

О топографии катехоламинсодержащих нейронов голубого пятна кошки

А. И. Семенютин

Изучение топографии катехоламинсодержащих (КА) нейронов голубого пятна кошки уже давно привлекает внимание исследователей [4, 6, 7, 13, 18]. В отличие от крысы у кошки нейроны голубого пятна распределены в дорсолатеральной области ствола мозга диффузно, в связи с чем возникает вопрос: в какой мере эта диффузность отражает истинное распределение КА-нейронов, а в какой она может быть результатом того, что применяемые гистохимические методы выявляют не все КА-нейроны? Ответ на этот вопрос представляет большой интерес для изучения морфологии и физиологии данного ядра, так как при электрическом раздражении голубого пятна неизбежно будут стимулироваться и клетки, расположенные между диффузно разбросанными КА-нейронами. Для выяснения этого вопроса мы применили недавно разработанный метод гистофлюоресценции катехоламинов [1, 5]. В отличие от применявшихся ранее данный метод совместим с заливкой ткани мозга в парафин [2], что позволяет значительно повысить четкость изображения и интенсивность флюоресценции КА-клеток относительно фона, а также изучить распределение КА-нейронов голубого пятна более детально.

В настоящей работе приведены результаты исследований, уточняющие распределение КА-нейронов голубого пятна кошки на фронтальных и сагиттальных срезах ствола мозга.

Методика

Опыты проведены на шести кошках массой 2,5—3 кг. Для изучения распределения КА-нейронов голубого пятна в дорсолатеральной тегментальной области применяли новый метод гистофлюоресценции катехоламинов [1, 5] при быстрой заливке ткани мозга в мягкий парафин [2]. С целью повышения интенсивности флюоресценции КА-клеток животным перед перфузией внутрибрюшинно вводили вещества, способствующие синтезу и накоплению в нейронах катехоламинов. Для этого использовали ингибитор МАО пинамид (100 мг/кг, за 5 ч до перфузии животного) и предшественник дофамина L-ДОФА (100 мг/кг, за 1 ч до перфузии). Транскардиальную перфузию проводили под нембуталовым наркозом (45—50 мг/кг внутрибрюшинно) фиксатором, содержащим 4 % параформальдегида и 0,25 % глутаральдегида. Затем производили заливку в мягкий парафин в вакууме и изготавливали фронтальные и сагиттальные срезы толщиной 10—15 мкм, которые после обезвоживания в спиртах и просветления в толуоле заключали на предметных стеклах в нелюминесцирующую среду (эпон 812). Яркое зеленое свечение КА-нейронов наблюдали в люминесцентном микроскопе при длине волны возбуждающего света 360—440 нм (светофильтр возбуждения — ФС 1—2, запирающие светофильтры — ЖС 18+ЖС 19). Полученный материал обрабатывали микрофотографированием и картированием распределения флюоресцировавших нейронов на фронтальных и сагиттальных планах срезов мозга. Для идентификации различных структур и определения фронтальных и сагиттальных уровней использовали стереотаксический атлас ствола мозга кошки [3]. На рисунках использованы следующие условные обозначения: BC — мозжечково-таламический проводящий тракт, CS — верхнее центральное ядро шва, DR — дорсальные ядра шва, G VII — колено лицевого нерва, GC — центральное серое вещество, IC — нижний бугор четверохолмия, LC α — группа клеток α голубого пятна, MES. V — мезэнцефалическое ядро тройничного нерва, MET. V — мезэнцефалический тракт тройничного нерва, MO V — моторное ядро тройничного нерва, N IV — блоковый нерв, N VII — лицевой нерв, OLS — верхняя олива, P — пирамидный тракт, Pbl — латеральная парабрахияльная область, PG — серое вещество моста, RF — ретикулярная формация, RN — красное ядро, SC — верхний бугор четверохолмия, TDN — дорсальное тегментальное ядро, TRC — тегментальное ретикулярное ядро, TRS — рубро-спинальный тракт, TVN — вентральное тегментальное ядро.

Согласно приводимой в литературе классификации [9, 12], голубое пятно кошки можно разделить на три части: собственно голубое пятно (КА-клетки, локализованные в центральном сером веществе медиального мезэнцефалического ядра тройничного нерва), группа клеток α (клетки, расположенные более вентрально между мезэнцефалическим ядром тройничного нерва и проводящим мозжечково-таламическим трактом) и еще более вентрально лежащий субцереулеус, примыкающий к медиальной парабрахияльной области. При использовании нового метода гистофлуоресценции катехоламинов во всех отделах голубого пятна выявлено довольно большое количество КА-нейронов.



Рис. 1. Диффузное распределение катехоламинсодержащих нейронов голубого пятна кошки в дорсолатеральной тегментальной области ствола мозга.

Условные обозначения расшифрованы в методике. Фронтальный уровень — Р — 3.0. Масштаб — 250 мкм, что соответствует 20 мм на рисунке.

Флуоресцирующие клетки наблюдались также в таких близлежащих катехоламинергических структурах, как ядро Келликера—Фузе и дорсальные ядра шва. Примененный нами метод гистофлуоресценции, несмотря на свою простоту, обеспечивал значительно большую яркость флуоресценции катехоламинергических нейронов по сравнению с яркостью флуоресценции фона. На рис. 1 показана диффузность распределения КА-нейронов голубого пятна в дорсолатеральной тегментальной области ствола мозга кошки. В значительной мере качество препаратов повышалось благодаря методу быстрой заливки в мягкий парафин, что давало возможность изготавливать достаточно тонкие срезы (10—15 мкм) и увеличивало срок сохранения способности к флуоресценции.

На рис. 2, а—в показаны выявленные таким методом КА-нейроны в латеральной парабрахияльной области (а), собственно голубом пятне (б) и группе клеток α (в). В голубом пятне обнаруживались КА-нейроны, которые можно отнести к различным морфологическим типам. На рис. 2, г видно, что они могут быть отнесены преимущественно к двум основным типам клеток: с веретеновидной сомой и с треугольной или многоугольной сомой. Наблюдались также небольшие округлые флуоресцирующие силуэты, которые могли быть либо фрагментами крупных клеток, либо круглыми клетками небольшого размера. Отдельные флуоресцирующие нейроны наблюдались в мезэнцефалическом ядре тройничного нерва (см. рис. 2, б) и в мозжечково-таламическом проводящем пучке (рис. 2, д). В ростральном полюсе голубого пятна и в субцереулеусе встречались относительно крупные клетки мультиполярного типа. Микрофотография клетки с многоуголь-

ной сомой, характерной для роstralного полюса голубого пятна, приведена на рис. 2, е.

На рис. 3 представлено распределение КА-нейронов голубого пятна на фронтальных планах срезов ствола мозга. КА-нейроны наблюдались на фронтальных срезах в пределах АР 0—Р—5,0. Наибольшее число флюоресцирующих нейронов отмечено на фронтальном уровне Р—3,0. На уровне Р—0,2—Р—2,0 (рис. 3, 1—4) бо́льшая

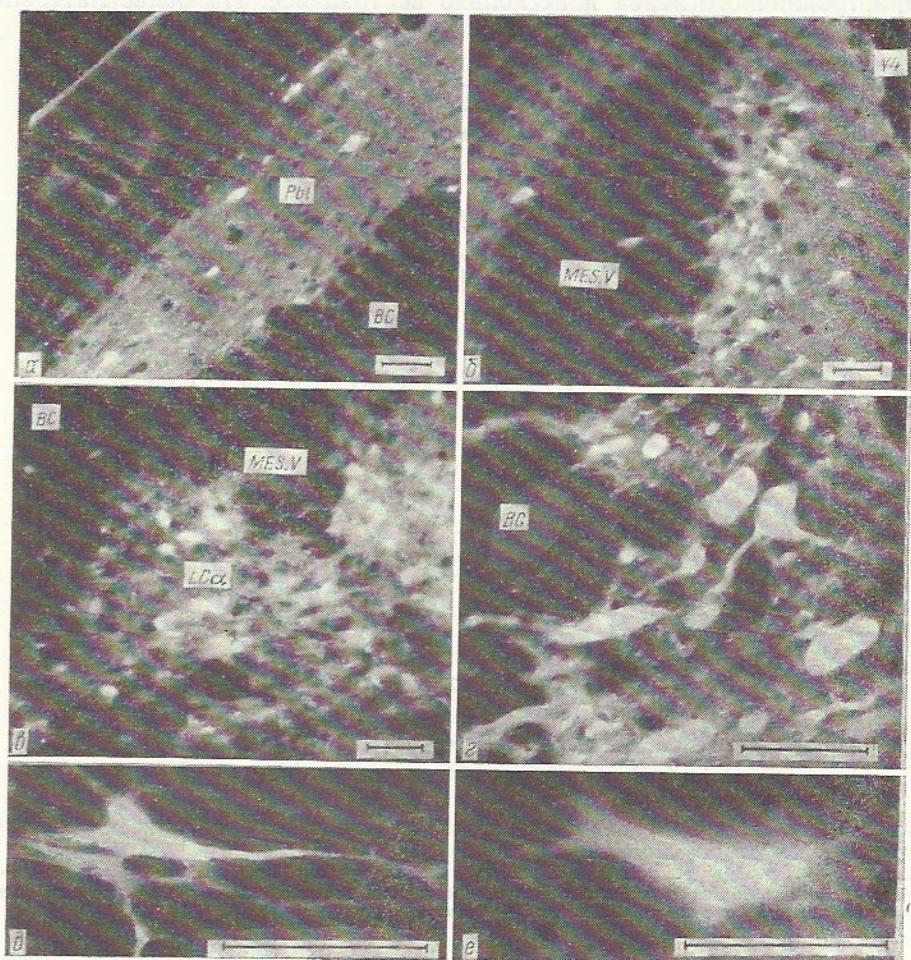


Рис. 2. Катехоламинсодержащие нейроны, выявленные новым методом гистофлюоресценции катехоламинов в различных отделах голубого пятна кошки:

а — латеральная парабрахияльная область, б — собственно голубое пятно, в — группа клеток а, г — различные типы катехоламинсодержащих нейронов, д — катехоламинсодержащая клетка в мозжечково-таламическом проводящем тракте, е — крупная мультиполярная катехоламинсодержащая клетка из роstralного отдела голубого пятна. Условные обозначения расшифрованы в методике. Масштаб — 100 мкм.

часть КА-нейронов голубого пятна была локализована в центральном сером веществе. На фронтальных уровнях Р—2,5—Р—4,5 (рис. 3, 5—7) значительное число КА-нейронов располагалось и более вентрально. Наибольшее число КА-нейронов в субцереулеусе наблюдалось на фронтальном уровне Р—3,0. Число КА-нейронов в латеральной и медиальной парабрахияльных областях также постепенно увеличивалось в каудальном направлении, достигало максимума на фронтальном уровне Р—3,0, а затем вновь постепенно снижалось. Необходимо отметить, что на фронтальных уровнях Р—3,5—Р—4,5 подавляющее большинство КА-нейронов голубого пятна образовывали довольно компактное скопление в непосредственной близости от мезэнцефалического ядра тройничного нерва (рис. 3, 6, 7).

На рис. 4 представлено распределение КА-нейронов голубого пятна на сагиттальных срезах ствола мозга. На сагиттальных уровнях L 0,8—L 1,9 (рис. 4, 1—4) КА-нейроны были локализованы преимущественно в центральном сером веществе под дном четвертого желудочка. Отдельные клетки наблюдались также и более вентрально. На сагиттальных уровнях L 2,3—L 2,9 (рис. 4, 5—7) КА-нейроны располагались в непосредственной близости от мезэнцефалического ядра тройничного нерва и несколько вентральнее. На более латераль-

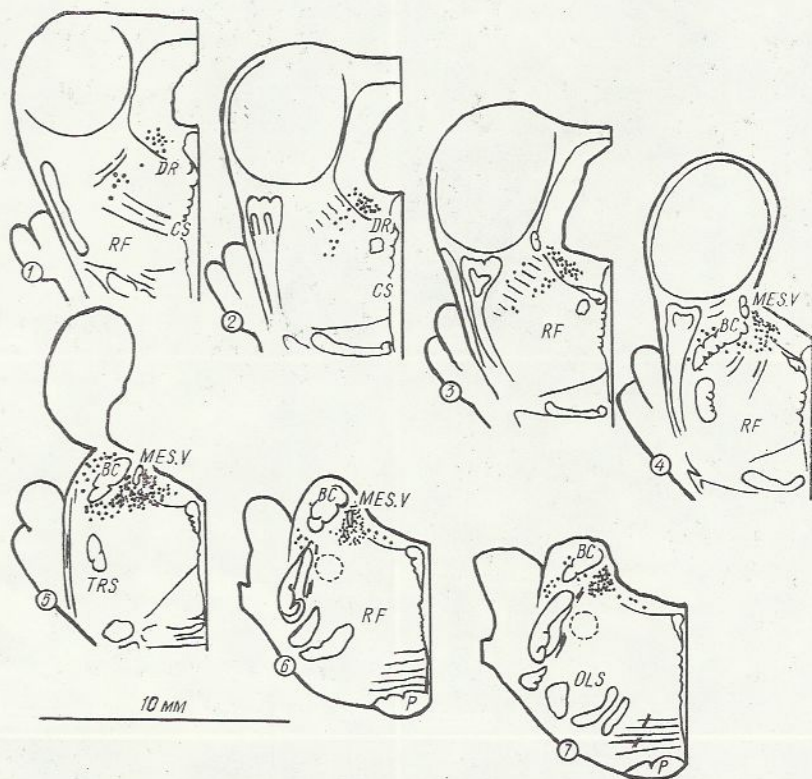


Рис. 3. Распределение катехоламинсодержащих нейронов голубого пятна на фронтальных срезах ствола мозга кошки:

1—Р —0,2; 2—Р —1,0; 3—Р —1,5; 4—Р —2,0; 5—Р —3,0; 6—Р —4,0; 7—Р —4,5 — фронтальные уровни. Условные обозначения расшифрованы в методике. Точками обозначены флюоресцирующие катехоламинсодержащие нейроны. Масштаб — 10 мм.

ных уровнях L 3,3—L 3,7 (рис. 4, 8, 9) КА-нейроны голубого пятна были сосредоточены в латеральной и медиальной парабрахияльных областях, при этом они находились вблизи от мезэнцефалического тракта и моторного ядра тройничного нерва.

Обсуждение

Полученные нами результаты подтверждают наличие значительной диффузности распределения КА-нейронов голубого пятна кошки. Сочетание метода гистофлюоресценции катехоламинов с заливкой ткани мозга в мягкий парафин позволило нам получить препараты достаточно высокого качества и продемонстрировать диффузность распределения КА-нейронов голубого пятна кошки на микрофотографии общего плана данного ядра (см. рис. 1), в то время как в работах других исследователей распределение КА-нейронов показано преимущественно на схемах. Морфологические особенности КА-нейронов двух типов (с веретеновидной сомой и с треугольной или многоугольной сомой), обнаруживаемых в голубом пятне кошки, в основном сходны с описанными ранее другими авторами [14, 17], а также наблюдавшимися нами в опытах с пероксидазой хрена. Выявлявшиеся методом гисто-

флюоресценции катехоламинов небольшие округлые силуэты наблюдались многими исследователями при мечении пероксидазой хрена нейронов голубого пятна крысы [16] и нами — при ретроградном мечении нейронов голубого пятна кошки. Однако на основании имеющихся данных нельзя сделать вывод о том, являются ли эти структуры отдельным видом клеток или фрагментами более крупных клеток.

Наши данные о топографии КА-нейронов голубого пятна кошки в некоторой мере отличаются от результатов наиболее детальной ра-

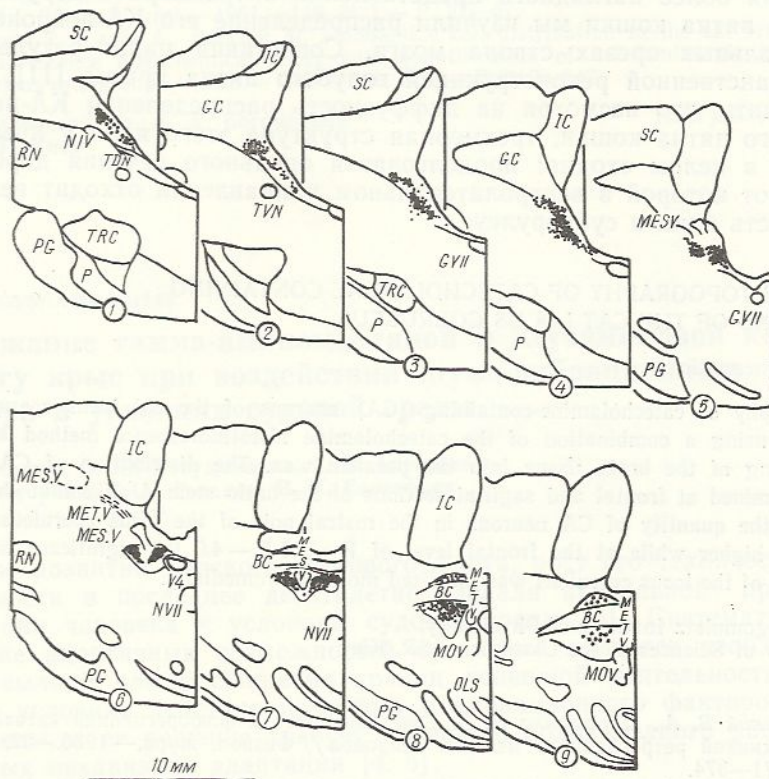


Рис. 4. Распределение катехоламинсодержащих нейронов голубого пятна на сагитальных срезах ствола мозга кошки:
1—L 0,8; 2—L 1,2; 3—L 1,6; 4—L 1,9; 5—L 2,3; 6—L 2,5; 7—L 2,9; 8—L 3,3; 9—L 3,7—сагитальные уровни. Условные обозначения расшифрованы в методике. Масштаб — 10 мм.

боты, посвященной этому вопросу, которая была проведена с применением параформальдегида и глиоксиловой кислоты [6]. Основные отличия заключаются в том, что в наших опытах было выявлено большее число КА-нейронов в наиболее ростральном отделе голубого пятна на фронтальных уровнях AP 0—P—0,2, а также значительное число КА-нейронов, располагающихся на фронтальных срезах P—2,0—P—4,0 более вентромедиально, чем показано этими исследователями (см. рис. 1, 3). Наличие таких КА-нейронов косвенно подтверждают данные, описанные в работе по иммуногистохимическому выявлению моноаминоксидазы В в стволе мозга кошки [15]. Однако некоторые исследователи считают, что моноаминоксидаза В содержится преимущественно в серотонинергических нейронах, а не в норадренергических, и, более того, этот фермент иногда обнаруживается в астроглиоцитах [8, 10]. Таким образом, данные, приведенные в этой работе, являются лишь частичным подтверждением наших результатов.

Необходимо подчеркнуть, что данные о топографии КА-нейронов голубого пятна представляют большой интерес для электрофизиологов, занимающихся изучением влияния электрического раздражения голубого пятна на различные структуры ЦНС. Диффузность распределе-

ния в дорсолатеральной тегментальной области КА-нейронов голубого пятна кошки приводит к необходимости применения для его раздражения тока достаточно большой силы. Вместе с тем близость к голубому пятну мезэнцефалического ядра, мезэнцефалического тракта и моторного ядра тройничного нерва требует тщательного расчета эффективного радиуса стимуляции и точного гистологического контроля локализации раздражающего электрода, без чего получаемые результаты не могут считаться достоверными.

Для более наглядного представления о трехмерной структуре голубого пятна кошки мы изучили распределение его КА-нейронов и на сагитальных срезах ствола мозга. Сопоставив наши результаты с пространственной реконструкцией голубого пятна крысы [11], можно заключить, что несмотря на диффузность распределения КА-нейронов голубого пятна кошки, трехмерная структура этого ядра у крысы и у кошки в целом сходна: продолговатая овального сечения дорсальная часть, от которой в вентролатеральном направлении отходит вентральная часть ядра и субцереулус.

ON THE TOPOGRAPHY OF CATECHOLAMINE-CONTAINING NEURONS OF THE CAT LOCUS COERULEUS

A. I. Semenyutin

Topography of catecholamine-containing (CA) neurons of the cat locus coeruleus was studied using a combination of the catecholamine histofluorescence method and rapid embedding of the brain tissue into the paraffin wax. The distribution of CA neurons was examined at frontal and sagittal sections of the brain stem. Unlike that shown previously the quantity of CA neurons in the rostral pole of the locus coeruleus was somewhat higher while at the frontal level of P—2.0—P—4.0 the significant number of CA cells of the locus coeruleus was localized more ventromedially.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

1. Майский В. А., Дорошенко Н. З. Сочетание метода флюоресценции катехоламинов с техникой ретроградного мечения нейронов // Физиол. журн.—1986.—32, № 3.—С. 371—374.
2. Майский В. А., Пигарев И. Н., Дорошенко Н. З. Сочетание методов флюоресценции катехоламинов и ретроградного мечения нейронов при быстрой заливке ткани мозга в парафин // Там же.—1988.—34, № 2.—С. 103—106.
3. Berman A. L. The brain stem of the cat. A cytoarchitectonic atlas with stereotaxic coordinates.—Madison: Wisconsin Univ. press, 1968.—176 p.
4. Chu N.-S., Bloom F. E. The catecholamine—containing neurons in the cat dorsolateral pontine tegmentum: distribution of the cell bodies and some axonal projections // Brain Res.—1974.—66, N 1.—P. 1—21.
5. Furness J. B., Heath J. W., Costa M. Aqueous aldehyde (Faglu) methods for the fluorescence histochemical localization of catecholamines and for ultrastructural studies of central nervous tissue // Histochemistry.—1978.—57, N 3.—P. 285—295.
6. Jones B. E., Friedman L. Atlas of catecholamine pericarya, varicosities and pathways in the brainstem of the cat // J. Comp. Neurol.—1983.—215, N 4.—P. 382—396.
7. Jones B. E., Moore R. Y. Catecholamine—containing neurons of the nucleus locus coeruleus in the cat // Ibid.—1974.—157, N 1.—P. 43—52.
8. Kitahama K., Arai R., Maeda T., Jouvet M. Demonstration of monoamine oxidase type B in serotonergic and type A in noradrenergic neurons in cat dorsal pontine tegmentum by an improved histochemical technique // Neurosci. Lett.—1986.—71, N 1.—P. 19—24.
9. Leger L., Hernandez-Nicaise M. L. The cat locus coeruleus light and electron microscopic study of the neuronal somata // Anat. Embryol.—1980.—159, N 2.—P. 181—198.
10. Levitt P., Pintar J. E., Breakfield X. O. Immunocytochemical demonstration of monoamine oxidase B in brain astrocytes and serotonergic neurons // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1982.—79, N 12.—P. 6385—6389.
11. Loughlin S. E., Foote S. L., Bloom F. L. Efferent projections of nucleus locus coeruleus: topographic organization of cells of origin demonstrated by three—dimensional reconstruction // Neuroscience.—1986.—18, N 2.—P. 291—306.
12. Maeda T., Pin C., Salvat D. et al. Les neurones contenant des catecholamines du tegmentum pontique et leur voies de projection chez le chat // Brain Res.—1973.—57, N 1.—P. 119—152.