

**РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ХОЛИНАЦЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ В ЯДРАХ ПЕРЕШЕЙКА И ПРОДОЛГОВАТОГО МОЗГА У КОСТИСТОЙ РЫБЫ *ONCHORYNCHUS MASU*. ИССЛЕДОВАНИЕ ВОСХОДЯЩЕЙ МЕЗОПОНТИННОЙ ХОЛИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ С ПОМОЩЬЮ КАРБОЦИАНИНОВОГО КРАСИТЕЛЯ**

© *Е. В. Пущина, А. А. Карпенко*

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

С помощью гистохимической идентификации холинацетилтрансферазы (ХАТ) в стволе мозга, ядрах черепно-мозговых нервов и спинном мозге симы *Onchorynchus masu* исследовано распределение холинергических нейронов. Холинергические нейроны были выявлены в ядрах перешейка, моторных ядрах черепно-мозговых нервов и вентральной колонне мотонейронов спинного мозга. Для исследования проекций холинергических ядер перешеечной области был использован карбоцианиновый краситель DiI. Показано, что нейроны вторичного вкусового ядра симы проецируются преимущественно в латеральные гипоталамические доли, а нейроны перешеечного ядра — в крышу среднего мозга и мелкоклеточную часть претектального ядра. Холинергические ядра перешеечного комплекса, возможно, являются функциональными гомологами мезопонтинных ядер млекопитающих. По сравнению с другими группами позвоночных животных организация холинергических, краниальных ядер продолговатого мозга и перешейка симы сходна с таковой амфибий.

Ключевые слова: холинергическая система, ретроградное маркирование, гистохимия, перешеечный комплекс, костистые рыбы.

Принятые сокращения: АХ — ацетилхолин, АХЭ — ацетилхолинэстераза, ДФФ — диизопропилфторфосфат, ХАТ — холинацетилтрансфераза.

Ацетилхолин (АХ) является классическим нейромедиатором, широко распространенных в эфферентных системах ЦНС, а также в некоторых специализированных внутримозговых системах (Woolf, 1991). АХ синтезируется в цитоплазме клетки из холина и ацетилкоэнзима А с помощью фермента холинацетилтрансферазы (ХАТ) и разрушается ферментом ацетилхолинэстеразой (АХЭ) в синаптических окончаниях. Холинергические системы ЦНС позвоночных вызывают большой исследовательский интерес, поскольку вовлечены в такие процессы, как обучение и память (Deutsch, 1971; Nagan, Moris, 1988), регуляция мозговой гемодинамики (Мотавкин, Черток, 1980) и сон (Perry et al., 1999). С 1980-х годов биохимический анализ количественного содержания АХ и ХАТ и гистохимическое определение активности АХЭ были основными методами идентификации предполагаемых холинергических нейронов. Гистохимическими методами определения АХЭ (Karnovsky, Roots, 1964) в ЦНС позвоночных было выявлено множество холинергических волокон и тел нейронов (Jacobson, Palkovits, 1974). Однако в работах Леви с соавторами (Levey et al., 1983) было продемонстрировано, что АХЭ не является надежным маркером холинергических нейронов, а выявляет лишь области их деградации в клетках и волокнах и при этом встречается в других клетках организма как неспецифический продукт метаболизма. ХАТ является ферментом синтеза АХ и характерен исключительно для

холинергических нейронов. Распределение холинергических систем у млекопитающих было детально охарактеризовано с помощью гисто- и иммуноцитохимического маркирования ХАТ (Armstrong et al., 1983; Vincent, Reiner, 1987). Исследования холинергических систем мозга были проведены и на других группах позвоночных: птицах (Medina, Reiner, 1994), рептилиях (Hoogland, Vermeulen-Van der Zee, 1990) и амфибиях (Desan et al., 1987; Marín et al., 1997). У большинства исследованных позвоночных животных холинергические клетки и волокна были выявлены в области базального теленцефалона (в стриатуме), уздечки, перешейка среднемозговой покрышки и в краниальных ядрах черепно-мозговых нервов.

Лучеперые рыбы являются крупнейшей и наиболее вариабельной группой позвоночных животных (Lauder, Leim, 1983). В мировой литературе имеется несколько работ, посвященных исследованию холинергических систем головного мозга костистых рыб: голяна *Phoxinus phoxinus* (Extröm, 1987), сомика *Porichthys notatus* (Brantley, Bass, 1988), угря *Anguilla anguilla* (Molist et al., 1993) и данио *Danio rerio* (Clemente et al., 2004). Наряду с этим существуют специальные сообщения о холинергической нейропередаче в пинеальной железе (эпифизе) и сетчатке (Extröm, Korf, 1986), системе спинореткулярных Маттнеровских нейронов (Rhodes et al., 1986), крыше среднего мозга (Zotolli, 1986, 1988), эфферентных нейронах

боковой линии (Danielson et al., 1988) и кортикальном ядре среднего мозга (Wullmann, Roth, 1992). Семейство лососевых относится к кладистически замкнутой группе (тупиковой ветви) высших костистых рыб (эутелеостей), что позволяет их причислять к наиболее древней эволюционной ветви лучеперых рыб (кладограмму см.: Lauder, Liem, 1983). Несмотря на это, общая нейрхимическая организация, в частности холинергическая система головного мозга этой группы позвоночных, практически не изучена. Особый интерес к исследованию холинергических систем и их связей в ЦНС лососевых рыб связан с эверсией переднемозгового отдела в процессе онтогенеза у класса костистых рыб (Wullmann, 1997). Следовательно, принципиальное отличие от других позвоночных заключено и в организации проекций восходящей, активирующей переднемозговой отдел холинергической системы.

Целью настоящей работы является исследование распределения холинергических систем и их связей в головном мозге сими *Onchorynchus masu* с помощью гистохимического маркирования ХАТ. Для детальной характеристики восходящей в переднемозговой отдел мезопонтинной холинергической системы с помощью карбоцианинового красителя DiI были исследованы афферентные связи ядер перешеечного комплекса.

В ходе работы ставились следующие задачи: 1) исследовать распределение холинергических нейронов в ядрах перешейка — ретикулярном, вторичном вкусовом и перешеечном; 2) выявить холинергические нейроны в ядрах черепно-мозговых нервов — кохлеарном, блоковом, тройничном, лицевом, языкоглоточном и блуждающем, октаволатеральном; 3) исследовать распределение холинергических нейронов в роstralной части спинного мозга, а также в системе спиноретикулярных нейронов ствола мозга; 4) для характеристики проекций популяций холинергических ядер перешейка проследить их ретроградные связи с помощью карбоцианинового красителя DiI.

### Материал и методика

В работе были использованы 9 особей сими *Onchorynchus masu* в возрасте 2.0—2.5 года, длина тела 30—35 см. Материал был получен в июне 2003 г. на Рязановском рыбопроизводном комбинате и содержался в аквариумах с аэрируемой морской водой при 15—18 °С.

Для гистохимического маркирования ХАТ мозг животных фиксировали в 1%-ном растворе формальдегида, приготовленном на 0.1 М какодилатном буфере с 0.32 М сахарозой, pH 5.0, при 4 °С в течение 2 ч. Промывали материал в какодилатном буфере, pH 5.2, с сахарозой в течение 18 ч с 7-кратной сменой раствора. Изготавливали криостатные фронтальные и сагитальные срезы толщиной 25 мкм. Для исключения неспецифической трансферной активности в инкубационную среду, охлажденную до 4 °С (pH 6.0), добавляли 2 ммоль диизопропилфторфосфата (ДФФ), 10 % сахарозы, 25 ммоль какодилатного буфера и помещали на ледяную баню (0—4 °С) на 1 ч.

После преинкубации срезы помещали в инкубационную среду, pH 6.0, со следующей конечной концентрацией: 25 ммоль какодилатного буфера, 1 ммоль ДФФ, 4 ммоль холинхлорида, 1 ммоль азотнокислого свинца, 5 % сахарозы, 0.3 ммоль ацетил-КоА. Срезы инкуби-

ровали в термостате при 37 °С в течение 2 ч, промывали в дистиллированной воде, после чего обрабатывали в 5%-ном растворе сульфида аммония. Затем срезы постфиксировали в 5%-ном растворе формальдегида на 0.1 М какодилатном буфере, pH 5.2, с 0.32 М сахарозой в течение 5 мин, после чего обезживали и заключали в бальзам.

Для оценки специфичности реакции проводили контрольные опыты. В первом опыте из инкубационной среды исключали ДФФ. Во втором опыте инкубационная среда не содержала ацетил-КоА или холинхлорид. В третьем опыте в преинкубационную среду, содержащую ДФФ, вводили 10 ммоль хлорацетилхолин-перхлората; период преинкубации срезов в ледяной бане увеличивался до 1.5—2.0 ч.

Для измерения оптической плотности выпадающего в цитоплазме нейронов преципитата микропрепараты 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.

Для исследования проекций перешеечной области использовали ретроградный карбоцианиновый краситель 1,1'-diiododecyl-3,3',3'-tetramethylindocarbocyanine perchlorate (DiI). Мозг 10 животных фиксировали в 4%-ном параформальдегиде в течение 1 сут, затем в область вторичного вкусового ядра, тело мозжечка, крышу среднего мозга, претектального ядра и вентромедиального сегмента покрывки мозга на уровне перешейка вводили кристаллы красителя. Препараты инкубировали в 4%-ном растворе параформальдегида с добавлением 0.01 % ЭДТА при комнатной температуре (Hofmann, Bleskman, 1999). Изготавливали фронтальные, сагитальные и горизонтальные вибраторные срезы толщиной 50 мкм, которые заключали в глицерин. Для визуализации маркера использовали оптическую систему AXIOPLAN-2, Imaging (Gerinang). Микрофотографии препаратов, маркированных DiI, фотографировали на цифровую камеру 3CCD camera Panasonic NV-GS70E (Япония).

### Результаты

Для идентификации ядер перешеечной области и моторных ядер черепно-мозговых нервов была использована номенклатура (Perez et al., 2000). Морфометрические характеристики нейронов исследованных ядер, их процентное содержание и уровень гистохимической активности ХАТ приведены в таблице.

**Перешеек.** В области перешейка мозга нами выявлено несколько групп холинергических клеток (рис. 1). Под медиальным продольным пучком в тегментальной части перешейка мозга расположены интенсивно маркированные ХАТ мотонейроны кохлеарного ядра (рис. 2, б, в; 3, а). Маркированные клетки имеют округлую, овальную либо грушевидную форму (рис. 3, а). В дорсальной части ядра интенсивно маркируются крупные нейроны, в медиальной преобладают клетки среднего и мелкого размеров, умеренно и слабо окрашенные (см. таблицу). В вентральной части ядра выявлены крупные и средние интенсивно маркированные нейроны (рис. 3, а). Пучок волокон, образованный аксонами кохлеарных клеток, огибает просвет мозгового желудочка и

Активность холинацетилтрансферазы (ХАТ) стволовых ядер и спинного мозга симы *Onchorhynchus masu*

Продолжение таблицы

Ядра	Доля холин- ергических нейронов в ядре, <sup>а</sup> %	Уровень активности ХАТ, ЕОП <sup>б</sup>	Размеры нейронов ядра, <sup>б</sup> мкм
Вентральная колонна мотонейронов	45.0	112.5 ± 1.7	57—18 (к) 54—27 (к) 45—16 (к) 36—27 (с) 34—15 (с) 22—14 (с)
Ядро блуждающего (X) нерва	56.2	122.2 ± 2.9	45—24 (к) 34—15 (с) 36—27 (с) 27—18 (с)
Ядро языкоглоточного (IX) нерва	41.0	116.6 ± 6.4	36—24 (к) 30—21 (с) 27—15 (с) 21—18 (с)
Эфферентные октаволатеральные нейроны	100.0	105.6 ± 3.3	57—18 (к) 45—16 (к) 33—13 (к)
Ядро лицевого (VII) нерва	39.5	114.8 ± 4.2 (к) 84.1 ± 5.4 (с)	54—26 (к) 45—14 (к) 36—13 (с) 27—9 (с) 21—18 (с)
Ядро отводящего (VI) нерва	88.8	114.5 ± 6.7 (к,с,м)	52—23 (к) 43—22 (к) 36—19 (с) 27—9 (с) 18—8 (м) 15—6 (м)
Ядро тройничного (V) нерва	26.2	117.0 ± 4.5 (к,с) 96 ± 16 (с,м)	54—27 (к) 46—24 (к) 36—30 (с) 30—18 (с) 22—15 (м)
Ретикулоспинальные нейроны	100.0	109.2 ± 7.3	57—18 54—27 45—16
Дорсальные ядра покрышки	42.0	103.2 ± 1.8 (к,с) 89.0 ± 4.7 (с)	45—27 (к) 36—30 (с) 27—18 (с)
Ретикулярное ядро	100.0	121.0 ± 5.6	57—18 (к) 42—28 (к) 38—24 (с) 22—18 (с)
Вторичное вкусовое ядро	68.0	111.5 ± 8.4	54—27 (к) 42—24 (к) 48—18 (к) 36—30 (с)

Ядра	Доля холин- ергических нейронов в ядре, <sup>а</sup> %	Уровень активности ХАТ, ЕОП <sup>б</sup>	Размеры нейронов ядра, <sup>б</sup> мкм
Ядро перешейка	73.0	121.5 ± 5.6 (к) 93.6 ± 7.8 (с)	54—27 (к) 48—26 (к) 28—19 (к) 24—18 (с)
Ядро кохлеарного нерва	80.3	123.3 ± 2.4 (к) 91.4 ± 3.1 (с,м) 72.6 ± 6.7 (с,м)	52—27 (к) 40—24 (к) 27—19 (с) 21—18 (с) 18—13 (м)

<sup>а</sup> Доля холинергических нейронов приведена от общего числа клеток в ядрах, окрашенных по Нисслю; для каждого ядра было отсканировано от 150 до 200 клеток. В исследованных эфферентных октаволатеральных ядрах, ретикулоспинальных клетках и ретикулярном ядре все исследованные нейроны имели положительную реакцию на ХАТ. <sup>б</sup> к — крупные нейроны, с — средние, м — мелкие. ЕОП — единица оптической плотности.

X-образно восходит к вентральной части мозжечковой заслонки, проходя на противоположную сторону тегмента перешейка до зрительного тектума.

Наиболее крупные группы холинергических клеток расположены в области перешейка, кохлеарного ядра, вентролатеральное ядер мозжечковой заслонки. Ядро перешейка имеет каплеобразную форму и включает в себя холинергические нейроны и волокна (рис. 2, в; 3, б). Клетки организованы в виде двух параллельно расположенных групп (рис. 3, б), их отростки формируют нейропиль, расположенный у поверхности ядра. В латеральной части ядра были выявлены крупные мультиполярные интенсивно маркированные клетки, а в медиальной расположены нейроны среднего размера грушевидной и овальной форм с умеренным уровнем гистохимической активности ХАТ (рис. 3, б; см. таблицу). Часть холинергических волокон перешеечного ядра направлена в претектальную область, другие волокна следуют к переднему гипоталамусу.

Дорсальное и латеральное ядра перешейка, а также вентральное полулунного торауса расположена лентовидная группа холинергических клеток среднего размера, рострально распространяющихся над глазодвигательным ядром (рис. 2, а). Холинергические клетки располо-



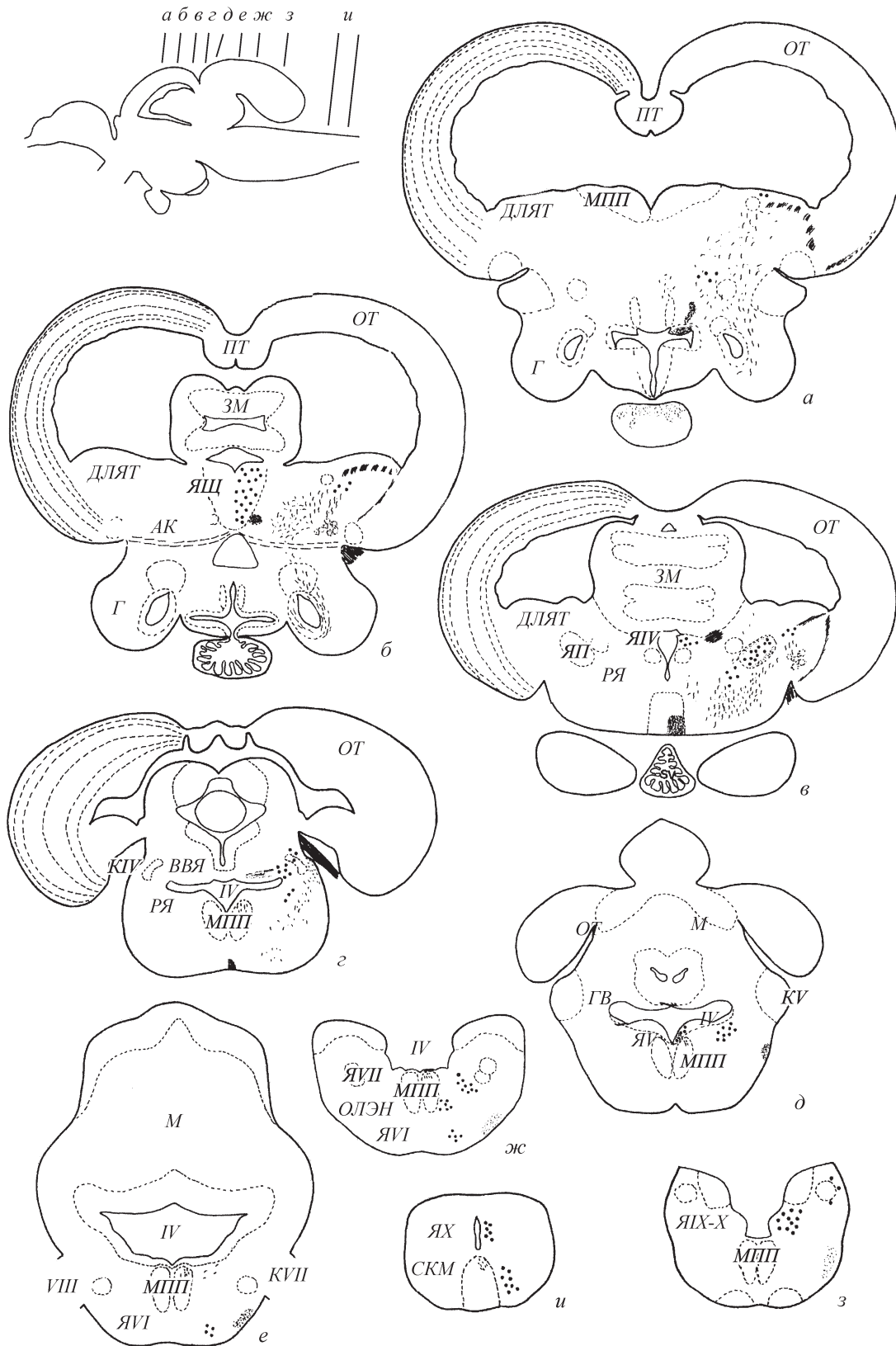


Рис. 2. Схематические зарисовки поперечных проекций мозга симы *Onchorhynchus masu* на уровне расположения тел холинергических нейронов (черные кружки) и волокон (штриховка).

Пиктограмма (вверху слева) обозначает уровни срезов мозга. АК — передняя комиссура, КIV — корешок блокового нерва, КV — корешок тройничного нерва, КVII — корешок лицевого нерва, МПП — медиальный продольный пучок, ПТ — продольный торус. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

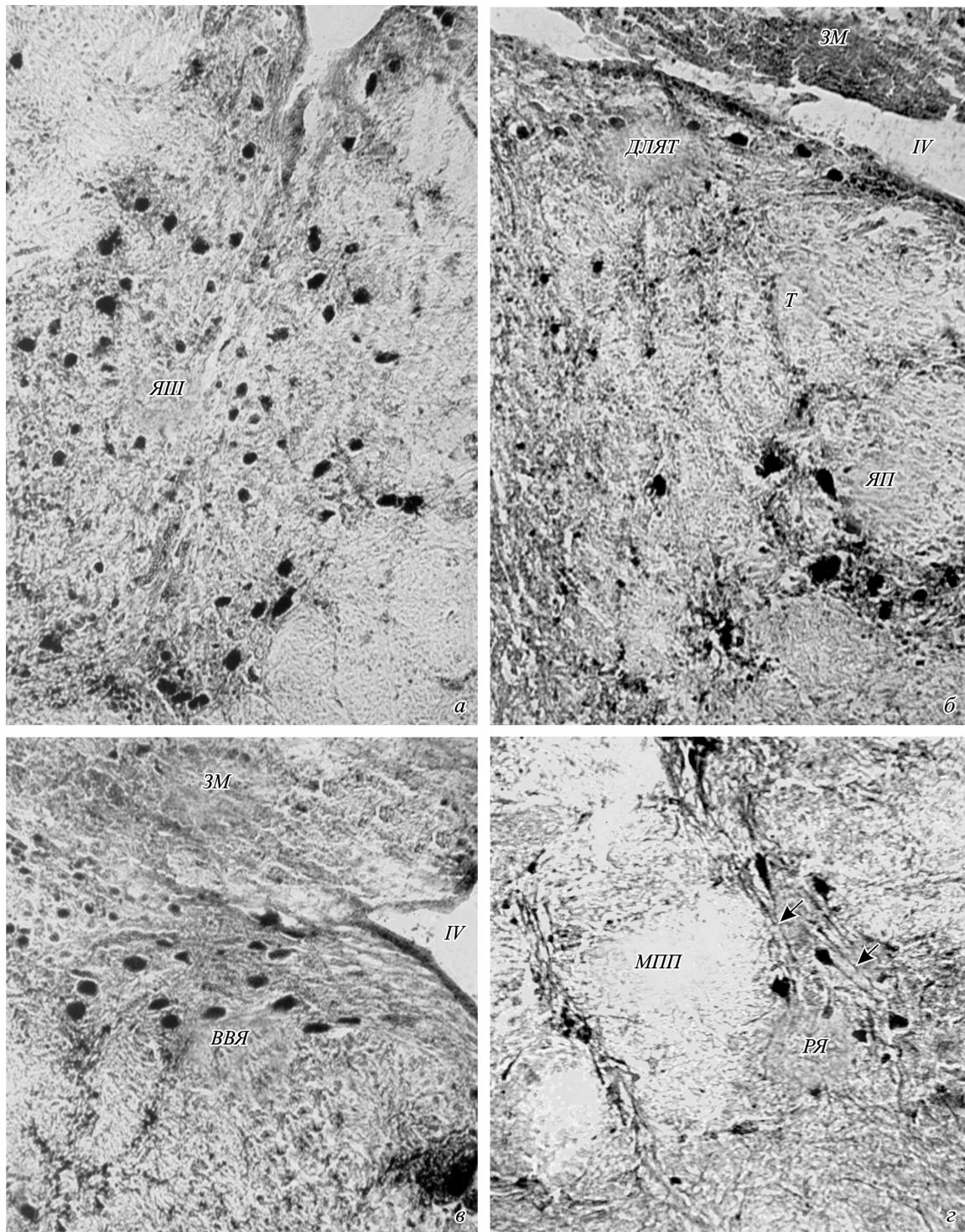


Рис. 3. Микрофотографии холинергических ядер перешеечного комплекса.

*а* — холинергические нейроны ядра глазодвигательного (кохлеарного) нерва (ЯШ). *б* — холинергические нейроны ядра перешейки (ЯП), дорсалатеральные холинергические нейроны тегмента (ДЛЯТ), Т — тегментум, ЗМ — заслонка мозжечка, IV — желудочек. *в* — холинергические нейроны вторичного вкусового ядра (ВВЯ), мелкие холинергические клетки слева от ВВЯ — нейроны ядер латеральной заслонки. *г* — холинергические нейроны ретикулярного ядра (РЯ), МПП — медиальный продольный пучок; стрелками указаны дендриты. Реакция на ацетилхолинтрансферазу. Ок. 10×, об. 12.5×.

ные вентромедиальное моторного ядра лицевого нерва и латеральное медиального продолговатого пучка на уровне языкоглоточного и блуждающего моторных ядер, образованы крупными веретеновидными холинергическими клетками (рис. 1; 4, д; см. таблицу).

Кроме нейронов, относящихся к эфферентным ядрам черепно-мозговых нервов, нами были выявлены крупные холинергические ретикулоспинальные клетки (рис. 4, е; см. таблицу) расположенные на уровне лицевого и блуждающего моторных ядер, дорсалатеральное

медиального продольного пучка. Некоторые из таких клеток расположены среди мотонейронов двигательных ядер, но отличаются более крупными размерами. На разных уровнях продолговатого мозга в составе медиального продольного пучка по направлению к спинному мозгу были обнаружены крупные холинергические аксоны, принадлежащие, вероятно, ретикулоспинальным нейронам.

Ростральная часть спинного мозга. В составе вентральной колонны мотонейронов спинного мозга были выявлены многочисленные холинергические клетки (рис. 1; 2; 4, в). Большинство маркированных ХАТ мотонейронов расположены в дорсальной части вентральной колонны, имеют средний либо крупный размер и высокий уровень активности ХАТ (см. таблицу). Маркируются тела клеток, а также проксимальные области дендритов. Нейроны характеризуются биполярной и мультиполярной морфологией, продукты гистохимической реакции локализованы в околядерной зоне клетки, а также частично в цитоплазме дендритов. Окрашиваются крупные грушевидные или овальные нейроны, имеющие от 1 до 3 дендритов. Популяция мелких нейронов расположена среди крупных клеток. Мелкие клетки могут быть круглыми или удлинёнными, грушевидной или веретеновидной формы, с 1—3 дендритами. В дорсолатеральной зоне спинного мозга реагируют мелкие клетки округлой или грушевидной формы с одиночными слабо окрашенными дендритами.

Исследование проекций перешеечного комплекса с помощью DiI. В настоящей работе внутримозговые связи перешеечной области симы были исследованы с помощью карбоцианинового красителя (DiI) на фиксированных препаратах мозга (Hofmann, Bleckmann, 1999). Кристаллы красителя вводили в различные структуры мозга: вторичное вкусовое ядро, тело мозжечка, крышу среднего мозга, претектальное ядро и вентромедиальный сегмент покрывки мозга на уровне перешейка.

При аппликации DiI в область вторичного вкусового ядра были выявлены интенсивно маркированные волокна и тела клеток перигломерулярной области, расположенные медиальнее диффузного ядра латеральной гипоталамической доли (рис. 5, а). Маркированный участок прегломерулярного комплекса соответствует третичным вкусовым ядрам. Более интенсивное маркирование выявлено со стороны нанесения метки, но часть окрашенных волокон переходит на противоположную сторону. Несколько ретроградно меченных волокон было обнаружено в области дорсомедиальных ядер таламуса и латерального валика (рис. 5, б). Немногочисленные маркированные нейроны найдены во вторичном вкусовом ядре и ядре латерального гипоталамического желудочка (рис. 5, в).

При аппликации DiI в область вторичного вкусового ядра иногда выявлялись мозжечковые проекции, сходные с таковыми при маркировании тела мозжечка. При аппликации метки в тело мозжечка у симы маркируются латеральное ядро заслонки, глазодвигательное ядро, ядро продольного медиального пучка, ретикулярная область таламуса и зона заднего бугорка. Проекций в прегломерулярную область, латеральный торус, диффузные ядра гипоталамуса у симы при нанесении метки в тело мозжечка не найдено. При мечении из мозжечка маркируются ядра претектальной области (рис. 5, г), латеральнее мезэнцефалические ретикулярные ядра, латеральное

ядро заслонки и оливарный комплекс. Крупный претектально-церебеллярный тракт проходит через полулунный торус, при этом его нейроны и тектальная область не маркируются. Ядра перешейка и вторичные вкусовые ядра содержат маркированные нейроны. Полученные нами результаты согласуются с литературными данными (Northcutt, 1981; Wullimann, 1988), за исключением некоторых афферентных и эфферентных проекций ядра перешейка и полулунного торуса.

Нанесение DiI в зону латеральной гипоталамической доли позволило проследить место выхода третичных вкусовых проекций. В главной и медиальной частях вторичного вкусового ядра были выявлены ретроградно меченные нейроны (рис. 5, д). Мечеными оказались клетки грушевидной формы с разветвленными отростками, формирующими нейропил и волокна со стороны аппликации красителя, но часть волокон присутствовала и на противоположной стороне. Окрашивались нейроны передней ретикулярной формации, а также некоторые комиссуральные волокна, следующие между вторичными вкусовыми ядрами с обеих сторон по базальной части тела мозжечка. При аппликации DiI в перешеечную область интенсивно маркировались нейроны переднего (гломерулярного) таламического ядра (рис. 5, а), заднего претектального ядра (рис. 5, в) и претектального ядра ростолатеральнее среднемозгового желудочка. При введении DiI в крышу среднего мозга ретроградно метятся клетки и нейропил ядра перешейка, указывая на то, что эти структуры мозга взаимосвязаны (рис. 5, е). При нанесении метки в ядро перешейка интенсивно маркируются клетки переднего ретикулярного ядра, латеральных мезэнцефалических ядер покрывки, содержащих холинергические клетки, и полулунного торуса. Маркируются тектотомезэнцефалические и тектотубулярные тракты. При данном типе аппликации DiI вторичные вкусовые ядра не выявляются.

При аппликации DiI в вентромедиальный регион перешейка интенсивно маркируются волокна и клетки в тектуме и дорсолатеральной части сегмента (рис. 5, е). Ядро перешейка и вторичное вкусовое ядро при таком типе маркирования DiI не выявляются. При аппликации DiI в мелкоклеточную часть поверхностного претектального ядра маркируются многочисленные клетки перешейка и переднего ретикулярного ядра, а также несколько тектальных нейронов. Вторичное вкусовое ядро не маркировалось.

## Обсуждение

Перешеек. Область перешейка у симы, как и у других исследованных ранее видов — форели (Perez et al., 2000), золотой рыбки (Zottoli et al., 1988), голяна (Extröm, 1987), сомика (Brantley, Bass, 1988) и угря (Molist et al., 1993), — наряду с холинергическими мотонейронами кохлеарного ядра содержит несколько популяций интернейронов, интенсивно маркирующихся ХАТ. Результаты, полученные нами с помощью гистохимического маркирования на симе, подтверждаются данными иммуногистохимических исследований других авторов на разных видах рыб (Extröm, 1987; Molist et al., 1993; Perez et al., 2000; Rodríguez-Moldes et al., 2002; Clemente et al., 2004), что указывает на высокое сходство механизмов холинергической нейротрансмиссии в перешеечном регионе мозга костистых рыб. Наиболее крупные группы

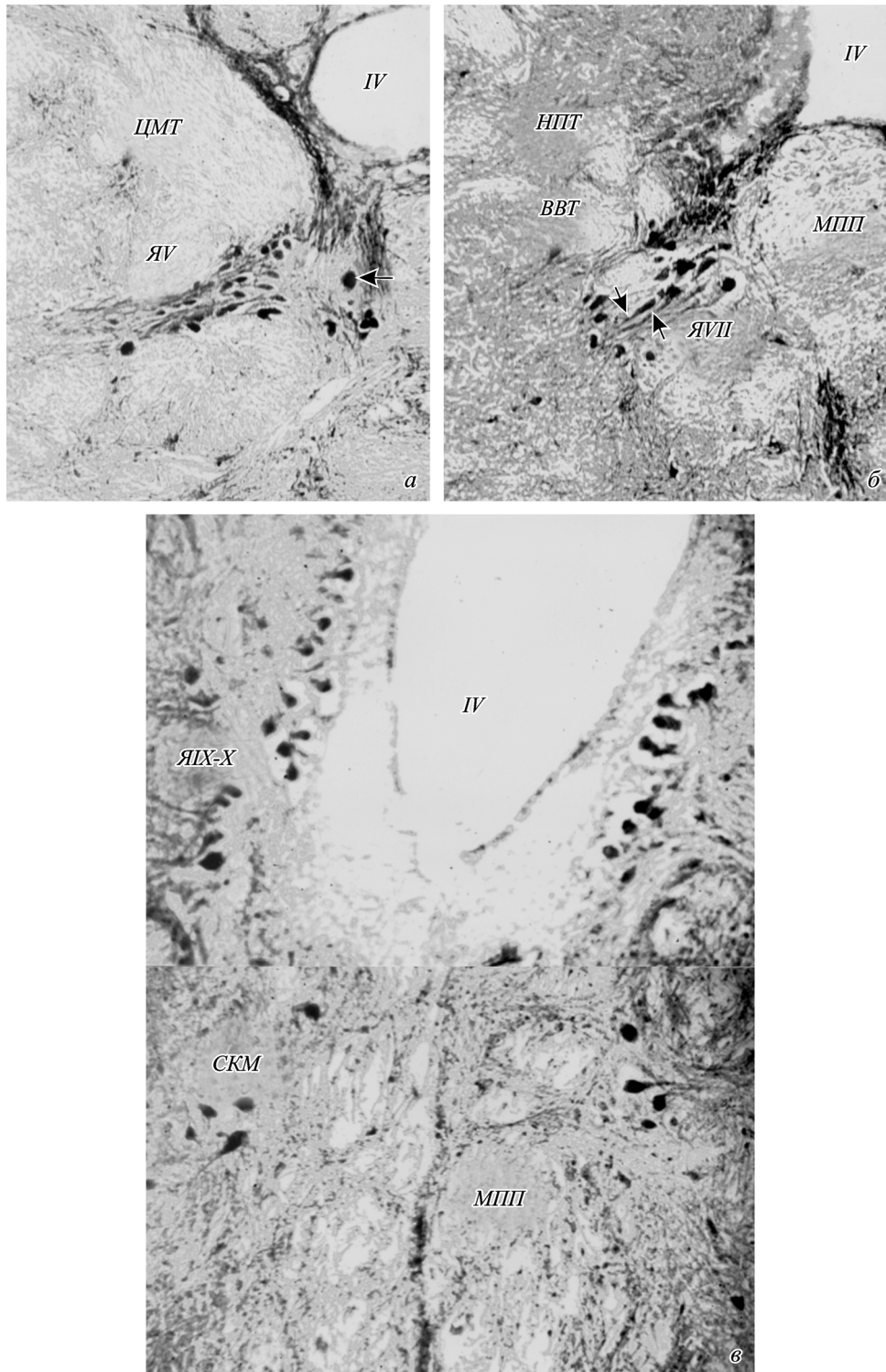


Рис. 4. Микрофотографии холинергических ядер продолговатого и спинного мозга симы *Onchorynchus masu*.

*a* — ядро тройничного нерва разделено на две части — росто́родорсальную и каудальную; крупные холинергические клетки расположены в росто́родорсальной части (стрелка), интенсивно маркированные ХАТ нейроны локализованы в каудальной части ядра, дендриты маркированных нейронов ориентированы латерально; ЦМТ — церебелломоторный тракт, IV — желудочек. *б* — ядро лицевого нерва; стрелками указаны дендриты мотонейронов, МПП — медиальный продольный пучок, IV — желудочек, ВВТ — вторичный вкусовой тракт, НПТ — нисходящий путь тройничного нерва. *в* — дорсально расположенные мотонейроны IX–X нервов (вверху), IV — желудочек, вентрально расположенные спинномозговые мотонейроны (внизу), МПП — медиальный продольный пучок. *г* — ядро отводящего нерва расположено в вентральной части продолговатого мозга; справа от МПП — промежуточное подъядро (nVI), слева от МПП — росто́ральное подъядро (pVI). *д* — октаволатеральные эфферентные нейроны (ОЛЭН), расположенные вентромедиальнее моторного ядра лицевого нерва и латеральнее медиального продольного пучка на уровне языкоглоточного и блуждающего моторных ядер. *е* — холинергические ретикулоспинальные клетки (РСК), расположенные на уровне лицевого и блуждающего моторных ядер; некоторые из таких клеток расположены среди мотонейронов двигательных ядер, но отличаются более крупными размерами. Реакция на ацетилхолинтрансферазу. Об. 12.5×, ок. 10×.



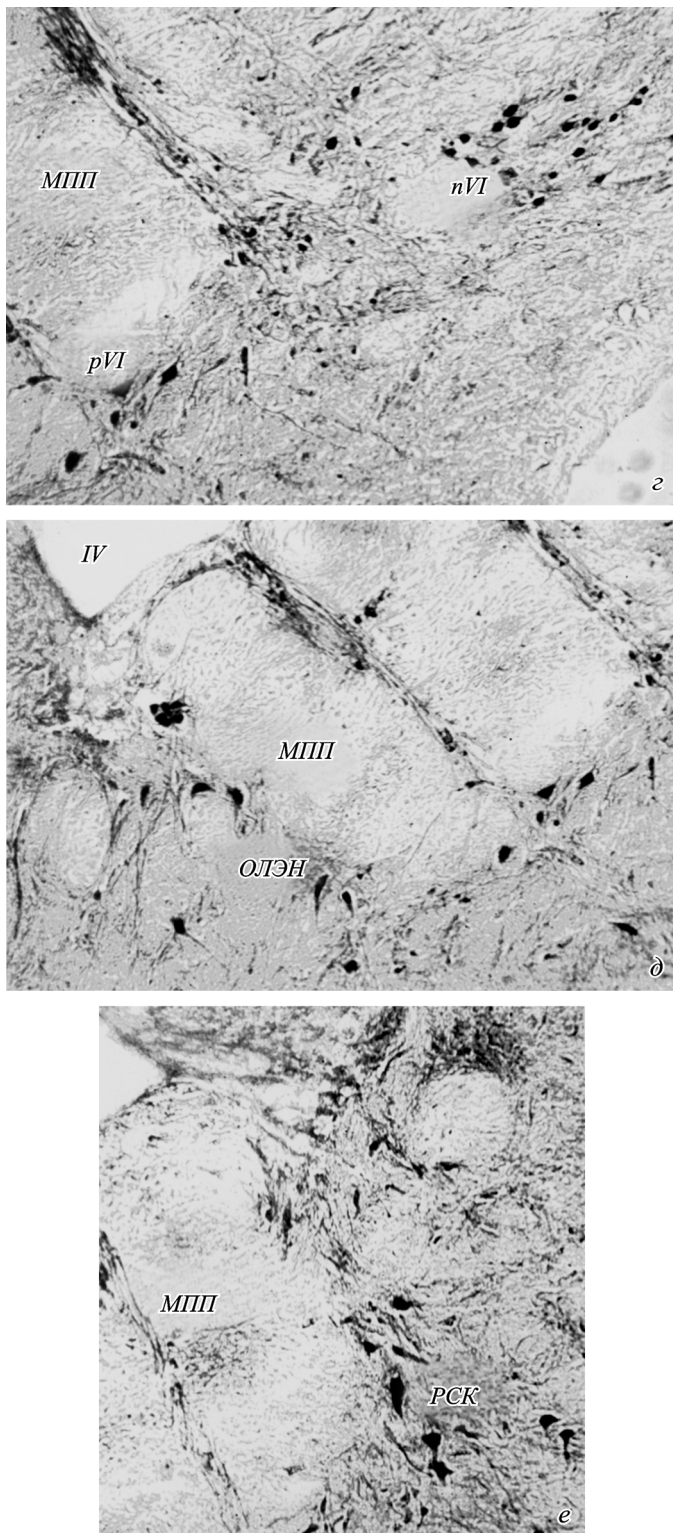


Рис. 4 (продолжение).

холинергических интернейронов перешеечной области расположены в гомонимной области, описанной у радужной форели *Salmo gairdneri* (Nieuwenhuys, Pouwels, 1983). Размеры этого ядра, впервые описанные еще Капперсом (Kappers et al., 1936), значительно варьируют у разных видов рыб. У симы, как и у форели (Perez et al., 2000) и угря (Molist et al., 1993), ядро перешейка крупное

и содержит клетки, интенсивно маркируемые ХАТ, тогда как у карася (Zottoli et al., 1988), данио (Clemente et al., 2004) и сомика (Brantley, Bass, 1988) ядро небольших размеров, с преимущественно мелкими холинергическими клетками. Применение нейрональных трейсеров на различных видах рыб (Grover, Sharma, 1981; Zottoli et al., 1988; Perez et al., 2000) и результаты настоящего исследования показали, что истмотектальные проекции являются реципрокными. У костистых рыб и других позвоночных (кроме млекопитающих) ядро перешейка, как и его проекции в оптический тектум, являются холинергическими (Desan et al., 1987; Medina et al., 1993; Medina, Reiner, 1994; Marín, González, 1999; Perez et al., 2000).

Ядро перешейка костистых рыб принято считать функциональным гомологом парагигеминального ядра млекопитающих (Sakamoto et al., 1981; Vanegas, Ito, 1983), которое также содержит холинергические клетки группы Ch8 (Mufson et al., 1986; Ichikawa et al., 1997), проецирующиеся в переднюю пару четверохолмия — гомолог оптического тектума (Mufson et al., 1986). Следовательно, наличие в ядре перешейка проецирующихся в тектум холинергических нейронов становится филогенетической тенденцией, сохраняющейся на всем протяжении эволюционного развития мозга позвоночных.

У симы в латеральной части перешеечной области были выявлены холинергические нейроны (дорсолатеральные ядра тегментума), каудально распространяющиеся вплоть до глазодвигательного ядра. По топографическим критериям дорсолатеральные ядра тегментума симы, как и у близкородственного вида форели (Perez et al., 2000), соответствуют дорсолатеральным тегментальным ядрам, описанным для золотой рыбки (Grover, Sharma, 1981) и nucleus profundus mesencephali у карпа (Luiten, 1981). Сходные морфотопографические особенности ножко-мостового ядра амфибий (Marín et al., 1997) и дорсолатеральных ядер тегментума форели и рассматриваемой в настоящей работе симы указывают на возможную гомологию данных функциональных комплексов. У других видов костистых рыб подобные холинергические ядра в области перешейка не описаны.

У симы были найдены крупные нейроны с высокой активностью ХАТ в переднем ретикулярном ядре. Полученные нами результаты согласуются с данными иммуноцитохимических исследований на других видах рыб (Extröm, 1987; Zottoli et al., 1988; Molist et al., 1993; Perez et al., 2000). Инъекция пероксидазы хрена в переднее ретикулярное ядро угря (Molist et al., 1993) позволили установить его проекции в таламус, претектальный регион (мелкоклеточное поверхностное претектальное ядро) и конечный мозг. У сомика (Extröm, 1987), золотой рыбки (Zottoli et al., 1988) и данио (Clemente et al., 2004) также были описаны холинергические волокна, проецирующиеся в тектум, претектальное ядро и контралатеральную часть преоптической области (вероятно, перекрещивающиеся в постоптической комиссуре). У форели холинергические волокна переднего ретикулярного ядра входят в постоптическую комиссуру и распространяются в тектум и латеральную долю гипоталамуса (Perez et al., 2000). Предполагается (Molist et al., 1993), что переднее ретикулярное ядро соответствует ножко-мостовому ядру млекопитающих, ограниченному голубоватым местом *locus ciruleus* (Manso et al., 1993), однако, по нашему мнению, у симы, как и у форели (Perez et al., 2000), переднее ретикулярное ядро в большей степени соответствует латеродорсальному тегментальному ядру

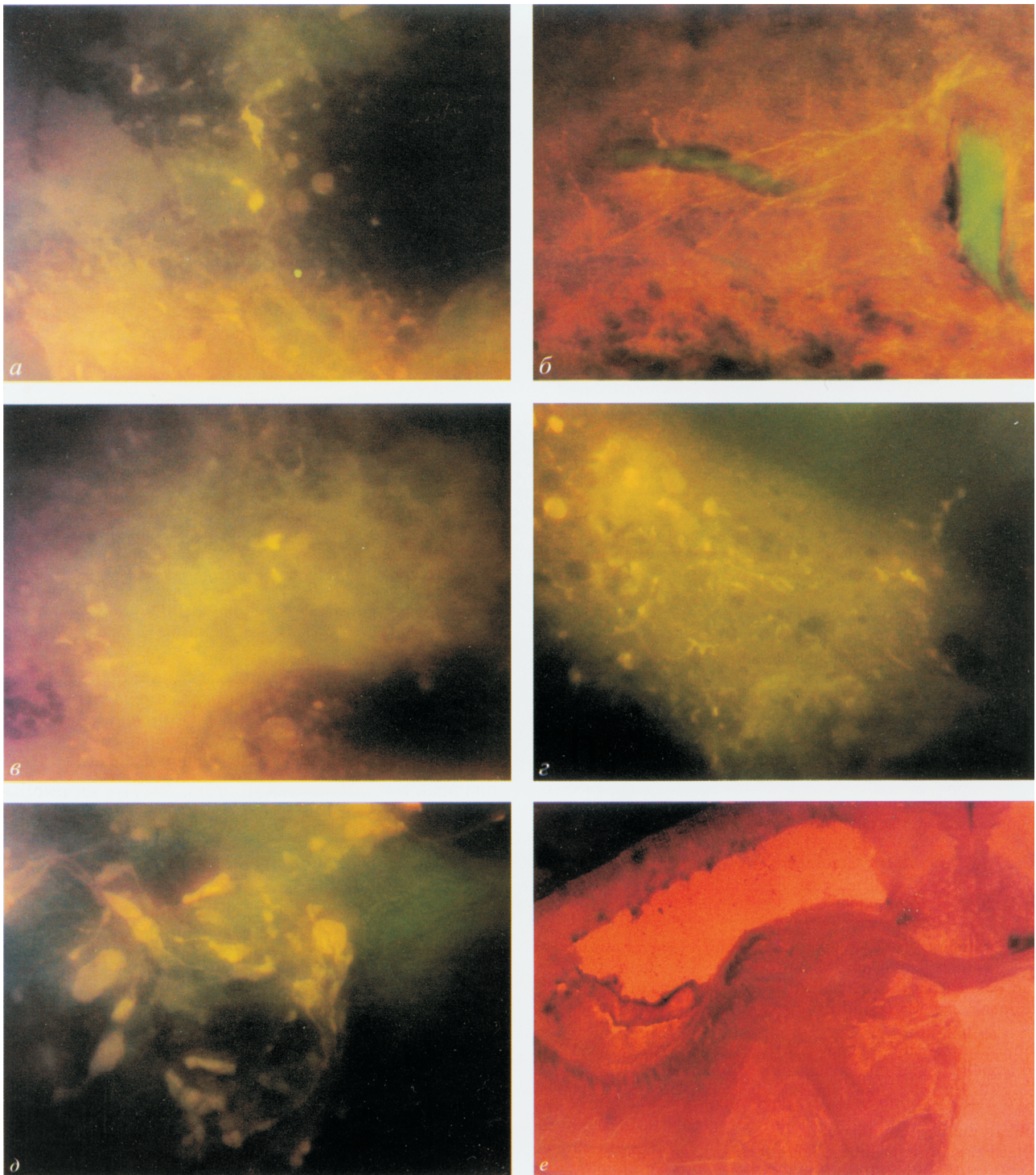


Рис. 5. Флуоресцентные микрофотографии поперечных проекций мозга после аппликации DiI в область вторичного вкусового ядра, мозжечка, гипоталамуса и перешейка.

*a* — маркированы волокна и тела грушевидных и удлинённых клеток (обозначены *стрелками*) перигломерулярной области; маркированный участок прегломерулярного комплекса соответствует третичным вкусовым ядрам; более интенсивное маркирование выявлено со стороны нанесения метки, но часть окрашенных волокон переходит на противоположную сторону. *б* — ретроградно меченные волокна (обозначены *стрелками*) в области дорсомедиальных ядер таламуса и латерального валика; *в* — немногочисленные маркированные нейроны (обозначены *стрелками*) ядра латерального гипоталамического желудочка; поперечные проекции мозга после аппликации DiI в мозжечок. *г* — маркированные нейроны претектальной области; поперечные проекции мозга после аппликации DiI в гипоталамическую долю. *д* — маркированные DiI нейроны вторичного вкусового ядра; в главном и медиальном отделах вторичного вкусового ядра выявлены ретроградно меченные нейроны (обозначены *стрелками*); большинство меченых клеток имеют грушевидную форму и разветвленные отростки, формирующие нейропил и волокна со стороны аппликации красителя; поперечные проекции мозга после аппликации DiI в область перешейка. *е* — маркированные DiI волокна тектума (*OT*) и тегментума (*T*). Увел.: *a–д* — об. 10×, ок. 10×; *е* — об. 4×, ок. 10×.

амфибий (Marín et al., 1997; Marín, González, 1999). Таким образом, наши исследования на симе свидетельствуют о наличии мезопонтинного (ножко-мостового латеродорсально-теgmentального) холинергического комплекса, сходного с известным для наземных позвоночных.

В перешеечной области у симы было идентифицировано так называемое вторичное вкусовое ядро, нейроны которого характеризуются значительным уровнем холинергической активности. Полученные нами результаты согласуются с данными иммуноцитохимического маркирования ХАТ у других видов рыб: форели (Perez et al., 2000), карася (Zottoli et al., 1988) и угря (Molist et al., 1993). Однако у сомика (Nieuwenhuys, Pouwels, 1983; Extröm, 1987) сходная группа холинергических нейронов была описана как ядро «а», проецирующееся в мозжечок. У форели не найдено проекций вторичного вкусового ядра в мозжечок (Perez et al., 2000). В ходе наших исследований подобных проекций также не обнаружено. У кошачьего сома и карася (Finger, Kanwal, 1992) вторичное вкусовое и вторичное висцеральное ядра топографически разделены, так как вторичное висцеральное ядро получает проекции из главного висцеросенсорного региона продолговатого мозга, а не из вкусового центра. Топография вторичного вкусового ядра карася (Zottoli et al., 1988) сходна с описанной для вторичного висцерального ядра (Finger, Kanwal, 1992), являясь доказательством того, что это и есть главный висцеральный регион, содержащий холинергические нейроны. Ростральная граница вторичного вкусового ядра у симы непосредственно переходит в каудальную часть латерального ядра заслонки, и мы не исключаем возможности того, что некоторые холинергические клетки, обнаруженные на этом уровне, принадлежат латеральному ядру заслонки, а не вторичному вкусовому ядру. У Гольяна (Extröm, 1987) и угря (Molist et al., 1993) в латеральных ядрах заслонки обнаружены холинергические нейроны. У симы проекции перешейка в латеральную долю гипоталамуса, обнаруженные с помощью карбоцианинового маркирования, выходят именно из вторичного вкусового ядра. У гольяна (Extröm, 1987), угря (Molist et al., 1993) и данио (Clemente et al., 2004) латеральные гипоталамические доли также иннервируются холинергическими волокнами. Методом антероградного транспорта пероксидазы хрена показано, что у карася (Morita et al., 1980) и *Thamnaconus modestus* (Shimisu et al., 1999) диффузные ядра латеральных гипоталамических долей получают проекции от вторичных вкусовых ядер. В холодогических исследованиях на *Lepomis cyanellus* показано, что вторичные вкусовые ядра проецируются в прегломерулярное третичное вкусовое ядро, ядро полулунного торауса и перивентрикулярное ядро латеральных гипоталамических долей (Wullmann, 1988).

Наши исследования с помощью карбоцианинового маркирования перешеечной области мозга симы показывают, что большинство волокон от вторичных вкусовых ядер поступает в прегломерулярное третичное вкусовое ядро и в латеральный тораус. Наличие у костистых рыб вторичных вкусовых (висцеральных) холинергических проекций, направленных в гипоталамический регион, и экспериментальные сведения о том, что пищевое поведение может быть вызвано электрической стимуляцией латеральных долей гипоталамуса (Demski, 1973), позволяет предполагать, что холинергические проекции ствола

мозга участвуют в обработке вкусовой (общей висцеральной) информации (Molist et al., 1993).

Во вторичных висцеральных ядрах амфибий не выявлено активности ХАТ. Тем не менее вторичные вкусовые ядра костистых рыб, возможно, являются функциональными аналогами части латеродорсального тегментального—межножко-мостового комплекса амфибий (Marín et al., 1997), птиц (Sorenson, 1989; Medina, Reiner, 1994) и млекопитающих (Tago et al., 1989). У млекопитающих часть этого комплекса получает проекции из ядра одиночного пути, проецирующегося в гипоталамус (Saper, 1995) и участвующего в обработке вкусовой информации (Halsell, Frank, 1992). Паттерны восходящих связей вторичных вкусовых ядер у некоторых костистых рыб сходны с проекциями парабрахияльной области млекопитающих (Yoshimoto et al., 1998).

Продолговатый мозг. Во всех моторных ядрах краниальных нервов и мотонейронах спинного мозга симы, как и у других видов рыб (Extröm, 1987; Brantley, Bass, 1988; Rodriues-Moldes et al., 2002; Clemente et al., 2004), выявлена высокая активность ХАТ. Сходные результаты получены и в других группах позвоночных животных — у хрящевых рыб (Anadon et al., 2000), амфибий (Marín et al., 1997) и млекопитающих (Tago et al., 1989). Организация холинергических соматомоторных и брахиомоторных ядер, а также их местоположение в составе моторной колонны сходны у форели (Perez et al., 2000), гольяна (Extröm, 1987), сомика (Brantley Bass, 1988) и симы. Высокая гистохимическая активность ХАТ выявлена нами в октаволатеральных эфферентных ядрах. Наши данные согласуются с иммуноцитохимическими исследованиями на форели (Perez et al., 2000), у которой также была обнаружена холинергическая активность в октаволатеральных ядрах. У данио в октаволатеральных нейронах выявлена также активность АХЭ (Clemente et al., 2004). Расположение октаволатерального холинергического комплекса в продолговатом мозге симы соответствует опубликованным результатам антероградного мечения пероксидазой хрена заднего нерва боковой линии у форели (Schellart et al., 1992). ХАТ была найдена в октаволатеральных эфферентных волокнах сомика (Brantley, Bass, 1988) и золотой рыбки (Danielson et al., 1988), но не выявлена у гольяна (Extröm, 1987). У амфибий (Marín et al., 1997), рептилий (Medina et al., 1993) и млекопитающих (Tago et al., 1989) холинергические эфферентные нейроны восьмого нерва проецируются в сенсорные органы лабиринта (вестибулярную и кохлеарную части). Холинергическая специализация эфферентных систем мозга является высококонсервативной во всех группах позвоночных.

В составе продолговатого мозга симы были обнаружены крупные холинергические ретикулярные клетки. Подобные нейроны описаны и у других видов рыб (Extröm, 1987; Brantley, Bass, 1988; Perez et al., 2000; Rodriues-Moldes et al., 2002); возможно, они гомологичны холинергическим ретикулоспинальным нейронам миноги (Pombal et al., 1997) и хрящевых рыб (Anadon et al., 2000). У форели в ретикулоспинальных клетках выявлена также холинэстеразная активность (Perez et al., 2000). Вентральная колонна спинного мозга симы содержит высокоактивные холинергические мотонейроны. Активность ХАТ выявлена в мотонейронах спинного мозга у форели (Perez et al., 2000) и сомика (Brantley, Bass, 1988). Кроме того, у сомика (Brantley, Bass, 1988) и данио (Cle-

mente et al., 2004) в узкоспециализированном акустическом моторном ядре (часть спиноокипетального комплекса) присутствуют холинергические мотонейроны. Кроме мотонейронов в вентральной моторной колонне симы найдены мелкие холинергические клетки, возможно соответствующие интерстициальным клеткам вентральных канатиков хрящевых рыб (Anadon et al., 2000).

Таким образом, можно заключить, что паттерны распределения холинергических клеток в перешеечной области, продолговатом мозге и ростральной части спинного мозга симы сходны с описанными для других видов костистых рыб, в особенности представителей эутелестей — форели и сомика. По сравнению с другими группами позвоночных животных организация холинергических систем мозга симы имеет значительное сходство с холинергическими комплексами амфибий, но важные различия заключены в организации холинергических ядер и их проекций в переднемозговой отдел. Холинергические ядра перешейки и эфферентные комплексы продолговатого и спинного мозга являются высококонсервативными структурами мозга рыб.

Работа выполнена при финансовой поддержке Американского фонда содействия и развития (CRDF) и Министерства образования РФ (проект Y2-B-03-05), Российского фонда фундаментальных исследований (проект 03-04-49568) и гранта Президента РФ (проект МК-9001.2006.4).

### Список литературы

- Мотавкин П. А., Черток В. М. 1980. Гистофизиология сосудистых механизмов мозгового кровообращения. М.: Медицина. 200 с.
- Anadon R., Molist P., Rodriues-Moldes I., Lopez J., Quintela I., Cerviño M., Barja P., González A. 2000. Distribution choline acetyltransferase immunoreactivity in the brain an elasmobranch, the lesser spotted dogfish (*Scyliorhinus canicula*). J. Comp. Neurol. 420 : 139—170.
- Armstrong D., Saper C., Levey A., Wainer B., Terry R. 1983. Distribution of cholinergic neurons in rat brain: demonstrated by the immunocytochemical localization of choline acetyltransferase. J. Comp. Neurol. 216 : 53—68.
- Brantley R. K., Bass A. H. 1988. Cholinergic neurons in the brain of a teleost fish (*Porichthys notatus*) located with a monoclonal antibody to choline acetyltransferase. J. Comp. Neurol. 275 : 87—105.
- Clemente D., Porteros Á., Weruaga E., Alonso J. R., Arenzana F. J., Aijón J., Arévalo R. 2004. Cholinergic elements in the zebrafish central nervous system: histochemical and immunohistochemical analysis. J. Comp. Neurol. 474 : 75—107.
- Danielson P., Zottoli S., Corodi G., Rhodes K., Mufson E. 1988. Localization of choline acetyltransferase to somata of posterior lateral line efferents in the goldfish. Brain Res. 448 : 158—161.
- Demski L. S. 1973. Feeding and aggressive behavior evokes by hypothalamic stimulation in a cichlid fish. Comp. Biochem. Physiol. 44A : 685—692.
- Desan P., Gruberg E., Grewell K., Eckenstein F. 1987. Cholinergic innervation of the optic tectum in the frog *Rana pipiens*. Brain Res. 413 : 344—349.
- Deutsch J. 1971. The cholinergic synapse and site memory. Science. 174 : 788—794.
- Extröm P. 1987. Distribution choline acetyltransferase immunoreactivity in the brain of a cyprinid teleost *Phoxinus phoxinus*. J. Comp. Neurol. 256 : 494—515.
- Extröm P., Korf H. 1986. Putative cholinergic elements in the photosensory pineal organ and retina of teleost, *Phoxinus phoxinus* L. (Cuprinidae). Distribution of choline acetyltransferase immunoreactivity, acetyltransferase-positive elements, and pinealofugally projecting neurons. Cell Tissue Res. 246 : 321—329.
- 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.
- Grover B., Sharma S. 1981. Organization of extrinsic tectal connections in goldfish (*Carassius auratus*). J. Comp. Neurol. 196 : 471—488.
- Hagan J., Moris R. 1988. The cholinergic hypothesis of memory: a review of animal experiments: In: Handbook of psychopharmacology. New York: Plenum Press. 20 : 237—323.
- Halsell C. B., Frank M. E. 1992. Organization of taste-evoked activity in the hamster parabrachial nucleus. Brain Res. 572 (1—2) : 286—290.
- Hofmann M., Bleckmann H. 1999. Effect of temperature and calcium on transneuronal diffusion of DiI in fixid brain preparations. J. Neurosci. Methods. 88 : 27—31.
- Hoogland P., Vermeulen-Van der Zee P. 1990. Distribution of choline acetyltransferase immunoreactivity in the telencephalon of the lizard *Gekko gekko*. Brain Behav. Evol. 36 : 378—390.
- Ichikawa T., Ajiki K., Matsuura J., Misawa H. 1997. Localization of two cholinergic markers, choline acetyltransferase and vesicular acetylcholine transporter in the central nervous system of the rat: *in situ* hybridization, histochemistry and immunohistochemistry. J. Chem. Neuroanat. 13 : 23—39.
- Jacobson D., Palkovits M. 1974. Topographic atlas of catecholamine and acetyltransferase-containing neurons in the rat brain. I. Forebrain (telencephalon, diencephalon). J. Comp. Neurol. 157 : 13—28.
- Kappers A., Huber G. C., Grosby E. C. 1936. The comparative anatomy of the nervous system of vertebrates, including man. New York: MacMillan Comp.
- Karnovsky M., Roots L. 1964. A «direct coloring» thiocholine method for cholinesterase. J. Histochem. Cytochem. 12 : 219—221.
- Lauder G., Leim K. 1983. The evolution and interrelationships of the actinopteran fishes. Bull. Mus. Comp. Zool. 150 : 95—197.
- Levey A., Armstrong D., Atwith S., Terry R., Wainer B. 1983. Monoclonal antibodies to choline acetyltransferase: production, specificity, and immunocytochemistry. J. Neurosci. 3 : 1—9.
- Luiten P. G. M. 1981. Afferent and efferent connections of the optic tectum in the carp (*Cyprinus carpio* L.). Brain Res. 220 : 51—65.
- Marín O., González A. 1999. Origin of tectal cholinergic projections in amphibians: a combined study of choline acetyltransferase immunohistochemistry and retrograde transport of dextran amines. Vis. Neurosci. 16 : 271—283.
- Marín O., Smeets W., González A. 1997. Distribution of choline acetyltransferase immunoreactivity in the brain of anuran (*Rana perezi*, *Xenopus laevis*) and urodele (*Pleurodeles waltii*) amphibians. J. Comp. Neurol. 382 : 449—534.
- Medina L., Reiner A. 1994. Distribution of choline acetyltransferase immunoreactivity in the pigeon brain. J. Comp. Neurol. 342 : 497—537.
- Medina L., Smeets W., Hoogland P., Puelles L. 1993. Distribution of choline acetyltransferase immunoreactivity in the brain of the lizard *Gallotia galloti*. J. Comp. Neurol. 331 : 261—285.
- Molist P., Naslam S., Velzing E., Roberts B. 1993. The organization of the cholinergic neurons in the mesencephalon of the eel, *Anguilla anguilla*, as determined by choline acetyltransferase immunohistochemistry and acetyltransferase enzyme histochemistry. Cell Tissue Res. 271 : 555—566.
- Morita Y., Ito H., Masai H. 1980. Central gustatory paths in the crucian carp, *Carassius carassius*. J. Comp. Neurol. 191 : 119—132.
- Mufson E., Martín T., Mash D., Wainer B., Mesulam M. 1986. Cholinergic projections from parabrachial nucleus (Ch8) to the superior colliculus in the mouse: a combined analysis of horseradish peroxidase transport and choline acetyltransferase immunohistochemistry. Brain Res. 370 : 144—148.

- Nieuwenhuys R., Meek J.* 1990. The telencephalon of actinopterygian fishes. *Cerebral Cortex*. New York: Plenum Press. 8A : 31—73.
- Nieuwenhuys R., Pouwels E.* 1983. The brain stem of actinopterygian fishes. *Fish Neurobiology. Brain Stem and Sense Organs*. Ann Arbor: Univ. Michigan Press. 1 : 25—87.
- Northcutt R. G.* 1981. Evolution of the telencephalon in non-mammals. *Annu. Rev. Neurosci.* 4 : 310—350.
- Northcutt R. G., Braford M. R., jr.* 1980. New observations on the organization and evolution of the telencephalon of actinopterygian fishes. In: *Comparative neurology of the Telencephalon*. New York: Plenum Press. 41—98.
- Perez S., Yáñez J., Marín O., Anadon R., González A., Rodriúes-Moldes I.* 2000. Distribution choline acetyltransferase (ChAT) immunoreactivity in the brain of the adult trout and tract-tracing observations on the connections of the nuclei of isthmus. *J. Comp. Neurol.* 428 : 450—474.
- Perry E., Walker M., Grace J., Perry R.* 1999. Acetylcholine in mind: a neurotransmitter correlate of consciousness? *Trends Neurosci.* 22 : 273—280.
- Pombal M., Marín O., Gonzalez A.* 1997. Análisis inmunohistoquímico de los sistemas colinérgicos en el SNC de la lamprea. *Rev. Neurol.* 147 : 1742—1743.
- Rhodes K., Zottoli S., Mufson E.* 1986. Choline acetyltransferase immunohistochemical staining in the goldfish (*Carassius auratus*) brain: evidence that the Mauthner cell does not contain choline acetyltransferase. *Brain Res.* 381 : 215—224.
- Rodriúes-Moldes I., Molist P., Adrio F., Pombal A., Perez S., Yáñez J., Mandado M., Marín O., Lopez J., Gonzalez A., Anadon R.* 2002. Organization of cholinergic systems in the brain of different fish group: a comparative analysis. *Brain Res. Bull.* 57 : 331—334.
- Sakamoto N., Ito H., Ueda S.* 1981. Topographic projections between the nucleus isthmi and the optic tectum in a teleost, *Novadon modestus*. *Brain. Res.* 224 : 225—234.
- Saper C. B.* 1995. The spinoparabrachial pathway: shedding new light on an old path. *J. Comp. Neurol.* 353 : 477—479.
- Schellart N., Prins M., Kroese A.* 1992. The pattern of trunk lateral line afferents and efferents in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Brain. Behav. Evol.* 39 : 371—380.
- Shimisu M., Yamamoto N., Yoshimoto M., Ito H.* 1999. Fiber connections of the inferior lobe in a percomorph teleost *Thamnaco-nus (Novadon) modestus*. *Brain Behav. Evol.* 54 : 127—146.
- Tago H., McGreer P., Akiyama H., Hersh L.* 1989. Distribution of choline acetyltransferase immunopositive structures in the rat brainstem. *Brain. Res.* 495 : 271—297.
- Vanegas H., Ito H.* 1983. Morphological aspects on the teleostean visual system: a review. *Brain Res. Rev.* 6 : 117—137.
- Vincent S., Reiner P.* 1987. The immunohistochemical localization of choline acetyltransferase in the cat brain. *Brain. Res. Bull.* 18 : 67—70.
- Wolf N.* 1991. Cholinergic systems in mammalian brain and spinal cord. *Prog. Neurobiol.* 37 : 475—524.
- Wullimann M. F.* 1988. The tertiary gustatory center in sunfishes is not nucleus glomerulosus. *Neurosci. Lett.* 86 : 6—10.
- Wullimann M. F.* 1997. The central nervous system. In: *The physiology of fishes*. Boca Raton: New York: CRS Press. 245—282.
- Wullimann M. F., Roth G.* 1992. Is the nucleus corticalis of teleosts a new cholinergic central nervous system foe vertebrate? *Neuroreport.* 3 : 33—35.
- Yoshimoto M., Albert J. S., Sawai N., Shimizu M., Yamamoto N., Ito H.* 1998. Telencephalic ascending gustatory system in cichlid fish *Oreochromis (Tilapia) niloticus*. *J. Comp. Neurol.* 392 : 209—226.
- Zottoli S., Rhodes K., Mufson E.* 1988. Putative cholinergic projections from the nucleus isthmi and the nucleus reticularis mesencephali to the optic tectum in the goldfish (*Carassius auratus*). *J. Comp. Neurol.* 273 : 385—398.

Поступила 11 XI 2005

DISTRIBUTION OF CHOLINEACETYLTRANSFERASE HISTOCHEMISTRY IN ISTHMUS AND MEDULLA OF *ONCHORYNCHUS MASU*. TRACT-TRACING OBSERVATION ON THE ASCENDING MESO-PONTINE CHOLINERGIC SYSTEM

*E. V. Pushchina, A. A. Karpenko*

Institute of Marine Biology, Far East Branch of RAS, Vladivostok; e-mail: pushchina@mail.ru

The distribution of cholinergic neurons was studied in the brain stem, medulla and rostral spinal cord of the salmon *Onchorynchus masu* using histochemical choline acetyltransferase (ChAT) detection. Cholinergic neurons were observed in the isthmus, cranial nerve motor nuclei and spinal cord. In order to characterize several cholinergic nuclei observed in the isthmus of *O. masu*, their projections were studied by application of 1,1'-dioctadecyl-3,3,3'-tetramethylindocarbocyanine perchlorate (DiI) to selected structures of the brain. The secondary gustatory nucleus projected mainly to the lateral hypothalamic lobes, whereas the nucleus isthmi projected to the optic tectum and parvocellular superficial pretectal nucleus, as it was earlier described for the other teleost group. In addition, the other isthmus cholinergic nuclei in *O. masu* may be homologous to the meso-pontine system of mammals. We conclude that the cholinergic systems of teleosts show many primitive features that have been presented during evolution, together with exclusive to the group characteristics.

**Key words:** cholinergic system, retrograde labeling, histochemistry, isthmus complex, teleost.