

24. *De Felipe J.* Cortical interneurons: from Cajal to 2001 // *Pr. Brain Res.* 2002. V. 136. P. 215–234.
25. *Hatten M. E.* Central nervous system neuronal migration // *Ann. Rev. Neurosci.* 1999. V. 22. P. 511–53.
26. *Kriegstein A. R.* Constructing circuits: neurogenesis and migration in the developing neocortex // *Epilepsia.* 2006. V. 46. P. 15–21.
27. *Marin-Padilla M.* Three-dimensional structural organization of layer I of the human cerebral cortex: a Golgi study // *J. Comp. Neurol.* 1990. V. 299. P. 89–105.
28. *Mountcastle V. D.* The columnar organization of the neocortex // *Brain.* 1997. V. 120. P. 701–722.
29. *O'Leary D., Nacagawa Y.* Patterning centers, regulatory genes and extrinsic mechanisms controlling arealization of the neocortex // *Cur. Opin. Neurosci.* 2002. V. 12. P. 14–25.
30. *Pearlman A., Faust Ph., Hatten M.* New direction for neuronal migration // *Cur. Opin. Neurosci.* 1998. V. 8. P. 45–54.
31. *Rakic P.* Neurogenesis in adult primates // *Pr. Brain Res.* 2002. V. 138. P. 125–187.
32. *Rakic P.* The radial edifice of cortical architecture: from neuronal silhouettes to genetic engineering // *Br. Res. Rev.* 2007. V. 55. P. 204–219.
33. *Rash B., Grove E.* Area and layer patterning in the developing cerebral cortex // *Cur. Opin. Neurobiol.* 2006. V. 16. P. 25–34.
34. *Ramon-Moliner E.* Specialized and generalized dendritic patterns (Golgi centennial symposium). Edt. M. Santini. — N-Y.: Acad. Press., 1975. P. 87–101.
35. *Rhill M., Picker A., Brand M.* Global and local mechanisms of forebrain and midbrain patterning // *Cur. Opin. Neurosci.* 2006. V. 16. P. 5–12.
36. *Roland P. E., Zilles K.* Brain atlases — a new research tool // *TINS.* 1994. V. 17. P. 458–467.
37. *Zilles K.* The cortex of the rat. Stereotaxic atlas. — Berlin: Springer-Verlag, 1985.
38. *Wonders C., Anderson S.* The origin and specification of cortical interneurons // *Nature Rev. Neurosci.* 2006. V. 7. P. 687–696.

Орлянская Т. Я., Крупкина В. С., Чижова С. В., Устинова Т. И.

ГЕТЕРОГЕННОСТЬ НЕЙРОННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ МОЗЖЕЧКА В ФИЛОГЕНЕЗЕ ПОЗВОНОЧНЫХ

*Кафедра биологии с экологией и курсом фармакогнозии (заведующий — д-р биол. наук
Т. Я. Орлянская) Красноярского государственного медицинского университета*

Цель исследования — выявление особенностей нейронных популяций мозжечка у представителей различных классов позвоночных (рыбы, земноводные, пресмыкающиеся, птицы, млекопитающие). Изучена вариабельность морфометрических показателей клеточных популяций ганглиозного и зернистого слоев мозжечка. Определена гетерогенность по плотности распределения нейронов, площади профильных полей тел клеток, тинкториальных свойств цитоплазмы, количеству хроматиновых зерен в ядре. На популяционно-клеточном уровне выделены две группы признаков: эволюционно-консервативные, проявляющиеся одинаково у всех изученных позвоночных, и эволюционно-прогрессивные, выходящие за средний уровень, отражающие узловы моменты в становлении и развитии мозжечка в филогенезе позвоночных.

Ключевые слова: позвоночные, мозжечок, нейронные популяции, клетки Пуркинье, клетки-зерна, морфометрические показатели.

Появление сложных форм двигательной активности, сенсорного восприятия, рассудочной деятельности сопровождается ростом дискретности, избыточности и полиморфизма нейронных сетей позвоночных [2, 4]. Полиморфизм нейронов лежит в основе выделения нескольких путей эволюционной и адаптационной изменчивости мозга позвоночных. Вариации анатомических, гистологических признаков являются важнейшими компонентами дивергентного развития нервной системы позвоночных и причиной возникновения в пределах каждого класса самостоятельных вариантов развития мозга. Морфофункциональное становление мозжечка в ряду позвоночных животных представляет сложный исторический процесс и во многом отражает среду его обитания, характеризуется усложнением при переходе от водного образа жизни к наземному. Мозжечок относится к самым древним специализированным корковым структурам, он имеет особое, свойственное только ему строение, строго индивидуальный набор нейронов и свой собственный эволюционный путь становления [5]. Этот отдел мозга представляет собой сложное полифункциональное образование, которое одновременно входит в состав качественно различных и независимых двигательных систем, и, в свою очередь, состоит из дифференцированных и относительно независимых функциональных блоков, реализующих элементарные моторные интеграции согласно собственным наборам программ и тактик [3, 16]. В мозжечке на всех уровнях его организации в филогенезе проявляются принципы дополнительности, структурной переходности и полиморфизма. Для глубокого познания принципов становления приспособительных реакций этой структуры мозга, сформировавшихся в ходе эволюционных преобразований, важно широкое сравнительно-морфологическое исследование на всех уровнях мозжечка, включая популяционно-клеточный.

Цель настоящего исследования заключалась в количественной оценке популяций ганглиозного и зернистого слоев мозжечка в сравнительно-анатомическом ряду позвоночных животных.

Работа выполнена на половозрелых животных, относящихся к разным классам подтипа Vertebrata — Позвоночные: класс Osteichthyes — Костные рыбы (*Esox lucius* L. — щука обыкновенная, $n=8$, *Cyprinus carpio carpio* L. — карп речной, $n=16$); класс Amphibia — Земноводные (*Rana arvalis* N. — лягушка остромордая, $n=11$); класс Reptilia — Пресмыкающиеся (*Lacerta vivipara* Jacq. — ящерица живородящая, $n=12$, *Testudo horsfieldi* Gray — черепаха среднеазиатская, $n=6$); класс Aves — птицы (*Columba livia* Gm. — голубь сизый, $n=10$, *Passer domesticus* L. — воробей домовый, $n=19$, *Anser anser* L., forma domestica — гусь серый, домашний ($n=24$); класс Mammalia — Млекопитающие (*Sciurus vulgaris* L. — белка обыкновенная, $n=4$, *Myocastor coypus* Molina — болотный бобр или нутрия, $n=8$, *Rattus norvegicus* Berkenhout — крыса серая, $n=27$)¹. Работа выполнена в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Животных декапитировали под воздушно-эфирным наркозом в течение часа после отлова. Мозжечок фиксировали в жидкости Карнуа, заливали в парафин и раскладывали на серийные срезы толщиной 5–7 мкм. В нейронных популяциях ганглиозного слоя исследовали клетки Пуркинье (КП), в зернистом — клетки-зерна (КЗ). Для получения объективных критериев структурной организации мозжечка исполь-

¹ Далее в тексте будут использованы русские транскрипции названий животных.

зовали количественные морфометрические методы [1]. На светооптическом уровне на препаратах, окрашенных тионином по Нисслю с фиксированной рН, для вычисления плотности (ρ) распределения нейронов в ганглиозном слое, учитывая специфику расположения клеток, вычисляли число КП на единицу длины слоя (1 мм), в зернистом — на единицу площади слоя (1 мм²). Использовали вариант микрометрических сеток, применяя квадратно-сетчатую окулярную вставку с 289 точками. Пользовались окулярным микрометром МОВ—1×15 с линейкой для измерения линейных величин, учитывая увеличение микроскопа, величину делений барабана и измерительной линейки. Плотность распределения нейронов определяли из расчета на 100 клеток от каждой особи, исследовали не менее 10 полей зрения в каждой нейронной популяции, анализируя вариабельность показателя в пределах каждого изученного вида и в пределах классов.

Пользуясь винтовым окуляр-микрометром, измеряли оси эллипсов, мысленно вписанных в контуры клеток и ядер, вычисляли площади сечения тел нейронов (St). Параметры снимали с клеток, имеющих сохранный структуру с четко дифференцированным ядрышком в плоскости среза. Анализировали КП по их отношению к красителям, на окрашенных тионином препаратах проводили подсчет числа клеток с различной степенью хромофилии их цитоплазмы с использованием модифицированных методов [6, 8, 10]. Подсчитывали количество нейронов нормохромных, гиперхромных (темных), гипохромных (светлых) — как вариант нормы, а также клетки в пограничном состоянии — тотально-гиперхромные и измененные: сморщенные и клетки-тени с признаками отчетливо выраженного хроматолиза. Состояние нейронов зернистого слоя (в связи со своеобразием их структуры) нами оценивалось по характеру распределения, числу и величине хроматиновых зерен в ядре КЗ [3]. При световой микроскопии с использованием иммерсионного объектива в зернистом слое анализировали не менее 10 полей зрения от каждой особи. Дифференцировали КЗ на 3 группы: 1 — с низким содержанием глыбок хроматина (2–3); 2 — со средним содержанием (от 4–5 до 6–7); 3 — с высоким содержанием (8–9 и больше).

Полученный цифровой массив представляет ассоциацию морфометрических признаков, на основе которых осуществлялся математический анализ (статистический и корреляционный) структур в норме [1, 9]. Для оценки нормальности распределения цифровых значений признака в вариационном ряду определяли коэффициенты асимметрии и эксцесса. Исследованные переменные в преобладающем большинстве характеризуются нормальным (гауссовым) распределением, поэтому статистически значимые различия между выборками определяли по параметрическому *t*-критерию Стьюдента. Для определения уровня взаимосвязи переменных рассчитывались парные корреляции Пирсона. Статистическая обработка данных произведена с помощью программы «Excel» с пакета «Microsoft Office 2000».

В сравнительно-анатомическом ряду позвоночных животных ρ распределения КП на единицу длины ганглиозного слоя варьирует от минимальных значений ($17,0 \pm 2,4$, $p < 0,05$)¹ у пресмыкающихся — черепах до максимальных значений ($30,8 \pm 0,9$, $p < 0,01$) у птиц — воробьев, к ним приближены показатели ρ распределения КП в мозжечке млекопитающих — нутрий и серых крыс. В зернистом слое минимальная ρ выявлена у представителей земноводных (12466 ± 989)

¹ *M* — выборочное среднее, *s* — выборочное стандартное отклонение; статистически значимое различие ($p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$) по сравнению с *Rana arvalis*.

и пресмыкающихся — черепаха (14526 ± 893), а максимальная — у активно подвижных рыб — щука (39673 ± 1906 , $p < 0,01$) и птиц — воробьев (38381 ± 1478 , $p < 0,01$) к ним приближены показатели млекопитающих — серых крыс и нутрий.

Показатели площади сечения тел КП в сравнительном ряду позвоночных варьируют от мелких клеток в нейронных популяциях ганглиозного слоя мозжечка пресмыкающихся — ящериц ($121,4 \pm 1,7$ мкм²), земноводных — лягушек ($143,9 \pm 2,8$ мкм²) до крупных клеток в анализируемом слое млекопитающих (болотный бобр, белка — $349 \pm 3,7$ мкм², $p < 0,001$) и птиц (голубь — $313,0 \pm 4,4$ мкм², гусь — $31,1 \pm 4,7$ мкм², $p < 0,01$). В зернистом слое ситуация меняется: наиболее крупные КЗ у земноводных — лягушек ($61,2 \pm 1,1$ мкм²), в половину мельче у пресмыкающихся — черепаха ($35,0 \pm 0,4$ мкм², $p < 0,01$), самые мелкие нейроны у рыб (щука — $12,1 \pm 0,2$ мкм², $p < 0,001$, карп — $18,5 \pm 0,3$ мкм², $p < 0,001$) и водоплавающих птиц — гусей ($18,4 \pm 0,3$ мкм², $p < 0,001$). Вариации анализируемых признаков (ρ и St) у рыб взаимосвязаны, при наличии сильной отрицательной зависимости в ганглиозном слое и сильной отрицательной зависимости в зернистом слое мозжечка. В ганглиозном слое для пресмыкающихся, птиц и млекопитающих выражена взаимосвязь признаков при наличии сильной отрицательной зависимости между переменными, в зернистом: сильная отрицательная зависимость выявлена у пресмыкающихся, средняя — у млекопитающих и сильная положительная — у птиц. Своеобразие в проявлении морфометрических параметров, согласно имеющимся данным [5, 6, 8, 11], можно соотнести, с одной стороны, с весом животного, продолжительностью его жизни, а с другой — со скоростью проходящих в структурах мозга метаболических процессов. Особенности проявления анализируемых признаков в нейронных популяциях КП низших позвоночных объяснимы с позиций уровня структурной организации мозжечка. У рыб ганглиозный слой аморфный, он включает две разновидности клеток: собственно КП — клетки средних размеров и крупные эвридендронидные клетки, составляющие незначительный процент в популяциях (до 11 %), но несущие основную функциональную нагрузку; клетки — зерна рыб мелкие, располагаются плотно: это единственные нейроны, обладающие возбуждающим действием, и, вероятно, играющие существенную роль для осуществления локомоций в водной среде. У земноводных (первые наземные четвероногие) эти слои формируются заново. Ганглиозный — аморфный, представлен мелкими КП с незначительным дендритным полем и отсутствием явной закономерности в ориентации ветвлений КП. На несовершенство зернистого слоя земноводных и пресмыкающихся указывает сходство КЗ с эмбриональными элементами и занимаемый существенный объем этого слоя в структуре мозжечка в постэмбриональном периоде. У пресмыкающихся наблюдаются прогрессивные черты организации КП, в частности, увеличиваются размеры клеток, однако арборизация КП рептилий ниже, чем у птиц и млекопитающих [4, 11].

Известно [7, 8, 10], что нейронные популяции КП мозжечка характеризуются тинкториальной гетерогенностью, подтверждая их функциональную и метаболическую активность. Отмеченный полиморфизм КП в сравнительно-анатомическом ряду позвоночных животных характеризуется наличием в популяциях ганглиозного слоя преобладающего большинства нормохромных клеток, при варьировании этого параметра в узком диапазоне: от 65,6 % до 76,8 % и доминированием на фоне клеток с нормальным распределением глыбок тигроида, клеток «темных» — гиперхромных. Максимальный процент последних выявлен у млекопитающих (болотный

бобр — $44,4 \pm 5,4$, $p < 0,01$; серая крыса — $41,2 \pm 4,3$, $p < 0,01$), минимальный — у рыб, земноводных и птиц (щука, лягушка — $21,9 \pm 3,1$, воробей — $21,2 \pm 4,8$). Светлые клетки — гипохромные — менее типичны для нейронных популяций ганглиозного слоя мозжечка сравнительного ряда позвоночных, их соотношение в популяциях варьирует от 1,5 % у птиц (голуби) до 12,6 % у рыб (каrp). У всех изученных представителей позвоночных выявлена высокая отрицательная зависимость между нормо- и гиперхромными клетками. Наличие высокого процента гиперхромных клеток в условиях нормального функционирования организма в ганглиозном слое мозжечка позвоночных отражает его специфические особенности и указывает на высокие резервные возможности этой структуры мозга.

В изученных нейронных популяциях КЗ зернистого слоя мозжечка позвоночных, за исключением пресмыкающихся, преобладающее большинство нейронов имели ядра со средним количеством глыбок хроматина. Однако соотношение КЗ по содержанию хроматиновых зерен имело определенную степень полиморфизма в пределах как видов, так и классов. У первичноводных — рыб — в популяциях КЗ встречались клетки высокоактивные (с низким содержанием хроматиновых зерен) и с пониженной функциональной нагрузкой (с высоким содержанием глыбок хроматина) — каждая группа в пределах 10 %. Выявлена высокая положительная зависимость между средним и низким содержанием хроматина и отрицательная — между средним и высоким содержанием хроматиновых зерен. В переходной группе — у земноводных, наряду с клетками, содержащими среднее число хроматиновых зерен, чаще встречались КЗ с высоким содержанием; практически отсутствовали клетки с низким содержанием зерен. У первых типичных наземных позвоночных — пресмыкающихся — выявлена высокая отрицательная зависимость между высоким и средним содержанием глыбок хроматина. Для птиц высокая отрицательная зависимость определена между высоким и средним, низким и средним содержанием хроматиновых зерен. Для млекопитающих высокая отрицательная зависимость характерна между низким и средним содержанием хроматиновых зерен.

Таким образом, при анализе изученных морфометрических параметров в нейронных популяциях мозжечка сравнительно-анатомического ряда позвоночных выявленные особенности позволяют выделить эволюционно-консервативные признаки (высокая плотность распределения нейронов в мелкоклеточных популяциях ассоциативных клеток и низкая — в эфферентных; преобладание нормохромных клеток в ганглиозном слое, нейронов со средним содержанием хроматиновых зерен в гранулярном слое), проявляющиеся однотипно у изученных животных, и эволюционно-прогрессивные, выходящие за средний уровень (плотность распределения, линейные параметры клеток у земноводных; наличие высокого процента «темных» нейронов в клеточных популяциях ганглиозного слоя низших и высших позвоночных, преобладание в популяциях зернистого слоя пресмыкающихся клеток с высоким содержанием глыбок хроматина) и отражающие узловые моменты в становлении и развитии мозжечка в филогенезе позвоночных животных. Высокая гетерогенность проявления морфометрических признаков в нейронных популяциях КП ганглиозного слоя (клетки, выносящие информацию за пределы мозжечка) и КЗ зернистого слоя (единственные нейроны мозжечка, обладающие возбуждающим действием) дает возможность говорить о широких пластических возможностях в формировании приспособлений на популяционно-клеточном уровне в структурах мозжечка в филогенезе позвоночных.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Автандилов Г. Г.* Медицинская морфометрия. — М.: Медицина, 1990.
2. *Андреева Н. Г., Обухов Д. К.* Эволюционная морфология нервной системы позвоночных. 2-е изд., перераб. и доп. — СПб.: Лань, 1999.
3. *Антонова А. М.* Структурные комплексы коры мозжечка и их функциональные особенности в сравнительно-анатомическом ряду млекопитающих // Структурная и функциональная организация мозжечка: материала симпозиума. — Ереван, 1968. С. 10–14.
4. *Заварзин А. А.* Основы сравнительной гистологии. — Л.: Изд-во Лен. унив., 1985.
5. *Карамян А. И.* Эволюция конечного мозга позвоночных. — Л.: Наука, 1976.
6. *Лютикова Т. М.* Дополнение к анализу состояния нейронов при экспериментальной интоксикации // Тез. докл. обл. научн.-практ. конф. по изобрет. и рационализации в медицине. — Омск, 1980. С. 43–44.
7. *Орлянская Т. Я.* Закономерности проявления морфоцитохимических показателей на уровне популяций функционально различных нейронов мозжечка в филогенезе позвоночных животных // Структурно-функциональные и нейрохимические закономерности асимметрии и пластичности мозга: матер. конф. НИИ мозга. — М.: Икар, 2005. С. 211–214.
8. *Петров А. В., Федоров В. П.* Морфологические механизмы адаптационных (компенсаторно-приспособительных) форм морфологической изменчивости нервнотканевых элементов ЦНС при действии антропогенных факторов // Механизмы синаптической передачи: матер. всеросс. конф. — М.: Икар, 2004. С. 69.
9. *Платонов А. Е.* Статистический анализ в медицине и биологии. — М.: Изд-во РАМН, 2000.
10. *Федоров В. П., Петров А. В., Степанян Н. А.* Экологическая нейроморфология. Классификация типовых форм морфологической изменчивости ЦНС при действии антропогенных факторов // Журнал теоретической и практической медицины. 2003. Т. 1. № 1. С. 2–66.
11. *Nieuwenhuys R., Ten Donkelaar H. J., Nicholson C.* The central nervous system of vertebrates. — Berlin; Heidelberg; New York: Springer, 1998. V. 1–3.

Петренко В. М.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ КЛАПАНОВ НА ПРОТЯЖЕНИИ ГРУДНОГО ПРОТОКА В ПРЕНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ ЧЕЛОВЕКА

*Кафедра анатомии человека (заведующий — проф. В. М. Петренко)
Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И. И. Мечникова*

У взрослого человека клапаны на протяжении грудного протока (ГП) распределяются неравномерно, чаще сосредоточены над цистерной, в верхнем грудном отрезке (при переходе справа налево, позади пищевода и аорты) и в конечном отрезке, где возникают какие-либо препятствия прямому лимфоток [1–3]. В последнее время появились спекулятивные публикации о строении и развитии ГП, основанные на данных сотрудников нашей кафедры разных лет. В частности, используются работы В. Э. Шуркуса [5] о развитии дефинитивной лимфатической системы путем