

НИТРОКСИДЕРГИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ЯДЕР КРАНИАЛЬНЫХ НЕРВОВ ПРОДОЛГОВАТОГО МОЗГА КОСТИСТЫХ РЫБ

© Е. В. Пущина

*Институт биологии моря ДВО РАН, Владивосток;
электронный адрес: puschina@mail.ru*

С помощью традиционных нейроморфологических методов и гистохимического метода выявления NADPH-диафоразы проведен сравнительный анализ и изучена локализация NO-ergicеских клеток в ядрах продолговатого мозга четырех видов костиных рыб: фолиса *Pholis nebelensis*, терпуга *Hexagrammus octogrammus*, карася *Carassius carassius* и опистоцентра *Pholidapus dybowskii*. Особенностью организации медуллярных ядер рыб является слабая топологическая разобщенность сенсорного и моторного компонентов при выраженной гетероморфности организации этих структур и наличии субпопуляций в их составе. У исследованных рыб NADPH-диафоразной активностью обладают тройничное, лицевое, языкоглоточное, блуждающее и октаволатеральные ядра. В ядрах тройничного нерва число нитроксидергических нейронов минимально и составляет 9—14 % от общего числа клеток. Ядра лицевого, языкоглоточного, блуждающего и октаволатеральных нервов характеризуются наличием большого числа нитроксидергических нейронов (40—60 %).

Ключевые слова: костиные рыбы, NADPH-диафораза, ядра продолговатого мозга.

Механизмы возникновения, проведения, модуляции и интеграции сенсорной информации в головном мозге представляют фундаментальную нейробиологическую проблему. Процессы преобразования сенсорных сигналов, поступающих от различных рецепторов, требуют быстрой передачи к центральному звену и формирования адекватной реакции организма в ответ на внешний стимул. Межклеточная медиаторная сигнализация в нейронных цепях сенсорных систем сопряжена с парасинаптической внутриклеточной сигнализацией, при которой ключевую роль играет монооксид азота (Agnati, Fuxe, 2000; Ohkuma, Katsura, 2001). Молекула NO участвует в механизмах синаптической пластичности при нейроадаптивных перестройках в сенсорных и интегративных центрах головного мозга (Bredt, Snyder, 1992; Kiss, Vizi, 2001). В настоящее время пристальное внимание сосредоточено на исследовании нитроксидергических центров конечного мозга млекопитающих, участвующих в обработке зрительной и обонятельной информации (Kiss, Vizi, 2001). Полимодальным сенсорным центром, участвующим в проведении и преобразовании вкусовой, соматосенсорной, висцеросенсорной и механосенсорной сигнализации является продолговатый мозг низших позвоночных (Андреева, Обухов, 1999). В результате специализации медуллярных сенсорных систем, отражающейся на строении продолговатого мозга, происходят гипертрофия и модификация его структурной и нейрохимической организации. В этом отношении костиные рыбы являются наиболее интересной и малоизученной группой, в которой в зависимости от условий обитания и соответствующей специализации сенсорных и моторных систем обнаруживается чрезвычайно широкий диапазон вариантов строения медуллярного отдела мозга. В насто-

ящее время роль оксида азота (NO) в функционировании сенсорных комплексов конечного мозга доказана (Kiss, Vizi, 2001; Ohkuma, Katsura, 2001), при этом пока остается неисследованным значение NO в физиологии медуллярных стволовых комплексов, играющих принципиальную роль в реализации адаптивных возможностей мозга низших позвоночных.

Целью настоящей работы стало сравнительное гистохимическое исследование NO-ergicеской функции ядер черепно-мозговых нервов (тройничного, лицевого, октаволатеральных, языкоглоточного и блуждающего) у четырех видов костиных рыб: фолиса *Pholis nebelensis*, терпуга *Hexagrammus octogrammus*, карася *Carassius carassius* и опистоцентра *Pholidapus dybowskii*.

В ходе выполнения работы решались следующие задачи: 1) охарактеризовать топографические и морфологические особенности организации тройничного, лицевого, октаволатеральных, языкоглоточного и блуждающего ядер продолговатого мозга костиных рыб; 2) проанализировать цитоархитектонический состав краинальных ядер и особенности распределения в них NADPH-диафоразы у разных видов; 3) с помощью морфометрических методов дать количественную оценку уровня ферментативной активности NADPH-диафоразы и доли нитроксидергических нейронов в ядрах продолговатого мозга.

Материал и методика

Использовали материал от 30 половозрелых особей костиных рыб: четырех видов из отряда окунеобразных (*Perciformes*) — опистоцентра *Pholidapus dybowskii* (10 особей) и фолиса *Pholis nebelensis* (8 особей); скорпенооб-

разных (*Scorpeniformes*) терпуга *Hexagrammus octogrammus* (8 особей); карпообразных (*Cypriniformes*) карася *Carassius carassius* (8 особей). В настоящее время карпообразные рыбы являются широко используемым модельным объектом для изучения свойств центральной нервной системы низших позвоночных (Funakoshi et al., 2002; Sharp, Finger, 2002). Окунеобразные являются наиболее многочисленной группой костистых рыб, обитающей в самых разнообразных экологических условиях, что, безусловно, сказывается на специализации их сенсорных систем и организации медуллярного отдела. Однако нейроморфологические исследования, проведенные на представителях окунеобразных, к сожалению, пока немногочисленны. Что касается нитроксидергических свойств ядер продолговатого мозга в этой группе животных, то таких сведений в литературе не обнаружено. Поэтому в качестве объектов исследования были выбраны близкородственные виды окунеобразных рыб — фолис и опистоцентр, а также несколько удаленный в систематическом отношении терпуг, относящийся к этому же отряду. Для сравнения был выбран представитель карпообразных — карась, имеющий значительные особенности организации проекций лицевого и блуждающего нервов продолговатого мозга в связи с вторичной вкусовой специализацией.

Животных анестезировали в кювете с 1%-ным раствором MS-222 (триацинметасульфонат) на морской воде в течение 10—15 мин. Материал окрашивали по стандартной методике Ниссля (Меркулов, 1969), быстро обезвоживали в спиртах и заключали в даммаровую смолу. На санном микротоме готовили серийные фронтальные и горизонтальные срезы толщиной 10 мкм.

Для гистоэнзиматической реакции на NADPH-диафразу (NADPH-d, НФ 1.6.99.1) головной мозг фиксировали в 4%-ном растворе параформальдегида, приготовленном на 0.1 М фосфатном буфере (pH 7.2), в течение 2 ч при 4 °C. Затем материал пятикратно промывали в течение 1 сут в 15%-ном растворе сахарозы при 4 °C и замораживали в криостате. Приготовленные на криостате серийные фронтальные срезы толщиной 30 мкм инкубировали 1 ч при 37 °C в среде, содержащей 0.5 мМ β-NADPH (Sigma), 0.5 мМ нитросинего тетразолиевого (Sigma) и 0.3 % Тритона X-100 в 0.15 М Трис-HCl-буфере, pH 8.0 (Hope, Vincent, 1989). Контрольные препараты помещали в среду, содержащую ингибитор NO-синтазы N-монометил-L-аргинин (10 мМ). После инкубации препараты промывали в дистиллированной воде, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и заключали в даммаровую смолу. Препараты просматривали и фотографировали на микроскопе Olympus BH2-RFCA модели BHS.

Для измерения оптической плотности выпадающего в цитоплазме нейронов преципитата микропрепараторы снимали на цифровую фотокамеру Camera Leica-50 и обрабатывали с помощью программного обеспечения Adobe PhotoShop 6. Исходный уровень оптической плотности измеряли на контрольных препаратах. Статистическую обработку материала производили с помощью программы Microsoft Excel.

Результаты

В составе продолговатого мозга костистых рыб нами были изучены проекции тройничного, лицевого, языко-глоточного и блуждающего нервов, а также акустико-ла-

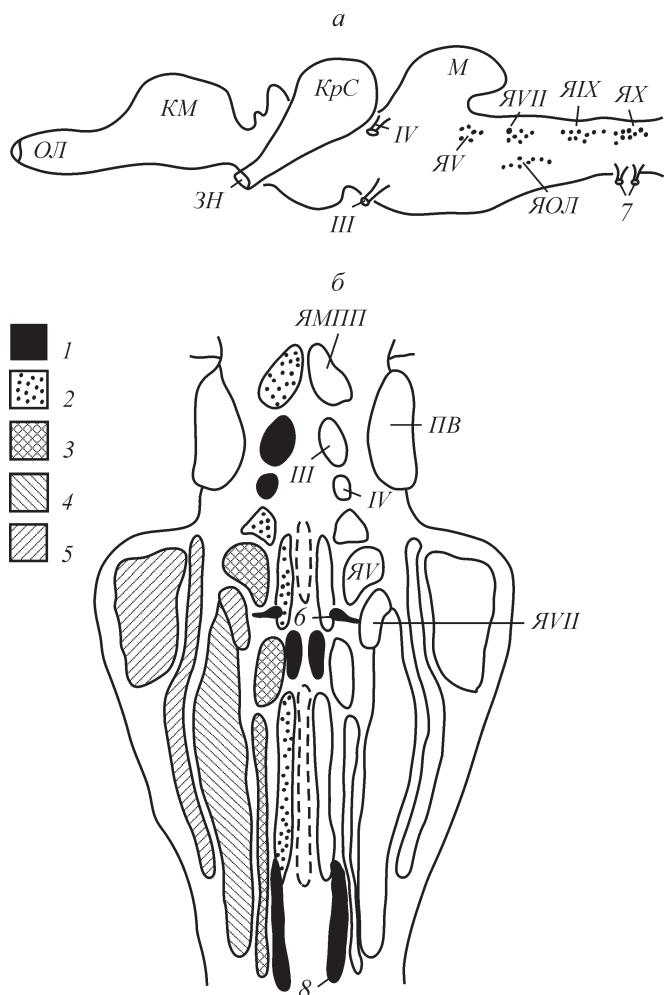


Рис. 1. Схема строения (а) и расположения (б) важнейших ядер стволовой части головного мозга костистых рыб.

1, 3—5, 8 — колонны: соматомоторная (1), висцеромоторная (3), висцеросенсорная (4), специальная соматосенсорная (5), моторная спинного мозга (8); 2 — ретикулярная формация, 6 — Маутнеровская клетка, 7 — спиноокципитальные нервы. OL — обонятельная луковица, KM — кочечный мозг. KpC — крыша среднего мозга, ZH — зрительный нерв, M — мозжечок, III — глазодвигательный нерв, IV — блоковый нерв, JV — ядро тройничного нерва, JVII — ядро лицевого нерва, ЯОЛ — овковолатеральные ядра, ЯIX — ядро языко-глоточного нерва, ЯХ — ядро блуждающего нерва, ЯМПП — ядро продольного медиального пучка, ПВ — полулунный валик.

терального комплекса. Топография изучаемых ядер представлена на рис. 1, а. Локализацию ядер рассматривали в соответствии с их принадлежностью к колоннам продолговатого мозга, параллельным его продольной оси, по классификации Ньювенгуиса (Nieuwenhuys, 1982); измененная схема представлена на рис. 1, б. Границы колонн образованы бороздами на стенках желудочка, дополняющими пограничную борозду. В совокупности борозды разделяют серое вещество промежуточного мозга на зоны, являющиеся продолжением соответствующих участков спинного мозга.

Соматическая афферентная зона представлена ядрами тройничного нерва и комплексом медиальных канатиков. Ядро тройничного нерва рыб, как правило, имеет диффузную организацию, прилежит к желудочку мозга (паравентрикулярная область) и расположено за вторичным вкусовым ядром. У фолиса и описто-

центра среди окрашивающихся клеток преобладают крупные грушевидные, овальные или полигональные нейроны (рис. 2, а). Крупные мультиполлярные клетки у фолиса сконцентрированы в верхней части ядра тройничного нерва (рис. 2, а), тогда как у опистоцентра они равномерно распространены по всему его объему. У терпуга в передней части ядра тройничного нерва окрашиваются в основном крупные нейроны, а в задней присутствуют клетки среднего размера (см. таблицу). У карася NADPH-позитивная часть проекции тройничного нерва образована овальными мульти- и биполярными нейронами. В передней части ядра преобладают крупные овальные и полигональные, разреженно расположенные клетки, а в задней превалируют более мелкие округлые и овальные элементы, организованные в виде небольших групп (рис. 2, б).

Проекция акустико-латеральных нервов у исследованных видов представлена октаволатеральным комплексом нейронов, расположенным по периферии ромбовидной ямки. Октаволатеральный комплекс, образующий самостоятельную клеточную колонну, расположен вентральнее объединенной соматовисцеральной колонны. В данной области мозга представлена октаволатеральная система, объединяющая органы специализированной механорецепции и их центральные проекции. В отличие от соматической афферентной области и висцеросенсорных ядер, которые у костиных рыб смешены в верхнелатеральном направлении от мозгового желудочка, октаволатеральные ядра исследованных рыб расположены преимущественно по средней линии мозга (рис. 2, в, г). В составе октаволатеральной клеточной колонны выделяются медиальное и каудальное скопления, прилежащие к продольному медиальному пучку (рис. 2, в) и отличающиеся большей концентрацией клеток. По сравнению с реагирующими клетками медиального и каудального ядер нейроны октаволатеральной колонны у исследованных видов однотипны (рис. 2, в, г). Октаволатеральные ядра рыб имеют различные топографические границы в продолговатом мозге. Для них характерны полиморфизм реагирующих на NADPH-d нейронов, пространственная организованность, позволяющая выделять их из октавомоторного столба, а также высокий уровень ферментативной реакции на NADPH (см. таблицу). Медиальное ядро начинается на уровне ядра лицевого нерва или непосредственно под церебеллярным крестом (у терпуга) и прилежит к центральной части продольного медиального пучка. Диффузно окрашиваются тела клеток и их протяженные отростки, уходящие на значительное расстояние к периферии мозга (рис. 2, в, г). У опистоцентра и фолиса в медиальном ядре интенсивно маркируются мультиполлярные крупные и средние клетки. У фолиса преобладают крупные клетки удлиненной формы вплоть до веретеновидных. Скопления реагирующих нейронов разделены волокнистыми перегородками, образованными волокнами нисходящего пути тройничного нерва (рис. 2, в, г). Каудальное ядро фолиса и опистоцентра расположено спинальнее и прилежит к нижнелатеральной части продольного медиального пучка. В каудальном ядре стихеевых рыб реагируют преимущественно мультиполлярные и округлые клетки (см. таблицу). В спинальном направлении усиливается уровень ферментативной реакции, а также возрастает количество крупных мультиполлярных и веретеновидных клеток. В каудальном ядре терпуга отмечены гетероморфизм и зональность клеточного распределения.

У фолиса крупные интенсивно окрашенные мультиполлярные нейроны организованы в виде скоплений, тогда как немногочисленные мелкие клетки рассеяны. У карася в медиальном ядре реагируют небольшие овальные и веретеновидные нейроны. В спинальном направлении появляются плотно окрашенные мультиполлярные нейроны среднего размера. Каудальное октавомоторное ядро карася расположено непосредственно перед долями вагуса. Реагирующие на NADPH нейроны гетероморфны, но суммарный уровень оптической плотности преципита в их нейроплазме несколько ниже, чем в нейронах медиального ядра (см. таблицу). В составе октавомоторной колонны карася выявлены крупные интенсивно окрашенные нейроны, дающие начало ипси- и контраплатеральным эфферентным волокнам. Высокий уровень гистохимической активности выявлен также в эфферентных волокнах, восходящих в полуулунный валик из октаволатеральных ядер.

Висцеросенсорные ядра продолговатого мозга исследованных видов костиных рыб представлены проекциями VII, IX и X нервов.

Ядра VII нерва. У опистоцентра, фолиса и терпуга проекция лицевого нерва образована дорсальной группой клеток, расположенной спинальнее проекции тройничного нерва. Топографического разделения пре- и постгангионарных компонентов ядра лицевого нерва у этих рыб не выявлено, однако, несмотря на диффузную организацию ядра, оно гетероморфно, что естественно сохраняется и при реакции на NADPH-диафоразу. У опистоцентра и фолиса на NADPH реагируют два клеточных скопления — верхнелатеральное, прилежащие к желудочку мозга, и нижнелатеральное, ограниченное волокнами вторичного вкусового тракта и нисходящим путем тройничного нерва (рис. 2, д, е). У опистоцентра крупные интенсивно окрашенные нейроны расположены в дорсальной части и по периферии ядра, тогда как мелкие слабо реагирующие клетки выявлены в центральной части (рис. 2, д). У фолиса NADPH маркирует скопление крупных и среднего размера клеток грушевидной формы, более мелкие окрашенные нейроны отнесены в дорсомедиальную часть (рис. 2, е). От нейронов отходят слабо разветвленные либо неразветвленные маркируемые продуктами реакции дендриты (рис. 2, д). У терпуга реагируют крупные мультиполлярные, веретеновидные и мелкие овальные нейроны. В мелких клетках, расположенных вентролатерально в виде небольшой группы, цитоплазма окрашена однородно. У опистоцентра в верхней части ядра выявляются небольшие клетки, в центральной части — нейроны среднего размера, в нижней маркируются крупные мультиполлярные клетки. У карася мотонейроны лицевого нерва более удалены от стенки желудочка, чем у окунеобразных. В ядре выявлено несколько морфологических типов клеток, причем немногочисленные узкие биполярные клетки организованы в виде групп по 2—3 нейрона (рис. 3, а). У терпуга сенсорная область лицевого нерва гипертрофирована, имеет выраженную ламинарную организацию, в которой клеточные слои чередуются с нейропилом. В наиболее поверхностном слое маркируются мелкие клетки размером 18 × 10—12 мкм. В промежуточном слое выявляются нейроны удлиненной формы, от овальной до веретеновидной. Они ограничены сенсорным нейропилом лицевого нерва и восходящими волокнами вторичного вкусового тракта. Сенсорная проекционная область лицевого нерва карася имеет наиболее сложную организацию, в

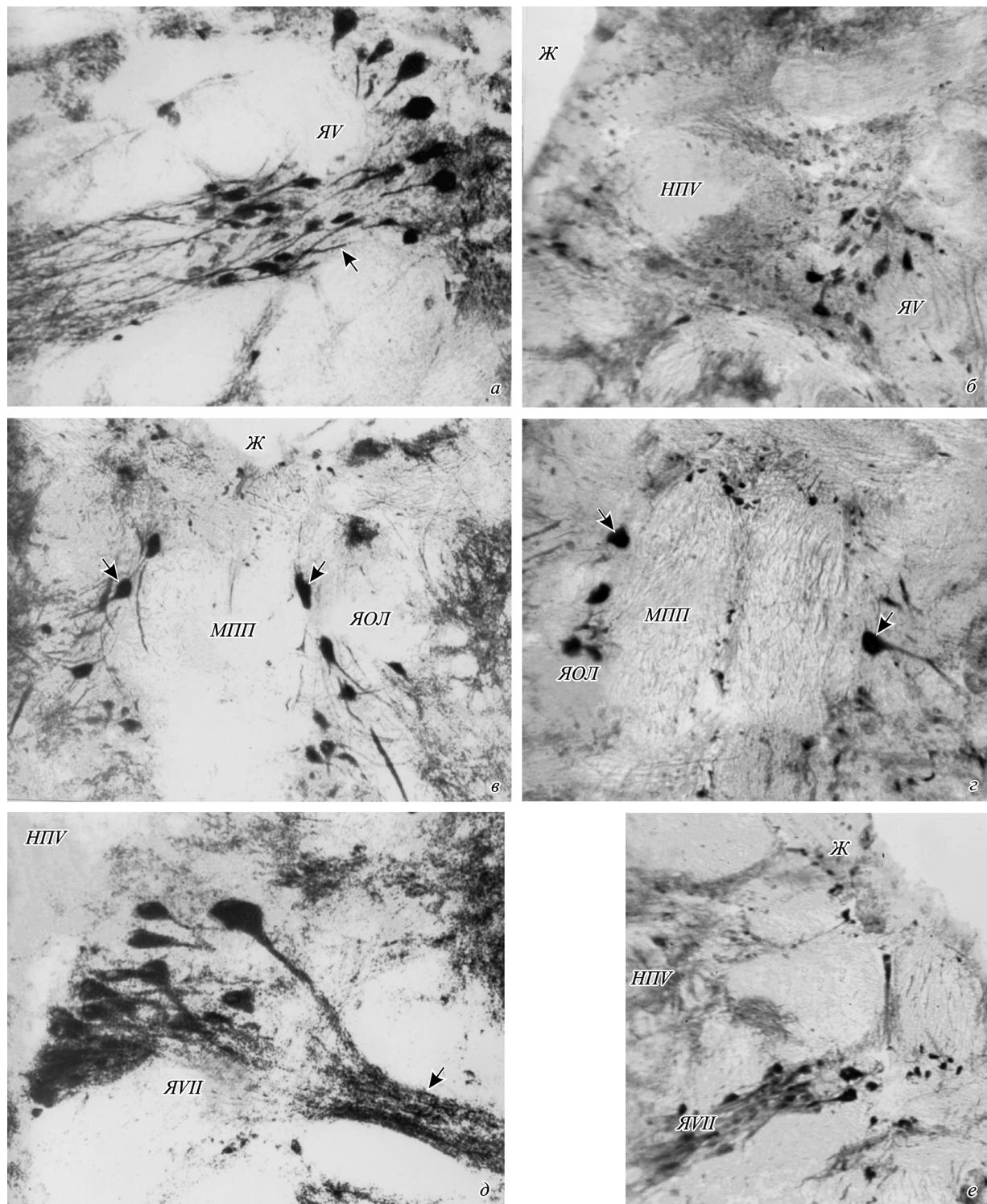


Рис. 2. NADPH-диафоразная активность в тройничном, лицевом и октаволатеральных ядрах костистых рыб.

a — NADPH-позитивные нейроны тройничного нерва у фолиса; нейроны грушевидной формы тройничного нерва с окрашенными не разветвленными отростками, направленными вентролатерально к корешку тройничного нерва; окрашенные нейроны в ядре тройничного нерва образуют два скопления, различающиеся местоположением и размерами клеточных тел (*стрелкой* указано верхнее скопление, *двойной стрелкой* — нижнее скопление нейронов). *б* — NADPH-позитивные нейроны тройничного нерва у карася. *в, г* — NADPH-позитивные нейроны октаволатерального комплекса: *в* — медиальное октаволатеральное скопление у терпуга (*стрелки*), *г* — нейроны октаволатеральной колонны опистоцентра (*стрелки*). *д* — NADPH-позитивные нейроны ядра лицевого нерва у опистоцентра (*стрелкой* указан корешок лицевого нерва). *е* — мотонейроны ядра лицевого нерва у фолиса. *МПП* — медиальный продольный пучок, *Ж* — мозговой желудочек, *НПV* — нисходящий пучок тройничного нерва; остальные обозначения те же, что и на рис. 1. Увел.: *а, в—д* — об. 20 \times , ок. 10 \times ; *б, е* — об. 12.5 \times , ок. 10 \times .

Морфологические параметры нейронов (в мкм), позитивных на NADPH-диафазу, и уровень оптической плотности распределения NADPH-диафазы (ЕОП) в ядрах продолговатого мозга костистых рыб

Виды рыб	Ядро блуждающего нерва	Ядро языкового нерва	Октаополлярные ядра		Ядро лицевого нерва		Ядро тройничного нерва
			медиальное	каудальное	дорсальное	центральное	
Фолис	24/24 (94.6)	15/7.5 (92.8)	27/21 (100)	10/9 (77.4)	15/9 (88.7)	21/9 (80.7)	6/6 (55)
	21/6 (93.4)	15/9 (103.7)	45/12 (117)	24/9 (96.7)	24/9 (89)	15/9 (91.7)	9/5 (54)
	18/5.4 (91.2)	30/12 (97)	50/15 (112)	33/27 (89.5)	24/12 (91.6)	15/7 (82.3)	12/6 (48)
	18/9 (79.4)			39/27 (91.7)			21/18 (57.6)
	15/6 (83.6)						30/12 (54)
							48/9 (49)
Опистоцентр	12/9 (105.6)	12/12 (103.7)	30/15 (119)	21/18 (118)	21/15 (100)	13/6 (72)	15/13 (57.8)
	15/12 (111.3)	13.5/9 (104.5)	33/18 (115)	24/12(122)	30/15 (108)	15/9 (80)	24/15 (75)
	19/12 (101)	15/12 (117.9)	45/15 (121)	33/15 (126.5)	33/24 (123)	21/15 (85.8)	30/5 (69)
	21/10.5 (121.7)	18/15 (109)		33/21 (112.7)	36/36 (107)	40/15 (92.4)	33/24 (67.2)
	24/9 (85.9)			42/18 (137.4)	45/18 (106)		36/36 (74.7)
							42/24 (72)
Карась	M	C	Дорс.	Вент.	M	C	30/18 (61.3)
	15/15 (103.5)	9/6 (104)	21/18 (104)	21/18 (108)	33/9 (101)	18/18 (88)	36/30 (70)
	21/21 (105.7)	9/9 (106)	27/15 (113)	24/15 (99.4)	30/27 (118.9)	18/9 (113)	42/24 (58.1)
	27/18 (123.8)	12/6 (114)	30/21 (113.7)	39/15 (126)	36/24 (116.6)	21/18 (125)	30/7 (112)
	36/27 (126)	15/9 (115)	33/27 (99.2)	45/21 (119)	45/30 (124)	45/16 (99.6)	33/9 (91)
	34/15 (124)	18/7 (117.6)	36/24 (99.8)	48/39 (111)	54/36 (119.7)	57/18 (115.4)	36/18 (118)
Терпуг	45/24 (133.8)	21/15 (119.3)	45/9 (102)		45/12 (108)	45/12 (108)	54/27 (73.9)
	48/12 (132)				54/6 (110.7)		
	18/15 (111.3)						
	21/15 (112)						
	21/18 (127.7)						
	24/15 (109)						

Примечание. М — моторная часть ядра, С — сенсорная часть ядра, Дорс. — дорсальная, Вент. — вентральная, через косую черту указаны большой и малый диаметры реагирующих нейронов, в скобках указаны единицы оптической плотности.

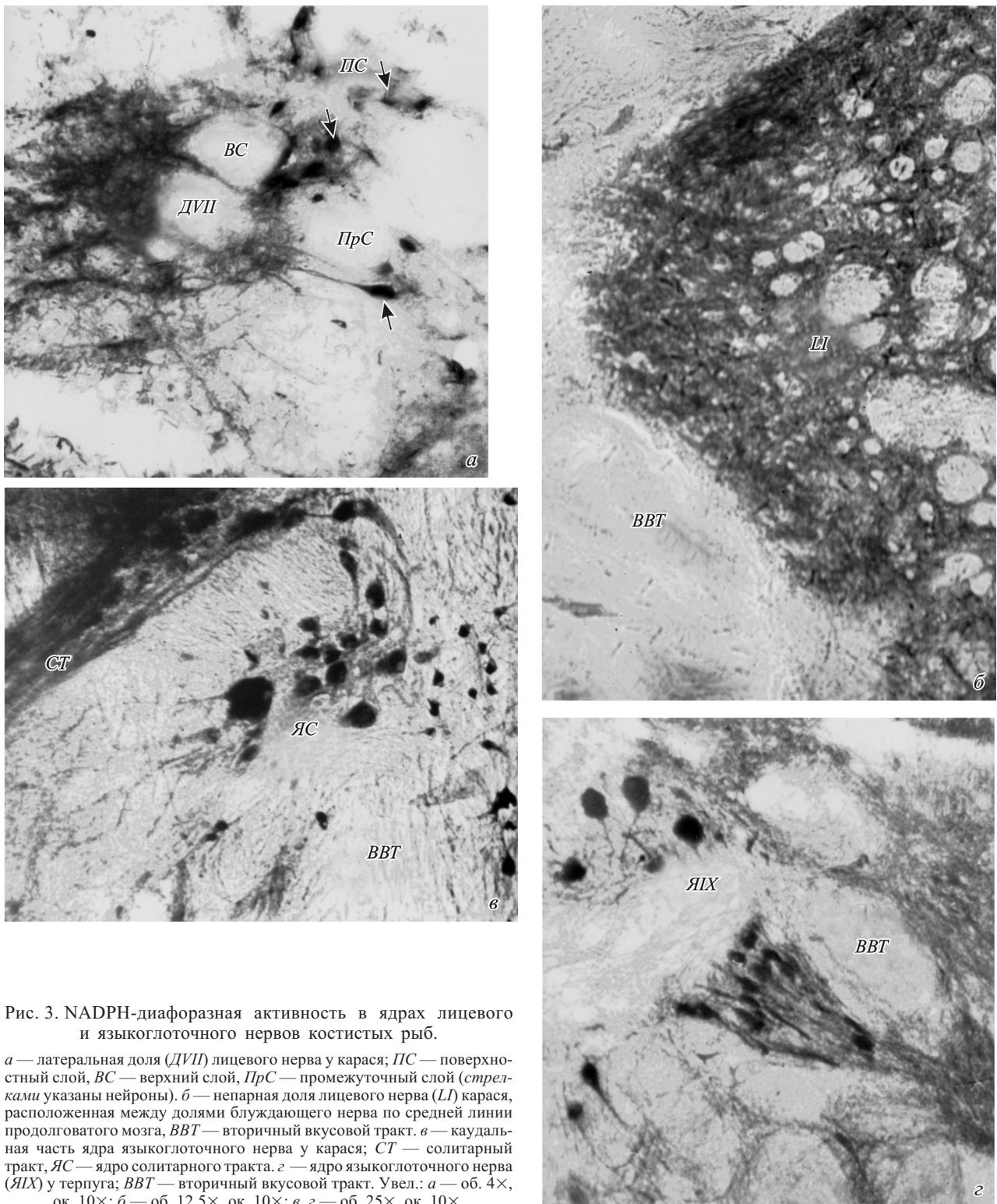


Рис. 3. NADPH-диафоразная активность в ядрах лицевого и языгоглоточного нервов костистых рыб.

а — латеральная доля (*DVII*) лицевого нерва у карася; *ЛС* — поверхностный слой, *ВС* — верхний слой, *ПрС* — промежуточный слой (стрелками указаны нейроны). б — непарная доля лицевого нерва (*LI*) карася, расположенная междуолями блуждающего нерва по средней линии продолговатого мозга, *ВВТ* — вторичный вкусовой тракт. в — каудальная часть ядра языгоглоточного нерва у карася; *СТ* — солитарный тракт, *ЯС* — ядро солитарного тракта. г — ядро языгоглоточного нерва (*ЯГХ*) у терпуга; *ВВТ* — вторичный вкусовой тракт. Увел.: а — об. 4×, ок. 10×; б — об. 12.5×, ок. 10×; в, г — об. 25×, ок. 10×.

которой сочетаются ламинарная морфология и соматотопический принцип организации. Она включает в себя лицевую (непарную) долю (*lobus impar*), расположенную по средней линии продолговатого мозга междуолями блуждающего нерва (рис. 3, б), а также парные латеральные доли, расположенные над моторным ядром лицевого нерва (рис. 3, а). В поверхностном слое латеральной доли окрашиваются веретеновидные и овальные нейроны, образующие плотный клеточный пласт. В верхнем

слое маркируются крупные мультипольные клетки. В промежуточном слое окрашиваются полигональные клетки, организованные в виде небольших скоплений. В нижнем слое выявлены лицевые и вторичные вкусовые волокна. По периметру пучков волокон расположены узкие реагирующие веретеновидные клетки, одиночные или собранные в небольшие группы (рис. 3, а).

Ядро IX нерва. У исследованных рыб языгоглоточный нерв проецируется в группу нейронов, расположе-

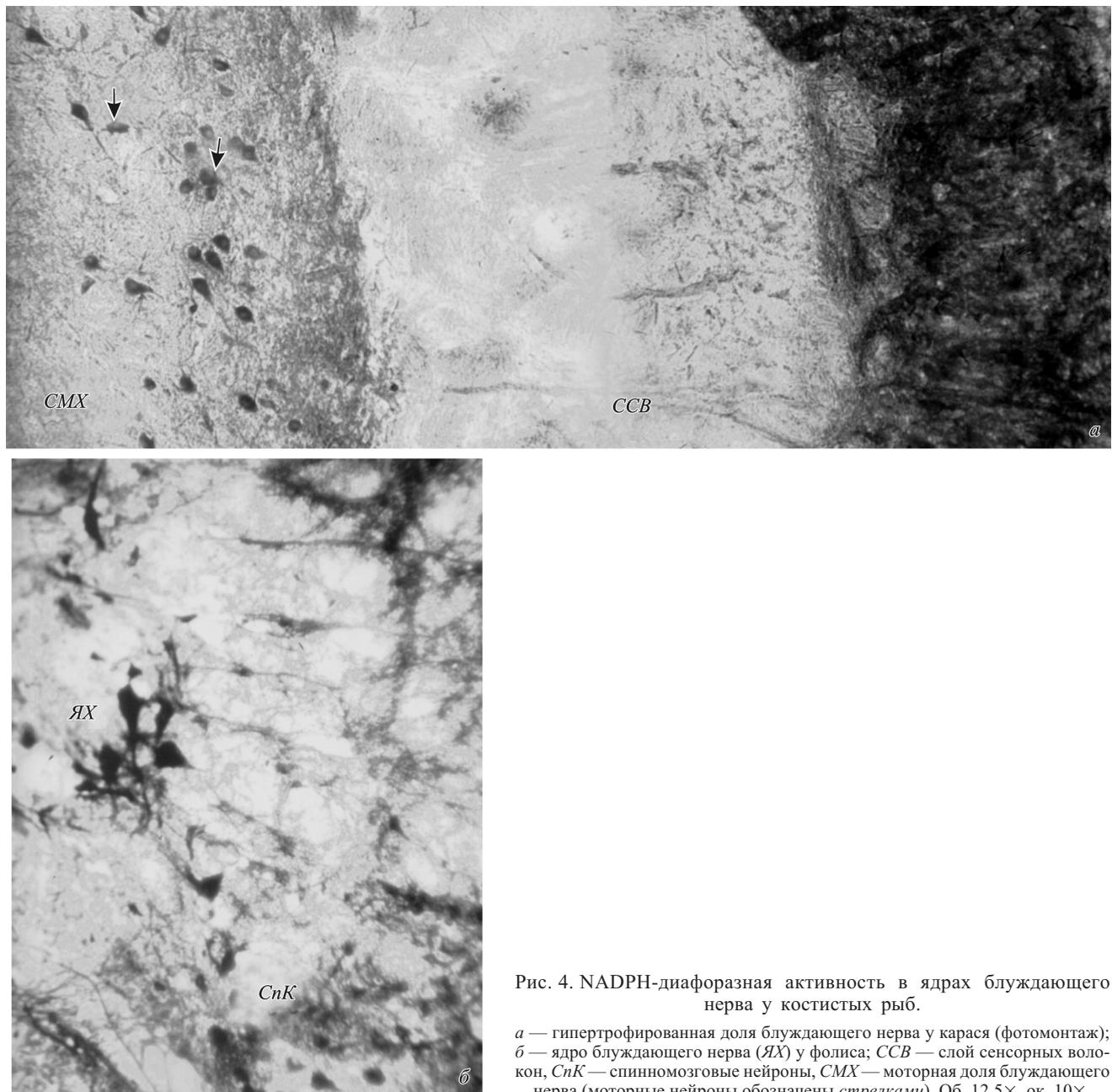


Рис. 4. NADPH-диафоразная активность в ядрах блуждающего нерва у костистых рыб.

a — гипертрофированная доля блуждающего нерва у карася (фотомонтаж); *б* — ядро блуждающего нерва (*IX*) у фолиса; *CCB* — слой сенсорных волокон, *CnK* — спинномозговые нейроны, *CMX* — моторная доля блуждающего нерва (моторные нейроны обозначены стрелками). Об. 12.5×, ок. 10×.

женную каудально и прилежащую к мозговому желудочку. В организации ядер языковоглоточного нерва у всех исследованных рыб выявлено значительное сходство. Характеристика клеточного состава ядра нерва представлена в таблице. Во всех случаях оно имеет значительную передне-заднюю протяженность и образовано гетероморфными интенсивно окрашенными элементами. У карася задняя часть ядра IX нерва представлена непарной, центрально расположенной и интенсивно окрашенной группой клеток, тянущейся до специализированных долей блуждающего нерва (рис. 3, *в*). В передней части ядра сконцентрированы небольшие овальные клетки, более крупные мультиполярные нейроны расположены спинальнее. От нейронов этой группы отходят волокна непарного тракта, интенсивно реагирующего на NADPH (рис. 3, *в*). Их нейропиль выявляется и за каудальными границами долей вагуса, он расположен на уровне мото-

нейронов спинномозговой колонны. Это образование у карася, возможно, является предшественником ядра солитарного тракта высших позвоночных, а маркируемый нейропиль — собственно солитарным трактом. У других исследованных рыб в составе комплекса IX нерва подобные образования отсутствуют. Восходящие маркируемые волокна вторичного вкусового тракта карася пронизывают доли вагуса и доходят до лицевой доли. При этом часть волокон переходит на противоположную сторону и восходит к вторичному вкусовому ядру, расположенному в основании перешейка. Ядро языковоглоточного нерва карася разделено на верхнюю и нижнюю части, в которых NADPH маркирует крупные нейроны, прилежащие к желудочку мозга, и более мелкие, сконцентрированные латеральнее. Над ядром диффузно окрашивается нейропиль медиального канатика и волокна корешков блуждающего нерва. В составе ядра у терпуга разли-

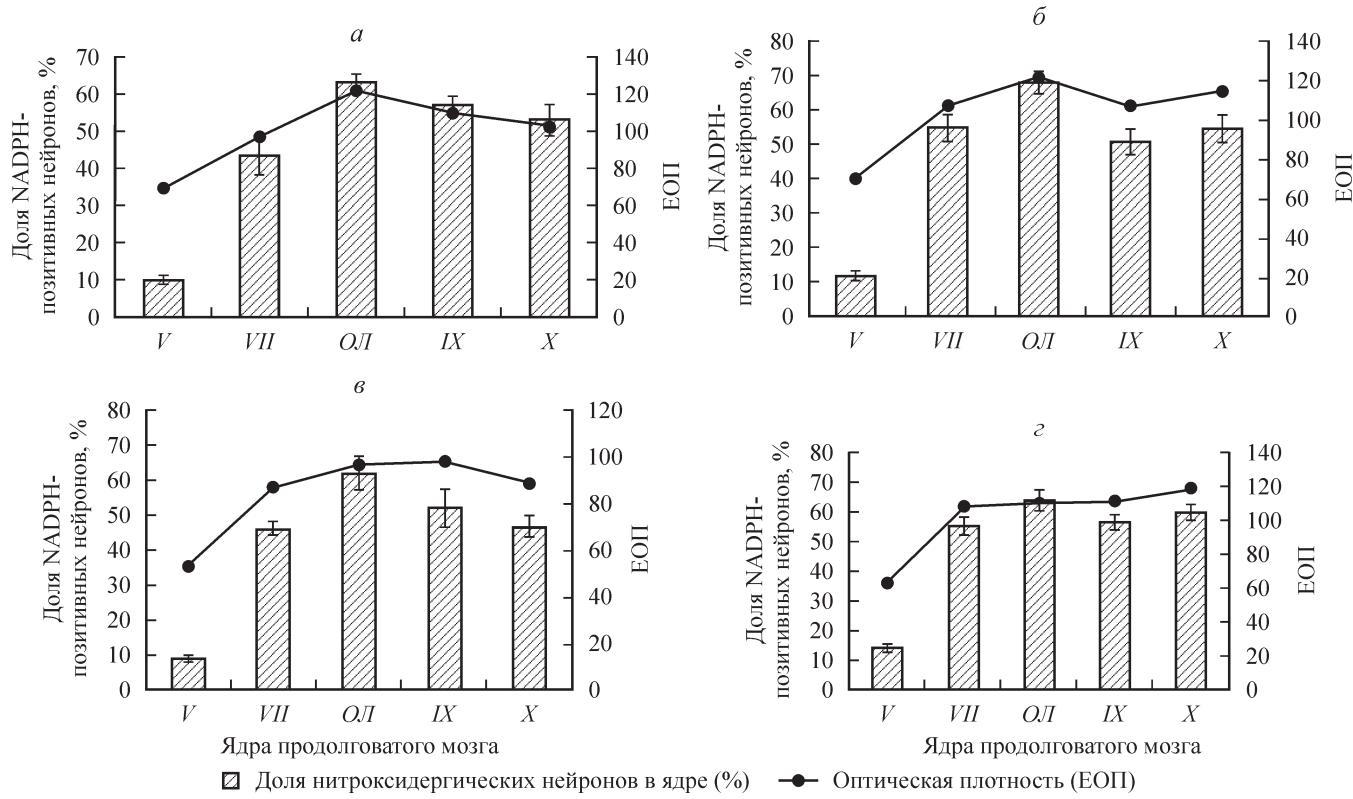


Рис. 5. Количественное распределение и оптическая плотность NADPH-диафоразопозитивных нейронов в ядрах продолговатого мозга костистых рыб.

a — фолиса *Pholis nebelensis*, *b* — опистоцентра *Pholidapus dybowskii*, *c* — терпуга *Hexagrammus octogrammus*, *d* — карася *Carassius carassius*. По оси абсцисс отмечены ядра продолговатого мозга: *V* — тройничного, *VII* — лицевого, *OL* — октааволатерального, *IX* — языковоглоточного, *X* — блуждающего нервов. По правой оси ординат обозначена доля (%) нитроксидергических нейронов в ядрах (гистограммы); по левой оси ординат обозначен уровень оптической плотности (ЕОП) NADPH-диафоразы в ядрах продолговатого мозга (графики).

чими две клеточные группы — верхняя и нижня (рис. 3, *г*). Нижняя группа нейронов ограничена волокнами вторичного вкусового тракта от верхней. В составе обоих клеточных скоплений реагируют овальные и округлые нейроны (рис. 3, *г*). В верхнем скоплении наряду с тремя мультиполлярными окрашены мелкие округлые клетки. В нижнем скоплении ядра количество таких нейронов заметно возрастает к просвету мозгового желудочка.

Ядра *X* нерва. Проекционная область блуждающего нерва окунеобразных рыб образована группой нейронов, слабо отделенной от языковоглоточного скопления и являющейся его продолжением. Ядро вагуса представлено плотной группой нейронов, сверху прилегающей к просвету мозгового желудочка, и характеризуется наиболее значительным уровнем ферментативной реакции на NADPH (рис. 4, *б*). Над ядрами вагуса расположены нейропиль, принадлежащий восходящим из спинного мозга волокнам медиального канатика. У опистоцентра и фолиса в ядре блуждающего нерва на NADPH-d реагируют три подтипа клеток (рис. 4, *б*). В верхней части ядра расположены овальные и округлые нейроны, в боковой — удлиненные клетки, в нижней — овальные, плотность распределения которых в 1.5—2.0 раза ниже, чем в верхней. У терпуга в ядре реагируют нейроны преимущественно овальной или грушевидной формы, расширенные с базального конца, прилегающего к просвету желудочка. В апикальной части клетки расположены одиночный малоразвитый дендрит. В верхней части ядра маркируются более крупные клетки. В его цент-

ральной части представлено плотное скопление изоморфных нейронов среднего размера, которые встречаются и в нижней части ядра, где плотность их распределения значительно меньше. У карася проекция блуждающего нерва образует самостоятельный гипертрофированный отдел продолговатого мозга. Он имеет полулуенную форму, образован слоями нейронов, чередующимися с нейропилем (рис. 4, *а*). Моторная часть проекции блуждающего нерва представлена внутренней полусферой доли. Нейроны моторной области гетероморфны и организованы в виде 3—4 слоев, слабо разграниченных между собой нейропилем (рис. 4, *а*). Клетки характеризуются интенсивным окрашиванием на NADPH-d, при этом у них всегда различимо центрально расположенное ядро. Выявлено несколько морфологических групп нейронов: мультиполлярные крупные клетки, овальные и мультиполлярные нейроны среднего размера, веретеновидные и грушевидные нейроны, а также мелкие клетки округлой формы. Наибольшее количество крупных окрашенных нейронов отмечено в базальной части, где проходит граница с непарной долей лицевого нерва. В каудальном направлении уменьшается количество крупных мультиполлярных клеток и маркируются в основном нейроны среднего размера округлой и овальной форм. Максимальная концентрация мотонейронов выявлена в ростральной части моторного слоя, несколько разреженней выглядит медиальная часть, в каудальной же части плотность распределения нейронов минимальна. Сенсорная часть вагуса образована наружной полусферой проекционной

дoli (рис. 4, a). В ее составе присутствуют как нейроны, так и нейропиль, образованный сенсорными волокнами. Немногочисленные клетки овальной, круглой и веретенообразной форм выявлены в подповерхностном слое. Эта область отделена интенсивно реагирующими сенсорными волокнами, скрывающими нейроны, которые реагируют диффузно. Внутренняя часть сенсорной области также содержит слой гетероморфных клеток.

Обсуждение

Описанная в настоящей работе нитроксидергическая организация соматовисцеральной и октаволатеральной колонн продолговатого мозга характеризуется значительным сходством у исследованных окунеобразных рыб и имеет морфо-адаптационные отклонения структурной и нейрохимической организации у карпообразных. Черты сходства обусловлены в первую очередь морфогенетическими аспектами формирования и становления сегментарных центров головного мозга как жизнеобеспечивающих сомато- и брахиомоторных систем и, следовательно, могут быть охарактеризованы как эволюционно консервативные (Андреева, Обухов, 1999). Однако сравнительная характеристика нитроксидергических центров продолговатого мозга показала, что у карбообразных рыб присутствуют выраженные различия структурной и функциональной организации ядер продолговатого мозга. Эти различия являются следствием специализации сенсорных систем, что приводит к значительным изменениям макро- и микроанатомической конфигурации продолговатого мозга. В настоящее время гипертрофированные доли вагуса карбообразных рассматриваются в качестве адекватной функциональной модели для изучения процессов преобразования сенсорной (вкусовой) информации (Funakoshi et al., 2002; Sharp, Finger, 2002). Тем не менее широкое использование модели не восполняет пробелов, связанных с выяснением механизмов преобразования разномодальной сигнализации в ядрах продолговатого мозга костистых рыб, обитающих в различных экологических условиях.

Стволовые ядра V, VII, IX и X нервов у исследованных рыб формируют дорсально расположенную колонну нейронов, включающую в себя два основных комплекса — соматосенсорный и висцеросенсорный. У рыб эти функциональные комплексы не разобщены топографически и формируют единую соматовисцеральную колонну. На существование данного феномена впервые указали Фингер и Канвал (Finger, Kanwal, 1992), которые ввели термин «общая висцеральная сенсорная колонна» для костистых рыб. У рыб как первичноводных позвоночных развитие проекций VII, IX и X черепно-мозговых нервов осуществляется параллельно с развитием висцерохимических необоняательных рецепторов. Среди исследованных видов представлены две группы — карбообразные, с модифицированными долями лицевого и блуждающего нервов, и окунеобразные, без ярко выраженной вторичной вкусовой специализации. Общими чертами морфологии медуллярных представительств висцеросенсорных центров являются их удаленность от стенки мозгового желудочка и слабое разграничение сенсорных и моторных компонентов у всех исследованных рыб, за исключением карася.

Нейрохимическая и медиаторная характеристики ядер черепно-мозговых нервов рыб.

Общим свойством всех рассмотренных ядер продолговатого мозга является их холинергическая природа. Холинергический путь нейропередачи является мощным модулятором синаптической и метаболической активности эффеरентных парасимпатических систем организма. Такое свойство соматовисцеральных ядер и эффеरентных октаволатеральных комплексов на сегодняшний день установлено для *Phoxinus phoxinus* (Exstöm, 1987), *Porichthys notatus* (Brantley, Bass, 1988), *Anguilla anguilla* (Molist et al., 1993) и *Oncorhynchus mykiss* (Perez et al., 2000). Организация холинергических соматомоторных и брахиомоторных центров, а также их местоположение в моторной колонне сходны у различных видов рыб (Exstöm, 1987; Brantley, Bass, 1988; Perez et al., 2000), а также у других позвоночных животных (Perez et al., 2000). У форели эффеरентные октаволатеральные ядра являются холинергическими (Perez et al., 2000), сходный характер эффеरентных волокон выявлен у карася (Danielson et al., 1988) и угря (Roberts et al., 1994). У амфибий, рептилий, птиц и млекопитающих моторная часть VIII нерва представлена холинергическим ядром, проецирующимся в сенсорные органы лабиринта (вестибулярные и кохлеарные ядра) (Perez et al., 2000).

Наряду с холинергической в ядрах продолговатого мозга рыб показано наличие других медиаторных систем. У угря *Anguilla anguilla* выявлены ГАМК — иммуреактивные нейроны в составе октаволатеральных ядер, в долях вагуса, а также моторных ядрах IX и X нервов (Medina et al., 1994). В сенсорном слое доли вагуса золотой рыбки показано наличие не только ГАМК-иммуреактивных нейронов, но и ГАМК-ergicеских постсинаптических рецепторов во II, IV, VI и IX слоях афферентных волокон (Sharp, Finger, 2002). Электрофизиологическими методами установлено, что стимуляция сенсорных волокон вагуса карбообразных приводит к активации ионотропных глютаматных рецепторов (Sharp, Finger, 2002), играющих ключевую роль в преобразовании вкусовой информации (Smeraski et al., 1999). Наличие рецепторов А-типа к ГАМК установлено в нейронах тройничного нерва и преганглионарных нейронах V и VIII нервов у атлантического лосося *Salmo salar* (Anzelius et al., 1995). В большинстве сенсорных систем ГАМК модулирует перенос информации от первичных афферентных синапсов на уровне пре- и постсинаптических рецепторов (Sharp, Finger, 2002). В ядрах тройничного, лицевого, крупноклеточного октаволатерального и блуждающего (предположительно солитарного) нервов угря *A. anguilla* найдены допаминовые рецепторы D₁ (Kapsimali et al., 2000). Моноаминергические и пептидергические проекции обнаружены в доле вагуса у *Apteronotus leptorhynchus* (Johnston et al., 1990), *Dicentrarchus labrax* (Batten et al., 1993), *Stephanolepis cirrhifer* (Funakoshi et al., 2002), *Danio rerio* (Ma, 2003) и в октаволатеральных волокнах *D. rerio* (Ma, 2003). Висцеральная эффеरентная колонна мотонейронов у *A. leptorhynchus* и *S. cirrhifer* содержит густой нейропиль, состоящий из серотонинергических волокон (Johnston et al., 1990; Funakoshi et al., 2002). У *S. cirrhifer* найдены тирозин-гидроксилаза-позитивные, холецистокинин-8, вещество P, а также немногочисленные волокна, содержащие нейропептид Y (NPY) (Funakoshi et al., 2002). У золотой рыбки (Farrell et al., 2002) холецистокинин, NPY и кальцитонин обнаружены в долях вагуса, у *Lethenteron japonica* (Chiba, 1999) помимо мотонейронов вагуса NPY обнаружен в октаволатеральных ядрах. Таким образом, парасимпати-

ческие преганглионарные нейроны могут проводить нейрохимическую сигнализацию по моноаминергическим и пептидергическим волокнам и тем самым регулировать работу висцеральных систем организма.

Локализация NADPH-диафоразы в ядрах продолговатого мозга. Изучение NO-ergicеской функции ядер продолговатого мозга представляется нам одним из дополнительных инструментов, позволяющих уточнить ряд спорных вопросов. Как показали результаты настоящего исследования и работы других авторов (Arevalo et al., 1995; Villani, Guarneri, 1995; Villani, 1999), в продолговатом мозге NADPH-d присутствует как в сенсорных ядрах (V, VII, IX и X), так и в эфферентных областях (октавомоторный комплекс).

Из проанализированных нами ядер наиболее гетерогенными у всех исследованных видов рыб являются ядра тройничного нерва (см. таблицу). В них представлено наибольшее число клеточных типов, причем обнаружены наименее и наиболее крупные нейроны. У стихеевых рыб в ядрах тройничного нерва морфологические параметры нейронов, реагирующих на NADPH-d, варьируют в широких пределах, начиная от небольших округлых клеток и заканчивая крупными нейронами диаметром до 60 мкм (см. таблицу). У терпуга на NADPH реагируют клетки среднего и крупного размеров (см. таблицу). У карася морфологические характеристики NADPH-позитивных нейронов сходны с таковыми у терпуга.

В медиальном октаволатеральном ядре окунеобразных рыб NADPH синтезируют изоморфные, удлиненные нейроны, более крупные, чем в каудальном ядре. У карася среди нейронов каудального ядра реагирует больший процент гетероморфных нейронов и суммарные параметры их тел также несколько больше, чем у окунеобразных рыб (см. таблицу)

У окунеобразных рыб дифференцировка ядер лицевого нерва выражается в наличии верхней (более крупной) и нижней клеточных групп (см. таблицу). У терпуга различимы становятся афферентная и эфферентная части ядра лицевого нерва. У карася структурная дифференцировка достигает наибольшей степени, при которой афферентная область топографически удалена от эфферентной и представлена самостоятельной структурой (непарной долей лицевого нерва), содержащей помимо клеточного обширный нейропильный компонент. В верхней части ядра лицевого нерва опистоцентра и фолиса на NADPH реагируют клетки среднего и крупного размеров, а в нижней — небольшие нейроны. Эта же особенность сохраняется и у терпуга, мотонейроны которого характеризуются высокой реакционной способностью. В сенсорной части ядра реагируют средние и крупные веретеновидные клетки. У карася в моторной части лицевого нерва отмечается большой разброс в параметрах реагирующих нейронов. В сенсорной части лицевого нерва карася, подобно тому как это реализовано у терпуга, реагируют веретеновидные нейроны, но дополнительно представлены мелкие округлые клетки (см. таблицу).

В ядрах языкоглоточного нерва стихеевых рыб нитроксидергические клетки имеют небольшие размеры, причем у опистоцентра они более гетероморфные, чем у фолиса (см. таблицу). У терпуга и карася выделены две нитроксидергические области ядра языкоглоточного нерва — верхняя и нижняя. Морфологические свойства образующих их нейронов в целом сходны, с тем отличием что у терпуга суммарные параметры тел реагирующих нейронов меньше, чем у карася.

Наконец, в ядрах блуждающего нерва окунеобразных рыб (см. таблицу) на NADPH реагируют небольшие и средние овальные нейроны. У карася проекция блуждающего нерва преобразована в латеральные доли, в которых на NADPH реагируют полиморфные мотонейроны, а также сенсорные клетки, отличающиеся меньшим обилием форм (см. таблицу).

Распределение оптической плотности преципитата, выпадающего в цитоплазме нейронов, реагирующих на NADPH-d, а также доля нейронов в ядрах продолговатого мозга рыб представлены на объединенной диаграмме, включающей в себя графики и гистограммы (рис. 5, а—г). График показывает суммарный уровень оптической плотности NADPH-d в ядрах продолговатого мозга; гистограмма отражает долю реагирующих нейронов от общего числа клеток продолговатого мозга, выявляющихся при окраске по Нисслю.

В ходе анализа распределения нитроксидергических нейронов в ядрах продолговатого мозга и определения оптической плотности реагирующих в них клеток было установлено, что в ядре тройничного нерва (V) доля NO-ergicеских элементов у всех исследованных рыб стабильно низкая и составляет 9—14 % (рис. 5, а—г). Уровень оптической плотности диафоразы в нейронах тройничного нерва у исследованных нами видов также невысок и закономерно коррелирует с его низким процентным содержанием (рис. 5, а—г). Наши данные согласуются с результатами других авторов (Holmqvist et al., 1994; Ostholt et al., 1994; Arevalo et al., 1995; Villani, Guarneri, 1995). У линия *Tinca tinca* нитроксидергическая активность в ядре тройничного нерва установлена как в крупных клетках (I типа) с разветвленными маркируемыми дендритами, так и в небольших округлых нейронах, прилежащих к вторичным вкусовым волокнам (Arevalo et al., 1995). У атлантического лосося *Salmo salar* также показано, что нейроны ядра тройничного нерва содержат NADPH-d (Holmqvist et al., 1994).

Доля нитроксидергических нейронов лицевого (VII), языкоглоточного (IX) и блуждающего (X) нервов описана и фолиса стабильно высокая (рис. 5, а, б). В ядрах языкоглоточного нерва количество нитроксидергических клеток даже несколько выше, чем в доле вагуса (рис. 5, а, б). Литературные данные указывают на то, что висцеральная сенсорная система рыб подразделена на экстероцептивный компонент, иннервирующий органы глотки и жаберные структуры через бронхиальные ветви вагуса, и интероцептивный компонент, иннервирующий внутренние органы через висцеральные ветви (Kanwal, Caprio, 1987; Funakoshi et al., 1999). Результаты ретропротоградного мечения показали, что у *Takifugu nifobles* NO-синтаза присутствует в обоих этих компонентах (Funakoshi et al., 1999). У терпуга и карася, по данным настоящего исследования, NO-ergicеской активностью обладают 55.2 и 60 % нейронов вагусного комплекса соответственно (рис. 5, в, г). Полученные данные хорошо согласуются с литературными (Li, Furness, 1993; Gibbins et al., 1995; Brüning et al., 1996), где показано, что подавляющее большинство нейронов (55—85 %), иннервирующих жабры, являются NO-ergicескими. Эти данные подтверждают, что наличие NO характерно для краинальной парасимпатической брахиомоторной системы на ранних стадиях эволюции. У исследованных карпообразных рыб наличие NADPH-позитивных нейронов, как правило, связывают с обслуживанием сенсорного вкусового аппарата. Однако в нашем исследовании и в рабо-

такх других авторов было показано, что нитроксидергическими свойствами обладает и моторная часть вагуса (Villani, Guarneri, 1995). Свойство синтезировать NO в моторных областях черепно-мозговых нервов выявлено и у других видов рыб (Arevalo et al., 1995; Gibbins et al., 1995; Funakoshi et al., 1999). У карпообразных в связи с особенностями их жизнеобитания вагусные доли формируют два гигантских образования на боковых поверхностях продолговатого мозга. Сенсорный слой этих долей характеризуется максимальной нитроксидергической активностью, связанной, вероятно, с приходящими сюда чувствительными волокнами. Подтверждением является высокая активность NADPH-d в нейронах и волокнах чувствительных ганглиев (Funakoshi et al., 1999); авторы продемонстрировали, что жаберные ветви вагуса, содержащие NO-синтазу, иннервируют преимущественно артериальное русло жабер. Другие исследователи также подтверждают причастность NO-зависимой модуляции именно к сердечно-сосудистой системе рыб (Nilsson, 1984; Olson, 1998).

У терпуга в связи со структурной и функциональной дифференцировкой проекций лицевого нерва и частичного обособления его сенсорной и моторной частей количество нитроксидергических нейронов лицевой проекции пропорционально возрастает (рис. 5, в). Сходная тенденция проявлена в еще большей степени у карася (рис. 5, г). У опистоцентра и фолиса доля нитроксидергических нейронов в ядре лицевого нерва ниже, чем у терпуга и карася (рис. 5, а, б). Возможно, это связано с отсутствием дифференцировки пре- и постганглионарных нейронов у этих видов. Наши сведения согласуются с данными, полученными на *Tinca tinca*; показано наличие в ядре лицевого нерва небольших и средних умеренно реагирующих нейронов с толстыми дендритами наряду с мелкими нейронами, не имеющими окрашенных волокон (Arevalo et al., 1995).

Наши исследования показали, что октаволатеральные ядра изученных рыб характеризуются значительным уровнем синтеза NO. На рис. 5 приведены обобщенные данные уровня оптической плотности NADPH-d для медиального и каудального октаволатеральных ядер (рис. 5, а—г) и процентного содержания нитроксидергических нейронов в этих ядрах. У исследованных нами рыб доля нитроксидергических октаволатеральных нейронов составляет (в %): 62 — у фолиса (рис. 5, а), 63 — у опистоцентра (рис. 5, б), 68 — у терпуга (рис. 5, в) и 64 — у карася (рис. 5, г). Уровень оптической плотности NADPH-d в октаволатеральных ядрах также высок, составляя у изученных рыб 100—120 единиц оптической плотности (рис. 5, а—г). Нитроксидергическая активность эфферентных октаволатеральных нейронов показана на других видах рыб (Arevalo et al., 1995; Villani, Guarneri, 1995). Авторы этих работ указывают на две группы окрашенных нейронов: медиально расположенную, прилежащую к продольному медиальному пучку, и каудальную группу клеток. NADPH-позитивные нейроны этих ядер они причисляют к I типу, среднего или крупного размера (30—40 мкм), грушевидной, округлой или удлиненной формы. Подчеркиваются интенсивный характер гистохимического окрашивания клеток и наличие у них толстых протяженных контра- и ипсолатерально ориентированных дендритов, направленных в латеральную область продолговатого мозга.

Сходные результаты получены для других видов рыб — линя (Arevalo et al., 1995), золотой рыбки (Villani,

Guarnieri, 1995; Villani, 1999) и атлантического лосося (Ostholm et al., 1994). В этих работах показано, что у рыб в висцеро-, соматосенсорных и октаволатеральных проекциях продолговатого мозга также присутствует NADPH-d. Однако в некоторых исследованиях акцентируется внимание на слабое соответствие в колокализации NADPH-d и других медиаторов (Arevalo et al., 1995). В настоящее время установлено, что NADPH-диафораза в ядрах продолговатого мозга рыб колокализована с ацетилхолином (Ekström, 1987; Brantley, Bass, 1998; Villani, Guarneri, 1995).

Исследуя нитроксидергическую организацию ядер объединенной висцеро-соматической и акустико-латеральной колонн, мы пришли к выводу о том, что на уровне ствола мозга при рассмотрении хемоморфологической организации ядер черепно-мозговых нервов имеют место те же механизмы, которые реализованы на сегментарном спинномозговом уровне у этих же видов рыб. В организации рассмотренных ядер отсутствует четкая топологическая разобщенность пре- и постганглионарных компонентов. Частичное разобщение этих структур имеется у карпообразных. Таким образом, нитроксидергическим является сенсорное звено, имеющее дифференцированную и зачастую мультимедиаторную специализацию (Farrell et al., 2002; Funakoshi et al., 2002; Sharp, Finger, 2002; Ma, 2003). Такое свойство сенсорных клеток, возможно, определяется различными механизмами утилизации сенсорной информации, на которые оказывают влияние экологические факторы. Мотонейроны, характеризующиеся универсальной филогенетически консервативной холинергической нейропередачей, также обладают свойством синтезировать NO.

Высокое содержание нитроксидергических нейронов и уровень оптической плотности в изученных ядрах продолговатого мозга рыб являются дополнительными аргументами в пользу известного предположения (Bredt, Snyder, 1992; Agnati, Fuxe, 2000) о том, что NO выступает в качестве парасинаптического нейропередатчика, модулирующего работу различных медиаторов в ядрах продолговатого мозга. Предположение подтверждается наличием пространственного континуума, формируемого за счет ветвящихся в поперечной плоскости дендритов эфферентных нейронов, а также ориентированной продольно системы надсегментарных нисходящих и восходящих спинальных волокон. Подобная организация проекций поперечных черепно-мозговых сегментов и управляющей надсегментарной продольной системы создает морфологическую основу для формирования пространственной сети, в которой межнейрональные и межъядерные дистанции соответствуют таковым при диффузной нейропередаче.

Результаты настоящего исследования позволяют сделать следующие выводы. Особенностью организации медуллярных ядер рыб является слабая топологическая разобщенность сенсорного и моторного компонентов при выраженной гетероморфности организации этих структур и наличии субпопуляций в их составе. У исследованных рыб NADPH-диафоразной активностью обладают тройничное, лицевое, языковоглоточное, блуждающее и октаволатеральные ядра. В ядрах тройничного нерва число нитроксидергических нейронов минимально и составляет 9—14 % от общего числа клеток. Ядра лицевого, языковоглоточного, блуждающего и октаволатеральных нервов у всех исследованных рыб характеризуются наличием большого числа нитроксидергических нейронов (40—60 %).

Работа выполнена при финансовой поддержке Американского фонда содействия и развития (CRDF), Министерства образования США (проект Y2-B-03-05) и гранта президента РФ (проект МК-9001.2006.4).

Список литературы

- Андреева Н. Г., Обухов Д. К. 1999. Эволюционная морфология нервной системы позвоночных. СПб.: Лань. 384 с.
- Меркулов Г. А. 1969. Курс патологогистологической техники. Л.: Медицина. 423 с.
- Савельев С. В. 2002. Сравнительная анатомия нервной системы позвоночных. М.: ГЭОТАР-МЕД. 272 с.
- Agnati L. F., Fuxe K. 2000. Volume transmission as a key feature of information handling in the central nervous system possible new interpretative value of the Turing's B-type machine. *Prog. Brain Res.* 125 : 3—19.
- Anzelius M., Extröm P., Möhler H., Richards G. 1995. Immunocytochemical localization of GABA_A receptor β_2/β_3 subunits in the brain of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *J. Chem. Neuroanat.* 8 : 207—221.
- Arevalo R., Alonso J. R., Garcia-Ojeda E., Brinón J. G., Crespo C., Aijón J. 1995. NADPH-diaphorase in the central nervous system of the tench (*Tinca tinca* L., 1758). *J. Comp. Neurol.* 352 : 398—420.
- Batten T. F., Berry P. A., Maqbool A., Moons L., Wandsean-de F. 1993. Immunolocalization of catecholamine enzymes, serotonin, dopamine and L-dopa in the brain of *Dicentrarchus labrax* (Teleostei). *Brain Res. Bull.* 31 : 233—252.
- Brantley R. K., Bass A. H. 1988. Cholinergic neurons in the brain of a teleost fish (*Poecilia notatus*) located with a monoclonal antibody to choline acetyltransferase. *J. Comp. Neurol.* 275 : 87—105.
- Bredt D. S., Snyder S. H. 1992. Nitric oxide, a novel neuronal messenger. *Neuron.* 8 : 3—11.
- Brüning G., Hattwig K., Mayer B. 1996. Nitric oxide synthase in the peripheral nervous system of the goldfish, *Carassius auratus*. *Cell Tissue Res.* 284 : 87—98.
- Chiba A. 1999. Immunohistochemical distribution of neuropeptide Y-related substance in the brain and hypophysis of the arctic lamprey, *Lethenteron japonica*. *Brain. Behav. Evol.* 53 : 102—109.
- Danielson P. D., Zottoli S. J., Corodi G., Rhodes K. J., Mufson E. J. 1988. Localization of choline acetyltransferase to somata of posterior lateral line efferents in the goldfish. *Brain Res.* 448 : 158—161.
- Exstöm P. 1987. Distribution of choline acetyltransferase immunoreactivity in the brain of a cyprinid teleost (*Phoxinus phoxinus* L.). *J. Comp. Neurol.* 256 : 494—515.
- Farrell W. J., Bottger B., Ahmadi F., Finger T. E. 2002. Distribution of cholecystokinin, calcitonin gene-related peptide, neuropeptide Y, and galanin in the primary gustatory nuclei of the goldfish. *J. Comp. Neurol.* 450 : 103—114.
- Finger T. E., Kanwal J. S. 1992. Ascending general visceral pathways within the brainstem of two teleost fishes: *Ictalurus punctatus* and *Carassius auratus*. *J. Comp. Neurol.* 320 : 509—520.
- Funakoshi K., Atobe Y., Nakano M., Hisajima T., Goris R. C., Kishida R. 2002. Monoaminergic and peptidergic axonal projections to the vagal motor cell column of a teleost, the filefish *Stephanolepis cirrhifer*. *J. Comp. Neurol.* 447 : 351—365.
- Funakoshi K., Katoda T., Atobe Y., Nakano M., Goris R. S., Kishida R. 1999. Nitric oxide synthase in the glossopharyngeal and vagal afferent pathway of a teleost, *Takifugu niphobles*. *Cell Tissue Res.* 298 : 45—54.
- Gibbins I. L., Olsson C., Holmgren S. 1995. Distribution of neurons reactive for the NADPH-diaphorase in the branchial nerves of a teleost fish, *Gadus morpha*. *Neurosci. Lett.* 193 : 113—116.
- Holmqvist B. I., Ostholt T., Alm P., Ekström P. 1994. Nitric oxide in the brain of teleost. *Neurosci. Lett.* 171 : 205—208.
- Hope B. T., Vincent S. R. 1989. Histochemical characterization of neuronal NADPH-diaphorase. *J. Histochem. Cytochem.* 37 : 653—661.
- Johnston S., Maler L., Tinner B. 1990. The distribution of serotonin in the brain of *Apterodon leptorhynchus*: an immunohistochemical study. *J. Chem. Neuroanat.* 3 : 429—465.
- Kanwal J. S., Caprio J. 1987. Central projections of the glossopharyngeal and vagal nerves in the channel catfish, *Ictalurus punctatus*: clues to differential processing of visceral inputs. *J. Comp. Neurol.* 264 : 216—230.
- Kapsimali M., Dumond H., Le Crom S., Coudouel S., Vincent J. D., Vernier P. 2000. Evolution and development of dopaminergic neurotransmitter systems in vertebrates. *J. Soc. Biol.* 194 : 87—93.
- Kiss J. P., Vizi E. S. 2001. Nitric oxide: a novel link between synaptic and nonsynaptic transmission. 24 : 211—225.
- Li Z. S., Furness J. B. 1993. Nitric oxide synthase in the enteric nervous system of the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Arch. Histol. Cytol.* 56 : 185—193.
- Ma P. M. 1997. Catecholaminergic systems in the zebrafish. IV. Organization and projection pattern of medullary dopaminergic and noradrenergic neurons. *J. Comp. Neurol.* 381 : 411—427.
- Ma P. M. 2003. Catecholaminergic systems in the zebrafish. IV. Organization and projection pattern of dopaminergic neurons in the diencephalon. *J. Comp. Neurol.* 460 : 13—37.
- Medina M., Reperant J., Dufour S., Ward R., Belle N. L., Micali D. 1994. The distribution of the GABA-immunoreactive neurons in the brain of the silver eel (*Anguilla anguilla* L.). *Anat. Embryol.* 189 : 25—39.
- Molist P., Maslam S., Velzing E., Roberts B. L. 1993. The organization of cholinergic neurons in the brainstem nuclei of the eel, *Anguilla anguilla*, as determined by choline acetyltransferase immunohistochemistry and acetylcholinesterase histochemistry. *Cell Tissue Res.* 271 : 555—566.
- Nieuwenhuys R. 1982. An overview of organization of the brain in actinopterigial fishes. *Amer. Zool.* 22 : 289—310.
- Nilsson S. 1984. Innervation and pharmacology of the gills. In: Hoar W. S., Randall D. J. (eds). *Fish physiology*. V. XA. Orlando: Acad. Press. 185—229.
- Ohkuma S., Katsura M. 2001. Nitric oxide and peroxynitrite as factors to stimulate neurotransmitter release in the CNS. *Progr. Neurobiol.* 64 : 97—108.
- Olson K. R. 1998. The cardiovascular system. In: *The physiology of fishes*. Boca Raton: CRC. 129—154.
- Ostholt T., Holmqvist B. I., Alm P., Ekström P. 1994. Nitric oxide synthase in the CNS of the Atlantic salmon. *Neurosci. Lett.* 168 : 233—237.
- Perez S., Yanez J., Marin O., Anadon R., Gonzalez A., Rodriguez-Moldes I. 2000. Distribution of choline acetyltransferase (ChAT) immunoreactivity in the brain of the adult trout and tract-tracing observations on the connections of the nuclei of the isthmus. *J. Comp. Neurol.* 428 : 450—474.
- Roberts B. L., Maslam S., Los I., Van der Jagt A. 1994. Coexistence of calcitonin gene-related peptide and choline acetyltransferase in eel efferent neurons. *Hear. Res.* 74 : 231—237.
- Sharp A. A., Finger T. E. 2002. GABA-ergic modulation of primary gustatory afferent synaptic efficacy. *J. Neurobiol.* 52 : 133—143.
- Smeraski C. A., Dunwiddie T. V., Diao L., Finger T. 1999. NMDA and non-NMDA receptors mediate responses in the primary gustatory nucleus in goldfish. *Chem. Senses.* 24 : 37—46.
- Villani L. 1999. Ontogenesis of NADPH-diaphorase in the central nervous system of the cichlid fish *Tilapia mariae*. *Brain Behav. Evol.* 54 : 147—158.
- Villani L., Guarnieri T. 1995. Localization of the NADPH-diaphorase in the goldfish brain. *Brain Res.* 679 : 261—266.

Поступила 11 2004

NITRIC OXIDE-ERGIC ORGANIZATION OF MEDULLAR CRANIAL NUCLEI IN TELEOST FISHES

E. V. Puschina

Institute of Marine Biology, Far East Branch of RAS, Vladivostok

Traditional neuromorphological and NADPH-diaphorase methods were used to study and compare the topography and localization of medullar nuclei NO-ergic neurons in four teleost species: *Pholis nebelensis*, *Hexagrammus octogrammus*, *Carassius carassius* and *Pholidapus dybowskii*. The peculiarity of medullar nuclei organization in teleost fishes consists in the weak topological disconnection of sensor and motor components with pronounced heteromorphism in their structure and the presence of subpopulations in their composition. In the fishes studied, NADPH-diaphorase was found in the trygeminial, octavo-lateral, facial, glossopharyngeal and vagal nuclei. The number of NO-ergic neurons in the trygeminial nucleus was marginal and made up 9—14 % of the total cell number. About 40—60 % of NO-ergic cells were found in the octavo-lateral, facial, glossopharyngeal and vagal nuclei.

Key words: teleosts fishes, NADPH-diaphorase, medullar nuclei.