

и внутреннего сетчатых слоев отмечено, начиная с 18 сут. развития. К 21-м сут. эмбриогенеза сетчатка имеет дефинитивное строение.

Таким образом, развитие сетчатой оболочки глаза, ее пигментного и нервного слоев происходит из наружной и внутренней мембраны глазного бокала у зародышей белой крысы 11–12 сут. эмбриогенеза. В развитии сетчатки глаза белой крысы можно выделить последовательные и взаимосвязанные стадии: закладка, рост, начало дифференцировки, интенсивный рост и дальнейшая дифференцировка.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Гертвиг О.* Элементы эмбриологии человека и позвоночных животных. — СПб., 1912.
2. *Светлов П. Г.* Значение повреждений эмбрионов на ранних стадиях развития в патогенезе внутриутробного развития. — Л.: Медгиз, 1959. С. 114–129.
3. *Barr P.* Teratogenic hearing loss // *Audiology*. 1982. V. 21. № 2. P. 111–127.

Сторожева Е. В., Пущина Е. В.

ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ КАТЕХОЛАМИНЕРГИЧЕСКИХ ЯДЕР ГИПОТАЛАМУСА И СТВОЛА ГОРЧАКА *RHODEUS SERICEUS* (CYPRINIDAE)

*Лаборатория цитофизиологии (заведующий — канд. биол. наук М. А. Ващенко)
Института биологии моря им. А. В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток*

У представителя семейства карпообразных горчак *Rhodeus sericeus* методом гистофлуоресцентного маркирования катехоламинергических нейронов были исследованы ядра гипоталамуса и ствола мозга. Ядра гипоталамуса образованы диффузными, перивентрикулярно расположенными клеточными скоплениями. Гипоталамические скопления представлены четырьмя морфологическими типами клеток: округлыми, грушевидными, мультиполярными, биполярными. Клетки голубоватого места ствола мозга горчак *Rhodeus sericeus* являются норадренергическими. Клетки гипоталамического комплекса, маркируемые глиоксильной кислотой предположительно дофаминергические.

Катехоламинергические системы гипоталамического комплекса низших позвоночных имеют принципиальные отличия от таковых у млекопитающих и птиц [10]. Сравнительный анализ катехоламинергических систем мозга низших позвоночных показал, что в перивентрикулярном органе гипоталамуса расположены дофамин- и норадреналинсодержащие нейроны, однако в настоящее время не ясно, является ли данная область местом синтеза данных катехоламинов или это зона их депонирования из других частей мозга. Полученные данные характерны лишь для низших позвоночных: рыб и амфибий и не встречаются у млекопитающих и птиц. Следовательно, к классическому представлению об эволюции катехоламинергических систем по мере усложнения организации отделов мозга и появления в них дополнительных клеточных групп у амниот добавляются новые сведения о том, что мозг низших позвоночных содержит популяции КА клеток, которые у высших позвоночных не играют заметной роли в биосинтезе катехоламинов.

Особенности организации переднемозгового отдела костистых рыб в силу их эволюционной обособленности от других групп позвоночных определяют значительный исследовательский интерес к вопросам сравнительной морфологии нервной системы. В силу обедненности трактами, слабовыраженных границ ядер, перивентрикулярной локализации клеток характеристика ядер гипоталамического комплекса костистых рыб в значительной степени затруднена. Этим объясняются существенные разночтения в имеющейся номенклатуре и цитоморфологической характеристике гипоталамического комплекса в этой группе позвоночных [2]. Локализация катехоламинергических нейронов и их морфометрические характеристики представляют интерес, поскольку костистые рыбы, в отличие от других позвоночных, имеют эвертированный тип организации переднемозгового отдела, что обуславливает существенные отличия на организацию восходящих в переднемозговой отдел медиаторно-специфических систем.

Целью настоящего исследования является описание топографии и морфологической и гистохимической организации ядер гипоталамуса и ствола мозга горчака *Rhodeus sericeus*.

Материал и методы. Работа была проведена на 15 особях горчака *Rhodeus sericeus*. Для выявления морфологической и гистохимической организации гипоталамуса горчака были использованы препараты, окрашенные по Нисслию либо импрегнированные серебром по Кахалю [3], а также материал, маркированный гистохимически на катехоламины [1] с использованием сахара-фосфатной глиоксидовой кислоты.

При гистохимическом выявлении катехоламинов животных анестезировали, помещая в кювету с 1 % раствором MS-222, вскрывали и извлекали головной мозг. Свежий мозг замораживали в криостате и изготавливали серийные срезы толщиной 50 мкм. Срезы монтировали на желатинизированных предметных стеклах. В растворе глиоксидовой кислоты (рН = 7,4) инкубировали в течение 3–5 с. Стекляшки сушили в струе холодного воздуха в течение 30 мин. На срезы наносили нефлюоресцирующее минеральное масло и помещали в сушильный шкаф с температурой 95 °С на 2,5 мин. Препараты просматривали на флуоресцентном микроскопе Polivar (235–250 нм), фотографировали на цифровую камеру Camera Leica.

Результаты исследования и их обсуждение. Идентификация ядер гипоталамуса проведена в соответствии с номенклатурой Шимизу с соавт. [9]. Гипоталамический комплекс горчака образован перивентрикулярными диффузным и центральным ядрами.

Диффузное скопление образовано двумя субпопуляциями клеток: латеральной и медиальной. Центральное ядро также состоит из двух скоплений: переднее центральное и заднее центральное (рис. 1).

Переднее центральное ядро прилежит к мезенцефало-гипоталамическому тракту и представляет собой скопление диффузно организованных нейронов.

Большинство клеток (рис. 2, а) грушевидной формы, остальные нейроны биполярны. При характеристике линейного объема были выделены три группы клеток (табл. 1). Наиболее многочисленна группа нейронов линейным объемом 6–9 мкм. В ядре преобладают крупные и среднего размера клетки, что не характерно для остальных гипоталамических ядер. Среди мелких клеток преобладают биполярные перивентрикулярно расположенные нейроны.

Медиальная субпопуляция диффузного ядра ограничена волокнами мезенцефало-гипоталамического тракта (рис. 1). По размерам ядро значительно превосходит переднее центральное ядро, но образовано в основном мелкими клетками (рис. 2, б). Группа состоит из отдельных клеточных скоплений с высокой плотностью

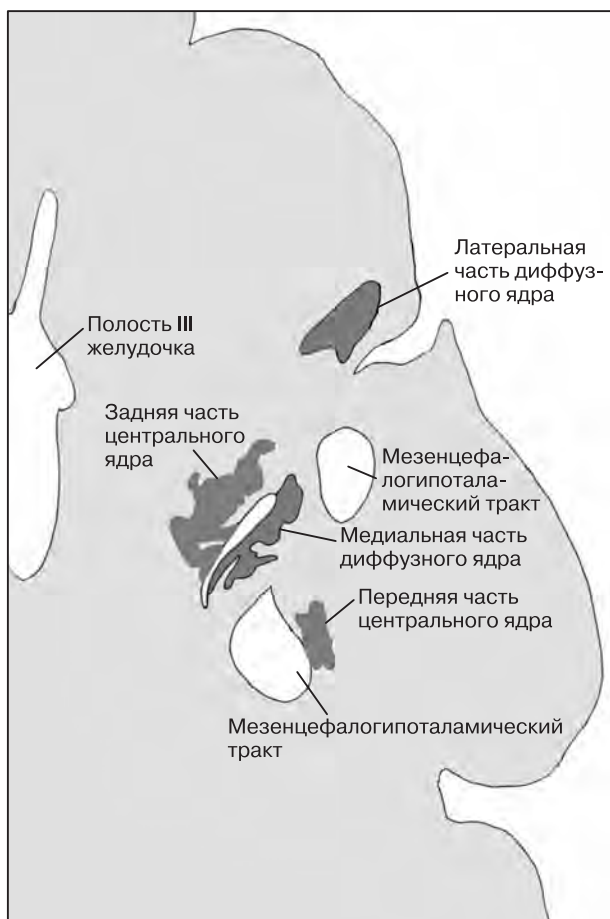


Рис. 1. Топография гипоталамических ядер горчака. Горизонтальная проекция головного мозга в области гипоталамуса. Рисовальный аппарат (Увеличено)

Таблица 1

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ НЕЙРОНОВ ЦЕНТРАЛЬНОГО И ДИФФУЗНОГО ЯДЕР ГИПОТАЛАМИЧЕСКОЙ ОБЛАСТИ ГОРЧАКА *RHODEUS SERICEUS*

Линейный объем, мкм	Грушевидные клетки		Биполярные клетки		Округлые клетки	
	Большой диаметр, мкм	Малый диаметр, мкм	Большой диаметр, мкм	Малый диаметр, мкм	Большой диаметр, мкм	Малый диаметр, мкм
3–6	5–7	3–4	4–7	2–3	4–6	4–6
6–9	7–10	5–7	9–12	4–5	6–9	6–9
9–12	11–14	8–10	13–18	5–7	9–12	9–12

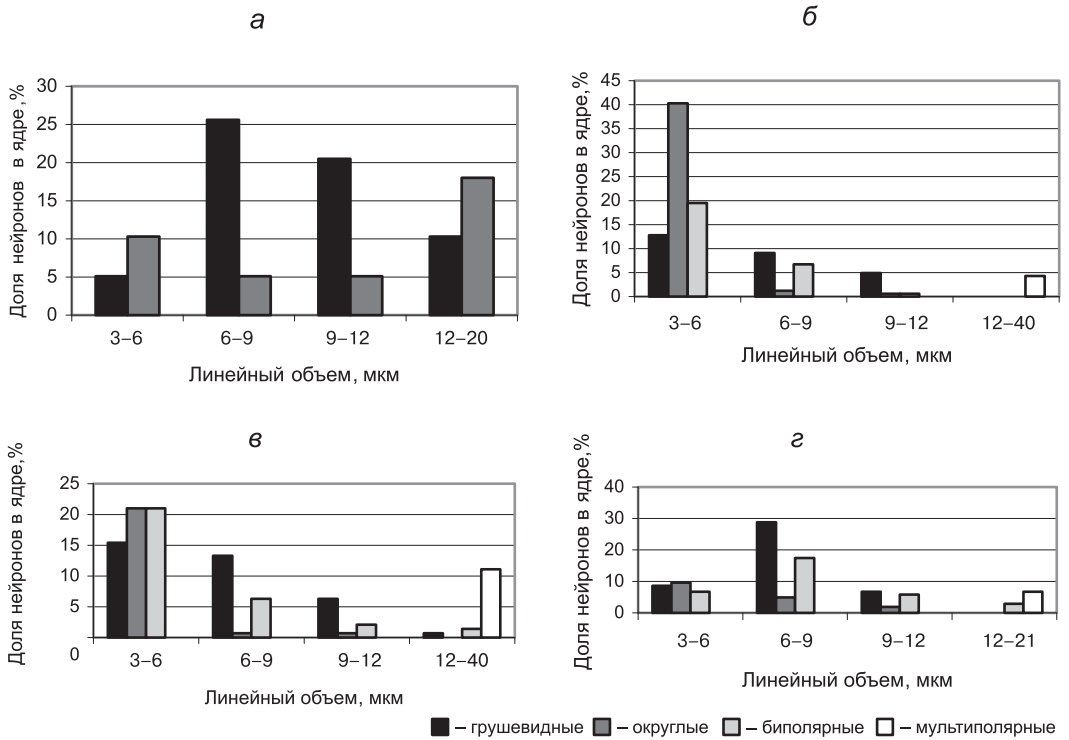


Рис. 2. Морфометрическая характеристика гипоталамических ядер горчача:
 а — переднее центральное ядро; б — медиальное диффузное ядро;
 в — заднее центральное ядро; г — латеральное диффузное ядро

распределения, находящихся на небольшом расстоянии друг от друга. В ядре встречаются четыре типа клеток: грушевидные, округлые, а также би- и мультиполярные. Большинство клеток размером 3–6 мкм (табл. 1), преобладают биполярные клетки. Между ними расположены более крупные грушевидные, округлые и мультиполярные клетки размером до 40 мкм, образующие небольшие конгломераты. В дорсальной части ядра преобладают крупные мультиполярные нейроны.

Заднее центральное ядро представлено грушевидными, округлыми и биполярными клетками размером 3–9 мкм и более крупными мультиполярными нейронами (рис. 2, в; табл. 1). В латеральной и медиальной областях ядра клетки располагаются плотнее, в средней части локализуются диффузно. Основную массу составляют грушевидные и биполярные клетки. По объему клетки можно разделить на четыре типа, среди которых преобладают мелкие (3–6 мкм).

Латеральное диффузное ядро образовано четырьмя типами нейронов. В составе ядра встречаются группы из 3–4 нейронов, остальные клетки расположены диффузно (рис. 2, г; табл. 1). Плотность распределения клеток незначительна и возрастает в каудальном направлении. Наиболее многочисленная группа клеток размером 6–9 мкм. Преобладают грушевидные клетки.

Глиоксильная кислота в головном мозге горчача *Rhodeus sericeus* маркирует катехоламинергические нейроны преоптической области, гипоталамуса, перивентри-

кулярные мезенцефалические ядра, заднетуберальную область, стволовые ядра шва, перешейка.

Большинство СГФ-маркированных клеток имеют грушевидную форму (рис. 3, *а*). Линейный объем маркируемых нейронов от 5 до 25 мкм. Среди клеток среднего размера не выявлены биполярные нейроны. Все нейроны гипоталамической области располагаются диффузно. Флюоресценция неоднородная, зеленого цвета, различной интенсивности. По сравнению с округлыми клетками для нейронов грушевидной формы характерна более интенсивная флюоресценция (рис. 4, *а*). В стволовой части мозга обнаружено крупноклеточное скопление катехоламинергических клеток высокой плотности распределения (рис. 4, *б*). Скопление образовано округлыми нейронами линейным объемом 25–40 мкм, что значительно превышает размеры нейронов гипоталамической области (рис. 3, *б*). Все нейроны имеют яркую, однородную желтую флюоресценцию (рис. 4, *б*).

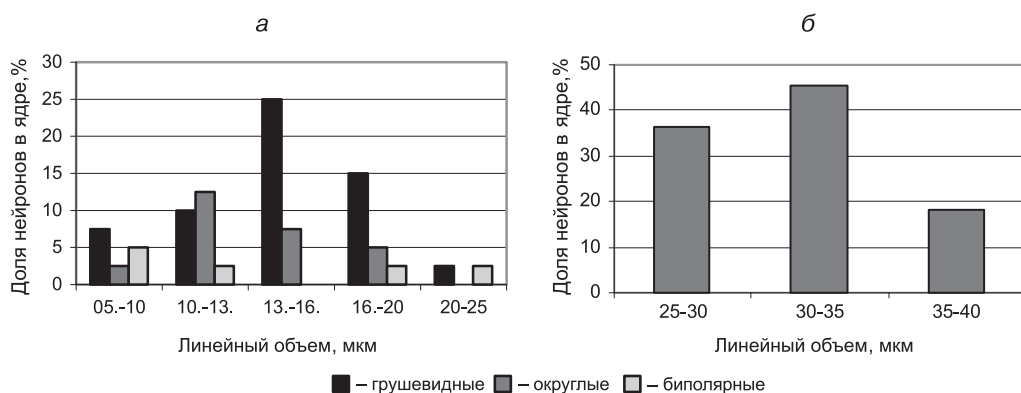


Рис. 3. Морфометрическая характеристика гистофлюоресцентных нейронов: *а* — гипоталамическая область; *б* — голубоватое место

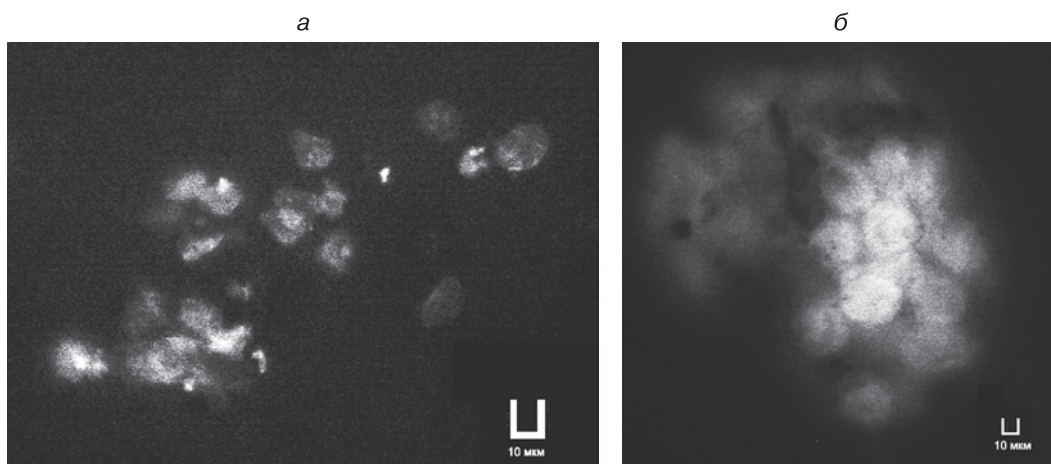


Рис. 4. Нейроны центрального гипоталамического ядра (*а*) и голубоватого места (*б*) с положительной реакцией на сахаро-глиоксиловую кислоту (гистофлюоресценция)

У горчака *Rhodeus sericeus* в отличие от окунеобразных рыб [9] диффузное ядро не образует непрерывный клеточный ряд. Паравентрикулярные ядра (медиальное диффузное ядро и заднее центральное ядро) сходны по своим морфометрическим характеристикам. В обоих ядрах преобладают мелкие нейроны (3–6 мкм) округлой формы. В отличие от них в остальных ядрах гипоталамуса преобладают клетки среднего размера. Большинство нейронов грушевидные.

Ядра гипоталамуса образованы четырьмя морфологическими типами клеток. Преобладающим клеточным типом являются грушевидные нейроны. Большинство биполярных нейронов не являются катехоламинергическими и выполняют ряд других функций гипоталамуса. Нейросекреторная специализация гипоталамических ядер была показана ранее на *Danio rerio* [13].

Глиоксиловая кислота является нейрохимическим маркером катехоламинергических нейронов [1]. В настоящее время гистохимическое маркирование используется для идентификации и топографии катехоламинергических нейронов в ЦНС позвоночных [10]. Катехоламинергические нейроны промежуточного мозга и гипоталамуса у костистых рыб принимают участие в формировании активирующих переднемозговой отдел катехоламинергических комплексов [7]. В настоящее время на модельном объекте *Danio rerio* показано существование двух восходящих допаминергических систем: «мезо-стриатарной» и «мезо-лимбической» [14]. Данные функциональные комплексы образованы допаминергическими нейронами заднетуберальной области, проецирующимися в вентральный теленцефалон. Морфо-топографические данные [11] указывают на сегментарную организацию переднемозгового отдела. Вентральный теленцефалон костистых рыб является функциональным аналогом стриатума и базальных ганглиев высших позвоночных [14].

Сравнительная характеристика гистофлюоресценции стволовых и диэнцефалических клеточных скоплений горчака *Rhodeus sericeus* показала, что в первых превалирует желтая флюоресценция, тогда как вторые характеризуются зеленой. Проведенные исследования позволяют предположить, что компактное крупноклеточное скопление стволовой части мозга соответствует зоне голубоватого места (*locus coeruleus*) других видов костистых рыб [10]. В подтверждение этого свидетельствуют морфо-топографические, citoархитектонические и гистохимические критерии. Иммуногистохимические данные на позвоночных [10] указывают на норадренергическую специализацию этих клеток. Данные настоящего исследования подтверждают результаты, полученные ранее на других позвоночных: рыбах, амфибиях, рептилиях [2, 8] и млекопитающих [4].

Методами иммуногистохимического маркирования в составе ядер промежуточного и среднего мозга, а также ядер шва у полосатого данио [11] и аптеронотуса [6] были обнаружены серотонинергические и допаминергические нейроны. Таким образом, среди катехоламинергических структур головного мозга горчака *Rhodeus sericeus* можно предполагать наличие норадренергических нейронов в стволовой части мозга (голубоватое место), однако разделить серотонинергические и допаминергические группы с помощью гистохимической методологии невозможно. Результаты настоящего исследования позволяют предполагать, что нейронные скопления гипоталамической области горчака являются допаминергическими. В доказательство этого приводим два факта. Во-первых, существуют иммуногистохимические данные о том, что в гипоталамусе присутствуют преимущественно допаминергические нейроны, тогда как серотонинергические популяции представ-

лены в перивентрикулярных областях преоптической области, среднемозгового отдела и ядрах шва [6]. Во-вторых, методами иммунофлюоресценции показано, что в большинстве гипоталамических нейронов присутствует тирозин-гидроксилаза (иммуноцитохимический маркер дофамина) [12, 13].

ЛИТЕРАТУРА

1. *Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.* Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведению. — М.: Высшая школа, 1991.
2. *Константинова М. С.* Катехоламинергические нейроны в гипоталамусе круглоротых, рыб, амфибий и рептилий // Катехоламинергические нейроны. — М.: Наука, 1979. С. 35.
3. *Меркулов Г. А.* Курс патологогистологической техники. — Л.: Медицина, 1969.
4. *Узбеков М. Г., Пугарева З. Д.* Биогенные амины в центральной нервной системе млекопитающих // Катехоламинергические нейроны. — М.: Наука, 1979. С. 56.
5. *Arevalo R., Alonso J., Garcia-Ojeda E., Brinon J. G., Crespo C., Aijon J.* An atlas of the brain of the tench (*Tinca tinca* L., 1758; Cyprinidae, teleostei) // *J. Hirnforsch.* 1992. V. 33. P. 487–497.
6. *Maler L., Sas E., Johnston S. A., Ellis W.* An atlas of the brain of the electric fish *Apteronotus leptohinchus* // *J. Chem. Neuroanat.* 1991. V. 4. P. 1–38.
7. *PoKay M. Ma.* Catecholaminergic systems in the zebrafish. II. Projection pathways and pattern of termination of the locus coeruleus // *J. Comp. Neurol.* 2004. V. 2. P. 256–269.
8. *Sanchez-Camacho C., Man'n O., Lopez J. M., Moreno M., Smeets A. J.* Origin and development of descending catecholaminergic pathways to the spinal cord in amphibians // *Brain Research Bulletin.* 2002. V. 57. P. 325–330.
9. *Shimizu M., Yamamoto N., Yamamoto M., Hironobu I.* Fiber connection of the inferior lobe in a percomorph teleost, *Thamnaconus (Navodon) modestus* // *Brain Behav Evol.* 1999. V. 54. P. 127–146.
10. *Smeets W., Gonzalez A.* Catecholamine systems in the brain of vertebrates: new perspectives through a comparative approach // *Brain Research Rev.* 2000. V. 33. P. 308–379.
11. *Rodriguez-Gomes F. J., Rendon-Unceta C., Sarasquete C., Munor-Cueto J. A.* Localization of tyrosine hydroxylase-immunoreactivity in the brain of the Selegalese sole, *Solea senegalensis* // *J. Chem. Neuroanat.* 2000. V. 19. P. 17–32.
12. *Rink E., Wullimann M. F.* Connections of the ventral telencephalon and tyrosine hydroxylase distribution in the zebrafish brain (*Danio rerio*) lead to identification of an ascending dopaminergic system in a teleost // *Brain Research Bulletin.* 2002. V. 57. P. 385–387.
13. *Rink E., Wullimann M. F.* Development of the catecholaminergic system in the early zebrafish brain: an immunohistochemical study // *Devel. Brain Res.* 2002. V. 137. P. 89–100.
14. *Rink E., Wullimann M. F.* The teleostean (zebrafish) dopaminergic system ascending to the subpallium (stiatum) is located in the basal diencephalon (posterior tuberculum) // *Brain Research. Interact.* 2001. V. 889. P. 316–330.