

## 猫上丘表层和外膝体中的一氧化氮合酶 阳性神经成分的生后发育

蒋斌 沙泉 周逸峰 寿天德\*

(中国科技大学生命科学学院 神经生物学与生物物理学系视觉研究实验室, 合肥 230027;

\*复旦大学生命科学学院 生理学与生物物理学系, 上海 200433;

\*中国科学院生物物理研究所视觉信息加工开放实验室, 北京 100101)

**摘要** 为了探讨一氧化氮与上丘、外膝体视觉功能成熟的关系, 用NADPH-黄递酶组织化学技术观察了生后不同年龄段(0、5、1、3、5、8、10、15周和成年)猫上丘中的一氧化氮合酶阳性神经元的数量及形态变化和外侧膝体中一氧化氮合酶阳性神经纤维网的形成过程。结果显示: (1) 上丘表层中的一氧化氮合酶阳性神经元在生后0~5周时已少量出现, 胞体相对较小, 树突分支少而短; 1周时NOS阳性神经元数量达到最高峰; 随后的三周内, 此神经元数量维持在较高水平, 且在生后的1~5周中, 胞体面积逐渐增大, 树突分支复杂化、长度增长, 直至第5周达到峰值。生后8周后, 一氧化氮合酶阳性神经元数量、胞体面积、树突分支长度逐渐减少, 10周后接近成年动物水平。(2) 在生后发育的各个年龄段, 外侧膝体中均未见到一氧化氮合酶阳性神经元。生后3周时, 开始出现阳性神经纤维, 在随后的发育中, 阳性纤维更加浓密, 10周时已与成年动物者类似。本研究结果提示: 上丘表层中NOS阳性神经元的数量、形态变化以及外侧膝体中的NOS阳性纤维的形成与生后发育中的这两个皮层下视觉中枢的功能成熟有关。

**关键词** 一氧化氮合酶 视觉发育 上丘 外膝体 猫

## THE POSTNATAL DEVELOPMENT OF NOS POSITIVE NEURONAL COMPONENTS IN THE SUPERIOR COLLICULUS AND LATERAL GENICULATE NUCLEUS OF THE CAT

Jiang Bin, Sha Quan, Zhou Yifeng, Shou Tiande\*

(Vision Research Laboratory, Department of Neurobiology and Biophysics,

School of Life Sciences, University of Science and Technology of China, Hefei 230027;

\*Department of Physiology and Biophysics, School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200433;

\*Laboratory of Visual Information processing, Institute of Biophysics, Academia Sinica, Beijing 100101)

**Abstract** In order to investigate the relationship between nitric oxide and functional development of subcortical vision, the postnatal development of NOS positive neuronal components in the superior colliculus (SC) and the lateral geniculate nucleus (LGN) of the cat were studied with NADPH-d histochemical method. The results are as follows: (1) The NOS positive neurons in the superficial SC were detectable by postnatal week 0.5 (PNW 0.5), but they had a relative smaller soma size and shorter dendrites. The number of NOS positive neurons reached a peak by PNW 1, and during the period from PNW 1 to PNW 5 the NOS positive neurons exhibited larger soma size and more complex, longer dendrite. After PNW 8, the soma size, the length and complexity of their dendrites began to reduce gradually and kept at a steady level from PNW 10 to adulthood. (2) From birth to adulthood no NOS positive neurons was found in the LGN, but by PNW 3 some NOS positive fibers were detectable. They became denser and distributed evenly in the specific layers of LGN by PNW 5. The distribution of NOS positive fibers by PNW 10 was similar to that in adulthood. These results suggest that the postnatal development of NOS positive neuronal components in the SC and the LGN of cats is relevant to the functional maturation of those two structures.

(Figures 1~ 12 on plate 46)

**Key words** NOS, visual development, superior culliculus, lateral geniculate nucleus, cat

一氧化氮(Nitric oxide, NO)是近年来发现的一种特殊活性物质,在脑内广泛分布,在神经系统中作为信使的作用越来越受到广泛的重视。其形态特征可以通过NADPH-黄递酶组织化学技术显示,并可间接了解内源性NO的水平。据报道,在成年猫视觉通路中,视网膜,上丘以及皮层中均存在一氧化氮合酶(NOS)阳性神经元<sup>[1,2]</sup>,外膝体中虽不存在NOS阳性细胞,却存在丰富的NOS阳性纤维<sup>[3]</sup>,提示NO在视觉功能中起重要作用。

视觉系统的正常功能需视网膜与视觉中枢之间的精确连接,精确的连接是由粗略的前连接类型通过突触精细化过程最终成为成熟的类型。轴突的精细化过程的机制尚不完全清楚,除了和传入神经的电活动有关外,对多种哺乳动物与非哺乳动物的研究表明,此过程涉及活动依赖型突触前机制以及NMDA受体介导的突触后机制,即涉及突触前与突触后的相互作用。由于NO的气体特性,目前认为NO作为逆行信使参与突触前后的相互通讯<sup>[4]</sup>。在鸡的视网膜顶盖投射发育中,顶盖中NOS的表达在时间上和空间位置上与视网膜节细胞轴突到达顶盖十分一致(E8~E15),NOS阳性神经元的出现高峰恰是投射到顶盖中的视网膜节细胞轴突发生修饰的时间<sup>[5]</sup>。大鼠在生后7d(P7)上丘表面仅有少量量的NOS阳性神经元出现,但在P15时NOS神经元数量达到最大值,此时正是视网膜-上丘投射发生精细化的时间,在P21~P28,NOS细胞大量减少,已与成年时无何区别<sup>[6]</sup>;在生后一周内,雪貂的外膝体几乎不出现NOS阳性神经元,而在生后第3~4周中,NOS阳性细胞数量达到峰值,此时视网膜节细胞轴突分离进入外膝体的on/off亚层中<sup>[7]</sup>,而在此时用NOS的拮抗剂N-硝基L-精氨酸或N-硝基L-精氨酸甲酯阻断NO的作用,即可使网膜节细胞轴突不能正确地分离进入on/off亚层,表明雪貂的网膜-外膝体的正确的区域性投射在生后的第4周才完成且需要NO的参与<sup>[8]</sup>。猫是视觉系统发育相对成熟的动物,表现为网膜-上丘和网膜-外膝体投射在出生前已经建立,但从电生理学上,上丘和外膝体的视觉神经元的感受野尚不完善,如上丘视觉神经元对视觉的反应不呈现方向选择性和双眼特性,且反应慢,潜伏期长;外膝体神经元对闪光刺激潜伏期

长,易疲劳,感受野偏大,无周边反应等<sup>[9]</sup>。为了探讨NO与这两个皮层下视觉中枢功能成熟的关系,本文用NADPH-d组化方法观察了出生后不同年龄段的猫上丘和外膝体中NOS阳性成分的分布,观察猫生后发育过程中上丘及外膝体是否出现和大鼠,雪貂相同的NOS阳性细胞的过渡性表达?目的在于为NO参与视觉功能发育提供组织学依据。

## 材料与方法

取出生后0.5周(n=5)、1周(n=5)、3周(n=4)、5周(n=5)、8周(n=4)、10周(n=3)、15周(n=3)及成年猫(n=4),用乌拉坦(urethane)深度麻醉后,经升主动脉依次灌注生理盐水(室温)和磷酸缓冲液(pH 7.4)配制的4%多聚甲醛固定液(4%),取脑入上述固定液后固定2~4h(4%),将脑组织依次经10%、20%、30%蔗糖磷酸缓冲液浸泡过夜(4%),按猫脑定位图谱<sup>[10]</sup>连续冠状冰冻切片,从尾端至吻端巨整个上丘和外膝体。切片厚50 $\mu$ m,隔3片取2片,一套用于Nissl染色;一套用于NADPH-d组化反应,即:脑切片用0.1mol/L磷酸缓冲液漂洗后入下列孵育液中0.5~1.2h(37 $^{\circ}$ C):1mmol/L NADPH(Sigma),0.5mmol/L氮蓝四唑(NBT),0.2% Triton X-100,0.1mol/L磷酸缓冲液(pH 7.4),反应中随时检查反应产物直至显示完整细胞形态和近端树突后,用上述磷酸缓冲液漂洗数次,玻片贴片后,依次施中性红衬染(确定上丘分层),酒精脱水,二甲苯透明和中性树脂封片,显微镜观察、照相。从上丘尾端到吻端的切片中,每只动物取10~15张切片,用网格测微尺测定上丘表层每张切片由内向外五个样品区的NOS阳性神经元的数目,取平均值并换算出mm<sup>2</sup>中的细胞剖面密度,再用同样方法计数上丘表层Nissl染色片上的表层细胞剖面密度;通过Camera lucida精确绘出不同年龄段上丘表层中不同类型的NOS阳性神经元150个,测定其树突野最大半径、树突线性总长度并以点分析法测定胞体截面积。

## 结果

### 1. 上丘

在生后发育的各个周龄段, 上丘表层、中间层和深层均存有 NOS 阳性神经元和阳性纤维, 胞体和近端树突分支均着深蓝色, 呈与 Golgi 银染细胞相似的形状, 在形态上属于双极与多极细胞, 胞体为圆形、椭圆形、梭形或星形。

### 1.1 上丘表层 NOS 阳性神经元的数量变化

生后 0.5 周, 仅有少量阳性细胞 (Fig. 1), 平均密度为  $13.3$  个/ $\text{mm}^2$ 。到生后 1 周迅速增加达到最大值, 密度是 0.5 周的 3 倍多 (Fig. 2)。生后 3~5 周中 NOS 阳性神经元数量保持较高水平, 各年龄段密度均超过  $44.5$  个/ $\text{mm}^2$  (Fig. 3)。在生后 8 周, 数量开始减少, 10 周到成年维持在一定水平, 成年时密度比 1 周时下降了 51.2% (表 1)。与成年动物相比, 生后 0.5、1、3、5 周有极显著差异 ( $P < 0.01$ )。

### 1.2 上丘表层 NOS 阳性神经元的形态变化

胞体截面积、树突野最大半径和树突线性总长的变化基本一致 (表 2)。在生后 0.5 周, 树突野最大半径 ( $48.0 \mu\text{m}$ ) 和树突线性总长度 ( $101 \mu\text{m}$ ) 为最小; 1 周时迅速增加 (Fig. 4), 5 周达到峰值, 分别为  $73 \mu\text{m}$  和  $163 \mu\text{m}$  (Fig. 5), 8 周开始变小 (Fig. 6), 10 周后保持在一定水平 (Fig. 7)。胞体截面积在生后 0.5 周为  $203.3 \mu\text{m}^2$ , 1 周时迅速增加 (Fig. 4), 第 5 周达到最大值 ( $367.6 \mu\text{m}^2$ ), 增加 1.8 倍 (Fig. 5); 第 8 周胞体减少, 10 周乃至成年维持在较低水平 (Fig. 6, 7)。经统计处理, 与成年动物相比, 胞体截面积在生后 0.5、3、5 周有极显著差异 ( $P < 0.01$ )。树突线性总长: 生后 3、5 周有极显著差异 ( $P < 0.01$ )。树突野最大半径: 在生后 3 周有显著差异 ( $P < 0.05$ ), 生后 0.5、1、5 周有极显著差异 ( $P < 0.01$ )。

表 1 不同年龄段猫上丘表层 NOS 阳性细胞剖面密度 (个/ $\text{mm}^2$ ) 及相对含量 (%) ( $\bar{x} \pm s$ )

Postnatal weeks	NOS 阳性细胞剖面密度 (Cells/ $\text{mm}^2$ )	表层全部神经元剖面密度 (Cells/ $\text{mm}^2$ )	NOS 细胞占全部神经元的%
0.5	$13.3 \pm 5.3^{**}$	$3069 \pm 448$	0.43
1	$55.1 \pm 12.4^{**}$	$3442 \pm 602$	1.60
3	$46.6 \pm 11.2^{**}$	$2912 \pm 361$	1.60
5	$44.8 \pm 9.1^{**}$	$2644 \pm 295$	1.69
8	$32.9 \pm 7.4$	$2497 \pm 229$	1.32
10	$23.9 \pm 7.9$	$2295 \pm 125$	1.04
15	$26.3 \pm 11.9$	$2273 \pm 194$	1.16
Adult	$26.9 \pm 8.4$	$2276 \pm 152$	1.18

\*\* ,  $P < 0.01$

## 2 外膝体

在生后发育的各个年龄段, 外膝体中的 A、A1、C 层中均未见到 NOS 阳性神经元。生后 0.5 周、1 周时外膝体中无 NOS 阳性染色 (Fig. 8); 但在第 3

周时, 外膝体出现了 NOS 阳性纤维 (Fig. 9); 第 5 周时阳性纤维更加浓密 (Fig. 10), 遍布于外膝体的各层; 10 周时已与成年动物相似 (Fig. 11, 12)。

表 2 不同年龄段猫上丘 NOS 阳性神经元的树突野最大半径、树突线性总长度、胞体截面积的变化 ( $\bar{x} \pm s$ )

postnatal weeks	树突野最大半径 ( $\mu\text{m}$ )	树突线性总长度 ( $\mu\text{m}$ )	胞体截面积 ( $\mu\text{m}^2$ )
0.5	$48 \pm 23^{**}$	$101 \pm 64$	$203.3 \pm 70.8^{**}$
1	$53 \pm 22^{**}$	$107 \pm 71$	$297.5 \pm 87.3$
3	$71 \pm 34^*$	$151 \pm 93^{**}$	$358.2 \pm 105.2^{**}$
5	$73 \pm 36^{**}$	$163 \pm 101^{**}$	$367.6 \pm 134.3^{**}$
8	$65 \pm 28$	$126 \pm 78$	$294.9 \pm 87.5$
10	$63 \pm 28$	$114 \pm 76$	$274.9 \pm 82.2$
15	$67 \pm 34$	$110 \pm 65$	$281.6 \pm 67.5$
Adult	$63 \pm 29$	$117 \pm 64$	$290.6 \pm 92.2$

\*,  $P < 0.05$  \*\* ,  $P < 0.01$

## 讨 论

文献中已有用NADPH-d组化方法或NOS免疫组化方法观察到猫、大鼠、猴、兔<sup>[1]</sup>、雪貂<sup>[7]</sup>等哺乳动物的视觉通路中的视网膜、上丘和视皮层中均NOS阳性细胞的分布。电生理学上,猫视皮层中的NO可能调制皮层细胞的反应,NO及其代谢产物对视觉信号有放大的作用;在外膝体中可能通过涉及NMDA受体活动门控视觉信号传入而起到视觉信号的转换作用。虽然NOS阳性神经元在视觉系统中的形态和功能已有较多研究,但猫发育中视觉中枢的NOS阳性神经成分的变化至今尚未见到报道。本文首次报道猫出生后发育过程中上丘表层、外膝体中NOS阳性神经成分的分布变化,为NO参与视觉的神经发育、建立正常视觉功能等方面提供了形态学证据。

在猫上丘的7层结构中,表层(I-III)接受视网膜Y、W型节细胞轴突输入以及视皮层的下行传入,主要对视觉刺激起反应。猫的视网膜节细胞轴突末梢和皮层投射到上丘的轴突末梢均含有谷氨酸。在视觉神经发育中,视网膜与上丘表层投射的精细化首先是节细胞的电活动,末梢释放谷氨酸使突触后膜的NMDA受体激活,Ca<sup>2+</sup>注入胞内,使NOS激活,催化精氨酸分解释放NO,NO再作为逆行信使扩散至突触前或相邻的神经元,使它们胞内的cGMP升高,从而修饰轴突的伸长与收缩。Kandel<sup>[4]</sup>和Wu<sup>[11]</sup>认为NO作为一种逆行信使参与发育中突触连接的修饰过程,通过加强和稳固正确的突触(同步激活)而削弱不正确的突触(不激活)的连接,最终建立正确的区域投射关系。在鸡和大鼠的发育过程中,NO参与了视网膜节细胞与上丘之间投射的轴突精细化过程;与鸡、大鼠不同,猫的视网膜节细胞轴突在胚胎的第30~37d时已到达上丘表层,故猫在出生时,视网膜与上丘之间的投射已经形成,且已建立了完善的交叉投射关系。但在出生后7~8d内,上丘神经元对视觉刺激的反应不呈现方向选择性和双眼特性,且反应弱,潜伏期长;出生后第2周末,大多数神经元逐渐出现较为成熟的感受野,直到出生后7~8周后,上丘神经元才具有与成年动物类似的反应特性。过去曾有不少学者认为上丘细胞的这种反应特性随发育而产生的变化是由皮层的下行传入所控制的,即认为它是依赖于皮质顶盖通路的神经活动进行调控的<sup>[9]</sup>。猫在胚胎后期(E48)皮质顶盖通

路开始建立,但这条通路的精细化过程发生在出生后第2~8周之间,通过突触的精减或神经元的死亡来完成精确的区域投射<sup>[9]</sup>。从本实验结果来看:出生后0.5周时上丘表层仅有少量NOS阳性神经元,但到1周时数量即达到最大值,且在1~5周内NOS阳性神经元的数量、胞体面积、树突野最大半径和树突线性总长均处于较高水平。胚胎期间(E30d~E65d,出生时)上丘表层是否出现NOS阳性神经元数量的急剧变化以及形态上的改变?尚不得而知,但出生后发育过程中,上丘表层NOS阳性神经元的数量、形态变化似乎与视网膜-上丘的区域投射无关,而主要与皮质顶盖通路的精细化以及上丘神经元的功能成熟有关。上丘表层中的内源性NO可能参与了皮质顶盖通路的突触的精细化过程,皮质顶盖通路功能的建立导致上丘视觉神经元功能的成熟。有的实验证明,注射NOS的拮抗剂可使大鼠皮质顶盖通路中来自皮层的轴突末梢过度抽芽<sup>[12]</sup>。NO有促进突触连结的形成但又有抑制轴突无止境伸长的作用。此外在猫的生后发育过程中,上丘表层中的NMDA-R<sub>1</sub>的含量呈现与NOS阳性神经成分相类似的变化趋势,即上丘表层中NMDA-R<sub>1</sub>在P7d时开始表达,P10d~24d之间稳定增加,直至P46d时开始下降<sup>[13]</sup>,NMDA-R<sub>1</sub>与NO共同参与上丘表层细胞的功能成熟。

用NADPH-d方法在猫上丘表层中所反应出的NOS阳性细胞呈现多种形态类型,有梭形和星形等,且其主树突大多垂直于上丘表面,胞体面积变异较大(表2)。在雪貂的外膝体中,用双标法发现有些NOS阳性细胞为GABA能抑制性中间神经元,但另外一些则非GABA能神经元<sup>[7]</sup>,故上丘中的NOS阳性细胞可能既有抑制性的中间神经元又有视觉投射神经元。此点值得重视。

外膝体是重要的皮层下视觉中枢,是视网膜与视皮层之间视觉信息加工的中继站。猫的外膝体在结构上可分为A、A<sub>1</sub>C三层结构,接受视网膜X、Y、W型节细胞轴突、中脑(包括上丘)和视皮层的传入。在发育过程中,猫的视网膜节细胞轴突,在胚胎的45d(E45)已到达外膝体,在E45-E65的时间段中开始双眼各自分离地进入A、A<sub>1</sub>C层中从而形成特定的分层(eye-specific layer)<sup>[14]</sup>。此点表明猫在出生时,视网膜与外膝体之间的区域投射关系已经建立;但在出生后第三周之前,外膝体很少记录到具有完整感受野的细胞反应。出生后3~5周之间,具有成熟感受野的神经细胞数量大大增加,5周后逐渐发育

成与成年动物类似的反应类型,提示猫外膝体细胞的功能成熟在生后的3~5周内或更晚一些的时间。与雪貂的外膝体发育不同,在生后发育的早期,猫外膝体中一直不出现NOS 阳性细胞当然也不可能有NOS 阳性细胞的数量变化;而在生后3周时外膝体中出现了NOS 阳性神经纤维,且到第5周时纤维更加浓密,遍布外膝体的各层,推测这些NOS 阳性神经纤维的出现可能与外膝体神经细胞功能成熟有关。Bickford 等<sup>[3]</sup>证实成年猫外膝体中的NOS 阳性神经纤维来自脑干的臂旁核团,且这些阳性神经纤维与X、Y 型视觉传递细胞形成突触,它们含有胆碱能递质,通过释放NO 和ACh 的共同作用促使外膝体中的投射细胞(relay cell)对视觉刺激更为敏感。电生理学的研究表明:在外膝体中NO 可能通过涉及NMDA 受体活动,门控视觉信号传入而起到了视觉信号的转换作用,因此生后第3周时,脑干臂旁核团中出现NOS 的投射纤维进入外膝体,它们可能具有促进外膝体神经元功能成熟的作用。

用NADPH-d 组化方法,未能显示出外膝体本身的NOS 阳性细胞,并不能完全说明猫的外膝体的早期发育不需要NO;也不能排除外膝体中的NOS 活性较低以至用NADPH-d 组化方法难以显出的可能性。已有实验证明,单眼缝合可使猫外膝体的非剥夺层中出现大量的NOS 阳性细胞,而剥夺层则仅出现少量的NOS 阳性细胞,这些NOS 阳性细胞被证明是Y 型传递细胞<sup>[15]</sup>。

(收稿 1998-09-06)

本文图1~12 见版图46 页

## 参 考 文 献

- [1] Sandell JH. NADPH diaphorase cells in the mammalian inner retina. *J Comp Neurol*, 1985; 238: 466~ 472
- [2] Mizukawa K, Vincent SR, Mcgeew PL, *et al*. Distribution of Reduced-nicotinamide-adenine-dinucleotide-phosphate diaphorase-positive cells and fibers in the cat central nervous system. *J Comp Neurol*, 1989; 279: 281~ 311
- [3] Bickford ME, Guido GW, Sherman SM. Evidence that cholinergic axons from the parabrachial region of the brainstem are the exclusive source of nitric oxide in the lateral geniculate nucleus of the cat. *J Comp Neurol*, 1993; 334: 410~ 430
- [4] Kandel ER, O'Dell TJ. Are adult learning mechanisms also used for development? *Science*, 1992; 258: 243~ 245
- [5] Williams CV, Nordquist D, Mcloon SC. Correlation of nitric oxide synthase expression with changing patterns of axonal projections in the developing visual system. *J Neurosci*, 1994; 14: 1746~ 1755
- [6] Tenorio F, Giroldi-Guimaraes A, Mendez-Otero R. Developmental changes of nitric oxide synthase in the rat superior colliculus. *J Neurosci Res*, 1995; 42: 663~ 673
- [7] Cramer KS, Moore CI, Sur M. Transient expression of NADPH-diaphorase in the lateral geniculate nucleus of the ferret during early postnatal development. *J Comp Neurol*, 1995; 353: 306~ 316
- [8] Cramer KS, Augelucci A, Hohm J-O, *et al*. A role for nitric oxide in the development of the ferret retinogeniculate projection. *J Neurosci*, 1996; 16: 7995~ 8004
- [9] Tsumoto T, Suda K, Sato H. Postnatal development of corticotectal neurons in the kitten striate cortex: A quantitative study with the horseradish peroxidase technique. *J Comp Neurol*, 1983; 219: 88~ 99
- [10] Snider RS, Nemer WT. A stereotaxic atlas of the cat brain. 1. Chicago: the university of Chicago press, 1961: A 8 0~ P 2 0
- [11] Wu HH, Williams CV, Mcloon SC. Involvement of nitric oxide in the elimination of a transient retinotectal projection in development. *Science*, 1994; 265: 1593~ 1596
- [12] Millan LM, Hoyo PM, Cano GG-D, *et al*. Inhibition of nitric oxide synthase is followed by corticotectal sprouting after visual deafferentiation in adult rats. *Soc Neurosci Abstr*, 1997; 23: 1159
- [13] Anstrom KK, Mchaffie JG, Stein BE. The distribution and postnatal development of NMDAR1 immunoreactivity in the cat superior colliculus. *Soc Neurosci Abstr*, 1996; 22: 636
- [14] Shatz CJ, Stryker MP. Postnatal tetrodotoxin infusion blocks segregation of retinogeniculate afferents. *Science*, 1988; 242: 87~ 89
- [15] Gunluk AE, Bickford ME, Sherman SM. Rearing with monocular lid suture induces abnormal NADPH-diaphorase staining in the lateral geniculate nucleus of cats. *J Comp Neurol*, 1994; 350: 215~ 228

### Explanation of Figures

- Fig 1 Coronal section of superior colliculus at postnatal week 0.5 showing NOS positive neurons and fibers distributed in the superficial layers of SC. Calibration bar= 200  $\mu\text{m}$
- Fig 2 Coronal section of superior colliculus at postnatal week 1 showing NOS positive neurons and fibers distributed in the superficial layers of SC. Calibration bar= 200  $\mu\text{m}$
- Fig 3 Coronal section of superior colliculus at postnatal week 3 showing NOS positive neurons and fibers distributed in the superficial layers of SC. Calibration bar= 200  $\mu\text{m}$
- Fig 4 Coronal section of superior colliculus at postnatal week 1 showing NOS positive neurons and fibers Calibration bar= 50  $\mu\text{m}$
- Fig 5 Coronal section of superior colliculus at postnatal week 5 showing NOS positive neurons and fibers Calibration bar= 50  $\mu\text{m}$
- Fig 6 Coronal section of superior colliculus at postnatal week 8 showing NOS positive neurons and fibers Calibration bar= 50  $\mu\text{m}$
- Fig 7 Coronal section of superior colliculus at postnatal week 10 showing NOS positive neurons and fibers Calibration bar= 50  $\mu\text{m}$
- Fig 8 Coronal section of lateral geniculate nucleus at postnatal week 1. Blood vessels are outlined (A row head), but no NOS positive cells or fibers are stained. Calibration bar= 50  $\mu\text{m}$
- Fig 9 Coronal section of lateral geniculate nucleus at postnatal week 3 showing NOS positive fibers in layers A1 (A row head). Calibration bar= 25  $\mu\text{m}$
- Fig 10 Coronal section of lateral geniculate nucleus at postnatal week 5 showing NOS positive fibers in layers A1 (A row head). Calibration bar= 25  $\mu\text{m}$
- Fig 11 Coronal section of lateral geniculate nucleus at postnatal week 10 showing NOS positive fibers in layers A1 (A row head). Calibration bar= 25  $\mu\text{m}$
- Fig 12 Coronal section of lateral geniculate nucleus of adult animal, showing NOS positive fibers in layers A1 (A row head). Calibration bar= 25  $\mu\text{m}$
- sl, superficial layers igl, intermediate gray layer dgl, deep gray layer

