидальную форму, а при планиметрическом анализе – треугольную форму (Гилерович и др., 2007; M.E. Scheibel, A.B. Scheibel, 1968; Molander et al., 1984, 1989). Выделение биполярных и мультиполярных нейронов (Freire et al., 2009), а также звездчатых или радиальных нейронов (Ribeiro-da-Silva, 2004; Nogradi, Vrbova, 2006; Todd, 2010), определяет полюсную ориентацию нейронов и количество их отростков, а далеко не форму клеточного тела. Нами были определены на поперечном срезе в сером веществе спинного мозга четыре типа нейронов на основании их сечения форм клеточных тел: овальные, веретеновидные, треугольные и многоугольные.

Полученные данные свидетельствуют, что в целом, серое вещество спинного мозга у взрослой крысы имеет одинаковый набор морфологических форм нейронов, но различную их гистотопографию соответственно его пластинчатости, что, по-видимому, обусловлено разнотипностью функций. Нами выявлена определенная специфичность в локализации крупных нейронов в пластинках II, III и IV дорсального рога, которая обусловлена их топическим расположением в медиальных и латеральных областях пластинок. Крупные нейроны, возможно, могут являться собственно интернейронами, участвующими в межламинарных связях, единичные нейроны крупных размеров присутствуют и в вентральных частях пластинок II, III и IV, отростки которых прослеживаются в соответствующих пластинках, расположенных вентральнее. Возможно, эти нейроны дают проекции к спинальным интернейронам посредством миелиновых аксонов (Light, Kavookjian, 1998). В медиальных областях локализуются нейроны, обеспечивающие контрлатеральные соединения (Grudt, Perl, 2002). При анализе распределения структурных типов нейронов, выделяемых на основании их форм тела, мы не обнаружили значительных различий в их количественном содержании в пластинках II и III дорсального рога, что согласуется с данными, полученными более полувека назад, в которых обе пластинки объединили в один структурный студенистый комплекс (Szentagothai, 1964; Beal, Cooper, 1978). В тоже время, однотипность обусловлена выделением в пластинке II соответствующих зон (Ribeiro-da-Silva, 2004; Ruscheweyh et al., 2011), где внутренняя зона, то есть вентральная область пластинки является структурно подобной пластинке III (Molander et al., 1984; 1989). Нами было показано, что отростки морфологически однотипных нейронов, локализованных в вентральных областях пластинок II и III – веретеновидных, распространяются вентрально, пересекая границы пластинок, и продолжаются в дорсальные части соответствующих пластинок, расположенных вентрально: из пластинки II в пластинку III, из пластинки III в пластинку IV. При этом, данные межламинарные нейрональные связи прослеживаются и в пластинках глубокой области дорсального рога спинного мозга, которые также формируются веретеновидными нейронами. Так, отростки нейронов пластинки IV распространяются в дорсальную часть пластинки V. Более того, формируются связи в дорсальном направлении: отростки веретеновидных и овальных нейронов пластинки V пересекают границу пластинки IV, а отростки нейронов пластинки IV пересекают границу пластинки III, продолжаясь в вентральные части соответствующих пластинок, расположенных дорсальнее. Таким образом, выделение пластинок III, IV и

V в глубокую область дорсального рога, не исключает и участия внутренней зоны пластинки II, куда приходит импульсация от всех типов рецепторов первичных афферентов, являясь по сути мультирецептивной, что обеспечивает их комплексную интеграцию.

Овальной формы нейроны являются самой многочисленной популяцией клеток в пластинках дорсального рога спинного мозга, что не исключает их участия, как в формировании проекционных путей, так и собственно внутриспинальных связей. Межламнарные нейрональные связи формируются преимущественно нейронами веретеновидной формы тела в пластинках II и III, веретеновидной и овальной формы тела в пластинках IV и V. Нами не были определены проекции отростков у нейронов, имеющих треугольную и многоугольную формы клеточных тел, численность которых преобладает в пластинках I, IV и V, по сравнению с пластинками II, III. Показано, что эти формы нейронов также в большинстве своём имеют относительно крупные размеры (более 300 мкм²). Возможно, эти типы нейронов обеспечивают конвергенцию сенсорной и супраспинальной импульсации, что подтверждается объединением нейронов пластинки I, IV и V в функционально различные кластеры, обеспечивающие связи в широких динамических диапазонах, включающих и висцеро-соматическую конвергенцию. В тоже время, функциональная специфичность мультиполярных нейронов обусловлена наличием миелиновых аксонов (Grudt, Perl, 2002). Крупные нейроны пластинки V, дающие отростки в боковой канатик могут быть как внутриспинальными, дающими проекции в латеральные спинальные ядра (Liu et al., 2010; Coulon et al., 2011), так и проекционными, формирующими тракты бокового канатика (Schoenen, Faull, 2004).

Показано, что крупные нейроны пластинки V и VIII, имеющие звездчатую форму, являются сходными по морфологии с мотонейронами вентрального рога спинного мозга (Ritz, Greenspan, 1985; Molander et al., 1989; Grant, Koerber, 2004). В окраске нервных клеток методом Ниссля участвуют как ядерные структуры, так и вещества, находящиеся в цитоплазме клеток, – тигроидные глыбки, глыбки Ниссля или вещество Ниссля (Б. Ромейс, 1954). Мы не обнаружили сходства между интернейронами пластинки V дорсального рога и пластинки VIII вентрального рога: различие заключалось в отсутствии в интернейронах характерной для мотонейронов глыбчатости тигроидного вещества, нейроплазма крупных нейронов пластинки V имела гомогенную окраску.

Из всех пластинок серого вещества наибольшая клеточная плотность наблюдалась в поле X. Данные, полученные на различных млекопитающих (Freire et al., 2009; Sengul et al., 2012; Pawlowski et al., 2013), в том числе и на крысе (Molander et al., 1989; Yasaka et al., 2010), определяют наибольшее количество нейронов характерным для нейрональной организации пластинки II серого вещества спинного мозга.

По нейрональному составу общим для всех исследуемых ядер является то, что минимальное количество нейронов имеет веретеновидную форму. Обнаруживается определенное сходство в относительном содержании клеточных форм вставочного и

промежуточно-латерального ядер. У крысы клеточные формы преганглионарных нейронов следует дифференцировать от популяции разделительных клеток пластинки VII (Barber et al., 1982), последние чаще имеют вытянутую в дорсовентральном направлении форму и являются веретеновидными нейронами.

Особенности нейрональной организации серого вещества спинного мозга в постнатальном онтогенезе крысы

В дорсальном роге спинного мозга в трехдневном возрасте крысы максимальное количество нейронов определяется в пластинке V (227 клеток), минимальное - в пластинке I (23 клетки), промежуточные значения характерны для пластинок II, III и IV (162-184 клетки). В постнатальном онтогенезе количество нейронов в пластинках дорсального рога меняется разнонаправленно в более ранний период развития - в первые 20 дней жизни крысы. Так, в поверхностной области дорсального рога это проявляется увеличением абсолютного количества нейронов: в пластинке I – до 20-дневного возраста; в пластинке II – до 10-дневного возраста. В пластинках III и IV до 10-дневного возраста крысы количество нейронов не меняется. В пластинках II, III и IV отмечается уменьшение количества нейронов в 15-дневном возрасте и до 20-дневного возраста общее количество нейронов на срезе также не меняется. В пластинке V, напротив, количество нейронов уменьшается до 15-дневного возраста крысы, без динамики в 20-дневном возрасте. С 30-дневного возраста различия нивелируются и количественные изменения являются общими для всех пластинок дорсального рога. Общие закономерности заключаются в возрастном уменьшении абсолютного количества нейронов во всех пластинках дорсального рога. При этом, определяется две возрастные волны резкого (скачкообразного) уменьшения абсолютного количества клеток в пределах пластинок на срезе – в 30-дневном и в 90-возрасте крысы. С чем же связано выделяющееся из всех пластинчатых структур дорсального рога увеличение количества нейронов в пластинках I и II?

Интенсивный прирост площади дорсального рога происходит в возрасте 7 и 10 дней жизни крысы, где он составляет более 30%. Но, в дорсальном роге до 10-дневного возраста доля площадей пластинок I, II и III от всей площади серого вещества уменьшается. При этом, площадь каждой в отдельности пластинки увеличивается, хоть и не так интенсивно, по сравнению с другими пластинками дорсального рога спинного мозга. Поэтому, возможно, увеличение количества нейронов связано с особенной выявляемостью нейронов при гистологической окраске тионином. Применение метода Ниссля выявляет различную аффинность нейронов к красящему веществу, вплоть до его невосприимчивости – «выпадения» части клеток (Шуклин, Швалев, 2006; Порсева, Шилкин, 2011). В то же время, увеличение абсолютного количества нейронов в пределах пластинок I и II до 10-дневного возраста, последующая стабильность количества нейронов в пластинке I – до 20-дневного возраста, и в пластинке III - до 10-дневного возраста, возможно, обусловлено постепенным вращением C-волокон в поверхностную область дорсального рога спинного мозга (Fitzgerald, Jennings, 1999). Что и находит отражение в повышенной восприимчивости к основному красителю особенно

нейронов пластинок I, II и III. Общность структурной организации внешней части пластинки II и пластинки III обсуждены выше. В тоже время, в 7-дневном возрасте увеличение площади дорсального рога происходит за счет удлинения шейки дорсального рога и роста размера пластинки V, что и обусловило преимущественное уменьшение её количественного состава нейронов.

Вместе с тем, на фоне неоднозначных изменений абсолютных количественных характеристик, плотность расположения клеток на стандартной площади изменяется однонаправленно во всех пластинках дорсального рога. Так, в трехдневном возрасте наиболее плотная заполняемость наблюдается в пластинках II, III, IV и V (более 4 клеток). С возрастом плотность уменьшается, наиболее интенсивно в первые 20 дней жизни, когда в каждой пластинке выявляется до одной клетки на стандартной площади среза, а в 90-дневном возрасте она еще больше снижается – менее одной клетки на стандартной площади среза, и стабилизируется. Но, независимо от этого максимальная плотность расположения клеток в дорсальном роге наблюдается в пластинке II в течение всего периода онтогенеза. Как видно, определение плотности расположения клеток в пластинках не отражает возрастной динамики изменения абсолютного количества в пластинках дорсального рога. Нами было показано, что во всех пластинках в первые 20 дней жизни преобладают овальные формы клеток: в пластинках I, IV и V – более 50%, в пластинках II и III – более 70%. Возрастное изменение распределения клеточных форм в пластинках меняется также разнонаправленно. В пластинках II и III динамика отсутствует, доля веретенovidных форм в пластинке I увеличивается, в пластинке V уменьшается. Но, с возрастом животного в пластинках I, IV и V отмечается увеличение процента треугольных и многоугольных форм, что является более выраженным в пластинке V.

В пластинке VII промежуточной зоны спинного мозга в трехдневном возрасте крысы выявляется нейронов больше (268 клеток), чем в какой-либо пластинке дорсального рога. С возрастом крысы, как абсолютное количество клеток, так и плотность расположения клеток уменьшаются, максимально в возрасте 7 и 10 дней жизни крысы. Но, возрастная динамика уменьшения нейронов характеризует весь период наблюдаемого онтогенеза. При этом, около половины клеток пластинки имеют треугольные формы, что сохраняется весь период онтогенеза. Уменьшение количества клеток в более поздние сроки онтогенеза – в 180-дневном возрасте, возможно, обусловлено увеличением размеров дорсального рога. На фоне прироста площади только дорсального рога в 180-дневном возрасте крысы не отмечается изменений в количественном составе пластинок дорсального рога, но регистрируется значимое уменьшение, как абсолютного количества, так и плотности расположения клеток в пластинке VII промежуточной зоны спинного мозга. По-видимому, происходит перераспределение нейронов, именно за счет увеличения размеров дорсального рога, что и приводит к резкому уменьшению нейронального состава пластинки VII.

В вентральном роге спинного мозга клеточный состав явно отличается от такового в промежуточной зоне. Количество нейронов в пластинках вентрального

рога является немногочисленным, по сравнению с таковыми дорсального рога и промежуточной зоны: в трехдневном возрасте крысы в пластинке VIII определяется 89 клеток, в пластинке IX – 42 клетки. В пластинке VIII, как и в пластинках дорсального рога, преобладающими являются овальные формы клеток, но с возрастом крысы увеличивается содержание многоугольных и треугольных форм нейронов. Абсолютное количество нейронов, как и клеточная плотность, уменьшаются, но более интенсивно в 10-дневном возрасте. В отличие от этого, уменьшение мотонейронов в вентральном роге является более ранним и наблюдается в 7-дневном возрасте крысы. Показатели нейрональной численности достигают значений, характерных для взрослой крысы, в 30-дневном возрасте в пластинке VIII и более рано – в 10-дневном возрасте в пластинке IX.

С возрастом крысы отмечается как уменьшение площади поля X, так и уменьшение численности его нейронального состава. При этом, однонаправленность уменьшения размерных и количественных характеристик в целом поля X не соответствует динамике возрастных изменений его конкретных, выделяемых нами областей. Так, в дорсальной серой спайке в первые 10 дней жизни отмечается уменьшение плотности нейронов при увеличении ее площади, с 20-дневного возраста и в последующие возраста при уменьшении площади дорсальной серой спайки плотность расположения нейронов увеличивается. Уменьшение площади вентральной серой спайки до 15-дневного возраста не сопровождается изменением клеточной плотности, с 20-дневного возраста отмечается уменьшение плотности расположения нейронов при увеличении ее площади до 180-дневного возраста крысы. Таким образом, увеличение количества нейронов в области дорсальной серой спайки, возможно, обусловлено возрастным уменьшением её площади, что и приводит к росту показателя, рассчитанному на единицу площади. При этом, с 20-дневного возраста общая численность нейронального состава поля X уменьшается, а клеточная плотность стабилизируется и значимо не меняется до 360-дневного возраста крысы.

Анализ количественных характеристики ядер спинного мозга показал, что в постнатальном развитии крысы ранее стабилизируется количественный состав нейронов в ядрах промежуточной зоны – промежуточно-медиальном, вставочном и промежуточно-латеральном, где уже в 10-дневном возрасте отмечается соответствие показателям взрослой 90-дневного возраста крысы. Но, нейроны дорсального ядра достигают аналогичных характеристик только в 30-дневном возрасте крысы. При этом, наибольшее абсолютное количество нейронов определяется в дорсальном ядре, а максимальная клеточная плотность определяется в промежуточно-медиальном ядре во всех сроках наблюдения постнатального развития, что, по-видимому связано с наименьшей площадью промежуточно-медиального ядра. Распределение клеточных форм имеет общую возрастную закономерность в виде преобладания на ранних сроках развития доли овальных форм, но с возрастом крысы увеличивается процент треугольных и многоугольных форм в дорсальном ядре (20-дневный возраст), в ядрах промежуточной зоны (10-дневный возраст).

Анализируя размерные характеристики нейронов спинного мозга, мы пришли к неоднозначным заключениям. В целом, во всех пластинках спинного мозга имеет место быть возрастное увеличение размерных характеристик, которые мы определяли по площади сечения нейронов, с максимальным приростом показателя в 10-дневном возрасте крысы. Но, сроки становления параметров площади совершенно различаются в пластинках спинного мозга и ядрах серого вещества. Так, во всех пластинках отмечается постепенное увеличение размеров нейронов вплоть до 90-дневного возраста, после чего, средние размерные параметры нейронов стабилизируются. В отличие от этого, в ядрах спинного мозга стабилизация размерных параметров наступает раньше – уже в 30-дневном возрасте крысы.

Нейрохимическая организация серого вещества спинного мозга у взрослой крысы

Результаты проведенных гистохимических и иммуногистохимических исследований доказывают гетерогенность спинальных нейронов, располагающихся в дорсальном роге, промежуточной зоне, вентральном роге и в центральных структурах серого вещества грудных сегментов спинного мозга, а также в пределах границ спинальных пластинок. Об этом свидетельствуют форма и количество нервных отростков, их длина, распространенность, площадь сечения, число, топография спинальных нейронов, содержащих ХАТ, TRPV1, ВП, КГРП, НФ200, КАБ, nNOS, НАДФН-д.

- *Пластинка I* – присутствуют популяции клеток овальных и веретеновидных форм малых размеров, ориентированные в дорсовентральном направлении, содержащие КАБ, nNOS и НАДФН-д. Интернейроны с КАБ имеют более мелкие размеры и представляют более многочисленную популяцию (32,7%), с nNOS - самую малочисленную (3,6%). Размеры nNOS- и НАДФН-д-содержащих интернейронов не различаются.
- *Пластинка II* – присутствуют популяции клеток овальных и веретеновидных форм малых размеров, ориентированные в дорсовентральном направлении, содержащие КАБ, nNOS и НАДФН-д. Интернейроны с КАБ имеют более мелкие размеры и представляют более многочисленную популяцию (22,4%), с nNOS и НАДФН-д более малочисленную - 7,2% и 8,8% соответственно. Размеры nNOS- и НАДФН-д-содержащих интернейронов не различаются.
- *Пластинки III и IV* – присутствуют популяции клеток:
 - овальных и веретеновидных форм малых размеров, с ориентацией или дорсовентрально, или медиолатерально, содержащие ХАТ, КАБ, nNOS и НАДФН-д;
 - овальных, веретеновидных и многоугольных форм средних размеров, ориентированные дорсовентрально, содержащие НФ200;
 - овальных форм средних размеров, ориентированные медиолатерально, содержащие НФ200 (антенноподобные нейроны).
- *Область медиального края дорсального рога* – присутствуют популяции клеток овальных и веретеновидных форм, с дорсовентральной ориентацией, с

продолжением отростков в область дорсальной серой спайки, малых размеров – содержащие ХАТ, КАБ, nNOS и НАДФН-д, а также средних размеров – НФ200.

▪ *Пластинка V* – присутствуют популяции клеток:

- овальных и веретеновидных форм, ориентированные дорсовентрально, малых размеров, содержащие КАБ, nNOS и НАДФН-д, средних размеров – ХАТ; крупных размеров – НФ200;
- многоугольных форм с дорсовентральной ориентацией, средних размеров – содержащие ХАТ, крупных размеров – НФ200.

Относительное содержание клеточных популяция в пластинках дорсального рога не превышает 3% с экспрессией nNOS, 5% – с ХАТ, НФ200 и КАБ. Доля НАДФН-д-содержащих нейронов уменьшается в дорсовентральном направлении от 6,8% в пластинке III до 2,8% в пластинке V.

▪ *Дорсальное ядро* содержит популяцию нейронов различных форм средних размеров, содержащих НФ200 (30,8%).

▪ *Пластинка VII* – присутствуют популяции клеток:

- в дорсальной части пластинки – овальных и веретеновидных форм, ориентированные медиолатерально, малых размеров с КАБ, средних размеров с ХАТ (разделительные нейроны), доля которых не превышает 4%;
- в центральной части пластинки – овальных, веретеновидных и многоугольных форм, с медиолатеральной ориентацией, малых размеров – содержащие КАБ, nNOS и НАДФН-д, средних размеров – ХАТ, крупных размеров – НФ200; и дорсовентральной ориентации средних размеров с ХАТ и крупных размеров с НФ200, доля которых не превышает 2%;
- симпатические преганглионарные нейроны – различных форм в области промежуточно-латерального ядра и преимущественно овальных и треугольных форм в области вставочного ядра, расположенные медиолатерально, малых размеров с nNOS и НАДФН-д (37% и 42,5% соответственно) и средних размеров с ХАТ (92%).

▪ *Пластинка VIII* – присутствуют популяции клеток:

- многоугольных форм с преимущественной медиолатеральной ориентацией тел и отростков, имеющие средние размеры и содержащие КАБ и ХАТ;
- многоугольных форм с преимущественной дорсовентральной ориентацией тел и отростков, имеющие средние размеры с ХАТ, крупные размеры с НФ200.

Доля нейронов, экспрессирующих ХАТ и НФ200 в пластинке VIII составляет 7% и 6% соответственно, нейроны с КАБ очень редкие (0,8%).

▪ *Пластинка IX* – присутствуют популяции клеток:

- мотонейроны, содержащие ХАТ (более 90%) и НФ200 (до 80%);
- мелкие многоугольные нейроны, содержащие КАБ (клетки Реншоу).

Спинномозговое поле X

▪ *Дорсальная серая спайка* – присутствуют популяции клеток преимущественно овальной формы с медиолатеральной ориентацией клеточных тел и отростков,

малых размеров – содержащие КАБ, nNOS и НАДФН-д, средних размеров – содержащие ХАТ и НФ200;

- *Вентральная серая спайка и центральные части* – присутствуют популяции клеток различных форм и ориентаций, малых размеров с КАБ, nNOS и НАДФН-д, средних размеров с ХАТ.

В пределах обозначенных пластинок или ядер выделенные популяции по своим размерным характеристикам распределяются следующим образом – самые малые размеры имеют нейроны, экспрессирующие КАБ, крупнее нейроны с НАДФН-д, еще крупнее с nNOS, затем с ХАТ и самыми крупными являются нейроны с НФ200.

Полученные результаты свидетельствуют, что, распределение и морфометрические характеристики нейронов с НАДФН-д различаются при применении различных гистохимических методов. При использовании среды с pH 8,0 НАДФН-д выявляется как в мотонейронах вентральных рогов, так и в большинстве нейронов дорсального рога, промежуточной зоны и поля X (метод V.T. Норе, S.R. Vincent, 1989), конечный продукт гистохимической реакции прокрашивает ядерную зону нейронов и даёт выраженную фоновую прокрашиваемость среза. Эти обстоятельства мешают детальному анализу распределения НАДФН-д в различных нейронах, определению морфометрических параметров нервных клеток, что особенно важно при сравнительных исследованиях. Поэтому для изучений распределения НАДФН-д в постнатальном онтогенезе использовали метод Р. Лилли (1969).

Нейрохимическая организация серого вещества спинного мозга в постнатальном онтогенезе

Из результатов, полученных в ходе исследования, мы определили наличие популяций спинальных нейронов, определяемых по их нейрохимической специфичности. При этом, топография определяемых структурных и нейрохимических типов нейронов не меняется с возрастом животного и соответствует пластинчатому распределению 3 дневного возраста крысы. Более того, количественные характеристики также являются стабильными уже с трехдневного возраста, то есть относительное содержание большинства популяций нейронов не меняется с возрастом крысы. Исключением из этой закономерности является количественный состав нейрохимических популяций интернейронов поверхностной области дорсального рога. Популяции нейронов пластинок I и II, содержащие КАБ, nNOS и НАДФН-д, уменьшают своё процентное содержание с возрастом крысы – с 10- до 20-дневного возраста, а в последующие возраста показатель остается неизменным и соответствует значениям взрослой 90-дневного возраста крысы.

Анализ совокупности определяемых нейрохимических популяций вносит ясность в возрастную динамику изменения количества популяций в пластинках поверхностной области дорсального рога спинного мозга. Экспрессия КГРП является временно высокой во время формирования нервно-мышечных соединений в онтогенезе, что связано с ранними стадиями синаптогенеза: экспрессия КГРП усиливает высвобождение нейротрофических факторов и способствует формированию соединений (Kim et al., 2016). По мере формирования синапсов,

экспрессия КГРП снижается. Данный феномен находит подтверждение в нашем исследовании, мы также обнаружили временную иммунореактивность к КГРП у мотонейронов пластинки IX до 10-дневного возраста крысы. Но, в поверхностной области дорсального рога нами показано расширение зон проекций нервных волокон, содержащих ВП и КГРП в 20-дневном возрасте крысы, то есть увеличение экспрессии этих нейропептидов наблюдается позднее, чем в мотонейронах вентрального рога. По-видимому, это обусловлено разными временными сроками вставания аксонов первичных афферентов в серое вещество спинного мозга крысы: А-волокна начинают вставать в эмбриональном периоде, а С-волокна врастают до 21 дня постнатальной жизни (Fitzgerald, Jennings, 1999). Расширение дендритных полей мотонейронов также ограничено временным интервалом – в роstralных сегментах 10 днём постнатальной жизни, в более каудальных сегментах – тремя неделями жизни, что связывают с ростом количества дендритов и последующей их регрессией (Cumplings, Stelzner, 1984; Kalb, 1994). В нашей работе мы обнаружили ХАТ-иммунореактивные структуры подобные синаптическим в отростках и соме мотонейронов только в раннем периоде онтогенеза, ограниченным 20-дневным возрастом крысы, что согласуется с данными других исследований (Volekova et al., 2011). По-видимому, экспрессия КАБ, nNOS и НАДФН-д в большем количестве нейронов в пластинках I и II дорсального рога спинного мозга до 10-дневного возраста обусловлена или активным синаптогенезом врастающих волокон первичных афферентов, или расширением дендритных полей этих позитивных нейронов. Показано, что развитие дендритных арборизаций, протяженность аксонов и развитие их коллатералей коррелирует с размерами тел нейронов, усложнение ветвлений приводит к нарастанию полиморфизма и к более тонкой функциональной специализации нейронов центральной нервной системы (Цехмистренко, Черных, 2012; Обухов и др., 2019). Увеличение размеров популяции нейронов в постнатальном развитии крысы характеризуется гетерохронностью. Так, наиболее быстро растут и достигают размерных характеристик взрослых нейронов – популяции нейронов, экспрессирующие: НФ200 и КАБ – 10-дневный возраст крысы; ХАТ, nNOS и НАДФН-д – 20-дневный возраст крысы. Но, более длительно мотонейроны, содержащие ХАТ и НФ200 (30-дневный возраст крысы) и КАБ-иммунореактивные интернейроны пластинки VIII (90-дневный возраст крысы). При этом, популяции нейронов, экспрессирующие какое-либо вещество, имеют свои конкретные структурные признаки, которые характеризуют всю позитивную популяцию в целом вне зависимости от её топографической принадлежности в сером веществе спинного мозга.

Все нейроны спинного мозга в эмбриогенезе происходят из 11 доменов-предшественников, каждый из которых производит какую-то одну – независимую линию нейронов (Alaynick et al., 2011; Borowska et al., 2013; Lu et al., 2015). При этом, каждая линия дифференцируется в несколько подтипов нейронов, распределение которых в спинном мозге, в принципе, имеет общие свойства, то есть отражает пластинчатое строение его серого вещества, соответствуя дорсовентральной

и медиолатеральной топографии с направлением аксонов ипсилатерально и комиссурально, и рострокаудальной топографии, обусловленной направлением нервных отростков в восходящем и нисходящем направлении. Таким образом, межнейрональные связи формируются уже через имеющиеся структурно-функциональные клеточные элементы, обусловленные генетическими механизмами происхождения спинальных нейронов (Friese et al., 2009; Alvarez et al., 2013; Francius et al., 2013; Floyd et al., 2018).

Структурно-функциональная организация спинномозгового узла

Гистохимический и иммуногистохимический анализ срезов спинномозговых узлов показал выявляемость нейронов, содержащих: TRPV1, ВП, КГРП, НФ200, КАБ, nNOS, НАДФН-д. В трехдневном возрасте количество нейронов различных популяций составляет в зависимости от маркера по возрастающей: ВП ~ НАДФН-д ~ КГРП ~ НФ200 ~ TRPV1 ~ КАБ ~ nNOS (9,5% – 9,8% – 12,8% – 20,6% – 22,6% – 37,4% – 40,9%). В дальнейшем изменения количества являются гетерохронными: увеличение доли нейронов имеет место быть к 10-дневному возрасту при определении КГРП; к 30-дневному возрасту при определении TRPV1, nNOS, НАДФН-д и НФ200. Тогда как, число клеток, экспрессирующих ВП уменьшается к 10-дневному возрасту, а КАБ к 60-дневному возрасту постнатальной жизни крысы. При этом, количество нейронов с НФ200 к 10-дневному возрасту уменьшается, а с 20-дневного возраста увеличивается. В трехдневном возрасте иммунореактивность к КАБ и НФ200 выявляется в гетерогенных по размерам популяциях нейронов (до 900 мкм²), в которых, однако, преобладают малые и очень малые нейроны. Экспрессию ВП, КГРП, TRPV1, nNOS и ферментативную активность НАДФН-д проявляют популяции только малых и очень малых нейронов (до 600 мкм²).

По количественному содержанию популяции достигают значений, характерных для взрослого животного в различные возраста постнатального онтогенеза. Наиболее раннее становление отмечается в популяции нейронов, содержащих ВП (10-дневный возраст). Позднее стабилизируется количественный состав популяций нейронов: в 20-дневном возрасте – содержащих КГРП и TRPV1; в 30-дневном возрасте – содержащих НФ200; в 60-дневном возрасте – содержащих nNOS и КАБ. Стабилизации количественных характеристик популяций нейронов, содержащих НАДФН-д, не наблюдается в течение всего анализируемого постнатального отрезка онтогенеза, в частности, волнообразность динамических изменений не позволяет с достоверностью констатировать факт становления ферментативной активности в течение 90 дней постнатального онтогенеза крысы. По-видимому, это связано с функциональным действием данного фермента. Известно, что НАДФН-д является восстановителем, отдающим электроны, участвует в переносе электронов в мембранах митохондрий, тем самым обеспечивает реализацию окислительно-восстановительных процессов и регуляцию активности внутриклеточных белков клетки. В тоже время, активация НАДФН-д в нервных клетках ассоциируется, как с апоптозом клеток, так и с развитием нейродегенеративных заболеваний, что

обусловлено её мощным прооксидантным действием, индуцирующим образование свободных радикалов (Tammariello et al., 2000).

В тоже время, все типы NOS, в том числе и нейрональная, используют в качестве кофактора НАДФН-д (Förstermann, Sessa, 2012). Но, не представляется возможным проводить аналогию между ферментативной активностью НАДФН-д и иммунореактивностью к nNOS в сенсорных нейронах. Различия в нейронах, содержащих НАДФН-д и nNOS, могут свидетельствовать о наличии функционально различных популяций нейронов. В любом случае признается нейропротекторное действие оксида азота и его участие в регуляции внутриклеточного кальциевого обмена (Michel, Feron, 1997).

Более ранняя стабилизация количественных характеристик нейронов иммунореактивных к ВП, TRPV1 и КГРП, возможно, обусловлена их физиологической функцией, которая окончательно устанавливается постнатально и связана с возрастным развитием С-волокон. В первые 10 дней жизни отмечается стабилизация популяции нейронов с ВП, в последующие 10 дней – популяций нейронов с TRPV1 и КГРП. Более позднее становление количественного содержания популяции нейронов иммунореактивных к НФ200, которое регистрируется к 30-дневному возрасту крысы объяснить сложно, так как считается, что сенсорные нейроны с А-волоками являются функционирующими уже к моменту рождения (Rigie et al., 2008). Возможно, это связано с более поздним становлением экспрессии кальбиндина, который выявляется в клетках различного размера - от мелких до крупных (Zhang et al., 1990). Показана ко-экспрессия белков нейрофиламентов и кальций-связывающих белков в сенсорных нейронах (Medici, Shortlan, 2015).

Установлено, что у 90-дневных взрослых белых крыс в чувствительном узле грудного спинномозгового нерва в зависимости от исследованных популяций, положительную реакцию проявляют от 6,5% до 52,7% нейронов. Если считать, что один нейрон обладает сродством к одному нейротрансмиттеру, то тогда вся популяция первичных сенсорных нейронов узла была бы иммунореактивна хотя бы к одному из изученных трасмиттеров. Но с учетом данных литературы о солокализации нескольких нейротрансмиттеров в нейроне (Piper, Docherty, 2000; Bucelli et al., 2008) приходится констатировать, что только часть нейронов узла являются функционально специфичными. О возможной солокализации нескольких исследуемых маркеров свидетельствует, очевидно, суммарное число выявленных нами иммунореактивных нейронов, которое превышает 100%.

Анализируя клеточный состав популяций по присутствию нейронов различных размерных классов, прослеживается общая закономерность для исследуемых нейрехимических популяций по стабилизации процентного содержания размерных классов с 60-дневного возраста: мелкие и очень мелкие нейроны спинномозговых узлов проявляют иммунореактивность к TRPV1, ВП, КГРП, nNOS и КАБ; средние – иммунореактивны к КГРП, nNOS, КАБ и НФ200; крупные и очень крупные – иммунореактивны к КГРП и НФ200.

С учетом данных литературы о солокализации нескольких нейротрансмиттеров в нейроне (Piper, Docherty, 2000; Vucelli et al., 2008) приходится констатировать, что только часть нейронов узла являются ноцицептивными. Важно, что полученные данные позволяют отнести к ноцицептивным нейроны различных размерных классов – от очень мелких (меньше 300 мкм²) до превышающих 1201 мкм². При этом крупные и очень крупные клетки есть среди нейронов, содержащих КГРП и НФ200. Это является косвенным свидетельством того, что к ноцицептивным относятся не только очень малые и малые нейроны, в которых выявлены TRPV1 и ВП, но и крупные нейроны, образующие миелиновые волокна. Об этом же свидетельствует солокализация TRPV1 с НФ200, выявляемая в части нейронов (Yoshimura et al., 1998; Suzuki et al., 2003). При этом, обнаруженная гетерогенность ноцицептивных нейронов спинномозгового узла, сохраняется и после введения капсаицина. Однако, сохранившиеся после введения капсаицина иммунореактивные нейроны имеют меньшие размеры, что связано с более выраженным уменьшением числа нейронов, иммунореактивных к КГРП и НФ200, меньшей степени – в популяции TRPV1 нейронов, и только в группе нейронов с ВП наблюдалось небольшое увеличение их числа. Анализ размерных классов нейронов позволяет предполагать особую функцию, отличную от ноцицептивной, очень мелких афферентных нейронов спинномозгового узла.

Несмотря на большое число работ по исследованию рецепторных систем, участвующих в регуляции болевой чувствительности, точный молекулярный её механизм до конца не выяснен. Результаты проведенной работы свидетельствуют о структурном многообразии ноцицептивных нейронов. Совмещение TRPV1 с КАБ свидетельствует об участии мелких нейронов в хемосенсорных функциях (Ichikawa, Sugimoto, 2002). Средние и крупные нейроны, иммунореактивные к НФ200, образуют свободные древовидные окончания, представляющие механорецепторы, ноцицепторы, возбуждающиеся высокоинтенсивными механическими и термическими стимулами. Эти же клетки содержат КАБ, оксид азота, КГРП. Очевидно, неизученное до настоящего времени совмещение в одной клетке различных веществ, обуславливает их полимодальную рецептивность.

Исследование спинномозговых узлов позволяет заключить, что независимо от метода выявления нейронов узлов, проявляется четкая их группировка на ограниченной территории среза узла, свидетельствующая о кластерной организации, что показано в симпатических и интрамуральных узлах (Ноздрачев, Фатеев, 2002; Чусовитина, Вараксин, 2003; Пушина и др., 2007; Anderson et al., 2001). Вместе с тем, выраженность НАДФН-д в нейронах узлов является обратно пропорциональной их размерам – чем больше площадь сечения нейрона, тем меньшая в нем выявляется активность фермента вплоть от отсутствия, и наоборот. Эта закономерность не отмечается в гистохимическом исследовании НАДФН-д методом, описанным V.T. Nore, S.R. Vincent (1989), последнее возможно при использовании метода Р. Лилли (1969).

Исследование структурно-функциональных характеристик нейронов спинномозговых узлов различных сегментарных уровней в различные возраста крысы показывает, как общие закономерности химической организации нейронов, так и возрастные особенности динамики становления экспрессии изученных маркеров, но выраженные сегментарные особенности при этом отсутствуют.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований определены основные морфометрические параметры частей серого вещества второго грудного сегмента спинного мозга в постнатальном онтогенезе крысы. Постнатальный период роста серого вещества сопровождается выраженной гетерохронностью развития его частей. Диаметрально противоположно от этих частей (столбов/рогов) изменяются как показатели площади поля X, так и непосредственно доленое участие поля X в формировании серого вещества. Но, независимо от этого, пластинчатая и ядерная организация серого вещества у крыс является уже определяемой в трехдневном возрасте крысы. По нейрональному составу общим для пластинок и ядер является то, что на поперечном срезе в сером веществе определяется четыре типа нейронов на основании их форм сечения клеточных тел: овальные, веретеновидные, треугольные и многоугольные. В трехдневном возрасте в пластинках и ядрах преобладают нейроны овальных форм. Исследование количественного состава пластинок дорсального рога спинного мозга позволило установить неоднозначность изменений абсолютного количества нейронов в пластинках и плотности расположения в них клеток в постнатальном онтогенезе крысы. Результаты проведенных гистохимических и иммуногистохимических исследований доказывают гетерогенность спинальных нейронов, о чем свидетельствует форма и количество нервных отростков, их длина, распространенность, площадь сечения, число, топография нейронов, содержащих ХАТ, TRPV1, ВП, КГРП, НФ200, КАБ, nNOS, НАДФН-д.

В сером веществе спинного мозга функционирует сложный кластер нейронов. В состав кластеров входят нейроны, имеющие определенные размеры, отростчатую и нейрохимическую архитектуру, устойчивую пластинчатую и ядерную топографию. Таким образом, что нейроны одного конкретного кластера формируют между собой связи, которые микроскопически отчетливо демонстрируются в группе нейронов, экспрессирующих какое-либо вещество. Группировки нейронов включают от 27 до 52 иммунореактивных клеток на каждом срезе серого вещества во втором грудном сегменте спинного мозга взрослой крысы, являются топографически обособленными и хорошо определяются уже в 3 дневном возрасте крысы. Гистотопография нейрональных клеточных групп с возрастом крысы не меняется, то есть они являются приуроченными к конкретным определяемым областям серого вещества (пластинка, ядро). Выделение этих групп нейронов в пластинках не подразумевает их «скупенность», клетки локализуются или диффузно, или образуют группы до 2-3 клеток, расположенных в сером веществе, то есть они всегда разделены нейропилем. В области расположения ядер выявляются локальные групповые скопления клеток.

Избирательность (специфичность) экспрессии характеризует популяции клеток Реншоу, содержащих КАБ, мотонейронов – содержащих ХАТ и НФ200, дорсального ядра – содержащих НФ200, пластинок I и II – содержащих КАБ, nNOS и НАДФН-диафорузу. При этом, исключением из этих закономерностей является глубокая область дорсального рога, промежуточная зона и спинномозговое поле X, в нейронах которых обнаружена экспрессию всех изучаемых веществ. Перекрытие нейрохимических кластеров, к которым принадлежат нейроны идентичных топографических областей, означает, что нейроны одного и того же кластера могут участвовать в реализации различных функций, что обеспечивается различной структурной организацией кластеров.

Реализация функций спинного мозга невозможна без участия периферических структур – спинномозгового узла. Функциональное и структурное разнообразие чувствительных нейронов укладывается в полученные данные о химической их неоднородности и свидетельствует о том, что кластеры формируются по принципу разнородности: в составе кластера находятся нервные клетки разные по аффинности к тионину, по нейрохимической организации, по размеру – от очень мелких до очень крупных нейронов. На сопоставимой площади среза узлов кластер формируют от 2-3 до 8-10 нервных клеток. Это, очевидно, и определяет структурно-функциональное разнообразие клеточных объединений, именуемых как кластеры, колонки, модули, нейронные ансамбли, локальные цепи, макро- и микронейронные сети, в целом характерные для организации ЦНС. Реальное существование модулей, их конфигурация, специфичность локальных межнейронных связей, зависят от импульсации, поступающей с первичных афферентов, в результате которой активируются то одни, то другие модули, что повышает надежность входного и выходного сигналов. Таким образом, полученные результаты обосновывают необходимость интеграции морфологических и функциональных данных, а объединение различных популяций интернейронов общей функцией в различные местные пространственные (топографические) межнейрональные взаимодействия может явиться основой для выделения модульной организации спинного мозга.

ВЫВОДЫ

1. Детальный анализ архитектоники серого вещества второго грудного сегмента спинного мозга крысы уточняет расположение пластинок и выявляет участие пластинки IV дорсального рога в формировании дорсальной серой спайки спинномозгового поля X. В составе спинномозгового поля X выделены центральные части. Большая часть пластинок (I, II, III, IV) дорсального рога формирует его головку.
2. Пластинчатая организация серого вещества спинного мозга выявляется в постнатальном онтогенезе в трехдневном возрасте, но окончательного взрослого топографического соответствия достигает в возрасте 30 дней. С возрастом крысы площадь серого вещества увеличивается, достигая максимальных значений в возрасте 180 дней. Из всех частей серого вещества более половины его площади

приходится на дорсальный рог во все возраста постнатального онтогенеза. Обособлено, вне связи со столбами серого вещества, происходит постнатальное формирование спинномозгового поля X, что проявляется уменьшением его площади с 20 дня жизни и перестройкой его частей в 20-дневном возрасте.

3. Ядра спинного мозга принадлежат не только к различным пластинкам, но и к различным частям (столбам) серого вещества: дорсальное ядро – дорсальному рогу (пластинка V) и промежуточной зоне (пластинка VII); промежуточно-медиальное ядро – промежуточной зоне (пластинка VII) и спинномозговому полю X; симпатические ядра – поперечная протяженность в промежуточной зоне (пластинка VII) от латерального рога.
4. В постнатальном онтогенезе ядерная организация серого вещества спинного мозга выявляется в трехдневном возрасте крысы, но достигает взрослого топографического соответствия гетерохронно: в 20-дневном возрасте – дорсальное ядро, в 30-дневном возрасте – симпатические ядра, в 60-дневном возрасте – промежуточно-медиальное ядро. Окончательное расположение ядер во втором грудном сегменте спинного мозга крысы обусловлено их вентральным смещением.
5. На поперечном срезе в сером веществе спинного мозга определяются четыре типа нейронов на основании их форм клеточных тел: овальные, веретеновидные, треугольные и многоугольные. Гистотопография клеточных форм различается соответственно пластинчатой и ядерной организации спинного мозга, что обусловлено разнотипностью выполняемых функций. На поперечном срезе в сером веществе спинного мозга форма клеточных тел и направленность проксимальных частей отростков меняются от преимущественно дорсовентральной ориентации овальных и веретеновидных клеток в пластинках I, II, III, IV до различных клеточных форм и ориентаций отростков в пластинках, располагающихся вентральнее, включая спинномозговое поле X и ядра серого вещества.
6. В постнатальном развитии в пластинках и ядрах серого вещества абсолютное количество и плотность расположения клеток уменьшаются, максимально в возрасте 10 дней. Исключением является разнонаправленность количественных изменений в пластинках поверхностной области дорсального рога: при возрастном уменьшении клеточной плотности наблюдается увеличение абсолютного количества нейронов в пластинке I – до 20-дневного возраста и в пластинке II – до 10-дневного возраста. Максимальное абсолютное количество нейронов и наибольшая плотность их расположения определяются в спинномозговом поле X в течение всего постнатального развития. Постнатальное уменьшение клеточной плотности в поле X не совпадает с динамикой её изменений в дорсальной серой спайке. Стабильность показателей клеточной плотности и площади нейронов в пластинках и ядрах серого вещества достигается в различные временные периоды постнатального развития крысы.
7. В течение всего постнатального развития в сером веществе спинного мозга самые малые размеры имеют популяции нейронов, содержащие кальбиндин 28 кДа, крупнее нейроны с НАДФН-диафоразой, еще крупнее с nNOS, затем с ХАТ и

самыми крупными являются нейроны с белком нейрофиламентов 200 кДа. Увеличение размеров популяций нейронов в постнатальном развитии крысы характеризуется гетерохронностью: наиболее быстро растут и достигают размерных характеристик взрослых нейронов популяции, экспрессирующие: белок нейрофиламентов 200 кДа и кальбиндин 28 кДа (к 10-дневному возрасту); ХАТ, nNOS и НАДФН-диафорузу (к 20-дневному возрасту); и более длительно мотонейроны, содержащие ХАТ, белок нейрофиламентов 200 кДа (к 30-дневному возрасту) и кальбиндин-иммунореактивные интернейроны пластинки VIII (к 90-дневному возрасту).

8. По количественному содержанию нейрохимические популяции серого вещества достигают значений, характерных для взрослого животного уже в трехдневном возрасте. Исключением являются группы нейронов пластинок I и II, содержащие кальбиндин 28кДа, nNOS и НАДФН-диафорузу, процентное содержание которых максимально в первые 10 дней жизни, затем уменьшается и к 20-дневному возрасту соответствует показателям взрослой крысы.
9. Нейроны, локализованные в пределах одной пластинки или ядра серого вещества спинного мозга, имеют различные структурные признаки и являются нейрохимически гетерогенными, и наоборот, нейроны, экспрессирующие тот или иной белок локализуются в функционально различных пластинках или ядрах серого вещества, но имеют сходные структурные признаки. С трехдневного возраста крысы нейрональные кластеры, определяемые по их нейрохимическим характеристикам, сохраняют свою топографию и структурную организацию. Сходство обусловлено их размерами, формами клеточных тел, ориентацией и направленностью отростков.
10. В спинномозговом узле нейрональные кластеры формируются по принципу разнородности: в составе кластера определяется от 2-3 до 8-10 нервных клеток, различных по аффинности к тионину, по нейрохимической организации, по размеру – от очень мелких до очень крупных нейронов. Структурное и функциональное разнообразие нейронов спинномозгового узла подтверждается их химической неоднородностью: мелкие и очень мелкие нейроны содержат TRPV1, вещество P, кальцитонин-ген-родственный пептид, кальбиндин 28 кДа, nNOS и НАДФН-диафорузу; средние нейроны – кальцитонин-ген-родственный пептид, кальбиндин 28 кДа, nNOS, белок нейрофиламентов 200 кДа и НАДФН-диафорузу; крупные и очень крупные нейроны – кальцитонин-ген-родственный пептид, кальбиндин 28 кДа, белок нейрофиламентов 200 кДа. По количественному содержанию популяции достигают значений, характерных для взрослого животного гетерохронно, при отсутствии стабилизации их размеров до 90-дневного возраста крысы.
11. Нейрональные кластеры, обеспечивающие локомоторную функцию экспрессируют белок нейрофиламентов 200 кДа, ХАТ, кальбиндин 28 кДа nNOS и НАДФН-диафорузу и локализуются в пластинках глубокой области и медиального края дорсального рога, в пластинке VII и поле X, а также содержат белок

нейрофиламентов 200 кДа, ХАТ и кальбиндин 28 кДа и локализуются в пластинках вентрального рога. Группы нейронов, содержащие ХАТ, кальбиндин 28 кДа, nNOS и НАДФ-диафорузу локализуются в пластинках глубокой области дорсального рога, в пластинке VII, в области симпатических ядер и в поле X, реализуют сомато-висцеральную функцию. Группы нейронов поверхностной области дорсального рога, содержащие кальбиндин 28 кДа, nNOS и НАДФН-диафорузу являются трансмиссивным звеном, осуществляющим обработку и передачу сенсорной информации кластерам, реализующим моторную или висцеральную функции. Таким образом, топография нейрональных нейрохимических кластеров в сером веществе определяется их участием в реализации различных функций.

12. Основные компоненты рефлекторной дуги, включая сенсорные нейроны спинномозгового узла, спинальные интернейроны, симпатические преганглионарные нейроны и мотонейроны определяются в трехдневном возрасте. Тем не менее, окончательное созревание сенсорных нейронов, определяемых по их нейрохимическим признакам, происходит позднее по сравнению с мотонейронами. Интернейроны пластинок дорсального рога, реализующие переработку сенсорной информации, имеют сходную динамику развития по нейрохимическим характеристикам с преганглионарными симпатическими нейронами. Окончательное формирование соматических мотонейронов происходит позднее преганглионарных симпатических нейронов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Работы, опубликованные в изданиях, рекомендованных ВАК

1. Порсева, В.В. Возрастные особенности активности НАДФН-диафорузы в нейронах ядер спинного мозга и в спинномозговых ганглиях белой крысы / В.В. Порсева, Т.А. Румянцева // Морфологические ведомости. – 2006. – № 1-2. – С.43-45.
2. Порсева, В.В. Активность НАДФН-диафорузы в мотонейронах различных сегментов спинного мозга белой крысы в норме и в условиях деафферентации / В.В. Порсева // Морфология. – 2009. – Т.135, вып. 2. – С. 17-22. [Porseva, V.V. NADPH-diaphorase activity in motoneurons in different segments of the spinal cord in white rats in normal conditions and after deafferentatio / V.V. Porseva // Neuroscience and Behavioral Physiology. – 2010. – Vol. 40, № 4. –Р. 441-445.]
3. Порсева, В.В. Сегментарные различия в постнатальном развитии афферентных нейроцитов белой крысы / В.В. Порсева // Морфологические ведомости. – 2009. – № 1-2. – С. 46-48.
4. Порсева, В.В. НАДФН-диафорузо-позитивные структуры спинного мозга и спинномозговых узлов / В.В. Порсева, В.В. Шилкин // Морфология. – 2010. – Т.137, вып. 2. – С. 13-17. [Porseva, V.V. NADPH-diaphorase-positive structures in the spinal cord and spinal ganglia / V.V. Porseva., V.V. Shilkin // Neuroscience and Behavioral Physiology. – 2011. – Vol. 41, № 3. – Р. 223-227.]
5. Порсева, В.В. Топография интернейронов серого вещества спинного мозга / В.В. Порсева, В.В. Шилкин // Морфологические ведомости. – 2010. – № 1. – С. 82-85.
6. Порсева, В.В. Морфометрическая и гистохимическая характеристика кластерной организации нейронов чувствительного узла спинномозгового нерва и шейно-грудного узла симпатического ствола крысы / В.В. Порсева, В.В. Шилкин // Морфология. – 2011. –

- T. 139, вып. 2. – С. 27-30. [Porseva, V.V. Morphometric and histochemical characteristics of the cluster organization of neurons in rat spinal nerve sensory ganglia and the cervicothoracic ganglion of the sympathetic trunk / V.V. Porseva, V.V. Shilkin // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. – 2012. – Vol. 42, № 6. – P. 603-606.]
7. Коробкин, А.А. Возрастные изменения экспрессии TRPV1-каналов в нейронах автономной нервной системы / А.А. Коробкин, А.И. Емануйлов, М.Б. Корзина, О.А. Васильева, В.В. Порсева, П.М. Маслюков // *Российский физиологический журнал*. – 2011, № 11. – С. 1247-1253. [Korobkin, A.A. Developmental changes in the expression of TRPV1 channels in autonomic nervous system neurons / A.A. Korobkin, A.I. Emanuilov, M.B. Korzina, O.A. Vasil'Eva, V.V. Porseva, P.M. Maslyukov // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. – 2013. – Т. 43, № 6. – С. 743-747.]
 8. Порсева, В.В. Изменение TRPV1-иммунореактивных нейронов чувствительных узлов спинномозговых нервов крысы под влиянием капсаицина / В.В. Порсева, В.В. Шилкин, М.Б. Корзина, А.А. Коробкин, П.М. Маслюков // *Морфология*. – 2011. – Т. 139, вып. 3. – С. 41-45. [Porseva, V.V. Changes in TRPV1-immunoreactive neurons in spinal nerve sensory ganglion neurons in rats on exposure to capsaicin / V.V. Porseva, V.V. Shilkin, M.B. Korzina, A.A. Korobkin, P.M. Maslyukov // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. – 2012. – Т. 42, № 7. – P. 770-774.]
 9. Порсева, В.В. Сегментарные особенности нейронного состава чувствительных узлов спинномозговых нервов / В.В. Порсева // *Ученые записки Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П.Павлова*. – 2011. – Т. XVIII, №2. – С. 120-122.
 10. Порсева, В.В. Нейронный состав чувствительного узла спинномозгового нерва при моделировании деафферентации и десимпатизации / В.В. Порсева, В.В. Шилкин, М.Б. Корзина, П.М. Маслюков // *Известия Высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки*. – 2011. – № 3(19). – С. 24-29.
 11. Порсева, В.В. Чувствительность нейронов афферентных узлов спинномозгового нерва, содержащих нейрофиламент к капсаицину / В.В. Порсева // *Морфологические ведомости*. – 2011. – № 4. – С. 43-46.
 12. Порсева, В.В. Вещество Р-иммунопозитивные нейроны спинномозгового узла крысы в постнатальном онтогенезе / В.В. Порсева, В.В. Шилкин, М.Б. Корзина, А.А. Коробкин, П.М. Маслюков // *Морфология*. – 2012. – Т. 141, вып. 1. – С. 75-77. [Porseva, V.V. Substance P-immunopositive neurons in rat spinal nerve sensory ganglia during postnatal ontogeny / V.V. Porseva, V.V. Shilkin, M.B. Korzina, A.A. Korobkin, P.M. Maslyukov // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. – 2013. – Vol. 43, № 2. – P. 150-152.]
 13. Порсева, В.В. Возрастные изменения чувствительных нейронов, содержащих кальцитонин ген родственный пептид в условиях дефицита афферентации у крысы / В.В. Порсева, А.А. Стрелков, В.В. Шилкин, П.М. Маслюков // *Онтогенез*. – 2012. – Т. 43, № 6. – С. 405-412. [Porseva, V.V. Age-related changes in sensory neurons containing calcitonin gene related peptide under conditions of afferentation deficit in rats / V.V. Porseva, A.A. Strelkov, V.V. Shilkin, P.M. Maslyukov // *Russian Journal of Developmental Biology*. – 2012. – Vol. 43, № 6. – P. 335–341.]
 14. Порсева, В.В. Особенности возрастных изменений NF200+-нейронов чувствительных узлов различных сегментарных уровней при химической деафферентации / В.В. Порсева, В.В. Шилкин, М.Б. Корзина, В.П. Смирнова, П.М. Маслюков // *Морфология*. – 2012. – Т. 142, вып. 4. – С. 37-42. [Porseva, V.V. Developmental changes in NF200+neurons in sensory ganglia at different segmental levels on chemical deafferentation / V.V. Porseva, V.V. Shilkin, M.B. Korzina, V.P. Smirnova, P.M. Maslyukov // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. – 2013. – Vol. 43, № 5. – P. 602-606.]
 15. Порсева, В.В. Характеристика афферентных нейронов узла спинномозгового нерва, чувствительных к капсаицину / В.В. Порсева // *Цитология*. – 2012. – Т. 54, № 12. – С. 887-

891. [Porseva, V.V. Characteristics of capsaicin-sensitive afferent neurons of spinal nerve ganglia trunk / V.V. Porseva // *Cell and Tissue Biology*. – 2013. – Т. 7, № 2. – С. 149-153.]
16. Порсева, В.В. Характеристика NADPH-d+-нейронов крестцового чувствительного узла в первый год жизни белой крысы / В.В. Порсева // *Астраханский медицинский журнал*. – 2012. – Т. 7, № 4. – С. 212-214.
17. Порсева, В.В. Возрастные изменения симпатических нейронов, содержащих нейрофиламент молекулярной массой 200 кДа при химической деафферентации / В.В. Порсева, В.П. Смирнова, М.Б. Корзина, А.И. Емануйлов, П.М. Маслюков // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2013. – Т. 155, № 2. – С. 237-240. [Porseva, V.V. Age-associated changes in sympathetic neurons containing neurofilament 200 kDa during chemical deafferentation / V.V. Porseva, V.P. Smirnova, M.B. Korzina, A.I. Emanuilov, P.M. Masliukov // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2013. – Vol. 155, № 2. – P. 268-271.]
18. Порсева, В.В. Топография и морфометрическая характеристика NF200+-нейронов серого вещества спинного мозга при деафферентации капсаицином / В.В. Порсева // *Морфология*. – 2013. – Т. 144, вып. 6. – С. 20-25. [Porseva, V.V. Topography and morphometric characteristics of NF200+ neurons in the gray matter of the spinal cord after capsaicin deafferentation / V.V. Porseva // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. – 2014. – Vol. 44, № 8. – P. 919-923.]
19. Маслюков, П.М. Нейрохимические особенности сенсорных нейронов в онтогенезе / П.М. Маслюков, В.В. Порсева, М.Б. Корзина, А.Д. Ноздрачев // *Российский Физиологический журнал*. – 2013. – Т. 99, № 7. – С. 777-792. [Maslyukov, P.M. Neurochemical characteristics of sensory neurons during ontogeny / P.M. Maslyukov, V.V. Porseva, M.B. Korzina, A.D. Nozdrachev // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. – 2015. – Vol. 45, № 4. – P. 440-448.]
20. Маслюков, П.М. Возрастные изменения нейрохимических особенностей сенсорных нейронов / П.М. Маслюков, М.Б. Корзина, В.В. Порсева, Е.Ю. Быстрова, А.Д. Ноздрачев // *Успехи геронтологии*. – 2013. – Т. 26, № 4. – С. 620–630. [Masliukov, P.M. Age-dependent changes in the neurochemical properties of sensory neurons / P.M. Masliukov, M.B. Korzina, V.V. Porseva, E.Y. Bystrova, A.D. Nozdrachev // *Advances in gerontology*. – 2014. – Vol. 4, № 3. – P. 176-186.]
21. Masliukov, P.M. Development of nNOS-positive neurons in the rat sensory and sympathetic ganglia / P.M. Masliukov, A.I. Emanuilov, L.V. Madalieva, K.Y. Moiseev, A.V. Bulibin, M.B. Korzina, V.V. Porseva, A.A. Korobkin, V.P. Smirnova // *Neuroscience*. – 2014. – Vol. 256. – P. 271–281.
22. Порсева, В.В. Кальбиндин иммунореактивные интернейроны промежуточной области и вентрального рога серого вещества спинного мозга белой крысы / В.В. Порсева // *Морфология*. – 2014. – Т. 146, вып. 6. – С. 21-26. [Porseva, V.V. Calbindin-immunoreactive interneurons in the intermediate zone and ventral horn of the gray matter of the spinal cord in white rats / V.V. Porseva // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. – 2015. – Vol. 45, № 9. – P. 710-714.]
23. Шилкин, В.В. Изменения кальбиндин-содержащих нейронов заднего рога серого вещества спинного мозга и чувствительного узла спинномозгового нерва белой крысы после сенсорной депривации / В.В. Шилкин, В.В. Порсева, П.М. Маслюков, А.А. Стрелков // *Морфология*. – 2014. – Т. 146, вып. 6. – С. 26-32. [Shilkin, V.V. Changes in calbindin-containing neurons in the posterior horn of the gray matter of the spinal cord and the sensory ganglion of a spinal nerve in white rats after sensory deprivation / V.V. Shilkin, V.V. Porseva, P.M. Maslyukov, A.A. Strelkov // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. – 2015. – Vol. 45, № 9. – P. 980-986.]
24. Моисеев, К.Ю. Возрастные изменения чувствительных нейронов, содержащих NO-синтазу при химической деафферентации капсаицином / К.Ю. Моисеев, В.В. Порсева,

- В.П. Смирнова, М.Б. Корзина, П.М. Маслюков // Морфология. – 2014. – Т. 146, вып. 6. – С. 37-41. [Moiseev, K.Y. Developmental changes in NO synthase-containing sensory neurons in chemical deafferentation with capsaicin / K.Y. Moiseev, V.V. Porseva, V.P. Smirnova, M.B. Korzina, P.M. Maslyukov // Neuroscience and Behavioral Physiology. – 2015. – Vol. 45, № 9. – P. 991-995.]
25. Masliukov, P.M. Development of nNOS-positive neurons in the rat sensory ganglia after capsaicin treatment / P.M. Masliukov, K.Y. Moiseev, M.B. Korzina, V.V. Porseva // Brain Research. – 2015. – Vol. 1618. – P. 212-221.
26. Порсева, В.В. Строение серого вещества спинного мозга: неопределенности и перспективы исследования / В.В. Порсева, В.В. Шилкин // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2016. – № 2 (64). – С. 20-30.
27. Порсева, В.В. Нейроны пластинки X спинного мозга / В.В. Порсев, В.В. Шилкин // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2016. – № 4 (66). – С. 5-10.
28. Порсева, В.В. Премоторные интернейроны спинного мозга: топография и структурно-функциональная характеристика / В.В. Порсева, В.В. Шилкин, П.М. Маслюков, А.Д. Ноздрачев // Морфология. – 2019. – Т.156, вып. 4. – С. 110-119.
29. Порсева, В.В. Особенности топографии и изменения цитоархитектоники поля X спинного мозга в постнатальном онтогенезе крысы / В.В. Порсева, А.Д. Ноздрачев // Морфология. – 2019. – Т. 156, вып. 5. – С. 49-54.

Работы, опубликованные в научных трудах и материалах научных конференций

30. Порсева, В.В. Возрастные изменения активности НАДФ-диафоразы в нейронах ядер автономной нервной системы у белых крыс / В.В. Порсева, Е.В. Румянцева // Сборник «Механизмы функционирования висцеральных систем» (материалы V Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 100-летию со дня рождения академика В.Н.Черниговского). – Санкт-Петербург, 2007. – С. 251.
31. Порсева, В.В. Активность НАДФ-диафоразы в нейронах автономных ядер спинного мозга в раннем постнатальном периоде жизни белой крысы / В.В. Порсева // Морфология. – 2008. – Т.133, вып. 2. – С.109.
32. Порсева В.В. Возрастные особенности активности НАДФ-диафоразы в мотонейронах различных сегментов спинного мозга / В.В. Порсева // Сборник «Проблемы современной морфологии человека» (материалы международной конференции, посвященной 75-летию со дня рождения заслуженного деятеля науки РФ, члена-корреспондента РАМН, профессора Б.А. Никитюка). – Москва, 2008. – С.103-105.
33. Порсева, В.В. Морфометрическая характеристика нейроцитов спинномозговых узлов различных сегментарных уровней у белых крыс / В.В. Порсева // Морфология. – 2009. – Т.136, вып. 4. – С. 116.
34. Порсева, В.В. Сегментарные особенности ферментативной активности в нейронах спинномозговых узлов белой крысы / В.В. Порсева // Сборник тезисов: Механизмы функционирования висцеральных систем: материалы VII Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 160-летию со дня рождения И.П.Павлова. – СПб.: Институт физиологии им. И.П.Павлова РАН, 2009. – С. 353.
35. Порсева, В.В. Диафораза-позитивные нейроны спинномозговых узлов взрослой крысы / В.В. Порсева // Сборник тезисов: Научно-практическая конференция с международным участием, посвященная 85-летию со дня рождения д.м.н. профессора Степанова Петра Федоровича. – Смоленск: СГМА, 2009. – С. 86.
36. Порсева, В.В. Характеристика клеточных структур серого вещества спинного мозга при химической деафферентации белой крысы / В.В. Порсева // Медико-физиологические проблемы экологии человека: Материалы III Всероссийской конференции с международным участием (22-25 сентября 2009 г.). – Ульяновск: УлГУ, 2009. – С. 243-245.

37. Шилкин, В.В. Гистохимическое разнообразие нейронов спинного мозга / В.В. Шилкин, В.В. Порсева // Морфология, 2010. – Т.137, вып. 4. – С. 220.
38. Маслюков, П.М. Возрастные изменения TRPV1-иммунореактивных афферентных нейронов при химической деафферентации капсаицином / П.М. Маслюков, В.В. Порсева, В.В. Шилкин, А.А. Коробкин, М.Б. Корзина // Современные проблемы боли: механизмы возникновения и способы коррекции: науч. труды; под ред. В.С. Улащик, В.А. Кульчицкий. – Минск: Бизнесофсет, 2010. – С. 66-69.
39. Порсева, В.В. Возрастные и сегментарные особенности развития NADPH-диафоразопозитивных афферентных нейронов / В.В. Порсева, В.В. Шилкин // Сб. тр.: Современные аспекты фундаментальной и прикладной морфологии. Научно-практическая конференция, посвященная 110-летию со дня рождения академика НАН Беларуси Д.М. Голуба. под ред. П.И. Лобко, П.Г. Пивченко. – Минск: БГМУ, 2011. – С. 218-223.
40. Порсева, В.В. Возрастные изменения нейронов спинномозговых узлов, иммунореактивных к веществу Р / В.В. Порсева, П.М. Маслюков, А.И. Емануйлов, А.А. Стрелков, М.Б. Корзина, А.А. Коробкин // XIV Международное совещание и VII школа по эволюционной физиологии, посвященные памяти академика Л.А. Орбели. Тезисы докладов и лекций. – СПб: ВВМ, 2011. – С.157.
41. Порсева В.В. Структурно-функциональная организация нейронов чувствительного узла спинномозгового нерва и ядер спинного мозга у взрослой крысы / В.В. Порсева // Морфология. – 2012. – Т. 141, вып. 3. – С. 128-129.
42. Смирнова, В.П. Пептидергические нейроны чувствительных узлов крысы в постнатальном онтогенезе / В.П. Смирнова, П.М. Маслюков, А.И. Емануйлов, В.В. Порсева // Морфология. – 2012. – Т. 141, вып. 3. – С. 144.
43. Порсева, В.В. Влияние капсаицина на морфометрические и топографические характеристики мотонейронов у взрослой крысы / В.В. Порсева // Нейронаука для медицины и психологии: 8-й Международный междисциплинарный конгресс. Труды под ред. Лосевой Е.В., Логиновой Н.А. – М.: МАКС Пресс, 2012. – С. 327.
44. Порсева, В.В. NADPH-диафоразопозитивные нейроны чувствительного узла спинномозгового нерва белой крысы / В.В. Порсева // Probleme actuale ale morfologiei. Materiale Conferinței științifice internaționale dedicată centenarului profesorului V.Z. Perlin (sub redacția Ilia Catereniuc). – Sirius SRL, Chișinău, 2012. – P. 320-323.
45. Порсева, В.В. Возрастные изменения популяции НФ200+-нейронов грудного спинномозгового нерва / В.В. Порсева, М.Б. Корзина // Механизмы функционирования висцеральных систем. Тезисы докладов VIII Всероссийской конференции с международным участием, посвященная 220-летию со дня рождения академика К.М. Бэра. – СПб.: Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, 2012. – С. 185.
46. Смирнова, В.П. Нейрохимические особенности афферентных нейронов крысы в постнатальном онтогенезе / В.П. Смирнова, М.Б. Корзина, А.В. Булибин, П.М. Маслюков, В.В. Порсева // Механизмы функционирования висцеральных систем. Тезисы докладов VIII Всероссийской конференции с международным участием, посвященная 220-летию со дня рождения академика К. М. Бэра. – СПб.: Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, 2012. – С. 213.
47. Порсева, В.В. Топография интернейронов спинного мозга, содержащих белок нейрофиламентов массой 200 kD в постнатальном развитии крысы / В.В. Порсева, В.В. Шилкин, М.П. Маслюков П.М. // Нейронаука для медицины и психологии: 9-й Международный междисциплинарный конгресс. Труды под ред. Лосевой Е.В., Крючковой А.В., Логиновой Н.А. – М.: МАКС Пресс, 2013. – С. 262-263.
48. Шилкин, В.В. Вещество Р-иммунопозитивные интернейроны спинного мозга в постнатальном развитии белой крысы / В.В. Шилкин, В.В. Порсева, П.М. Маслюков, А.А. Стрелков // Нейронаука для медицины и психологии: 9-й Международный

- междисциплинарный конгресс. Труды под ред. Лосевой Е.В., Логиновой Н.А. – М.: МАКС Пресс, 2013. – С. 372-373.
49. Порсева, В.В. Влияние капсаицина на возрастное развитие нейронов спинномозгового узла, содержащих вещество Р / В.В. Порсева, П.М. Маслюков // Нейрогуморальные механизмы регуляции висцеральных функций в норме и при патологии: Материалы научно-практической конференции, посвященной памяти профессора Е.Ф. Ларина. – Томск: СибГМУ, 2013. – С. 103-105.
 50. Порсева, В.В. Возрастные изменения периферических и центральных нейронов, содержащих вещество Р / В.В. Порсева, В.В. Шилкин, П.М. Маслюков // XXII съезд Физиологического общества имени И.П. Павлова: Тезисы докладов. – Волгоград: Изд-во ВолгГМУ, 2013. – С.431-432.
 51. Порсева, В.В. Сравнительный анализ субпопуляций спинальных интернейронов, содержащих кальбиндин, у разных видов грызунов / В.В. Порсева // Морфология – медицинская наука и практике: сб. трудов науч.-практ. конф. с междун. уч., посвящ. 85-летию со дня рождения заслуж. деятеля науки РБ, лауреата Гос. премии РБ, проф., д.м.н. П.И. Лобко. Под ред. П.Г. Пивченко. – Минск: БГМУ, 2014. – С. 206-208.
 52. Стрелков, А.А. Кальбиндин и белки нейрофиламентов в мотонейронах спинного мозга / А.А. Стрелков, В.В. Шилкин, В.В. Порсева // Морфология. – 2014. – Т. 145, вып. 3. – С. 188.
 53. Порсева, В.В. Комплексная характеристика интернейронов поверхностной и глубокой областей дорсального рога серого вещества спинного мозга крысы / В.В. Порсева // Современные проблемы нейробиологии: мат. науч. конф. с междун. уч., посвященной 70-летию Ярославской государственной медицинской академии. – Ярославль: ГБОУ ВПО ЯГМА Минздрава России, 2014. – С. 40-41.
 54. Шилкин, В.В. Интернейроны промежуточной зоны серого вещества спинного мозга белой крысы / В.В. Шилкин, В.В. Порсева // Современные проблемы нейробиологии: мат. науч. конф. с междун. уч., посвященной 70-летию Ярославской государственной медицинской академии. – Ярославль: ГБОУ ВПО ЯГМА Минздрава России, 2014. – С. 57-58.
 55. Порсева, В.В. Сегментарные особенности структурных характеристик нейронов поверхностной области дорсального рога спинного мозга белой крысы / В.В. Порсева // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2015. – Т. 4, №3. – С. 101.
 56. Порсева, В.В. Структурные типы нейронов промежуточной области серого вещества спинного мозга крысы / В.В. Порсева, В.В. Шилкин // Нейронаука для медицины и психологии: 11-й Международный междисциплинарный конгресс. Труды под ред. Лосевой Е.В., Крючковой А.В., Логиновой Н.А. – М.: МАКС Пресс, 2015. – С. 315.
 57. Стрелков, А.А. Морфо-функциональные изменения афферентных нейронов спинномозговых узлов в результате деафферентации у взрослых крыс / А.А. Стрелков, В.В. Порсева, В.В. Шилкин // Нейронаука для медицины и психологии: 11-й Международный междисциплинарный конгресс. Труды под ред. Лосевой Е.В., Крючковой А.В., Логиновой Н.А. – М.: МАКС Пресс, 2015. – С. 374-375.
 58. Порсева, В.В. Возрастные изменения морфо-функциональных характеристик мотонейронов белой крысы / В.В. Порсева // Probleme actuale ale morfologiei. Materialele Conferinței științifice internaționale dedicată celor 70 de ani de la fondarea Universității de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu", 15-16 oct. 2015, Chișinău, sub red.: Iliia Cătereniuc. – Chișinău: S. n., 2015 (Tipografia-Sirius). – С. 314-318.
 59. Порсева, В.В. Морфологические типы интернейронов вентрального рога спинного мозга взрослой белой крысы / В.В. Порсева // Морфология. – 2016. – Т. 149, вып. 3. – С. 165.
 60. Порсева, В.В. Уровневая иммунореактивность симпатических преганглионарных нейронов / В.В. Порсева, М.Б. Корзина, А.А. Стрелков // Научные труды V Съезда физиологов СНГ, V Съезда биохимиков России, Конференции ADFLIM; под ред.

- А.И. Григорьева, Ю.В. Наточина, Р.И. Сепиашвили, А.Г. Габимова, В.Т. Иванова, А.П. Савицкого. — АСТА NATURAE|СПЕЦВЫПУСК, 2016. – Том 1. – С. 60-61.
61. Порсева, В.В. Сегмент спинного мозга: реальность или миф / В.В. Порсева, В.В. Шилкин // Достижения и инновации в современной морфологии: сб. тр. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 115-летию со дня рожд. акад. Д. М. Голуба, Минск, 30 сент. 2016 г.: в 2 т. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь; Белорус. науч. о-во морфолог.; Белорус. гос. мед. ун-т; под ред. П. Г. Пивченко, Н. А. Трушель. – Минск: БГМУ, 2016. – Т. 2. – С. 101-104.
 62. Шилкин, В.В. "Черные дыры" нейроморфологии, которые требуют решения / В.В. Шилкин, В.В. Порсева, М.Н. Абакшина // Современные проблемы нейробиологии. Структура и функции нервной системы в норме и патологии. Материалы II Всероссийской научной конференции с международным участием. – Ярославль: ГБОУ ВПО ЯГМУ Минздрава России, 2016. – С. 66.
 63. Порсева, В.В. Влияние деафферентации капсаицином на интернейроны поверхностной области дорсального рога спинного мозга белой крысы / В.В. Порсева, П.М. Маслюков // Нейронаука для медицины и психологии: 13-й Международный междисциплинарный конгресс. Судак, Крым, Россия; 30 мая – 10 июня 2017 г.: Труды Конгресса; под ред. Лосевой Е.В., Крючковой А.В., Логиновой Н.А. – М.: МАКС Пресс, 2017. – С. 338-339.
 64. Порсева, В.В. Сравнительный анализ кальбиндин содержащих интернейронов спинного мозга у грызунов / В.В. Порсева // Материалы XXIII съезда Физиологического общества имени И.П. Павлова. – Воронеж: Издательство «ИСТОКИ», 2017. – С. 2372-2374.
 65. Порсева, В.В. Возрастные изменения серого вещества спинного мозга крысы / В.В. Порсева, В.В. Шилкин // Морфология. – 2018. – Т. 153, вып. 3. – С. 224.
 66. Порсева, В.В. Планиметрический анализ площади дорсального рога грудного уровня спинного мозга в постнатальном развитии белой крысы / В.В. Порсева // Нейронаука для медицины и психологии: XIV Международный Междисциплинарный Конгресс. Судак, Крым, Россия; 30 мая – 10 июня 2018 г.: Труды Конгресса; под ред. Лосевой Е.В., Крючковой А.В., Логиновой Н.А. – М.: МАКС Пресс, 2018. – С. 381-382.
 67. Порсева, В.В. Возрастные изменения площади серого вещества грудного спинного мозга у белой крысы / В.В. Порсева, П.М. Маслюков // Морфология – науке и практической медицине: сборник научных трудов, посвященный 100-летию ВГМУ им. Н. Н. Бурденко. – Воронеж: ИПЦ «Научная книга», 2018. – С. 305-310.
 68. Порсева, В.В. Топографическая гетерогенность интернейронов дорсального рога грудного спинного мозга в постнатальном развитии белой крысы / В.В. Порсева, П.М. Маслюков // Материалы III международной научной конференции, посвященной памяти заслуженного деятеля науки РФ, профессора Шилкина В.В. – Ярославль: ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России, 2018. – С. 63-64.
 69. Порсева, В.В. Нейрохимическая гетерогенность спинномозгового узла / В.В. Порсева // Сборник тезисов международной конференции «Инновационные исследования в области биомедицины» памяти академика В.Н. Ярыгина, 28 марта 2019 г., Москва; под ред. Арчакова А.И. и др. – М.: ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова. 2019. – С. 28-29.
 70. Порсева, В.В. Гистоморфометрия поля X спинного мозга в постнатальном развитии белой крысы / В.В. Порсева // Морфология. – 2019. – Т. 155, вып. 2. – С. 233.
 71. Порсева, В.В. Гистотопография и морфометрия вентрального рога грудного спинного мозга в постнатальном развитии белой крысы / В.В. Порсева, П.М. Маслюков // Нейронаука для медицины и психологии: XV Международный Междисциплинарный Конгресс. Судак, Крым, Россия; 30 мая – 10 июня 2019 г.: Труды Конгресса; под ред. Лосевой Е.В., Крючковой А.В., Логиновой Н.А. – М.: МАКС Пресс, 2019. – С. 339.
 72. Masliukov, P. Sympathetic preganglionic neurons after sensory deprivation / P. Masliukov, V. Porseva, A. Nozdrachev // Book of abstracts: 11 Congress of the International Society for

Autonomic Neuroscience (July 25 – 27, 2019, California, Los Angeles,). – ISAN19.177. – P. 109.

73. Порсева, В.В. Нейронная организация спинного мозга в постнатальном онтогенезе / В.В. Порсева, П.М. Маслюков, А.Д. Ноздрачев // Интегративная физиология: Всероссийская конференция с международным участием, посвященная 170-летию со дня рождения И.П. Павлова, Санкт-Петербург (24-26 сентября) / Тезисы докладов. – Спб.: Ин-т физиологии им. И.П. Павлова РАН, 2019. – С. 203-204.
74. Порсева, В.В. Экспрессия кальций-связывающих белков в нейронах промежуточной зоны грудного спинного мозга у грызунов / В.В. Порсева, П.М. Маслюков, А.Д. Ноздрачев // II Объединенный научный форум: VI Съезд физиологов СНГ, VI Съезд биохимиков России, IX Российский симпозиум «Белки и пептиды» (Сочи, Дагомыс, 1–6 октября 2019); под ред. Р.И. Сепиашвили, В.А. Ткачука, А.Г. Габибова, А.И. Григорьева, В.Т. Иванова, М.А. Островского. – Научные труды. – Том 1. – М.: Издательство «Перо», 2019. – С. 179.

Глава в монографии:

75. Porseva V.V., Shilkin V.V., Masliukov P.M. Capsaicin Treatment in Studying of Peripheral Pain Processing. In: Capsaicin: Food Sources, Medical Uses and Health Implications // Edited by Bruce Gilliam. – Nova Science Publishers, Inc, 2015. – P. 99-122.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВП – вещество Р
 ДЯ – дорсальное ядро
 КАБ – кальбиндин 28 кДа
 КГРП – кальцитонин-ген-родственный пептид
 МАТ – Международная анатомическая терминология
 МВАН – Международная ветеринарная анатомическая номенклатура
 НАДФН – никотинамидадениндинуклеотидфосфат
 НАДФН-д – НАДФН-диафораза
 НФ200 – белок нейрофиламентов 200 кДа
 ПЛЯ – промежуточно-латеральное ядро
 ПМЯ – промежуточно-медиальное ядро
 ЦК – центральный канал
 ЦНС – центральная нервная система
 ХАТ – холинацетилтрансфераза
 NAV – Ветеринарная анатомическая номенклатура
 nNOS – нейрональная синтаза оксида азота
 ТН – Гистологическая номенклатура
 ТНА – Нейроанатомическая терминология
 TRPV1 – рецептор временного потенциала, ваниллоидный тип 1