

УДК 611.832:612.822

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ НЕЙРОНОВ, СОДЕРЖАЩИХ КАЛЬЦИТОНИН ГЕН РОДСТВЕННЫЙ ПЕПТИД В УСЛОВИЯХ ДЕФИЦИТА АФФЕРЕНТАЦИИ У КРЫСЫ

© 2012 г. В. В. Порсева, А. А. Стрелков, В. В. Шилкин, П. М. Маслоков

ГОУ ВПО “Ярославская государственная медицинская академия” Минздравсоцразвития России

150000 Ярославль, ул. Революционная, д. 5

E-mail: vvporseva@mail.ru

Поступила в редакцию 24.06.11 г.

Окончательный вариант получен 02.12.11 г.

Морфологические особенности КГРП-иммунореактивных нейронов изучали в чувствительных узлах блуждающего и грудного спинномозгового нервов у крыс 3-, 10-, 20-, 30-, 60-, 90- и 180-дневных возрастов в условиях химической деафферентации. Результаты показали, что нейроны, содержащие кальцитонин ген родственный пептид выявлялись с момента рождения крысы в обоих узлах, количество которых с возрастом уменьшалось. Большая часть КГРП-иммунореактивных нейронов имела малые размеры (до 600 мкм²). Введение капсаицина изменяло возрастную динамику КГРП-иммунопозитивных нейронов, что проявлялось в уменьшении средней площади сечения клеток и значительном снижении их количества в узле грудного нерва, и в отсутствии выявляемости позитивных нейронов в узле блуждающего нерва.

Ключевые слова: нейрон, каудальный узел, спинномозговой узел, кальцитонин ген родственный пептид, капсаицин, онтогенез, крыса.

Изучение механизмов болевых ощущений ведется в течение многих десятилетий специалистами различного профиля, исследования которых свидетельствуют, что болевая чувствительность обеспечивается несколькими типами ноцицепторов — механо-молчащими, полимодальными, специфическими тепловыми, холодowymi. Перед нейробиологами стоит задача выявления специфичности восприятия болевых ощущений, сущность которых может быть сведена к раскрытию ионных каналов из семейства TRP-каналов (TRP, транзиторный рецепторный потенциал). Наиболее известными представителями этой группы являются TRPV1 (ваниллоидные), чувствительные к капсаицину, теплу и низкому значению pH.

Установлено, что рецепторы капсаицина локализируются в С-волокнах и их ветвлениях, образованных нейронами чувствительных узлов, сигнализирующих о боли (Piper et al., 2000; Ma, 2002). Активация капсаицин-чувствительных терминалей заключается в повышении проводимости не-селективных катионных каналов (Szolcsanyi, 2004; Bucelli et al., 2008; Спиридонов и др., 2010), что приводит к усилению выделения вещества P (substance P) и кальцитонин ген родственного пептида (calcitonin gene-related peptide).

Настоящее исследование имеет цель выявить возрастные изменения характеристик нейронов, содержащих кальцитонин ген-родственный пеп-

тид в чувствительных узлах блуждающего и спинномозгового нервов на фоне дефицита афферентации, вызванной капсаицином.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 70 белых крысах-самках линии Вистар в возрасте 3, 10, 20, 30, 60, 90 и 180 суток после рождения с соблюдением “Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных” (приказ № 775 от 12.08.1977 г. МЗ СССР). Животные были разделены на две группы: контрольная ($n = 35$), опытная ($n = 35$). В опытной группе на вторые сутки жизни крыс моделировали деафферентацию путем однократного подкожного введения капсаицина (N-vanillylonamide, Sigma) 150 мг/кг в растворе, состоящем из 1 части 96% этилового спирта, 1 части Твин-80, 8 частей 0.9% раствора NaCl. Морфометрические характеристики нейронов, содержащих кальцитонин ген родственный пептид (КГРП) изучали в каудальном узле (нижний узел) блуждающего нерва (КУБН) и в чувствительном узле второго грудного спинномозгового нерва (ЧУГН). 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 0.1 М фосфатном буфере. Выделенные узлы фиксировали в течение

Таблица 1. Относительное содержание КГРП-иммунореактивных нейронов в контроле и при химической деафферентации капсаицином ($x \pm s_x$)

Возраст (сутки)	КУБН		ЧУГН	
	контроль	опыт	контроль	опыт
3	20.0 ± 1.42	15.4 ± 1.48**	12.8 ± 0.62	10.5 ± 1.59**
10	14.6 ± 1.34*	—	29.2 ± 1.48*	9.6 ± 0.84**
20	7.3 ± 1.29*	—	27.3 ± 1.75*	7.5 ± 0.17*, **
30	6.4 ± 1.18*	—	27.9 ± 1.63*	8.5 ± 0.31**
60	7.0 ± 1.22*	—	27.6 ± 1.36*	7.2 ± 0.24*, **
90	6.6 ± 1.20*	—	26.3 ± 1.45*	7.6 ± 0.22*, **
180	7.1 ± 1.17*	—	27.2 ± 1.64*	7.4 ± 0.16*, **

* $p < 0.05$, различия достоверны по сравнению с 3-суточным крысенком;

** $p < 0.05$, различия достоверны по сравнению с контрольной группой.

2 часов в предыдущей смеси, после чего промывали трехкратно в физиологическом растворе на фосфатном буфере (PBS) в течение 30 минут и оставляли в 30% растворе сахарозы на 24 часа. Из фиксированного материала на криостате готовили срезы толщиной 20 мкм.

Выявление нейронов, содержащих КГРП, проводили при помощи меченых кроличьих антител Абкам (Abcam, Великобритания, разведение 1:1000), по методике описанной ранее (Masliukov et al., 2004; Маслюков и др., 2009). Вторичные антитела были конъюгированы с флюорохромом FITC (Jackson, США), дающим зеленую флюоресценцию. Иммуногистохимическую окраску срезов проводили одновременно в контрольной и опытной группах. Для расчета процента иммунореактивных нейронов кроме меток к КГРП, производили мечение всей нейронной популяции при помощи флюорохрома Neuro Trace (Molecular Probes, США) с красной флюоресценцией.

Анализ препаратов проводили на флюоресцентном микроскопе ЛОМО Микмед 2, вариант 12 (Россия, Санкт-Петербург) с соответствующим набором светофильтров и CCD камеры ScoreTec MDC320 (Китай). На цифровых изображениях гистологических препаратов узлов при увеличении $\times 200$ по программе Image J (NIH, США) определяли площадь сечения нервных клеток с помощью квадратно-сетчатой вставки и проводили подсчет клеток на площади квадрата 100 мкм^2 . Долю иммунореактивных нейронов определяли как их отношение к общему числу нейронов, которое принимали за 100%. Для характеристики нейронов узлов по площади сечения использовали 5 размерных классов: до 300 мкм^2 (очень малые), $301\text{--}600 \text{ мкм}^2$ (малые), $601\text{--}900 \text{ мкм}^2$ (средние), $901\text{--}1200 \text{ мкм}^2$ (крупные), $1201\text{--}1500 \text{ мкм}^2$ (очень крупные). Анализу подлежали нервные клетки, срез которых прошел через

ядро с ядрышком, флюоресценция превышала фоновое свечение среза. Статистический анализ включал определение средней арифметической и ее стандартной ошибки. О значимости различий судили по величине t -критерия Стьюдента и считали их достоверными при $P < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В контрольной группе животных в обоих чувствительных узлах выявлялись КГРП-иммунореактивные нейроны во всех исследуемых возрастах крысы (рис. 1). При этом большинство КГРП-иммунореактивных нейронов на срезе узлов было представлено клетками малых и средних размеров, выявлялись единичные клетки крупного размера. Вся популяция КГРП-содержащих нейронов имела зеленую флюоресценцию, интенсивность которой менялась с возрастом животного. Так, в 3- и 10-дневных возрастах крысы нейроплазма КГРП-иммунореактивных нейронов обладала ярким изумрудным свечением, в последующих возрастах интенсивность люминесценции уменьшилась до зеленого цвета. По распределению продукта реакции в цитоплазме клетки, всю популяцию КГРП-позитивных нейронов можно разделить на две субпопуляции клеток: меньшую, представленную нейроны малых размеров с диффузной интенсивной флюоресценцией; большую, состоящую из нейронов, в цитоплазме которых флюоресценцией обладали гранулы в виде зернистых включений. Во всех возрастах крыс на срезе обоих узлов отчетливо выявлялись флюоресцирующие волокна.

Подсчет нейронов показал (табл. 1), что количество КГРП-иммунореактивных нейронов в КУБН в 3-дневном возрасте было максимальным. Относительное содержание позитивных нейронов в узле в 10-дневном возрасте снизилось в 1.4 раза и в 20-дневном возрасте — в 2.7 раза по сравнению с 3-дневным возрастом крысы. В по-

Таблица 2. Средняя площадь сечения КГРП-иммунореактивных нейронов в контроле и при химической деафферентации капсаицином ($\bar{x} \pm s_x$, мкм²)

Возраст (сутки)	КУБН		ЧУГН	
	контроль	опыт	контроль	опыт
3	349.2 ± 15.02	320.9 ± 14.67	321.6 ± 12.73	312.7 ± 13.85
10	419.5 ± 14.62*	—	303.8 ± 9.39	287.8 ± 12.20*
20	501.1 ± 43.78*	—	356.4 ± 12.33*	264.7 ± 12.09*
30	657.4 ± 34.15*	—	373.8 ± 18.74*	290.3 ± 12.35* **
60	629.1 ± 15.73*	—	401.2 ± 14.12*	322.5 ± 9.17**
90	623.3 ± 33.97*	—	462.7 ± 23.09*	348.6 ± 22.42**
180	613.3 ± 16.97*	—	534.3 ± 25.98*	591.5 ± 23.37* **

* $p < 0.05$, различия достоверны по сравнению с 3-суточным крысенком;

** $p < 0.05$, различия достоверны по сравнению с контрольной группой.

следующих возрастах до конца наблюдения количество позитивных нейронов значимо не менялось. Количество КГРП-иммунореактивных нейронов в ЧУГН в 3-дневном возрасте было минимальным, в 10-дневном возрасте увеличилось в 2.1 раза по отношению к 3-дневному возрасту, незначительно снизилось в 20-дневном возрасте и оставалось, не меняясь, до шести месяцев жизни.

То., количественный состав популяции КГРП-иммунореактивных нейронов являлся различным для исследуемых чувствительных узлов, но становился стабильным с 20-дневного возраста и сохранялся до 180-дневного возраста крысы.

После введения капсаицина в опытной группе животных выявлялись КГРП-иммунореактивные нейроны только в 3-дневном возрасте крысы в КУБН и во всех исследуемых возрастах крысы в ЧУГН (табл. 1). Возрастная динамика количества КГРП-иммунореактивных нейронов в ЧУГН в опытной группе характеризовалась значимым снижением числа иммунопозитивных нейронов в 20-дневном возрасте по отношению к 3-дневному возрасту. В последующем, до конца исследования, количество КГРП-иммунореактивных нейронов в ЧУГН в опытной группе практически не менялось. Однако существенным являлось выраженное снижение по сравнению с контролем числа КГРП-иммунореактивных нейронов в ЧУГН во всех возрастных группах. Так, после введения капсаицина, в 3-дневном возрасте крысы количество позитивных нейронов в ЧУГН было меньше, чем в контроле в 1.2 раза, а в последующих возрастах — в 3–3.8 раза по сравнению с аналогичными возрастами контрольной группы. В КУБН в 3-дневном возрасте содержание позитивных нейронов в опыте было меньше в 1.3 раза по сравнению с контролем. В последующих возрастах нейроны, содержащие КГРП, в КУБН не выявлены. Характер флюоресценции в условиях опыта не изменился: сохранились клетки, как с гомоген-

ным интенсивным свечением, так и с гранулярностью, сохраняли флюоресценцию и волокна.

То., в условиях проводимой химической деафферентации происходило уменьшение популяции КГРП-иммунореактивных нейронов в 3-дневном возрасте крысы на 23% в КУБН и на 20% в ЧУГН, в последующих возрастах — на 67–73% в ЧУГН и отсутствии позитивных нейронов в КУБН.

В контрольной группе животных средняя площадь сечения КГРП-иммунореактивных нейронов в обоих узлах в течение всего периода наблюдения увеличилась с возрастом крысы в 1.7 раза (табл. 2). В КУБН с 3-дневного возраста средняя площадь сечения позитивных нейронов прогрессивно возрастала и достигла максимальных значений в 30 дневном возрасте крысы, с последующим постепенным снижением к концу наблюдения. В ЧУГН возрастные изменения средней площади сечения позитивных клеток имели иной характер. Так, с 3-дневного возраста показатель снижался и достиг минимальных значений в 10-дневном возрасте, после чего прогрессивно повышался до максимальных значений в 180-дневном возрасте крысы.

Анализ клеточного состава КГРП-иммунореактивных нейронов контрольной группы животных показал, что в КУБН в 3-дневном возрасте позитивные нейроны принадлежали только двум размерным классам: очень малые и малые клетки (табл. 3). В 10- и 20-дневных возрастах в КУБН присутствовали позитивные нейроны уже четырех размерных групп, при этом большую часть популяции составляли нейроны малых размеров. С 30- и до 90-дневного возраста спектр групп расширился до всех пяти классов, популяция КГРП-иммунореактивных нейронов по размерам приобрела максимальную гетерогенность. В этот временной интервал большая часть КГРП-иммунореактивных нейронов приходилась на клетки малых и средних размеров, меньшая часть — на

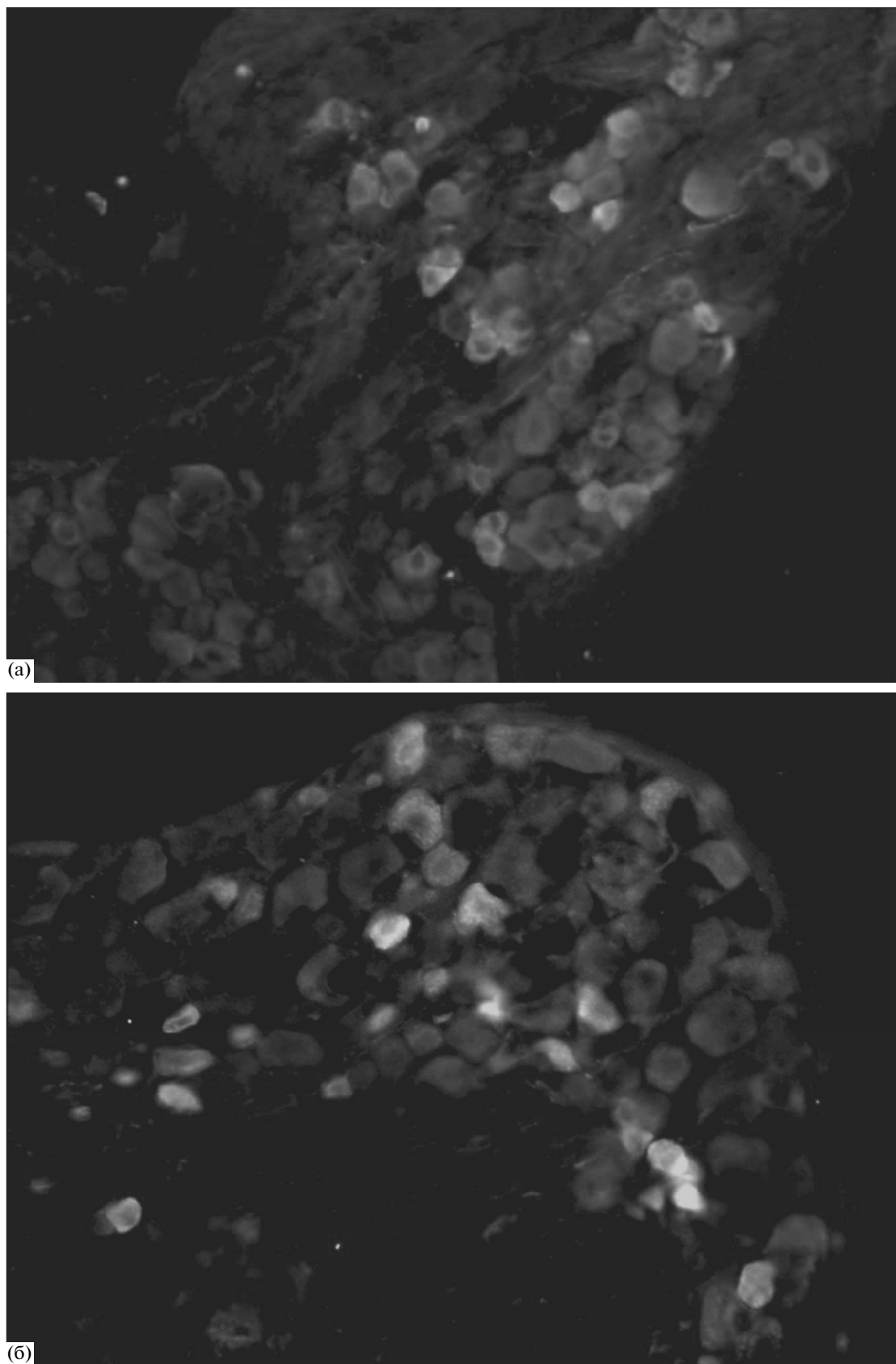


Рис. 1. КГРП-иммунореактивные нейроны каудального узла блуждающего нерва (а, в) и чувствительного узла грудного нерва (б, г) в 10 дневном возрасте крысы: а, б – контроль; в, г – опыт. Об. 20, ок. 7.

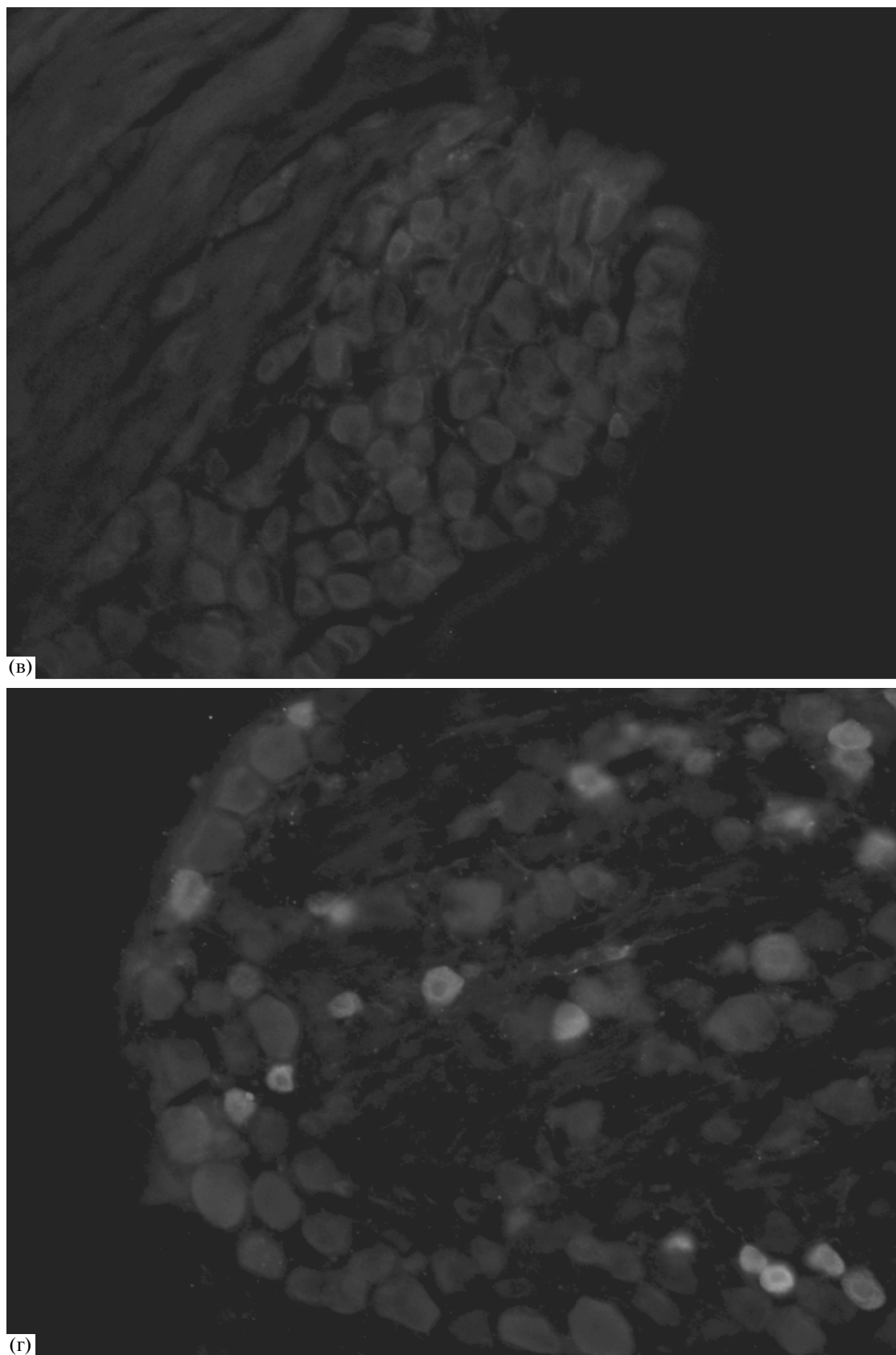


Рис. 1. Продолжение.

Таблица 3. Размерные классы КГРП-иммунореактивных нейронов КУБН в контроле и при химической деафферентации капсаицином

Возраст	Группа	До 300	301–600	601–900	901–1200	Более 1200
Т 3	Контроль	52.8 ± 1.07	47.2 ± 0.93			
	Опыт	55.4 ± 0.86	44.6 ± 0.86			
10	Контроль	17.9 ± 0.89	72.6 ± 1.03	7.4 ± 0.80	2.1 ± 0.58	
	Опыт	–	–	–	–	
20	Контроль	11.5 ± 0.51	57.7 ± 1.07	28.9 ± 0.58	1.9 ± 0.45	
	Опыт	–	–	–	–	
30	Контроль	6.1 ± 0.58	34.7 ± 0.93	44.9 ± 1.07	10.2 ± 0.66	4.1 ± 0.55
	Опыт	–	–	–	–	–
60	Контроль	4.5 ± 0.53	50.0 ± 1.12	35.9 ± 0.95	5.6 ± 0.86	4.0 ± 0.36
	Опыт	–	–	–	–	–
90	Контроль	4.4 ± 0.51	52.1 ± 1.16	34.8 ± 0.80	4.4 ± 0.68	4.3 ± 0.40
	Опыт	–	–	–	–	–
Т 180	Контроль	8.0 ± 0.71	68.0 ± 1.41	16.0 ± 0.55	8.0 ± 0.32	
	Опыт	–	–	–	–	

клетки очень малых и очень крупных размеров. В 180-дневном возрасте крысы в КУБН не выявлялись нейроны очень крупных размеров, более половины КГРП-иммунопозитивных нейронов было представлено клетками малых размеров, меньшую часть составляли клетки средних размеров и одинаково незначительную – клетки, как очень малых, так и крупных размеров. Как видно, увеличение средней площади сечения позитивных нейронов в КУБН к 30-дневному возрасту отражает разнородность этих нейронов по мерным параметрам, которая сохраняется до трех месячного возраста крысы.

В ЧУГН также в 3-дневном возрасте КГРП-иммунореактивные нейроны имели очень малые и малые размеры (табл. 4). В 10-, 20- и 30-дневных возрастах размерное распределение сохранилось: практически вся популяция имела очень малые и малые размеры. Процент нейронов средних размеров нарастал с возрастом крысы. В 60-дневном возрасте добавились крупные нейроны, которых в 90- и 180-дневных возрастах становилось значительно больше. В эти же возраста появились единичные нейроны очень крупных размеров.

Общим в распределении позитивных нейронов по размерным группам в двух, трех и шести месячных возрастах явилось значительное присутствие клеток малых размеров (более 50%). Прогрессивное увеличение средней площади сечения КГРП-иммунореактивных нейронов связано с появлением в этой группе клеток всех пяти размерных классов. Однако большую часть иммунопозитивной популяции во всех возрастных

группах составляли нейроны малых размеров (исключение – 10-дневный возраст).

В опытной группе животных средняя площадь сечения КГРП-иммунореактивных нейронов в 3-дневном возрасте существенно не отличалась от контрольных значений в обоих чувствительных узлах (табл. 2).

В ЧУГН возрастное изменение средней площади сечения позитивных нейронов после введения капсаицина имело иную динамику: с 3-дневного возраста значения показателя постепенно уменьшались, достигая минимума в 30-дневном возрасте, после чего прогрессивно увеличивались, достигая максимума в 180-дневном возрасте.

Анализ средней площади сечения позитивных нейронов ЧУГН в опытной группе показал: в течение трех месяцев жизни крысы средняя площадь сечения нейронов имела меньшие размеры по сравнению с таковыми контрольной группы наблюдения, в 180-дневном возрасте этот показатель в опыте превышал контрольные значения. В целом в условиях дефицита афферентации средняя площадь сечения КГРП-иммунореактивных нейронов в ЧУГН увеличилась в 1.9 раза.

После введения капсаицина анализ клеточного состава показал, что в ЧУГН в 3-, 10-, 20- и 30-дневных возрастах более половины КГРП-иммунореактивных нейронов имели очень малые размеры (табл. 4). В 60- и 90-дневных возрастах в группе позитивных нейронов появилось незначительное количество (менее 10%) клеток средних размеров. В 180-дневном возрасте характер распределения изменился, что проявилось в отсут-

Таблица 4. Размерные классы КГРП-иммунореактивных нейронов ЧУГН в контроле и при химической деафферентации капсаицином

Возраст	Группа	До 300	301–600	601–900	901–1200	Более 1200
3	Контроль	44.8 ± 1.36	55.2 ± 0.71			
	Опыт	53.7 ± 0.93	46.3 ± 0.86			
10	Контроль	58.0 ± 0.86	40.6 ± 1.03	1.4 ± 0.37		
	Опыт	55.5 ± 0.71	44.5 ± 0.71	–		
20	Контроль	44.0 ± 1.08	54.0 ± 0.86	2.0 ± 0.51		
	Опыт	57.7 ± 0.66	42.3 ± 0.75	–		
30	Контроль	40.0 ± 1.02	52.0 ± 0.93	8.0 ± 1.02		
	Опыт	59.2 ± 0.66	40.8 ± 0.81	–		
60	Контроль	30.0 ± 1.03	55.4 ± 0.66	9.3 ± 1.02	5.3 ± 0.66	
	Опыт	52.1 ± 1.17	43.9 ± 0.66	4.0 ± 0.66	–	
90	Контроль	16.5 ± 0.66	57.8 ± 1.23	8.2 ± 1.02	15.3 ± 0.66	2.2 ± 0.51
	Опыт	41.4 ± 1.17	51.0 ± 1.48	7.6 ± 0.63	–	–
180	Контроль	14.7 ± 0.66	61.8 ± 1.17	5.9 ± 0.63	14.7 ± 0.66	2.9 ± 0.63
	Опыт	–	50.0 ± 1.11	37.5 ± 0.95	12.5 ± 0.58	–

ствии в популяции клеток очень малых размеров: большая часть выявленных нервных клеток приходилась на малые и средние нейроны. Как видно, проведенная химическая деафферентация изменила распределение размерных групп в ЧУГН: в отличие от контроля в течение первого месяца постнатальной жизни в популяции отсутствовали нейроны средних размеров, в течение второго и третьего месяцев не встречались нейроны крупных размеров, а в шести месячном возрасте крысы не было как очень малых, так и очень крупных клеток.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ ДАННЫХ

Результаты проведенного исследования показали, что лишь небольшая часть нейронов каудального узла блуждающего нерва (6.4–20.0%) и чувствительного узла грудного нерва (12.8–29.2%) содержала кальцитонин ген родственный пептид. Тем не менее, с возрастом процент КГРП-иммунореактивных нейронов в КУБН и ЧУГН менялся разнонаправлено. Так, до 20-дневного возраста в КУБН количества КГРП-иммунореактивных нейронов уменьшалось, тогда как в ЧУГН, увеличивалось. Затем их число составило около 10% в КУБН и около 27% в ЧУГН и сохранялось до шести месяцев жизни крысы. Эти цифры близки к исследованиям, полученным на взрослых животных (Poynier et al., 2002; Yasuchika et al., 2005). Общим для обоих узлов явилось то, что с 20-дневного возраста количественный состав популяции КГРП-иммунореактивных нейронов не менялся вплоть до 6 месяца жизни крысы. При этом имму-

нопозитивностью обладала не только нейроплазма, но и волокна нейронов, что совпадает с данными других исследований (Xu et al., 2005; Price et al., 2007). Популяция КГРП-иммунореактивных нейронов являлась гетерогенной по размерным характеристикам и содержала у взрослых крыс клетки всех размерных классов (от очень малых до очень крупных), однако большая часть этой популяции (более 50%) приходилась на клетки малых размеров, что являлось характерным для обоих узлов (Poynier et al., 2002; Xu et al., 2005; Price et al., 2007). При этом нейроны КУБН имели большую площадь сечения, чем нейроны ЧУГН, что согласуется с данными о нейронном составе узлов (Yasuchika et al., 2005; Bucelli et al., 2008).

Анализ ряда исследований показал, что после введения капсаицина в чувствительных узлах происходит массовая гибель нейроцитов независимо от их размеров (Torsney et al., 2000), либо погибает только популяция нейроцитов мелких размеров, которые являются чувствительными к капсаицину (Piper et al., 2000; Ma, 2002). Проведенное исследование показало, что после химической деафферентации капсаицином в каудальном узле блуждающего нерва КГРП-иммунореактивные нейроны не выявлены, а в чувствительном узле грудного спинномозгового нерва уменьшилась доля популяции нейронов уже в 3-дневном возрасте крысы на 20%, а в последующих возрастах – на 70%. При этом в сохранившихся позитивных нейронах преобладала гранулярность в нейроплазме. Популяция выявляемых при капсаициновой деафферентации КГРП-им-

мунореактивных нейронов по размерным параметрам являлась более однородной: большая часть этих нейронов до двух месячного возраста была представлена клетками очень малых размеров, а в трех и шести месячном возрасте — клетками малых размеров, т.е. средняя площадь сечения нейронов после введения капсаицина была ниже контрольных значений.

Таким образом, результаты настоящей работы свидетельствуют, что КГРП-иммунореактивные нейроны каудального и спинномозгового узлов обладают различными функциональными свойствами и в частности чувствительностью к капсаицину. Полученные данные расширяют представления о ноцицептивных механизмах и, в частности, о возрастных изменениях систем восприятия и проведения боли.

Работа поддержана грантами президента РФ для поддержки молодых ученых; ФЦП "Научные и научно-педагогические кадры инновационной России" на 2009–2013 годы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Маслюков П.М., Корзина М.Б., Емануйлов А.И. и др.* Нейромедиаторный состав нейронов краниального шейного и чревного симпатических узлов в постнатальном онтогенезе // Журн. Морфология. 2009. Т. 135. № 1. С. 30–34.
- Спиридонов В.К., Толочко З.С.* Капсаицин-чувствительные нервы и кислительный стресс // Журн. Бюллетень СО РАМН. 2010. Т. 30. № 4. С. 76–81.
- Bucelli R.C., Gonsiorek E.A., Kim Woo-Yang et al.* Statins decrease expression of the proinflammatory neuropeptides calcitonin gene-related peptide and substance P in sensory neurons // The J. of Pharmacol and Experim Therap. 2008. V. 324. № 3. P. 1172–1180.
- Ma Q.P.* Expression of capsaicin receptor (VR1) by myelinated primary afferent neurons in rats // J. Neurosci. Lett. 2002. V. 319. P. 87–90.
- Masliukov P.M., Timmermans J.-P.* Immunocytochemical properties of stellate ganglion neurons during early postnatal development // J. Histochem. Cell Biol. 2004. V. 122. P. 201–209.
- Piper A.S., Docherty R.J.* One-way cross-desensitization between P2X purinoceptors and vanilloid receptors in adult rat dorsal root ganglion neurons // J. Physiol. 2000. V. 15. № 523. P. 685–696.
- Price T.J., Flores C.M.* Critical evaluation of the colocalization between calcitonin gene-related peptide, substance P, transient receptor potential vanilloid subfamily type 1 immunoreactivities, and isolectin B4 binding in primary afferent neurons of the rat and mouse // The J. of Pain. 2007. V. 8. № 3. P. 263–272.
- Poyner D.R., Sexton P.M., Marshall I. et al.* The mammalian calcitonin gene-related peptides, adrenomedullin, amylin, and calcitonin receptors // J. Pharmacol Rev. 2002. V. 54. № 2. P. 233–246.
- Szolcsanyi J.* Forty years in capsaicin research for sensory pharmacology and physiology // J. Neuropeptides. 2004. V. 38. № 6. P. 377–384.
- Torsney C., Meredith-Middleton J., Fitzgerald M.* Neonatal capsaicin treatment prevents the normal postnatal withdrawal of A fibres from lamina II without affecting fos responses to innocuous peripheral stimulation // J. Brain Res. Dev. Brain Res. 2000. V. 11. № 121(1). P. 55–65.
- Xu P., Slambrouck C.V., Berti-Mattera L. et al.* Activin induces Tactile allodynia and increases calcitonin gene-related peptide after peripheral inflammation // The J. of Neurosc. 2005. V. 25. P. 9227–9235.
- Yasuchika A., Seiji O., Kazuhisa T. et al.* Expression and co-expression of VR1, CGRP, and IB4-binding glycoprotein in dorsal root ganglion neurons in rats: differences between the disc afferents and the cutaneous afferents // J. Spine. 2005. V. 30. № 13. P. 1496–1500.

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, and P. M. Maslyukov

*Yaroslavl State Medical Academy, Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation,
ul. Revolyutsionnaya 5, Yaroslavl, 150000 Russia*

e-mail: vvporseva@mail.ru

Abstract—Morphological features of calcitonin gene-related peptide (CGRP)-immunoreactive neurons were studied in the sensory ganglia of the vagus and thoracic nerves in 3-, 10-, 20-, 30-, 60-, 90-, and 120-day-old rats under conditions of chemically-induced deafferentation. We found that, in rats, CGRP-containing neurons appeared in both ganglia immediately after they were born and their number decreased with aging. Most of CGRP-immunoreactive neurons were small in size, i.e., up to 600 μm^2 . Administration of capsaicin modified age-related changes in the number of CGRP-immunopositive neurons. In the thoracic nerve ganglion, the mean square of these cells and their number substantially decreased, whereas, in the vagus nerve ganglion, positive cells were not observed.

Keywords: neuron, caudal ganglion, dorsal root ganglion, calcitonin gene-related peptide, capsaicin, ontogeny, rat.