

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

• ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
• ΣΥΝΤΟΜΗ ΕΠΙΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ ΤΩΝ ΤΕΛΕΟΣΤΕΩΝ	1
• ΓΕΝΕΣΗ ΝΕΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΟ ΚΕΝΤΡΙΚΟ ΝΕΥΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ	6
• ΜΕΘΟΔΟΙ ΜΕΛΕΤΗΣ ΤΗΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ ΚΥΤΤΑΡΩΝ	9
• ΜΕΤΑΝΑΣΤΕΥΣΗ ΚΑΙ ΤΕΛΙΚΗ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΟ ΚΕΝΤΡΙΚΟ ΝΕΥΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ	11
• ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΘΑΝΑΤΟΣ ΣΤΟ ΚΕΝΤΡΙΚΟ ΝΕΥΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ	15
• ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΜΟΣ ΜΕ ΤΗΝ ΟΝΤΟΓΕΝΕΣΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ	17
• ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	19
• ΜΕΘΟΔΟΣ	20
• ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΤΗΣ ΒΡΩΜΟΔΕΟΞΥΟΥΡΙΔΙΝΗΣ	20
• ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ	21
• ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ	22
• ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	25
• ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΣΗΜΑΣΜΕΝΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ	25
• ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΝΕΟ-ΓΕΝΝΗΘΕΝΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΙΑ ΗΜΕΡΑ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΝΕΣΗ BrdU	26
• ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΚΑΙ ΜΕΣΕΓΚΕΦΑΛΟΣ	26
• ΔΙΕΓΚΕΦΑΛΟΣ	27
• ΤΕΛΕΓΚΕΦΑΛΟΣ	27
• ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΝΕΟ-ΓΕΝΝΗΘΕΝΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΡΕΙΣ ΗΜΕΡΕΣ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΝΕΣΗ BrdU	33
• ΕΙΚΟΝΕΣ	35

• ΣΥΖΗΤΗΣΗ	46
• ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΖΩΝΩΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ ΚΑΙ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΑΛΛΑ ΣΠΟΝΔΥΛΩΤΑ	48
• ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΚΑΙ ΜΕΣΕΓΚΕΦΑΛΟΣ	48
• ΔΙΕΓΚΕΦΑΛΟΣ	49
• ΤΕΛΕΓΚΕΦΑΛΟΣ	50
• ΜΟΙΡΑ ΝΕΟ-ΓΕΝΝΗΘΕΝΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ	51
• ΠΙΘΑΝΕΣ ΕΞΗΓΗΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΟ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ ΣΤΟΝ ΕΓΚΕΦΑΛΟ ΕΝΗΛΙΚΩΝ ΤΕΛΕΟΣΤΕΩΝ	54
• ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ	57
• ΠΕΡΙΛΗΨΗ	59
• SUMMARY	60
• ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	61
• ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι - ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ	69
• ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ - ΓΛΩΣΣΑΡΙ ΟΡΩΝ	71
• ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ - ΛΑΤΙΝΟΕΛΛΗΝΙΚΟ ΓΛΩΣΣΑΡΙ	

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΣΥΝΤΟΜΗ ΕΠΙΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ ΤΩΝ ΤΕΛΕΟΣΤΕΩΝ (Northcutt and Davis, 1983; Butler and Hodos , 1996)

Αν και οι βασικές εγκεφαλικές υποδιαιρέσεις στα σπονδυλωτά παρουσιάζουν σημαντικές ανατομικές και λειτουργικές ομοιότητες, γεγονός που δεν αμφισβητείται από κανένα ερευνητή, η συγκριτική μελέτη και αντιστοίχιση διαφόρων περιοχών βρίσκεται ακόμη σε πρώιμα στάδια, με αποτέλεσμα τα συμπεράσματα να είναι αμφιλεγόμενα (Πίνακας 1). Ο εγκέφαλος των τελεόστεων παρουσιάζει ιδιαιτερότητες, που του προσδίδουν μοναδικά χαρακτηριστικά (Kotrschal K. et al, 1988). Πιστεύεται ότι κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη των τελεόστεων, το ραχιαίο τμήμα του τελεγκεφάλου αναστρέφεται, με αποτέλεσμα περιοχές, που στα υπόλοιπα σπονδυλωτά βρίσκονται στο μεσαίο τμήμα του, να εμφανίζονται στα πλάγια (εξωτερικά) τελεγκεφαλικά τμήματα των τελεόστεων (Northcutt R. G., 1981). Το γεγονός αυτό δυσχεραίνει το έργο της αντιστοίχισης περιοχών μεταξύ των τελεόστεων και των υπόλοιπων σπονδυλωτών. Παρόλα αυτά μελέτες της συνδεσμολογίας και λειτουργίας ορισμένων πυρήνων, έχουν οδηγήσει σε κάποια συμπεράσματα, που φαίνονται στον πίνακα 5. Δεδομένο θεωρείται ότι οι περισσότερες περικοιλιακές περιοχές του κοιλιακού τμήματος του τελεγκεφάλου επεξεργάζονται οσφρητικά ερεθίσματα, ενώ οι μεσαίες περιοχές του ραχιαίου τμήματος του τελεγκεφάλου επεξεργάζονται οπτικές πληροφορίες (Ito H. et al, 1980). Όλες οι υπόλοιπες περιοχές, ιδιαίτερα στο πλάγιο τμήμα του ραχιαίου και κοιλιακού τελεγκεφάλου, σε συνδυασμό με την παρεγκεφαλίδα, πυρήνες του ραχιαίου μεσεγκεφάλου και κινητικούς πυρήνες του οπισθεγκεφάλου, ελέγχουν πολύπλοκες κινήσεις.

Ενδιαφέρον είναι ότι ο εγκέφαλος των τελεόστεων περιβάλλεται από μία προστατευτική μήνιγγα μόνο (primitive meninx), σε αντίθεση με τα χερσαία σπονδυλωτά που έχουν δύο ή τρεις μήνιγγες. Η εξέλιξη της παρεγκεφαλίδας στους ακτινοπερύγιους ιχθύες (συμπεριλαμβανομένων των τελεόστεων) οδήγησε στη δημιουργία δομών, που δεν συναντούμε στα υπόλοιπα σπονδυλωτά. Το πρόσθιο παρεγκεφαλιδικό σώμα (VCb), που βρίσκεται στην κοιλότητα της οπτικής καλύπτρας

(TeO), είναι μία από αυτές τις δομές. Ελάχιστα είναι γνωστά για τη λειτουργία της, πιστεύεται όμως ότι δέχεται αισθητικά κυρίως ερεθίσματα, όπως και το υπόλοιπο παρεγκεφαλιδικό σώμα και καθορίζει τις διάφορες αποκρίσεις του οργανισμού. Η παρεγκεφαλίδα των τελεόστεων συμπεριλαμβάνει κάποιες βοηθητικές δομές, μοναδικές στους τελεόστεους, όπως το παρεγκεφαλιδικό λοφίο (crlb), τον πλάγιο βαλβιδοειδή πυρήνα (lv) και τον επιμήκη δακτυλιοειδή πυρήνα (tlo). Ο αιθουσαίος λοβός της παρεγκεφαλίδας (lobnlcb) δέχεται ερεθίσματα από το εσωτερικό αυτί και ίσως από τη νηκτική κύστη. Ίνες του λοβού αυτού μεταφέρουν τις πληροφορίες αυτές σε ανώτερα κέντρα ελέγχου, μέσω του παρεγκεφαλιδικού λοφίου. Ο πυρήνας lv δέχεται ερεθίσματα και από βοηθητικούς οπτικούς πυρήνες, τα οποία μεταβιβάζει σε όλη την παρεγκεφαλίδα και στον πυρήνα tlo. Από εκεί οι πληροφορίες μεταβιβάζονται στην οπτική καλύπτρα για περαιτέρω επεξεργασία. Οι δύο παραπάνω περιοχές σε συνδυασμό με τον ισθμικό πυρήνα (is) ελέγχουν κινήσεις μετά από ένα οπτικό ερέθισμα.

Το οπτικό σύστημα των τελεόστεων είναι εξαιρετικά πολύπλοκο και χαρακτηρίζεται από αυξημένη πλαστικότητα (Meek H. J., 1990; Powers M. K. et al, 1990; Ito H. et al, 1980). Κύριος αποδέκτης οπτικών ερεθισμάτων από τη ρέτινα, μέσω του οπτικού νεύρου, είναι η οπτική καλύπτρα (TeO). Παρότι οι περισσότερες ίνες του νεύρου, μετά από το οπτικό χίασμα, καταλήγουν στο αντίθετο εγκεφαλικό ημισφαίριο, αρκετές απολήξεις εντοπίζονται στο ομόπλευρο ημισφαίριο. Απολήξεις του οπτικού νεύρου φτάνουν και σε υποθαλαμικούς (SC, TA), θαλαμικούς (CP, DP, VL) και προκαλυπτριδικούς πυρήνες. Η οπτική καλύπτρα, εκτός από τη ρέτινα, δέχεται και μεταβιβάζει πληροφορίες σε πολλές επιπλέον περιοχές του εγκεφάλου. Πρόσφατα βρέθηκε ότι η οπτική καλύπτρα συνδέεται έμμεσα με τελεγκεφαλικές περιοχές (Dc, Vs), που πιθανότατα δρουν σαν ανώτερα κέντρα ελέγχου κινήσεων.

Ο δακτυλιοειδής ημικυκλικός πυρήνας (TS) δέχεται ακουστικά ερεθίσματα καθώς και ερεθίσματα από όργανα που σχετίζονται με την αφή. Οι πληροφορίες αυτές συνδυάζονται με οπτικές πληροφορίες, από την οπτική καλύπτρα και μεταβιβάζονται σε ανώτερα κέντρα ελέγχου στο ραχιαίο τελεγκεφαλο (Dm, Dd, Dc), μέσω του ραχιαίου θαλάμου (DP, CP) και του συμπλόκου των προσφαιρικών πυρήνων (PG). Ο μεσαίος πυρήνας του κοιλιακού θαλάμου (VM) μεταβιβάζει ερεθίσματα και σε κοιλιακές περιοχές του τελεγκεφάλου (Vs), ώστε σε συνδυασμό με τις υπόλοιπες περιοχές να καθορίζονται πολύπλοκες κινήσεις. Ερεθίσματα διαβιβάζονται επίσης και στο πρόσθιο φύμα του υποθαλάμου (TP), που αντιστοιχεί στη μέλανα ουσία των

υπόλοιπων σπονδυλωτών.

Ο υποθάλαμος των τελεόστεων συνδέεται με πληθώρα εγκεφαλικών δομών και, όπως και στα υπόλοιπα σπονδυλωτά ρυθμίζει, μεταξύ άλλων, ομοιοστατικούς και ορμονικούς μηχανισμούς καθώς επίσης και τη σεξουαλική συμπεριφορά. Είναι γνωστό ότι οι υποθαλαμικοί πυρήνες TP, CM, TRp εμπλέκονται στο σύστημα MCH (melanin concentrating hormone), που ελέγχει τα κοκκία μελανίνης των μελανοφόρων. Επιπλέον ο πυρήνας του πλάγιου κολπώματος (rl) και ο διάχυτος πυρήνας (DF), του κατώτερου υποθαλαμικού λοβού (LI), εμπλέκονται στη διατροφική συμπεριφορά (πρόσληψη τροφής κλπ.) και στην επιθετικότητα.

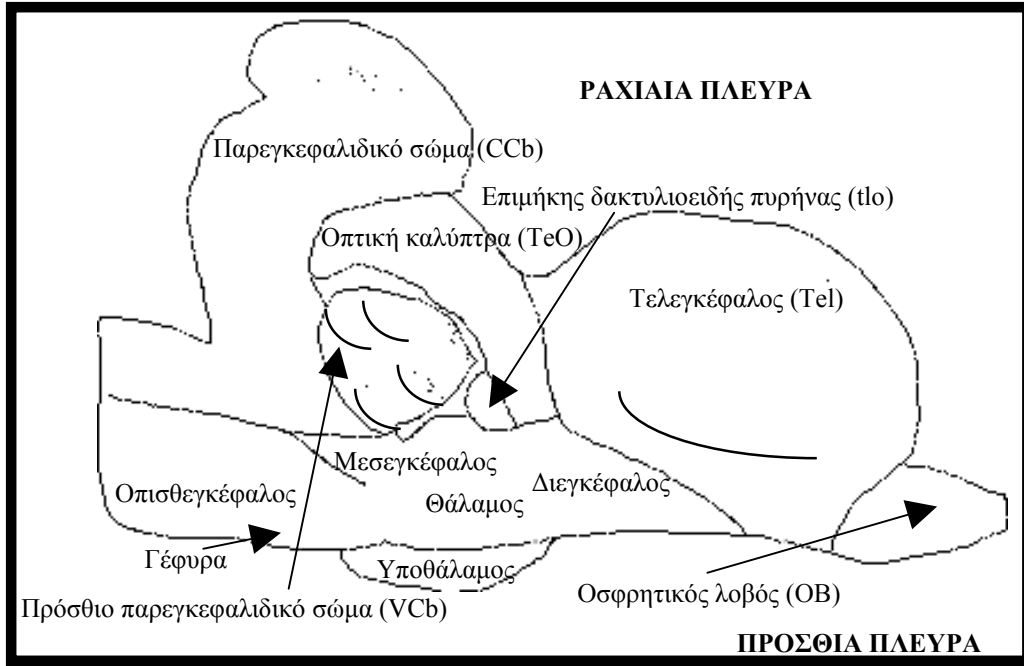
Οι περισσότεροι προοπτικοί πυρήνες (PPa, PPp, PPm, SC), που βρίσκονται στο πρόσθιο τμήμα του διεγκεφάλου, συνδέονται λειτουργικά με τον υποθάλαμο και την υπόφυση και σε συνδυασμό με το στεφανιαίο σύστημα του τελεγκεφάλου, ελέγχουν βασικές λειτουργίες (αναπαραγωγή, πείνα, άγχος κλπ.), (Becerra M. et al, 1994). Οι περιοχές αυτές δέχονται πληθώρα οσφρητικών και οπτικών κυρίως ερεθισμάτων, από τους οσφρητικούς λοβούς και την οπτική καλύπτρα. Οπτικά ερεθίσματα, είτε από την οπτική καλύπτρα είτε από τη ρέτινα, δέχονται όλοι οι προκαλυπτριδικοί πυρήνες και ιδιαίτερα οι PSp, PSm. Η περιοχή αυτή καθώς και οι υπόλοιπες οπτικές περιοχές είναι ιδιαίτερα ανεπτυγμένες στα σπαροειδή (Toyoda J. et al, 1994), γεγονός που επιβεβαιώνει την εξέχουσα σημασία της όρασης για την επιβίωση των τελεόστεων αυτών. Ένας κύριος σταθμός για την επεξεργασία αισθητικών πληροφοριών εντοπίζεται στη βάση του διεγκεφάλου και αποτελείται από τον σπειροειδή (G) και τους προσπειροειδείς (PGa, PGI, PGm) πυρήνες. Στα περισσότερα κυπρινοειδή το σύμπλοκο αυτών των πυρήνων αναλύουν και διαβιβάζουν πληροφορίες από όργανα γεύσης (Brandstatter R. et al, 1990; Kotrschal K. et al, 1988). Οι περιοχές αυτές σε συνδυασμό με περικοιλιακές, κυρίως, περιοχές του θαλάμου (CP, DP, VL, VM), επεξεργάζονται και μεταβιβάζουν πληροφορίες σε ανώτερα κέντρα ελέγχου στον τελεγκεφαλο.

Η μεγάλη ποικιλομορφία και εξελικτική επιτυχία των τελεόστεων, που αντικατοπτρίζεται από τα περισσότερα από 25.000 γνωστά είδη, κάνει σχεδόν αδύνατη τη γενίκευση όσων προαναφέρθηκαν. Πρέπει να γίνουν ακόμη πολλές μελέτες, για να κατανοήσουμε την ακριβή λειτουργία του εγκεφάλου των τελεόστεων και να τη συγκρίνουμε με τα υπόλοιπα σπονδυλωτά.

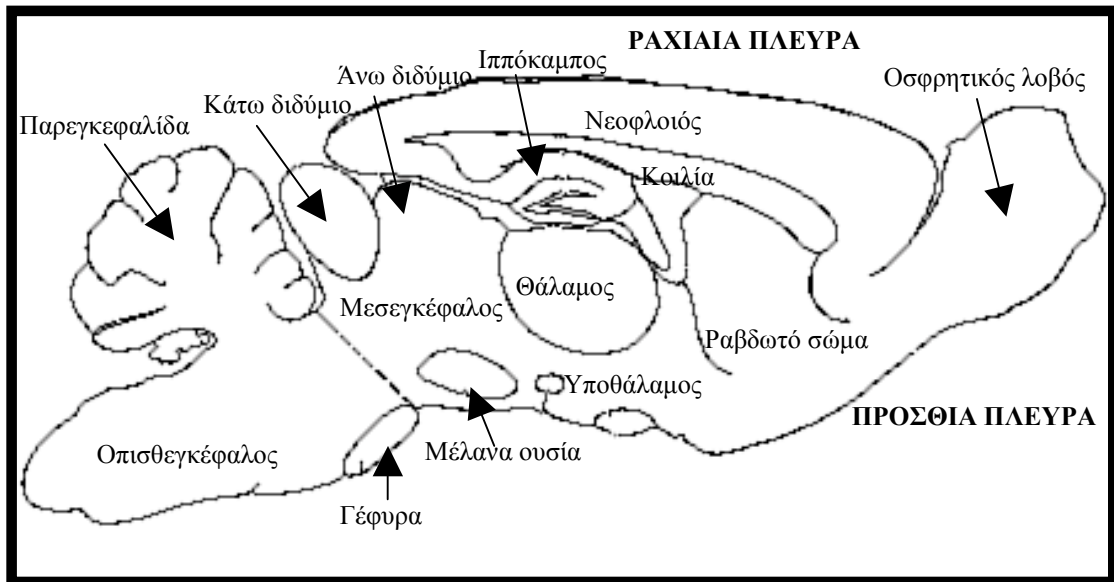
Ο πίνακας 1 παρουσιάζει τις έως τώρα παραδεκτές αναλογίες διαφόρων εγκεφαλικών περιοχών των τελεόστεων με τα υπόλοιπα σπονδυλωτά.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1		
Αναλογία εγκεφαλικών περιοχών τελεόστεου με τα υπόλοιπα σπονδυλωτά		
ΤΕΛΕΟΣΤΕΟΙ	ΥΠΟΛΟΙΠΑ ΣΠΟΝΔΥΛΩΤΑ	
ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ & ΜΕΣΕΓΚΕΦΑΛΟΣ		
A	B	Γ
is	Nucleus parabigeminalis	Παραδιδυμικός πυρήνας
TeO	Superior colliculus	Άνω διδύμιο
TS	Inferior colliculus	Κάτω διδύμιο
ΔΙΕΓΚΕΦΑΛΟΣ		
A	B	Γ
CM, TP	Substantia nigra	Μέλαινα ουσία
PMg, PMp, PP	Magnocellular neuroendocrine system	Μεγακυτταρικό νευροενδοκρινικό σύστημα
PPa, PPr	Medial hypothalamic nucleus	Έσω υποθαλαμικός πυρήνας
ΤΕΛΕΓΚΕΦΑΛΟΣ		
A	B	Γ
Dc	Ventral striatum (globus pallidus)	Κοιλιακό ραβδωτό σώμα (ωχρή σφαίρα)
Dd, Dld	Dorsal pallium	Ραχιαίος χιτώνας τελεγκεφάλου
Dm1, Dm2, Dm3, Dm4	Dorsal striatum (caudoputamen)	Ραχιαίο ραβδωτό σώμα (κερκοφόρος πυρήνας)
Dlp, Dlv	Medial pallium	Έσω χιτώνας τελεγκεφάλου
Dp	Lateral pallium (piriform cortex)	Έξω χιτώνας τελεγκεφάλου
Nt, Vi, Vp	Pallial amygdala	Ραχιαίος αμυγδαλοειδής πυρήνας
Vc, Vs	Basal amygdala	Βασικός αμυγδαλοειδής πυρήνας
Vd	Lateral septal nucleus	Έξω πυρήνας διαφράγματος
Vl, Vn	Olfactory tubercle (basal ganglia)	Οσφρητικό φύμα (βασικά γάγγλια)
Vv	Medial septal nucleus & nucleus accumbens	Έσω πυρήνας διαφράγματος & επικλινής πυρήνας

Πίνακας 1: Παρουσίαση των αναλογιών διαφόρων εγκεφαλικών περιοχών τελεόστεου με τα υπόλοιπα σπονδυλωτά (Northcutt and Davis, 1983; Butler and Hodos, 1996). Στήλη A: περιοχές του εγκεφάλου των τελεόστεων (επεξήγηση συντμήσεων στο παράρτημα I). Στήλη B: αγγλική/λατινική ονομασία αντίστοιχων εγκεφαλικών περιοχών υπόλοιπων σπονδυλωτών. Στήλη Γ: ελληνική ονομασία εγκεφαλικών περιοχών υπόλοιπων σπονδυλωτών.



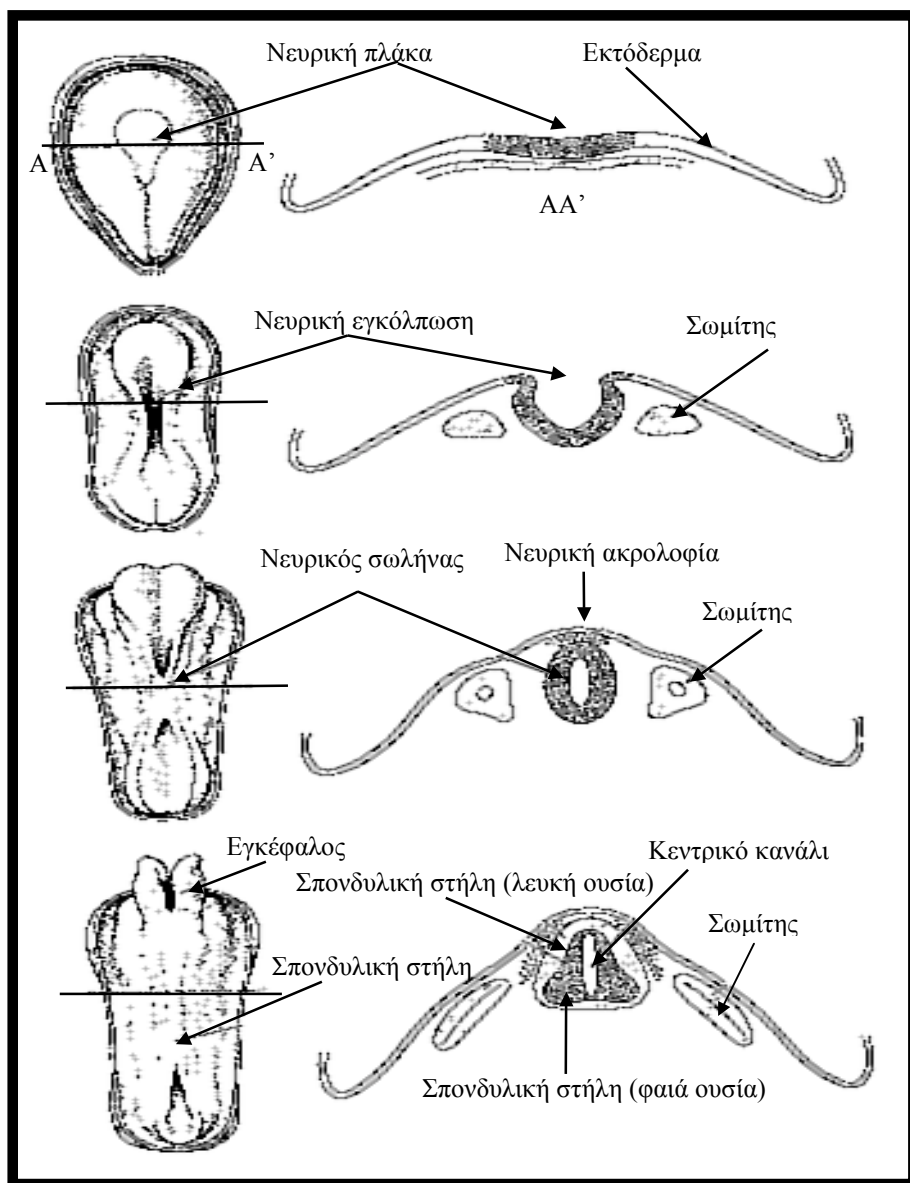
Σχήμα 1: Σχηματική απεικόνιση της δομής του εγκεφάλου τελεόστεου (οβελιαία διατομή στο μέσο επίπεδο του εγκεφάλου). Φαίνεται η θέση μερικών περιοχών αντίστοιχων με δομές του εγκεφάλου των υπόλοιπων σπονδυλωτών καθώς και περιοχές που υπάρχουν μόνο στους τελεόστεους (Λεπτομέρειες στον πίνακα 1 και στο κεφάλαιο: “Σύντομη επισκόπηση της λειτουργικής ανατομίας του εγκεφάλου των τελεόστεων”).



Σχήμα 2: Σχηματική απεικόνιση της δομής του εγκεφάλου αρουραίου (οβελιαία διατομή στο μέσο επίπεδο του εγκεφάλου). Φαίνεται η θέση μερικών περιοχών αντίστοιχων με δομές του εγκεφάλου των τελεόστεων (Λεπτομέρειες στον πίνακα 1 και στο κεφάλαιο: “Σύντομη επισκόπηση της λειτουργικής ανατομίας του εγκεφάλου των τελεόστεων”), (Rodolfo R. Llinas, 1990).

ΓΕΝΕΣΗ ΝΕΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΟ ΚΕΝΤΡΙΚΟ ΝΕΥΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

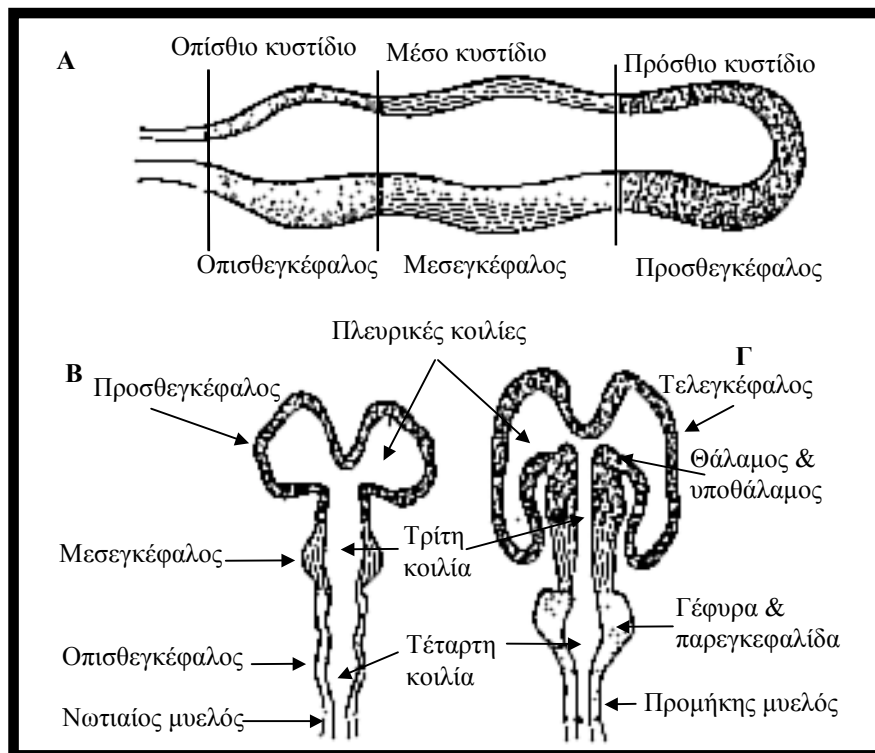
Η οργάνωση του κεντρικού νευρικού συστήματος είναι αποτέλεσμα της ανάπτυξης του εμβρυϊκού νευρικού ιστού καθώς επίσης και των πολύπλοκων αλληλεπιδράσεων μεταξύ του νευρικού εκτοδέρματος και του παραπλήσιου μεσοδερμικού ιστού. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ αυτών των δύο ζωνών πολλαπλασιασμού κυττάρων, αρχίζουν με τη γαστριδίωση και εξακολουθούν να υφίστανται καθ' όλη τη διάρκεια της εμβρυϊκής ανάπτυξης (Σχήμα 3), (Kandel E. R. et al, chapter 21, 1991).



Σχήμα 3: Σχηματική αναπαράσταση της δημιουργίας του νευρικού συστήματος από το εκτόδερμα. (Σχήματα στην αριστερή πλευρά: ραχιαία άποψη του εμβρύου. Άξονας AA':

σημείο εγκάρσιας διατομής του εμβρύου. Σχήματα στη δεξιά πλευρά: εγκάρσια διατομή του εμβρύου, κατά μήκος του άξονα AA'). Το κεντρικό νευρικό σύστημα έχει αρχικά τη μορφή της νευρικής πλάκας, που είναι ένα πεπλατυσμένο τμήμα του εκτοδέρματος στη ραχιαία επιφάνεια του εμβρύου. Αλληλεπιδράσεις του εκτοδέρματος και του γειτονικού μεσοδέρματος (σωμίτες) οδηγούν στην εγκόλπωση της νευρικής πλάκας και στο σχηματισμό του νευρικού σωλήνα, που περιβάλλει το κεντρικό κανάλι. Το πρόσθιο τμήμα του κεντρικού καναλιού διογκώνεται και σχηματίζει τις κοιλίες του εγκεφάλου (Rodolfo R. Llinas, 1990).

Στα αρχικά στάδια της εμβρυϊκής ανάπτυξης το νευροεκτόδερμα σχηματίζει το νευρικό σωλήνα, η κοιλότητα του οποίου δημιουργεί το σύστημα κοιλιών του κεντρικού νευρικού συστήματος. Τα επιθηλιακά κύτταρα, που καλύπτουν την εξωτερική και εσωτερική επιφάνεια του νευρικού σωλήνα (νευροεπιθήλιο), δίνουν με αλληπάληλες διαιρέσεις όλα τα νευρικά και γλοιακά κύτταρα του ΚΝΣ. Ο ρυθμός των κυτταρικών διαιρέσεων είναι ιδιαίτερα αυξημένος στα πρώτα στάδια της εμβρυϊκής ανάπτυξης αλλά δεν είναι ταυτόχρονος και δεν έχει την ίδια συχνότητα κατά μήκος του νευρικού σωλήνα. Μ' αυτόν τον τρόπο επιτυγχάνεται η δημιουργία διαφορετικών τμημάτων, που θα δώσουν αργότερα εξειδικευμένες περιοχές του ΚΝΣ. Σ' αυτά τα πρώιμα στάδια της ανάπτυξης λοιπόν, είναι ευδιάκριτες τρεις εγκεφαλικές περιοχές: ο προσθεγκέφαλος, ο μεσεγκέφαλος και ο οπισθεγκέφαλος (Σχήμα 4).



Σχήμα 4: Συνοπτική αναπαράσταση της ανάπτυξης του εγκεφάλου, από το στάδιο των 3 κυστιδίων (Α) μέχρι αυτό των 5 κυστιδίων (Γ), οπότε αρχίζουν και διακρίνονται περισσότερες, καλύτερα ανεπτυγμένες δομές (Μπέης Ι. Δ., 1989).

Σε μεταγενέστερα στάδια της εμβρυϊκής ανάπτυξης νευρογένεση παρατηρείται κυρίως σε περι- και παρακοιλιακές περιοχές του εγκεφάλου. Γέννηση νέων κυττάρων όμως παρατηρείται και στις μήνιγγες, που περιβάλλουν τον εγκέφαλο, καθώς επίσης και στο χοριοειδές πλέγμα, που επενδύει τα τοιχώματα των κοιλιών. Στις δύο τελευταίες περιπτώσεις τα νεογεννηθέντα κύτταρα δεν είναι νευροβλάστες αλλά αγγειοβλάστες και εκκριτικά κύτταρα αντίστοιχα.

Φαίνεται λοιπόν πως το νευροεπιθήλιο των κοιλιών είναι ο κύριος και σε πολλές περιπτώσεις ο μόνος τύπος γέννησης νέων νευρικών ή γλοιακών κυττάρων. Τα κύτταρα των περι- και παρακοιλιακών αυτών ζωνών μένουν σε μεγάλο βαθμό αδιαφοροποίητα και διατηρούν την ικανότητα διαίρεσης, σε ιχθύες και αμφίβια (Fritz A. et al, 1996), ακόμη και κατά την ενήλικη ζωή, ενώ στα ερπετά (Puez-Canellas et al, 1997), πτηνά (Ling C. et al, 1997; Alvarez-Buylla A., 1990; Alvarez-Buylla A. et al, 1990) και θηλαστικά (Doetsch F. et al, 1997; Lois C. et al, 1993) λίγα μόνο κύτταρα διατηρούν την ικανότητα πολλαπλασιασμού μετά την ολοκλήρωση της εμβρυϊκής ανάπτυξης.

Ίσως ένα από τα πιο εντυπωσιακά χαρακτηριστικά του κυτταρικού πολλαπλασιασμού στο ΚΝΣ είναι ο χωροχρονικός του σχεδιασμός. Συγκεκριμένοι νευρώνες γεννιούνται μια συγκεκριμένη χρονική περίοδο ανάλογα με την τελική τους θέση. Κλαστικό παράδειγμα αποτελεί ο φλοιός του εγκεφάλου των θηλαστικών, στον οποίο τα κύτταρα της VI στοιβάδας γεννιούνται πρώτα, ενώ τα κύτταρα των υπερκείμενων, επιφανειακών στοιβάδων γεννιούνται διαδοχικά σε μεταγενέστερο χρόνο (Lois C. et al, 1996; Polleux F. et al, 1997). Δεδομένου ότι κάθε περιοχή παρουσιάζει ιδιαιτερότητες όσον αφορά την ανάπτυξη της και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων που την αποτελούν, είναι δύσκολο να γενικευτεί ένα συγκεκριμένο πρότυπο γέννησης νέων κυττάρων.

Σύμφωνα με τα έως τώρα δεδομένα δεν έχει παρατηρηθεί νευρογένεση σε ενήλικα πρωτεύοντα (Rakic P., 1985) αν και πρόσφατες μελέτες υποστηρίζουν ότι ο αριθμός των νευρώνων στον ανθρώπινο φλοιό αυξάνεται σημαντικά μέχρι και τον έκτο χρόνο της ζωής (Shankle W. R. et al, 1998). Στα υπόλοιπα θηλαστικά έχει παρατηρηθεί, σε χαμηλά επίπεδα, μετεμβρυϊκή νευρογένεση σε λίγες μόνο περιοχές (Corotto F. S. et al, 1993; Kaplan M. S., 1981). Αντίθετα στα υπόλοιπα σπονδυλωτά (πτηνά, ερπετά και αμφίβια) παρατηρείται έντονη νευρογένεση και γλοιογένεση, η οποία εξακολουθεί να υφίσταται, σε συγκεκριμένες εγκεφαλικές περιοχές, για μεγάλα χρονικά διαστήματα (Polenov A. L. et al, 1993; Schmidt M., 1997; Arai O. et al, 1995; Goldman S. A. et al

1983). Μελέτες σε ενήλικους ιχθύες και συγκεκριμένα τελεόστεους έχουν δείξει ότι η σημαντική αύξηση του μεγέθους του εγκεφάλου, οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στη δημιουργία νέων νευρώνων. Σε συγκεκριμένες εγκεφαλικές περιοχές υπάρχουν συσσωματώματα αδιαφοροποίητων, μιτωτικά ενεργών κυττάρων, που θεωρούνται πρόγονοι νευρικών και γλοιακών κυττάρων (Raymond P. A. et al, 1983; Alonso J. R. et al, 1989; Birse S. C. et al, 1980; Zupanc G. K. H. et al, 1995). Το δυναμικό γέννησης νέων κυττάρων που επιδεικνύουν τα ψάρια έρχεται σε συμφωνία με την ικανότητα αναγέννησης ώριμων νευρώνων και των αξόνων τους μετά από τραυματισμό (Stevenson J. A. et al, 1980).

ΜΕΘΟΔΟΙ ΜΕΛΕΤΗΣ ΤΗΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Ο κύκλος της ζωής ενός κυττάρου χωρίζεται σε τέσσερις φάσεις: G1, S, G2 και M (Takahashi T. et al, 1993). Το κύτταρο, μέσα από βιοχημικές διεργασίες, προετοιμάζεται κατάλληλα για την ομαλή μετάβαση από το ένα στάδιο στο άλλο, με απώτερο στόχο την επιτυχή ολοκλήρωση της κυτταρικής διαίρεσης. Το μεγαλύτερο μέρος του κυτταρικού κύκλου καταλαμβάνει η μεσόφαση, που αποτελείται από τις φάσεις G1, S και G2. Κατά τη διάρκεια της φάσης G1, το κύτταρο παράγει όλα τα απαραίτητα μόρια, που θα του επιτρέψουν να εισέλθει στη φάση S, φάση διπλασιασμού του γενετικού του υλικού (Lanskey A. R. et al, 1989). Ακολουθεί η φάση G2 κατά τη διάρκεια της οποίας έχουμε τη δημιουργία όλων εκείνων των μορίων και οργανιδίων, που είναι απαραίτητα για την επιβίωση των θυγατρικών κυττάρων. Στη φάση M, που είναι και η μικρότερη σε διάρκεια, γίνεται η μίτωση του κυττάρου.

Καλή γνώση των γεγονότων που διαδραματίζονται σε κάθε φάση του κύκλου αλλά κυρίως των μορίων που χρησιμοποιούνται και παράγονται, είναι απαραίτητη για τη σωστή και σε βάθος μελέτη του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Οι μέθοδοι, που αναφέρονται επιγραμματικά παρακάτω, έχουν επικρατήσει τα τελευταία χρόνια στην προσπάθεια μελέτης του πολλαπλασιασμού των κυττάρων σε διάφορους ιστούς ακόμη και σε παθολογικές καταστάσεις (μελέτη ρυθμού αύξησης όγκων), (Yu C. C. W. et al, 1991).

Μέθοδος ιστοχημικής σήμανσης οργανωτών του πυρηνίσκου (Crocker J. 1989).

Οι πυρηνικοί οργανωτές είναι περιοχές του DNA, που σχηματίζουν ριβοσωμικό RNA και πρωτεΐνες που σχετίζονται με αυτό (AgNORs), κατά τη διάρκεια της φάσης G2. Η σήμανση επιτυγχάνεται με χρώσεις αργύρου, που αντιδρούν με αυτές τις πρωτεΐνες.

Μέθοδος Ki67 (Gerdes J. et al, 1983).

Πρόκειται για ένα μονοκλωνικό αντίσωμα, που αναγνωρίζει ένα πυρηνικό αντιγόνο, το οποίο εκφράζεται σε όλες τις φάσεις του κυτταρικού κύκλου, εκτός από την αρχή της φάσης G1 και τα κύτταρα, που δεν διαιρούνται. Η ποσότητα του αντιγόνου αυτού φτάνει στα μέγιστα επίπεδά της στις φάσεις G2 και M του κύκλου.

Μέθοδος PCNA (proliferating cell nuclear antigen).

Το αντιγόνο PCNA είναι μια πυρηνική πρωτεΐνη, βασική για τη σύνθεση του DNA. Βρίσκεται σε όλα τα κύτταρα αλλά εκφράζεται σε μεγάλες συγκεντρώσεις σ' αυτά που είναι μιτοτικά ενεργά, Μονοκλωνικά αντισώματα, για τον παράγοντα αυτό, κατασκευάστηκαν πρόσφατα (Waseem N. H. et al, 1990) και έχουν χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για τη μελέτη καρκινωμάτων.

Μέθοδος τριτιωμένης θυμιδίνης (Leblond C. P. et al, 1959).

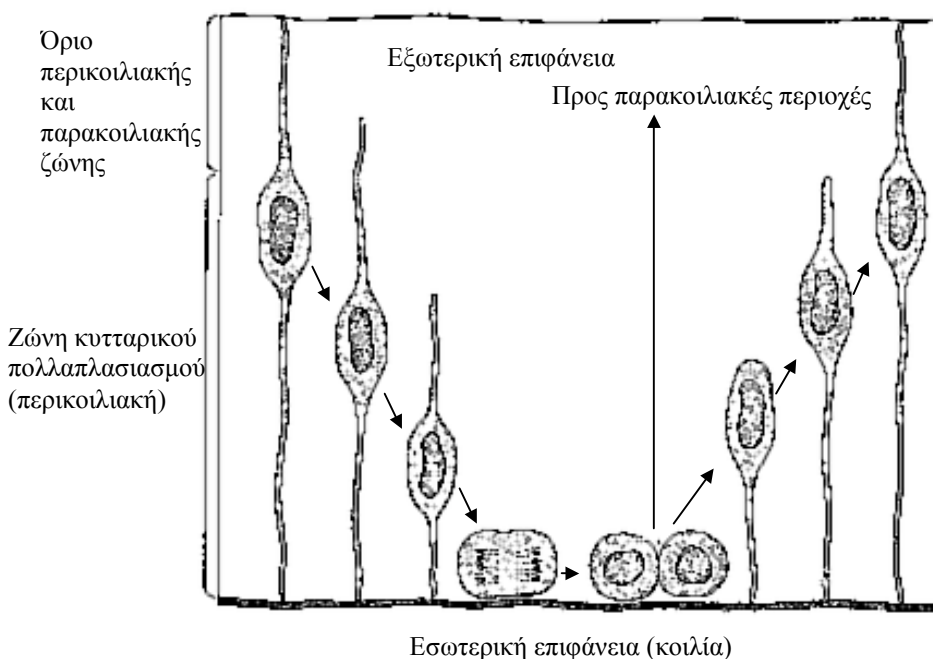
Πρόκειται για μέθοδο αυτοραδιογραφίας, που έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως για τη μελέτη του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, μετανάστευσης και διαφοροποίησης. Βασίζεται στην ενσωμάτωση τριτιωμένης θυμιδίνης στο DNA κυττάρων, που βρίσκονται στη φάση S του κυτταρικού τους κύκλου. Ακολουθεί έκθεση τομών του ιστού σε φιλμ ευαίσθητο στην ακτινοβολία του τριτίου και χαρτογράφηση της αμαύρωσης του φιλμ (θετικά σημασμένα κύτταρα) μετά την εμφάνισή του.

Μέθοδος βρωμοδεοξουριδίνης (Trent J. M. et al, 1986).

Πρόκειται για πρόσφατη ανοσοϊστοχημική μέθοδο, για τη σήμανση μιτοτικά ενεργών κυττάρων. Αυτό επιτυγχάνεται με τη χορήγηση ενός αναλόγου της θυμιδίνης, την 5-βρώμο-2-δεοξουριδίνη (BrdU), η οποία ενσωματώνεται στο DNA κυττάρων που βρίσκονται στη φάση S, φάση διπλασιασμού του γενετικού τους υλικού, λίγο πριν αρχίσει η μίτωση. Λεπτομερής ανάλυση της μεθόδου αυτής, που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη, γίνεται στο κεφάλαιο της μεθόδου, ενώ τα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματά της αναφέρονται στη συζήτηση.

ΜΕΤΑΝΑΣΤΕΥΣΗ ΚΑΙ ΤΕΛΙΚΗ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΟ ΚΕΝΤΡΙΚΟ ΝΕΥΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

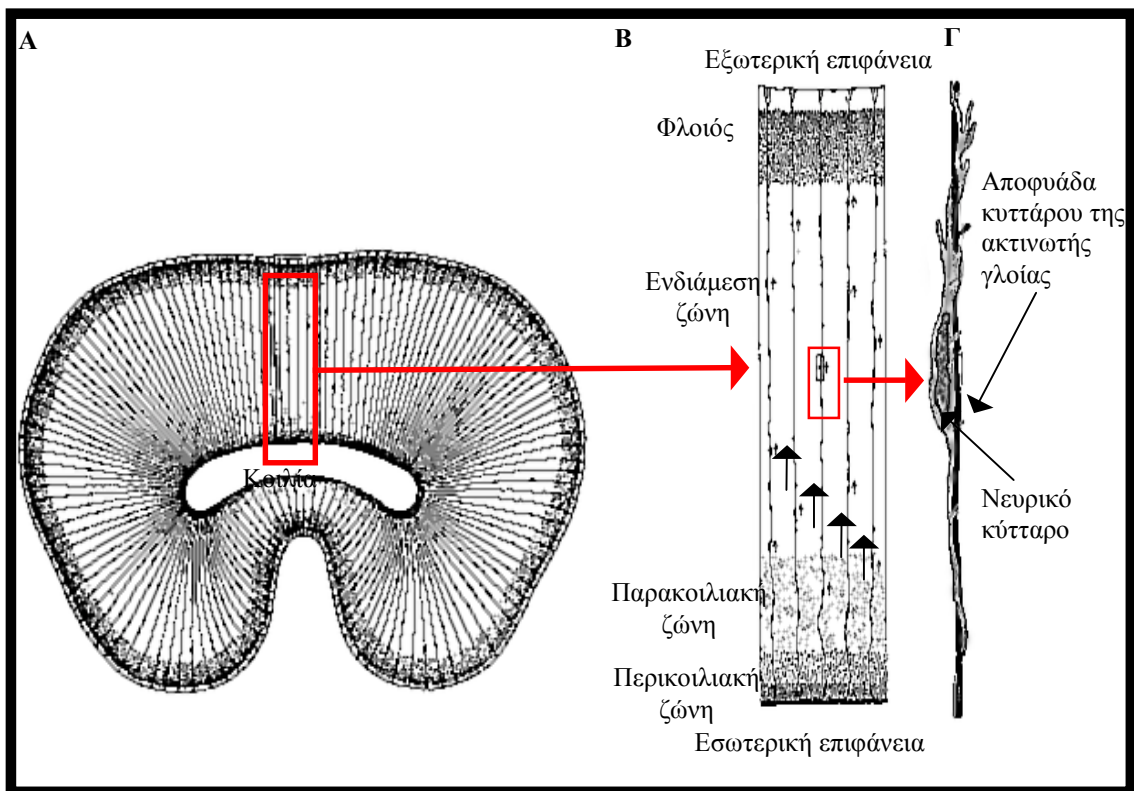
Μετά την ολοκλήρωση της κυτταρικής διαίρεσης τα περισσότερα πρόδρομα νευρικά και κάποια γλοιακά κύτταρα, μεταναστεύουν μακριά από τις ζώνες πολλαπλασιασμού, ώστε να καταλάβουν τις τελικές τους θέσεις (Alvarez-Buylla A., 1990), (Σχήμα 5). Μικρός αριθμός νευρώνων σε συγκεκριμένες εγκεφαλικές περιοχές, όπως το νεοραβδωτό σώμα και η οδοντωτή έλικα, δεν μεταναστεύουν (Gray W. P. et al, 1998; Lim D. A. et al, 1997; Lois C. et al, 1994). Διαφορετικές ομάδες νευροβλαστών μεταναστεύουν σε διαφορετικές φάσεις της ζωής τους. Κάποια κύτταρα μεταναστεύουν πριν και κάποια αφού εκτείνουν τους άξονές τους. Με τη μετανάστευση επιτυγχάνονται δύο στόχοι: καθορίζεται η ταυτότητα κάποιων νευρώνων, καθώς επίσης η λειτουργία και οι μελλοντικές συνδέσεις τους.



Σχήμα 5: Αδιαφοροποίητα κύτταρα, που βρίσκονται στην περικοιλιακή ζώνη ή νευροεπιθήλιο και είναι σε άμεση επαφή με την κοιλία, διαιρούνται και μεταναστεύουν προς παρακοιλιακές περιοχές του εγκεφάλου (Rodolfo R. Llinas, 1990).

Τα ερεθίσματα για την έναρξη της μετανάστευσης δεν έχουν ακόμη καθοριστεί, φαίνεται όμως ότι το τέλος της κυτταρικής διαίρεσης δεν δίνει το έναυσμα για μετανάστευση, εφόσον αρκετά κύτταρα μεταναστεύουν πολύ μετά την ολοκλήρωση της μίτωσης. Σε πολλές περιοχές του εγκεφάλου η μετακίνηση των νευρώνων εξαρτάται και υποβοηθείται από κύτταρα της ακτινωτής γλοίας (Kandel E. R. et al, chapter 58,

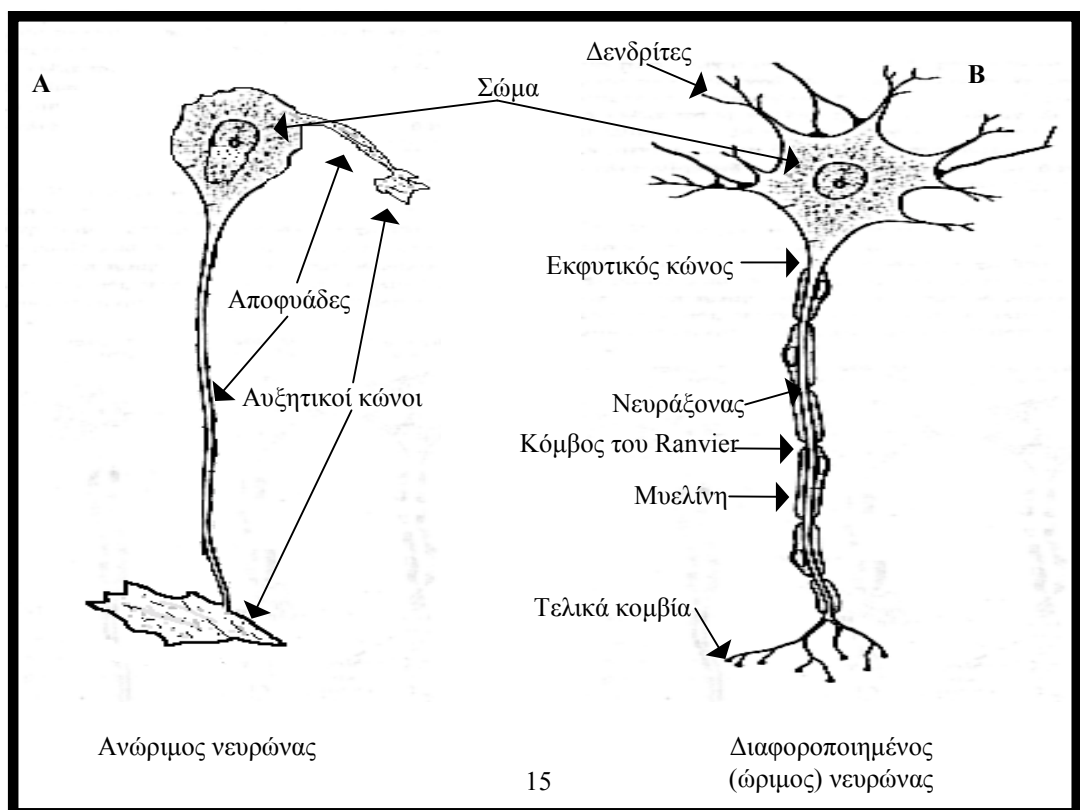
1991). Οι αποφυάδες των κυττάρων αυτών χρησιμεύουν σαν ράγες για τη μετακίνηση των νευρώνων (Σχήμα 6). Σε έμβρυα ποντικού με τη μετάλλαξη *weaver*, όπου τα γλοιακά αυτά κύτταρα δεν διατάσσονται σωστά, κοκκώδη κύτταρα της παρεγκεφαλίδας δεν μπορούν να μεταναστεύσουν στις εσωτερικές στοιβάδες (Rakic P. et al, 1973). Πρέπει να τονιστεί ότι υπάρχουν σίγουρα και άλλοι τρόποι καθοδήγησης της μετανάστευσης νευροβλαστών, εφόσον τα νέα κύτταρα μεταναστεύουν σε περιοχές, όπου δεν υπάρχουν οργανωμένα γλοιοκύτταρα (O' Rourke N. A. et al, 1997; Wichterle H. et al, 1997). Πιθανότατα γλυκοπρωτείνες του εξωκυττάριου χώρου, όπως η λαμινίνη και η φιμπρονεκτίνη, αλληλεπιδρώντας με ουσίες όπως οι ιντεγκρίνες, παίζουν κάποιο ρόλο στην καθοδήγηση των νευροβλαστών.



Σχήμα 6: Εγκάρσια διατομή εμβρυϊκού εγκεφάλου πρωτεύοντος, στο επίπεδο των ημισφαιρίων (Α). Μεγέθυνση, στην οποία φαίνεται η πορεία των νεογεννηθέντων κυττάρων, από την περικοιλιακή ζώνη (τόπος γέννησης) προς τον φλοιό του εγκεφάλου (Β). Μεγέθυνση κυττάρου, που μετακινείται πάνω σε αποφυάδα κυττάρου της ακτινωτής γλοίας (Γ), (Rodolfo R. Llinas, 1990).

Μόλις τα κύτταρα φτάσουν στην τελική τους θέση, αναγνωρίζουν άλλα κύτταρα και σχηματίζουν ομάδες. Η αναγνώριση και σύνδεση δύο νευρώνων γίνεται με τη βοήθεια ειδικών μακρομορίων (σημαντών), που βρίσκονται στην επιφάνεια κάθε κυττάρου (Hoffarth R. M. et al, 1995; Bhat K. M., 1998). Επιπλέον ο αυξητικός κώνος, που βρίσκεται στην άκρη κάθε νευράξονα, καθοδηγεί την επιμήκυνση των αξόνων

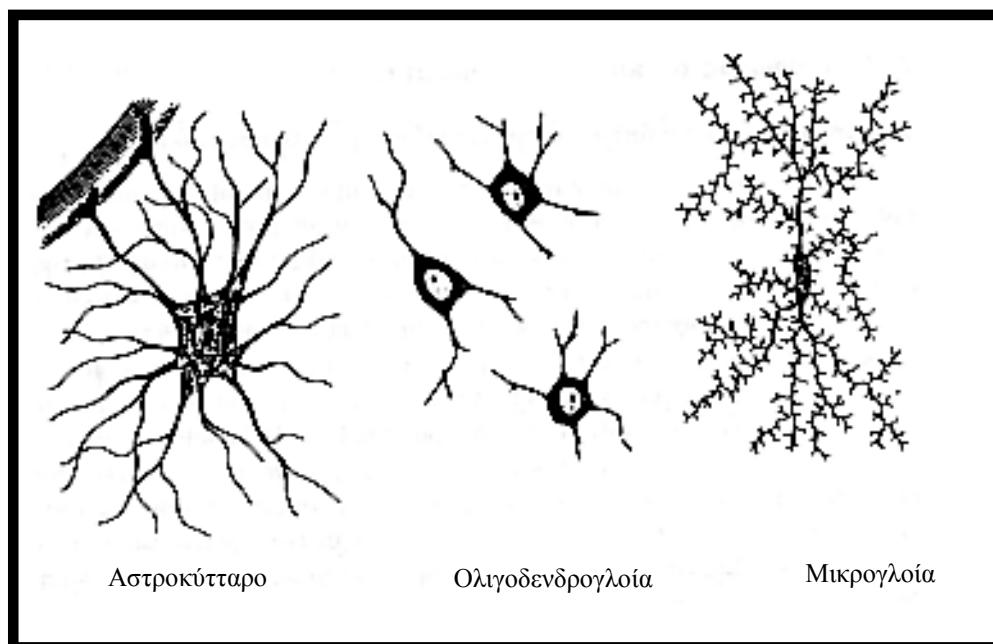
(Σχήμα 7). Η μετακίνηση των αξόνων γίνεται χημειοτακτικά, πάνω σε καθορισμένα μονοπάτια (Dodd J. et al, 1988; Mc Connell S. K., 1995). Διάφορα γλυκοπρωτεϊνικά μόρια σχηματίζουν διαβαθμίσεις συγκέντρωσης, με αποτέλεσμα την προσέλκυση ή απώθηση των αξόνων ή των κυττάρων (Keynes R. et al, 1995). Τρεις ομάδες τέτοιων μορίων έχουν αναγνωρισθεί μέχρι σήμερα. Πρώτα βρέθηκαν μέλη της υπερ-οικογένειας των ανοσοσφαιρινών, με κύριο εκπρόσωπο το μόριο σύνδεσης νευρικών κυττάρων (NCAM) (Rousselot P. et al, 1994; Shariful Islam A. T. et al, 1998). Η δεύτερη οικογένεια είναι αυτή των καδερινών (caderins) (Ganzler S. I. I. et al, 1995), η οποία παίζει σημαντικό ρόλο στη σύνδεση νευρώνων, εφόσον εκπρόσωποί της, όπως η N-καδερίνη (N-caderin), παραμένουν στα κύτταρα ακόμη και μετά τη διαφοροποίησή τους. Τέλος υπάρχουν και οι ιντεγκρίνες (integrins), που συνδέουν νευρικά κύτταρα με άλλες πρωτεΐνες στον εξωκυττάριο χώρο. Οι δύο πιο σημαντικές εξωκυττάρια γλυκοπρωτεΐνες, που αλληλεπιδρούν με ιντεγκρίνες, είναι η φιβρονεκτίνη (fibronectin) και η λαμινίνη (laminin). Η κονεξίνη (connexin) και οι νετρίνες (netrins) είναι ελκτικά μόρια (Goodman, 1994), που μπορούν όμως να δρουν και απωθητικά, ανάλογα με τη θέση στην οποία εκφράζονται. Τέλος γνωστά απωθητικά μόρια είναι οι σεμαφορίνες (semaforins), (Kolodkin, 1996), οι οποίες μπορεί να είναι είτε εκκρινόμενες είτε διαμεμβρανικές. Η ύπαρξη πληθώρας τέτοιων μορίων προσδίδει ιδιαίτερα χαρακτηριστικά σε ομάδες νευρώνων, διευκολύνοντας την αναγνώριση και σύνδεσή τους.



Σχήμα 7: Προεκβολές (αυξητικοί κώνοι) στα άκρα αποφυάδων ανώριμου νευρώνα (A). Πλήρως διαφοροποιημένος νευρώνας με ένα μυελινωμένο νευράξονα και ευρύ δενδριτικό πεδίο (B). Τα τελικά κομβία διαβιβάζουν και οι δενδρίτες δέχονται πληροφορίες (νευρικές ώσεις), μέσω συνάψεων.

Τα νεογεννηθέντα κύτταρα συχνά υπόκεινται σε μια σειρά αλλαγών, λίγο μετά τη δημιουργία τους και για αρκετά μεγάλο διάστημα, με αποτέλεσμα τη διαφοροποίησή τους. Ο σχηματισμός των αποφυάδων και η χαρακτηριστική μορφολογία των κυττάρων, όπως επίσης η δημιουργία κυτταρικών μηχανισμών για τη μεταβίβαση σημάτων, συνιστούν τυπικά χαρακτηριστικά της διαφοροποίησης των νευρώνων (Bauer U. M. et al, 1997). Αν και σε πολλές περιπτώσεις η ταυτότητα ενός νευρώνα είναι γενετικά προκαθορισμένη, γνωρίζουμε ότι στα σπονδυλωτά, τοπικοί περιβαλλοντικοί παράγοντες, παίζουν κυρίαρχο ρόλο. Σ' αυτούς συμπεριλαμβάνονται οι αλληλεπιδράσεις γειτονικών κυττάρων και η παρουσία ή απουσία συγκεκριμένων ουσιών (Kandel E. R. et al, chapter 57, 1991).

Πολύ λιγότερα γνωρίζουμε για τη διαφοροποίηση των γλοιακών κυττάρων (Σχήμα 8), (Lillien E. L. et al, 1990). Δεν έχει ξεκαθαριστεί ακόμη αν τα ολιγοδενδροκύτταρα και τα αστροκύτταρα, προέρχονται από κοινά πρόδρομα κύτταρα και, αν κάτι τέτοιο ισχύει, πότε γίνεται ο διαχωρισμός. Πολλά ερωτηματικά υπάρχουν, όσον αφορά την προέλευση της μικρογλοίας (μακροφάγα του αίματος ή νευροεπιθηλιακά κύτταρα;). Πρόσφατα η παρασκευή και διάθεση αντισωμάτων κατά της όξινης, ινώδους γλοιακής πρωτεΐνης (GFAP), επέτρεψε την αναγνώριση πρόδρομων αστροκυττάρων στο νευροεπιθήλιο, όμως κάτι παρόμοιο δεν έχει γίνει για τους υπόλοιπους τύπους γλοίας (Krueger B. K. et al, 1995).



Σχήμα 8: Τύποι νευρογλοιακών κυττάρων. Τα κύτταρα αυτά, σε συνδυασμό με τα επίσης γλοιακά κύτταρα του Schwann (σχηματίζουν το κάλυμμα μυελίνης γύρω από το νευράξονα, βλ. σχήμα 7, Β), προστατεύουν και στηρίζουν τα νευρικά κύτταρα. Επιπρόσθετα παίζουν σημαντικό ρόλο στην επιδιόρθωση / αναγέννηση νευρώνων και νευραξόνων, μετά από τραυματισμό, καθώς επίσης και στη διατροφή τους.

Μόλις καθοριστεί πλήρως η ταυτότητα ενός κυττάρου στο νευρικό σύστημα, πολύπλοκες αλλά πολύ ακριβείς συνδέσεις αρχίζουν να σχηματίζονται (Kandel E. R. et al, chapter 59, 1991).

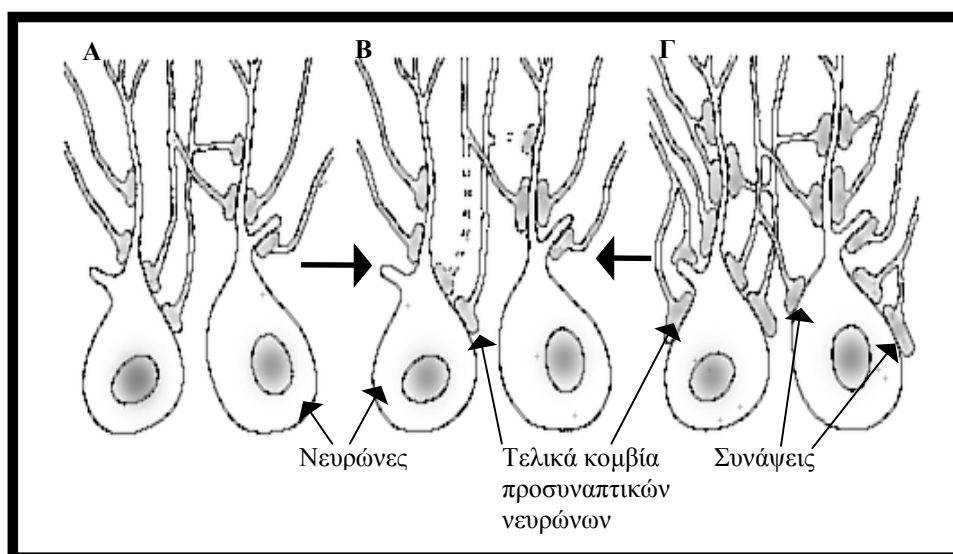
ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΘΑΝΑΤΟΣ ΣΤΟ ΚΕΝΤΡΙΚΟ ΝΕΥΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Η ανάπτυξη του νευρικού συστήματος δεν χαρακτηρίζεται μόνο από μηχανισμούς πολλαπλασιασμού του αριθμού των κυττάρων αλλά και από φαινόμενα προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (απόπτωση) και εκφυλισμού συνάψεων (Burek M. J. et al, 1996). Τα φαινόμενα αυτά έχουν παρατηρηθεί στα νευρικά συστήματα όλων των οργανισμών, που έχουν εξεταστεί μέχρι σήμερα και τα κύτταρα που τελικά πεθαίνουν κυμαίνονται μεταξύ του 15-85% του συνόλου των κυττάρων, ανάλογα με τον οργανισμό και την περιοχή του εγκεφάλου (Morshead C. M. et al, 1992; Pittman N. R. et al, 1994). Κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης, ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος (απόπτωση) παρατηρείται όταν σχηματίζονται συνάψεις μεταξύ των νευρώνων και η διάρκειά του είναι σχετικά μικρή. Πιθανότατα

παράγοντες, που βρίσκονται στην περιοχή τερματισμού (στόχο) του άξονα ενός κυττάρου, καθορίζουν το αν αυτό το κύτταρο θα επιβιώσει ή όχι. Πειράματα όπου καταστράφηκαν περιοχές, με τις οποίες κάποιοι νευρώνες συνάπτονται, οδήγησαν στο θάνατο των νευρώνων αυτών. (Oppenheim R. W., 1991). Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι το φαινόμενο της απόπτωσης δεν περιορίζεται στα νευρικά κύτταρα αλλά εμφανίζεται και στα κύτταρα της γλοίας (Kueger B. K., et al, 1995).

Παρατήρηση νευρώνων, στην οπτική καλύπτρα κυρίως, αποκάλυψε ότι πολλά κύτταρα συνάπτονται με περισσότερους άξονες, στα αρχικά στάδια της ζωής τους, απ' ότι αφού ωριμάσουν (Σχήμα 9). Δεν είναι ακόμη γνωστός ο παράγοντας, που καθορίζει ποιες συνάψεις θα παραμείνουν λειτουργικές και ποιες θα εξαλειφθούν, ακόμη και αν αυτές οι συνάψεις προέρχονται από τον ίδιο άξονα. Σίγουρο θεωρείται ότι δεν αφορά μόνο το μετασυναπτικό κύτταρο στόχο, εφόσον συχνά νέες συνάψεις σχηματίζονται τη στιγμή που κάποιες άλλες απενεργοποιούνται, στον ίδιο νευρώνα.

Συμπερασματικά μπορούμε να πούμε ότι αρχικά στο νευρικό σύστημα υπάρχει υπερβολική παραγωγή κυττάρων τα οποία μπορούν και σχηματίζουν περισσότερες συνάψεις απ' όσες πραγματικά χρειάζονται. Ο ανταγωνισμός των κυττάρων για τη δημιουργία συνάψεων ή πιθανότερα για τροφικούς παράγοντες και η ποιότητα και ποσότητα των μεταβιβαζόμενων πληροφοριών, καθορίζουν ποια κύτταρα και συνάψεις θα παραμείνουν τελικά. Οι μηχανισμοί αυτοί έχουν ως στόχο την εξισορρόπηση και σταθεροποίηση των κυτταρικών πληθυσμών στο νευρικό σύστημα (Raff M. et al, 1993) και σε συνδυασμό με τη νευρογένεση αυξάνουν την πλαστικότητα του συστήματος, δηλαδή την ικανότητα αλλαγής και επιδιόρθωσης των νευρικών κυκλωμάτων.



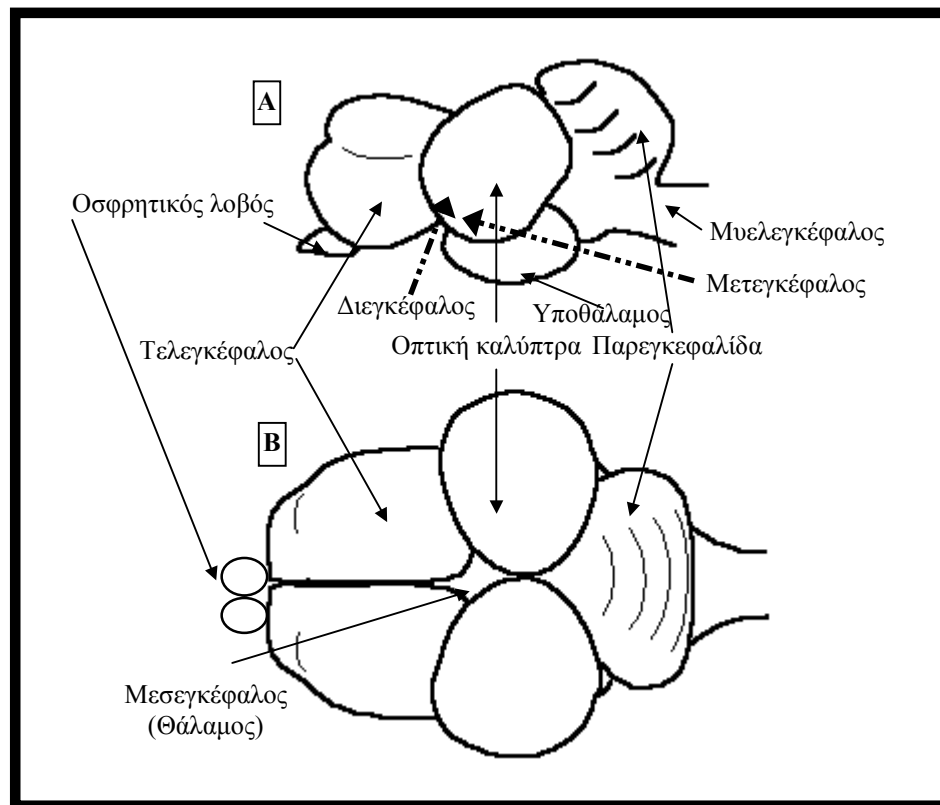
Σχήμα 9: Αρχικά οι νέοι νευρώνες σχηματίζουν περισσότερες συνάψεις απ' όσες πραγματικά χρειάζονται (Α και Γ). Τελικά ο ανταγωνισμός των κυττάρων για τη δημιουργία συνάψεων ή για τροφικούς παράγοντες, οδηγούν σε μείωση του αριθμού των συνάψεων (Β).

ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΜΟΣ ΜΕ ΤΗΝ ΟΝΤΟΓΕΝΕΣΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ

Η τσιπούρα (*Sparus aurata*) είναι ένα βενθοπελαγικό είδος, που ανήκει στην οικογένεια των Σπαροειδών και παρουσιάζει ευρεία γεωγραφική εξάπλωση και μεγάλη εμπορική αξία (Divanach P. et al, 1993). Η τσιπούρα ανήκει στην κατηγορία των ερμαφρόδιτων ειδών, εφόσον ένα σημαντικό ποσοστό των ενήλικων ατόμων αναπτύσσουν και τα δύο φύλα διαδοχικά κατά τη διάρκεια διαφορετικών περιόδων της ζωής τους. Τα άτομα αυτά λειτουργούν αρχικά ως αρσενικά και στη συνέχεια αλλάζουν φύλο και γίνονται θηλυκά (πρωτανδρία). Πρόσφατες μελέτες, που έγιναν σε έμβρυα και νεαρά άτομα του είδους (Mancera J. M. et al, 1995) αλλά και σε συγγενικά είδη όπως το *Pagrus major* (Toyoda J. et al, 1994) και το *Pagrus pagrus* (Ζηκόπουλος Β., Κεντούρη Μ., 2⁰ Rotation, 1998, μη δημοσιευμένο υλικό), έδειξαν ότι δεν υπάρχουν ιδιαίτερες διαφορές στην ανάπτυξη του εγκεφάλου των ειδών αυτών και γενικότερα στην εμβρυϊκή τους ανάπτυξη, τουλάχιστον όσον αφορά άτομα που μεγάλωσαν σε συνθήκες εκτροφής.

Οι παραπάνω παρατηρήσεις επιτρέπουν την παραδοχή ενός μοντέλου της

ανάπτυξης και μορφογένεσης του εγκεφάλου της τσιπούρας. Την πρώτη κιόλας μέρα μετά την εκκόλαση διακρίνονται στον εγκεφαλο πέντε περιοχές: ο τελεγκέφαλος, ο διεγκέφαλος, ο μεσεγκέφαλος, ο μετεγκέφαλος και ο μυελεγκέφαλος. Οι νεαρές νύμφες στηρίζονται στην όρασή τους από την πρώτη κιόλας μέρα, που προσλαμβάνουν τροφή από το περιβάλλον. Οι υπόλοιπες αισθήσεις και τα κέντρα ελέγχου τους αναπτύσσονται πολύ αργότερα, και συμπίπτουν με αλλαγές στον τρόπο κολύμβησης. Την ίδια περίοδο αναπτύσσονται και κινητικές εγκεφαλικές περιοχές, όπως η παρεγκεφαλίδα. Μετά το τέλος αυτής της περιόδου έντονων αλλαγών του τρόπου ζωής των ιχθυδίων, η μορφογένεση του εγκεφάλου έχει ολοκληρωθεί (Σχήμα 10) και το μόνο που παρατηρείται είναι αύξηση του μεγέθους του εγκεφάλου καθ' όλη τη διάρκεια της αύξησης του μεγέθους του ψαριού, μέχρι το θάνατό του.



Σχήμα 10: Μορφή του εγκεφάλου της τσιπούρας. A: Πλάγια άποψη, B: Ραχιαία άποψη. Τα διακεκομμένα βέλη χρησιμοποιούνται για περιοχές, που βρίσκονται στο εσωτερικό του εγκεφάλου και δεν φαίνονται στο σχήμα.

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η παρούσα μελέτη είχε ως στόχο τη λεπτομερή χαρτογράφηση των περιοχών γέννησης νέων κυττάρων στον εγκέφαλο τσιπούρας (*Sparus aurata*) κατά τη διάρκεια του πρώτου (0+), δεύτερου (1+) και τρίτου (2+) έτους ζωής, καθώς και την ποσοτική και ποιοτική ανάλυση των δεδομένων. Για την κατανόηση της ανάπτυξης του κεντρικού νευρικού συστήματος των τελεόστεων και την υιοθέτηση ή απόρριψη ενός γενικού αναπτυξιακού μοντέλου, έγινε σύγκριση των αποτελεσμάτων με δεδομένα αντίστοιχων εργασιών σε άλλα είδη τελεόστεων.

Η μελέτη των ζωνών πολλαπλασιασμού έγινε με την εφαρμογή της ανοσοϊστοχημικής μεθόδου BrdU, σημαίνοντας τα κύτταρα που μόλις διαιρέθηκαν και παρά το γεγονός ότι δεν μπορεί να δώσει οριστικές απαντήσεις, για τη μοίρα των νεογεννηθέντων κυττάρων, μια συμπληρωματική σειρά πειραμάτων έγινε για την παρακολούθηση της μετανάστευσης και εγκατάστασης των κυττάρων αυτών στις τελικές τους θέσεις.

Η βασική γνώση μηχανισμών ανάπτυξης του εγκεφάλου αποτελεί αναγκαία προϋπόθεση για τη μελέτη του είδους, τόσο στο φυσικό περιβάλλον όσο και σε συνθήκες ιχθυοκαλλιέργειας και τη διερεύνηση σημαντικών μηχανισμών όπως η αλλαγή του φύλου. Εδώ και αρκετά χρόνια το είδος εκτρέφεται με επιτυχία, σε παγκόσμια κλίμακα, με τις ελληνικές μονάδες ιχθυοκαλλιέργειας να παίζουν πρωτεύοντα ρόλο. Επόμενο είναι να έχει γίνει συστηματική μελέτη του τρόπου ζωής πληθυσμών τόσο στο φυσικό περιβάλλον όσο και σε συνθήκες εντατικής ιχθυοκαλλιέργειας (Divanach et al, 1993). Το γεγονός αυτό διευκολύνει τη σύνδεση της λειτουργίας του εγκεφάλου με τον τρόπο ζωής και τη φυσιολογική κατάσταση του οργανισμού. Με βάση αυτό το σκεπτικό επιλέχθηκε ο συγκεκριμένος τελεόστεος για τη μελέτη.

ΜΕΘΟΔΟΣ

ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΤΗΣ ΒΡΩΜΟΔΕΟΞΥΟΥΡΙΔΙΝΗΣ

Η μέθοδος της βρωμοδεοξουριδίνης στηρίζεται στην ενσωμάτωση ενός αναλόγου της θυμιδίνης, της 5-βρωμο-2-δεοξουριδίνης (BrdU), στη νεοσυντεθείσα έλικα του DNA κυττάρων, που βρίσκονται στη φάση S του κυτταρικού τους κύκλου. Τα κύτταρα, που εισέρχονται σ' αυτή τη φάση διπλασιασμού του γενετικού τους υλικού, συνεχίζουν οπωσδήποτε (εκτός απροόπτου) στην επόμενη φάση της μίτωσης. Από τη στιγμή που η βρωμοδεοξουριδίνη θα ενσωματωθεί στο γενετικό υλικό του κυττάρου, μεταβιβάζεται και σημαίνει τα θυγατρικά κύτταρα, που προκύπτουν μετά από κάθε διαίρεση.

Πρόσφατα αναπτύχθηκαν μονοκλωνικά αντισώματα για τη βρωμοδεοξουριδίνη (Gratzner H. G., 1982; Morstyn G. et al, 1983) με αποτέλεσμα σήμερα η μέθοδος να χρησιμοποιείται ευρέως. Τα τελευταία χρόνια η μέθοδος έχει κυριαρχήσει στη μελέτη του πολλαπλασιασμού καρκινικών κυττάρων (Wilson G. D. et al, 1988) αλλά και του πολλαπλασιασμού κυττάρων σε άλλα συστήματα εμβρύων ή ενήλικων ατόμων. Συγκεκριμένα όσον αφορά το κεντρικό νευρικό σύστημα, έχουν επιβεβαιωθεί ή ανασκευαστεί αναπτυξιακά πρότυπα (Takahashi T. et al, 1993), έχει μελετηθεί η μετανάστευση νευρικών κυττάρων (Miller M. W. et al, 1988) και η επιβιωσιμότητα μεταμοσχευμένων νευρικών κυττάρων (Cattaneo E. et al, 1994).

Η μέθοδος της βρωμοδεοξουριδίνης είναι έμμεση, εφόσον το πρώτο αντίσωμα δεν σημαίνεται απ' ευθείας, αλλά ενώνεται με ένα δεύτερο αντίσωμα, το οποίο με τη σειρά του ενώνεται με τη χρωστική. Το πλεονέκτημα που έχουν τέτοιες έμμεσες μέθοδοι ανοσοεντοπισμού, έγκειται στο γεγονός ότι τα επιπλέον βήματα ενισχύουν την ένταση του σήματος (Bolam J. P., 1992). Στη μέθοδο αυτή, που ανήκει στην κατηγορία των συστημάτων ABC (αβιδίνη, βιοτίνη, περοξειδάση), το δεύτερο αντίσωμα αναγνωρίζει την ανοσοσφαιρίνη G του είδους στο οποίο φτιάχτηκε το πρώτο αντίσωμα και είναι σημασμένο με βιοτίνη. Το βιοτυνιλιωμένο δεύτερο αντίσωμα, ενώνεται με το πρώτο, που είναι ενωμένο με το αντιγόνο και ο εντοπισμός του συμπλόκου στηρίζεται στο γεγονός ότι η βιοτίνη δεσμεύεται με υψηλή συγγένεια από την αβιδίνη (10^{15} M^{-1}). Επειδή η συγγένεια αυτή είναι ως και ένα εκατομμύριο φορές υψηλότερη από την

αντίστοιχη συγγένεια αντισώματος-αντιγόνου, είναι ουσιαστικά μη αναστρέψιμη. Επιπλέον κάθε μόριο αβιδίνης μπορεί να δεσμεύσει τέσσερα μόρια βιοτίνης και οι περισσότερες πρωτεΐνες (συμπεριλαμβανομένων των αντισωμάτων και των ενζύμων) μπορούν να ενωθούν με πολλά μόρια βιοτίνης, με αποτέλεσμα να δημιουργούνται μακρομοριακά σύμπλοκα και να ενισχύεται η ένταση του σήματος. Το σύμπλοκο λοιπόν αβιδίνης, βιοτίνης και περοξειδάσης ενώνεται με το δεύτερο αντίσωμα, ενώ η 3, 3'-τετραυδροχλωρική διαμινοβενζιδίνη (DAB) δρα ως δότης ηλεκτρονίων κατά τη διάρκεια της διάσπασης του υπεροξειδίου, από την περοξειδάση. Σαν αποτέλεσμα η DAB πολυμερίζεται και παράγει ένα αδιάλυτο, καφέ ίζημα σημαίνοντας τα κύτταρα που είχαν ενσωματώσει το αντιγόνο (BrdU).

Όπως σε κάθε ανοσοϊστοχημική μέθοδο, η σωστή μονιμοποίηση του ιστού δεν είναι απαραίτητη μόνο για τη διατήρησή του αλλά και για την ακινητοποίηση του αντιγόνου, ώστε να διευκολύνεται η ένωσή του με το αντίσωμα. Η ενδοκαρδιακή έγχυση μονιμοποιητικού υγρού, λίγο πριν την αφαίρεση του υπό εξέταση οργάνου, βελτιώνει τη μονιμοποίηση αλλά ο κύριος ρόλος της είναι η μείωση του "θορύβου", δηλαδή της μη ειδικής χρώσης. Είναι γνωστό ότι τα ερυθροκύτταρα έχουν ενδογενή περοξειδάση και μπορούν να αντιδράσουν με το χρωμογόνο, παράγοντας μη ειδικό σήμα. Εκτός όμως από την απομάκρυνση του αίματος, η ενδοκαρδιακή έγχυση μονιμοποιητικού υγρού, καταστρέφει και άλλα ένζυμα, κυρίως καταλάσες, που μπορούν επίσης να αντιδράσουν με το χρωμογόνο. Μείωση του μη ειδικού σήματος, που οφείλεται σε μη ειδική δέσμευση του πρώτου αντισώματος, επιτυγχάνεται με καλές πλύσεις του ιστού, κυρίως με φυσιολογικό ορό του είδους από το οποίο προέρχεται το δεύτερο αντίσωμα.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ

Για τη μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 19 τελεόστεοι του είδους *Sparus aurata*. Για τον εντοπισμό νεογεννηθέντων κυττάρων χρησιμοποιήθηκαν από 5 τσιπούρες για κάθε ηλικία 0+, 1+ και 2+. Ένα επιπλέον ψάρι, από κάθε ηλικία, δεν ενέθηκε με BrdU, αλλά μόνο με φυσιολογικό ορό. Τα ψάρια αυτά χρησιμοποιήθηκαν για τον έλεγχο της μεθόδου. Τέλος μία τσιπούρα ηλικίας 0+ χρησιμοποιήθηκε για τη δημιουργία ιστολογικών παρασκευασμάτων.

ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Τελεόστει του είδους *Sparus aurata*, διαφόρων ηλικιών (0+, 1+, 2+), που εκτρέφονται στο Ινστιτούτο Θαλάσσιας Βιολογίας Κρήτης, χρησιμοποιήθηκαν σ' αυτή τη μελέτη. Στα ψάρια ενέθηκε ενδοπεριτοναϊκά διάλυμα BrdU, 0.2 mg BrdU/gr βάρους σώματος, σε φυσιολογικό ορό (0.9 % NaCl).

Τα ζώα θυσιάστηκαν μία ημέρα μετά τη χορήγηση BrdU, αφού αναισθητοποιήθηκαν σε διάλυμα 2-φαινοξυαιθανόλης (0.4ml / λίτρο) και αφού έγινε ενδοκαρδιακή έγχυση μονιμοποιητικού υγρού (4% PFA σε 0.01M PBS, pH: 7.4). Οι εγκέφαλοι και οι γονάδες αφαιρέθηκαν γρήγορα και μονιμοποιήθηκαν, για μία ακόμα νύχτα, στους 4⁰ C σε 4% PFA σε 0.01M PBS, pH: 7.4 και στη συνέχεια καταψύχθηκαν στους -40⁰ C με ισοπεντάνιο. Ακολουθώντας το ίδιο πρωτόκολλο, κάποια ζώα θυσιάστηκαν τρεις ημέρες μετά τη χορήγηση BrdU. Για την εγκάρσια διατομή των εγκεφάλων χρησιμοποιήθηκε κρυστάτης Leica και οι ελεύθερα επιπλέουσες τομές πάχους 50 μm (στους -20⁰ C) έμειναν, το πολύ για μία ώρα, σε ρυθμιστικό διάλυμα PB (0.1 M), pH: 7.4 στους 4⁰ C, μέχρι να αρχίσει η ανοσοϊστοχημική διαδικασία. Επεξεργάστηκαν μία τομή κάθε 50 μm, 100 μm και 150 μm ιστού, για τις ηλικίες 0+, 1+ και 2+, αντίστοιχα.

Για την αποδιάταξη του DNA, οι τομές τοποθετήθηκαν για 30 λεπτά (σε θερμοκρασία δωματίου) σε διάλυμα 2N HCl και αφού ξεπλύθηκαν καλά με ρυθμιστικό διάλυμα PBS 0.01 M, pH: 7.4, ακολούθησε εξουδετέρωση των μη ειδικών θέσεων δέσμευσης με διάλυμα 0.1 % BSA, 0.1 % Triton σε PBS για 10 λεπτά, σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια οι τομές επώαστηκαν με διάλυμα του πρώτου αντισώματος (anti-BrdU 1:100 σε 0.01M PBS, pH: 7.4) στους 4⁰ C, για μια νύχτα, ξεπλύθηκαν με ρυθμιστικό διάλυμα 0.01M PBS, pH: 7.4 και τοποθετήθηκαν σε διάλυμα του δεύτερου αντισώματος (βιοτινυλωμένο anti-mouse 1:200 σε 0.01M PBS, pH: 7.4), για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολούθως ξεπλύθηκαν με διάλυμα 0.1 % Triton σε 0.01M PBS, pH: 7.4 και επώαστηκαν, για 1 ώρα, στο σκοτάδι, σε θερμοκρασία δωματίου, με διάλυμα του συμπλόκου αβιδίνης-βιοτίνης-περοξειδάσης (1/50 A και 1/50 B σε διάλυμα 0.1 % Triton σε 0.01M PBS, pH: 7.4). Μετά απο δύο διαδοχικές πλύσεις με 0.01M PBS, pH: 7.4 και TBS, pH: 7.5, οι τομές αντέδρασαν με το χρωμογόνο DAB (1mg/ml ddH₂O σε τελικό διάλυμα 0.01 % DAB και 0.01 % H₂O₂) και ξεπλύθηκαν πολύ καλά με παγωμένο διάλυμα TBS, pH: 7.5, προτού τοποθετηθούν πάνω σε

ζελατιναρισμένες αντικειμενοφόρους πλάκες και αφεθούν να στεγνώσουν.

Για τη διευκόλυνση της ανάλυσης των δεδομένων και της παρατήρησης των ιστολογικών παρασκευασμάτων, οι τομές ενυδατώθηκαν και αντέδρασαν με χρώση αντίθεσης Methyl Green, (1% methyl green σε ddH₂O). Η χρώση δίνει μια ανοιχτή πράσινη απόχρωση στους πυρήνες των μη σημασμένων κυττάρων, ενώ το καφέ χρώμα των ειδικά σημασμένων κυττάρων γίνεται ακόμη πιο έντονο. Τα παρασκευάσματα τέλος αφυδατώθηκαν και καλύφθηκαν με καλυπτρίδες με τη βοήθεια Entellan.

Για την αναγνώριση και χαρτογράφηση τυχόν μη ειδικής σήμανσης, χρησιμοποιήθηκαν τομές απο όλα τα επίπεδα του εγκεφάλου, οι οποίες δεν επώαστηκαν με το πρώτο ή με το δεύτερο αντίσωμα ή με κανένα απο τα δύο αντισώματα. Επιπλέον για να ελεγχθεί η ύπαρξη ή μη ενδογενούς βιοτίνης στον εγκέφαλο των τελεόστεων αυτών, κάποιες τομές επώαστηκαν μόνο με το διάλυμα AB. Τέλος το παραπάνω πρωτόκολλο εφαρμόστηκε και σε ζώα, τα οποία ενέθηκαν με φυσιολογικό ορό, χωρίς BrdU (Wong-Riley M. T. T., 1976).

Η παρατήρηση των παρασκευασμάτων και η αναγνώριση των σημασμένων κυττάρων έγινε με τη βοήθεια μικροσκοπίου συνδεδεμένου με ηλεκτρονικό υπολογιστή, μέσω μιας έγχρωμης κάμερας CCD. Η ανάλυση των δεδομένων και η λήψη των εικόνων έγινε με το προαναφερθέν σύστημα και με τη βοήθεια προγραμμάτων ανάλυσης εικόνας (Scion Image PC, Adobe Photoshop 4.01). Ο όγκος, που καταλαμβάνουν τα σημασμένα κύτταρα μιας περιοχής, σε σχέση με τον όγκο της περιοχής αυτής, υπολογίστηκε σε μερικές αντιπροσωπευτικές περιοχές κάθε εγκεφάλου, με τη βοήθεια προγράμματος ανάλυσης εικόνας (Scion Image PC). Ουσιαστικά αθροίστηκε η επιφάνεια (εμβαδόν) των σημασμένων κυττάρων μιας περιοχής και διαιρέθηκε με τη συνολική επιφάνεια της περιοχής αυτής. Ο λόγος των επιφανειών ισοδυναμεί με το λόγο των όγκων (η επιφάνεια και ο όγκος είναι μεγέθη ανάλογα). Έτσι προέκυψαν τα ποσοστά, που παρουσιάζονται στους πίνακες 2 και 3.

Ένα νεαρό ζώο, ηλικίας 0+, χρησιμοποιήθηκε για τη χαρτογράφηση των διαφόρων εγκεφαλικών δομών καθώς και για την εξέταση των διαφορετικών κυτταρικών τύπων, σε κάθε περιοχή. Τα ιστολογικά παρασκευάσματα έγιναν με τη χρώση Cresyl violet (1% cresyl violet σε dd H₂O), που σημαίνει νουκλεϊκά οξέα. Αρχικά οι τομές στις αντικειμενοφόρους πλάκες ενυδατώθηκαν σε διαδοχικά διαλύματα αιθανόλης (100%, 95% και 70%) και dd H₂O, ενώ μετά την αντίδρασή τους με τη χρωστική αφυδατώθηκαν και καλύφθηκαν με καλυπτρίδες.

Καταγράφηκε τέλος το βάρος και το μήκος κάθε ψαριού, που χρησιμοποιήθηκε,

όπως επίσης και το βάρος κάθε εγκεφάλου. Ιστολογικά παρασκευάσματα απο τομές όλων των γονάδων, έγιναν με τη χρώση Methylene Blue (1% methylene blue σε ddH₂O), για την αναγνώριση του φύλου όλων των ατόμων που χρησιμοποιήθηκαν.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΣΗΜΑΣΜΕΝΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Ο αριθμός των κυττάρων, που σημάνθηκαν στον εγκέφαλο νεαρών και ενήλικων τελεόστεων του είδους *Sparus aurata*, μετά από ενδοπεριτοναϊκή ένεση 0.2 mg BrdU/gr βάρους σώματος, είναι εντυπωσιακός. Η πλειοψηφία τους κατανέμεται σε περι- και παρακοιλιακές περιοχές του εγκεφάλου, ενώ λίγα κύτταρα παρατηρήθηκαν στην επιφάνειά του. Το σχήμα των περισσότερων κυττάρων είναι επιμηκυσμένο, χαρακτηριστικό που παρατηρείται σε κύτταρα τα οποία μεταναστεύουν. Η κατανομή των κυττάρων αυτών φαίνεται στα σχήματα 11, 12 και 13, ενώ ο όγκος που καταλαμβάνουν σε σχέση με τον όγκο της περιοχής στην οποία βρίσκονται φαίνεται στον πίνακα 2 (στήλη Α). Μία εκτίμηση του όγκου, που καταλαμβάνουν τα σημασμένα κύτταρα σε σχέση με το συνολικό όγκο των νεογεννηθέντων κυττάρων, σε ολόκληρο τον εγκέφαλο, φαίνεται επίσης στον πίνακα 2 (στήλη Β).

Πρέπει να σημειωθεί ότι, με την εξαίρεση λίγων ερυθρών αιμοσφαιρίων, δεν παρατηρήθηκε κανένα άλλο θετικά σημασμένο κύτταρο, σε όλα τα πειράματα ελέγχου που έγιναν, για την ανίχνευση μη ειδικού σήματος. Επιπλέον δεν παρατηρήθηκαν διαφορές όσον αφορά την κατανομή και τον αριθμό των BrdU-σημασμένων κυττάρων, μεταξύ των ψαριών διαφορετικών ηλικιών. Στα μικρότερης ηλικίας ψάρια (0+), ο όγκος που καταλαμβάνουν τα θετικά σημασμένα κύτταρα φαίνεται να είναι λίγο μεγαλύτερος σε σύγκριση με τα μεγαλύτερα ψάρια. Το γεγονός αυτό είναι αναμενόμενο, αν σκεφτεί κανείς ότι το μέγεθος του εγκεφάλου ψαριών ηλικίας 0+ είναι πολύ μικρό, με αποτέλεσμα τα κύτταρα να καταλαμβάνουν περισσότερο χώρο, πιθανότατα όμως χωρίς να αλλάζει ο αριθμός τους.

A. ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΝΕΟ-ΓΕΝΝΗΘΕΝΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΙΑ ΗΜΕΡΑ ΜΕΤΑ ΤΗΝ
ΕΝΕΣΗ BrdU

ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΚΑΙ ΜΕΣΣΕΓΚΕΦΑΛΟΣ (Σχήματα 11 και 12, Α ως Μ)

Περίπου 60-80% του συνόλου των σημασμένων κυττάρων βρέθηκαν στις τρεις υποδιαίρεσεις της παρεγκεφαλίδας και συγκεκριμένα στο παρεγκεφαλιδικό σώμα (CCb), (Εικ. 1 ως 6), στο βαλβιδοειδές (πρόσθιο) παρεγκεφαλιδικό σώμα (VCb), (Εικ. 8) και στον αιθουσαίο λοβό του παρεγκεφαλιδικού σώματος (Iobnlcb ή Egm), (Εικ. 7, 9, 10). Τα νεογεννηθέντα κύτταρα εντοπίζονται στη μοριακή στοιβάδα και στην περιοχή της μέσης γραμμής του παρεγκεφαλιδικού σώματος (Εικ. 5, 6). Λίγα κύτταρα βρέθηκαν στο ραχιαίο και κοιλιακό μεσαίο τμήμα της κοκκώδους στοιβάδας. Σε πιο πρόσθιες περιοχές τα θετικά κύτταρα περιορίζονται στο ραχιαίο και κοιλιακό τμήμα της μοριακής στοιβάδας, κυρίως κοντά στη μέση γραμμή. Εκεί πλέον υπάρχουν και κύτταρα στα σημεία ένωσης των μοριακών στοιβάδων του οπίσθιου και βαλβιδοειδούς παρεγκεφαλιδικού σώματος. Το πρόσθιο τμήμα της παρεγκεφαλίδας, που βρίσκεται μέσα στην κοιλότητα της οπτικής καλύπτρας (VCb) έχει επίσης μεγάλο αριθμό κυττάρων στη μοριακή του στοιβάδα. Στον αιθουσαίο λοβό της παρεγκεφαλίδας (Iobnlcb ή Egm), υπάρχει μεγάλος αριθμός κυττάρων κυρίως στο περικοιλιακό του τμήμα. Τα κύτταρα στο ραχιαίο-μεσαίο τμήμα του πυρήνα, δεν διαχωρίζονται από τα κύτταρα της μοριακής στοιβάδας της παρεγκεφαλίδας, στη μεσαία γραμμή.

Πολύ λίγα κύτταρα παρατηρήθηκαν στην κεντρική φαιά ουσία (gc), στον πυρήνα της έσω επιμήκους δεσμίδας (nuflm), στον ανώτερο δικτυωτό πυρήνα (rs), στην οπτική ταινία (OTr) και στην περιοχή α (συσσωμάτωμα κυττάρων στη ραχιαία πλευρά του ισθμικού πυρήνα). Μία ζώνη με αρκετά σημασμένα κύτταρα εμφανίζεται στο όριο μεταξύ της οπτικής καλύπτρας (TeO) και του ραχιαίου δακτυλιοειδούς ημικυκλικού πυρήνα (TSd), (Εικ. 12). Μεγάλος αριθμός κυττάρων γεννιέται στη ραχιαία (Εικ. 17, 18) και κοιλιακή άκρη (Εικ. 13, 14, 15, 16) της οπτικής καλύπτρας (TeOdr, TeOvr), αλλά οι ζώνες αυτές δεν εμφανίζονται στο πρόσθιο τμήμα της. Ελάχιστα κύτταρα βρέθηκαν στις στοιβάδες της οπτικής καλύπτρας. Τέλος αρκετά κύτταρα γεννιούνται στο κοιλιακό κυρίως τμήμα του δακτυλιοειδούς επιμήκους πυρήνα (tlo), (Εικ. 17, 18).

ΔΙΕΓΚΕΦΑΛΟΣ

(Σχήματα 11, 12 και 13, Α ως Ξ)

Στις περιοχές αυτές η μιτωτική δραστηριότητα ήταν σχετικά χαμηλότερη. Στο κατώτερο τμήμα του διεγκεφάλου κύτταρα βρέθηκαν σχεδόν σε όλες τις προοπτικές περιοχές (PMg, PMp, PP, PPr), κυρίως περικοιλιακά (Εικ. 25). Σημαντικός αριθμός κυττάρων γεννιέται στις μεσαίες, παρακοιλιακές περιοχές του ραχιαίου θαλάμου και συγκεκριμένα στο κοιλιακό τμήμα των ηνίων (HAv), (Εικ. 25), στον πρόσθιο κεντρικό πυρήνα (CP), (Εικ. 19, 20), στον πυρήνα του πρόσθιου φύματος (TP) και στο περικοιλιακό του τμήμα (TPp), και στον περικοιλιακό, προτετραδυμικό πυρήνα (PPv), ενώ στις κοιλιακές περιοχές του θαλάμου κύτταρα υπάρχουν στον κοιλιακό-μεσαίο πυρήνα (VM), στον παρακοιλιακό πυρήνα (PVO) και στην τελική ζώνη ορισμού του διεγκεφάλου (ZL), (Εικ. 19, 20, 21).

Στον οπίσθιο υποθάλαμο αρκετά κύτταρα βρέθηκαν στον πυρήνα του πλάγιου κολπώματος (π1) και λίγα στην επιφάνεια του διάχυτου πυρήνα (DF), (Εικ. 23). Τα περισσότερα κύτταρα γεννιούνται στον κεντρικό και πρόσθιο υποθάλαμο και συγκεκριμένα στον οπίσθιο, ραχιαίο και κοιλιακό πυρήνα του περικοιλιακού υποθαλάμου (Hc, Hd, Hv αντίστοιχα), (Εικ. 22, 24). Λίγα κύτταρα υπάρχουν στον κεντρικό πυρήνα του πρόσθιου φύματος (TA), (Εικ. 22) και στον έσω πυρήνα του μαστίου (CM).

ΤΕΛΕΓΚΕΦΑΛΟΣ

(Σχήμα 13, Ξ ως Υ)

Ο αριθμός των νεογεννηθέντων κυττάρων στον τελεγκεφαλο είναι πολύ μικρός σε σύγκριση με τις υπόλοιπες εγκεφαλικές περιοχές. Η πλειοψηφία τους εντοπίζεται στο κοιλιακό τμήμα του τελεγκεφάλου, ειδικά στον υπερσυνδεσμικό (Vs), (Εικ. 27, 28) και στον κοιλιακό (Vv) πυρήνα, (Εικ. 28). Στην εξωτερική επιφάνεια του ραχιαίου και του πλάγιου κοιλιακού τελεγκεφάλου, βρέθηκαν πολύ λίγα κύτταρα σχεδόν σε όλους τους πυρήνες της περιοχής. Στην πρώτη και τέταρτη μεσαία περιοχή του ραχιαίου τελεγκεφάλου (Dm1, Dm4), εντοπίστηκαν λίγα κύτταρα στις περικοιλιακές επιφάνειες. Αρκετά κύτταρα βρέθηκαν, τέλος στην εξωτερική στοιβάδα του οσφρητικού λοβού, (Εικ. 30, 31).

ΠΙΝΑΚΑΣ 2		
ΣΤΗΛΗ Α: Κατανομή όγκου σημασμένων κυττάρων σε σχέση με τον όγκο κάθε περιοχής στον εγκέφαλο τσιπούρας ηλικίας 0+, 1+ και 2+.		
ΣΤΗΛΗ Β: Όγκος σημασμένων κυττάρων σε κάθε περιοχή σε σχέση με τον συνολικό όγκο που καταλαμβάνουν τα θετικά σημασμένα κύτταρα στον εγκέφαλο τσιπούρας ηλικίας 0+, 1+ και 2+.		
Εγκεφαλικό στέλεχος & Μεσεγκέφαλος		
Περιοχή	Α	Β
a	+	*
CCb μέση γραμμή	++++	***
CCbg	+	*
CCbm	++++	***
Egm	++++	***
gc	+	*
lv	+++	*
nuflm	+	*
OTr	+	*
rs	+	*
SAC	+	*
SGC	+	*
SGFS	+	*
TeOdr	++++	**
TeOvr	++++	**
tlo	++	*
TSd	+	*
VCbg	+	*
VCbm	++++	***
Διεγκέφαλος		
Περιοχή	Α	Β
CE	+	*
CM	+	*
CP	++++	*
DF	+	*
E	+	*
HA _v	+	*
Hc	++	*
Hd	+++	*
Hv	+++	*
P	+	*

PCo	+	*
PMg	+	*
PMp	+	*
PPp	+	*
PPv	++	*
PVO	++++	**
rl	++	*
TA	+	*
TP	+++	*
TPp	++++	*
VM	++	*
ZL	+++	*
Τελεγκέφαλος		
Περιοχή	A	B
Dd	+	*
Dld	+	*
Dlp	+	*
Dlv	+	*
Dm1	+	*
Dm2	+	*
Dm3	+	*
Dm4	+	*
Dp	+	*
PP	+++	**
OBe/GL	++	*
Vc	+	*
Vd	+	*
Vl	+	*
Vp	+	*
Vs	+++	**
Vv	++	*

++++: ο όγκος που καταλαμβάνουν τα σημασμένα κύτταρα είναι μεγαλύτερος ή ίσος από το 5% του όγκου της περιοχής.

+++ : ο όγκος που καταλαμβάνουν τα σημασμένα κύτταρα είναι μεταξύ του 2.5 και 5% του όγκου της περιοχής.

++ : ο όγκος που καταλαμβάνουν τα σημασμένα κύτταρα είναι μεταξύ του 1 και 2.5% του όγκου της περιοχής.

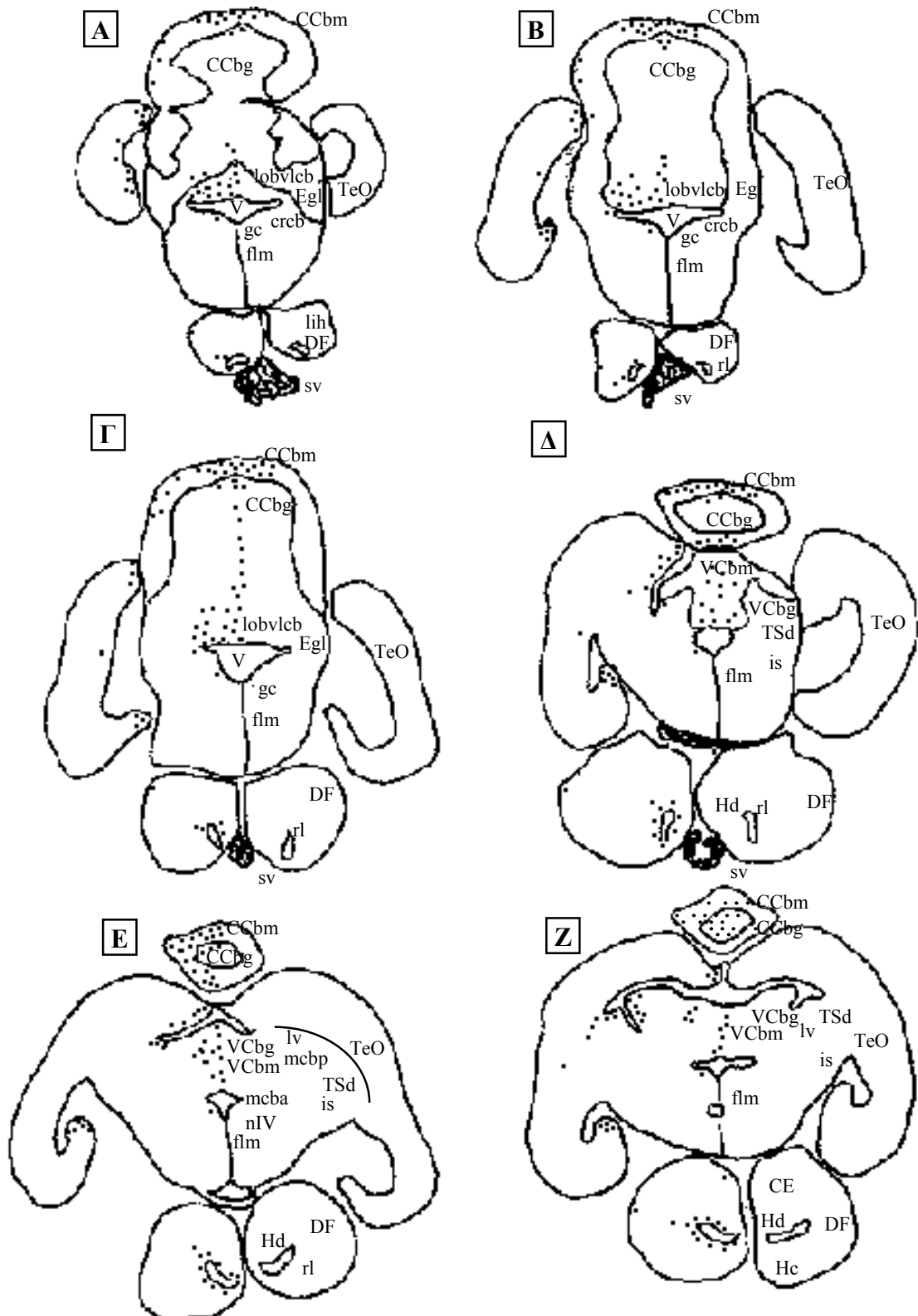
+ : ο όγκος που καταλαμβάνουν τα σημασμένα κύτταρα είναι μικρότερος ή ίσος από το 1% του όγκου της περιοχής.

***: ο όγκος που καταλαμβάνουν τα σημασμένα κύτταρα της περιοχής κυμαίνεται μεταξύ του 20 και 30% του συνολικού όγκου των σημασμένων κυττάρων.

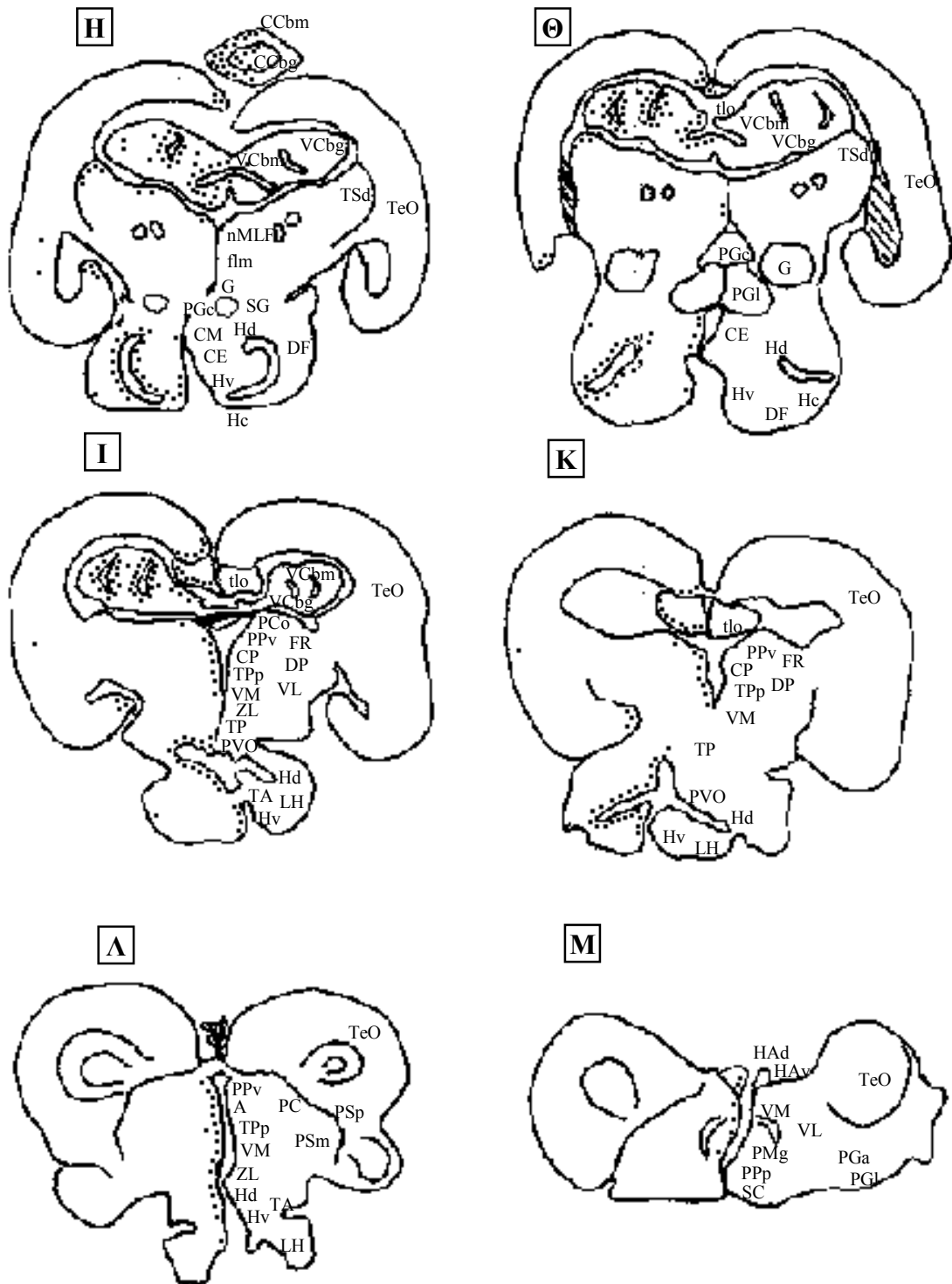
** : ο όγκος που καταλαμβάνουν τα σημασμένα κύτταρα της περιοχής κυμαίνεται μεταξύ του 5 και 15% του συνολικού όγκου των σημασμένων κυττάρων.

* : ο όγκος που καταλαμβάνουν τα σημασμένα κύτταρα της περιοχής είναι μικρότερος από το 5% του συνολικού όγκου των σημασμένων κυττάρων.

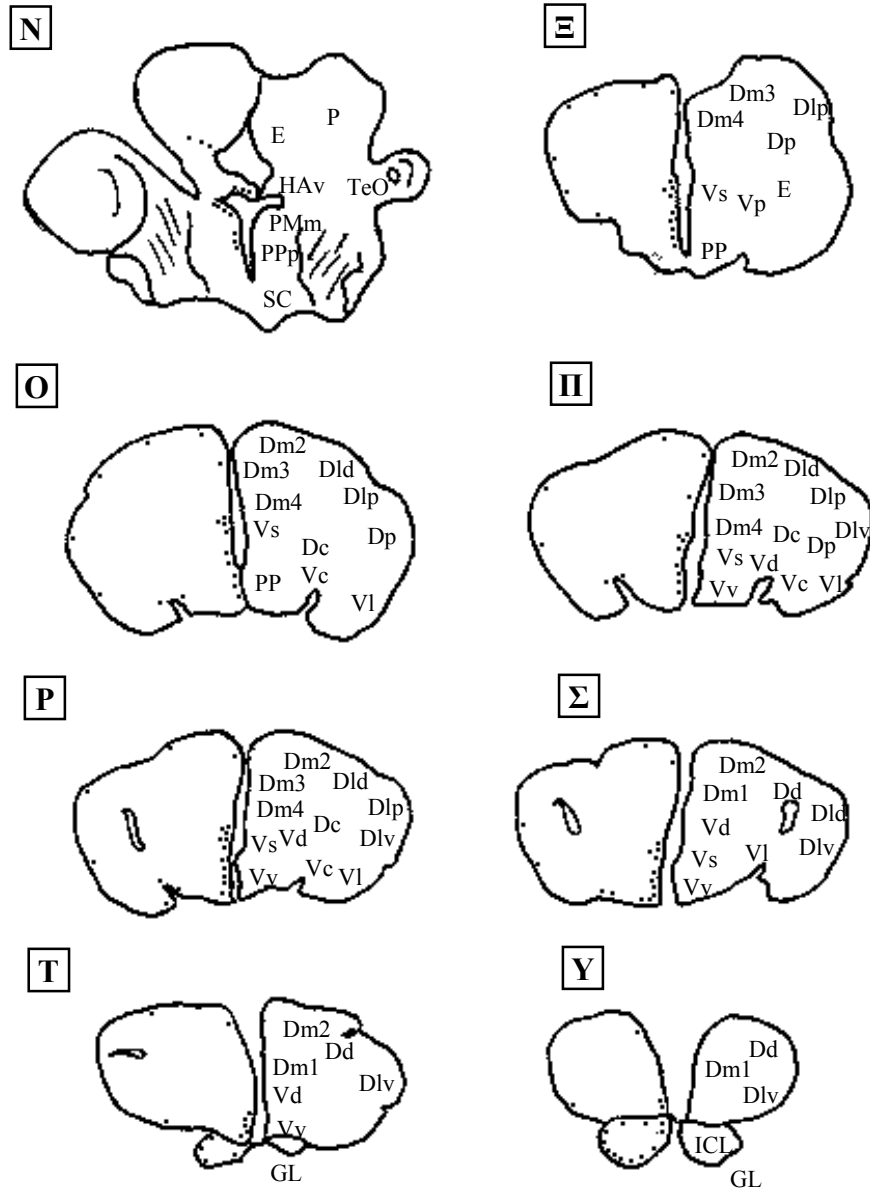
Όλες οι συντημήσεις αναφέρονται στο παράρτημα 1.



ΣΧΗΜΑ 11: Σχηματική αναπαράσταση της κατανομής των νεογεννηθέντων κυττάρων, στον εγκέφαλο τελεόστεου του είδους *Sparus aurata*. (A, B, Γ: εγκεφαλικό στέλεχος και οπίσθιο τμήμα της οπτικής καλύπτρας. Δ, E, Z: οπίσθιο τμήμα του πρόσθιου παρεγκεφαλιδικού σώματος και του μεσεγκεφάλου). Κάθε κουκίδα, στο αριστερό τμήμα της εικόνας (.) αντιστοιχεί σε περίπου 30 κύτταρα. Το δεξί μισό της εικόνας περιλαμβάνει συντμήσεις (παράρτημα I) των περιοχών, που βρίσκουμε σε κάθε επίπεδο.



ΣΧΗΜΑ 2: Σχηματική αναπαράσταση της κατανομής των νεογεννηθέντων κυττάρων, στον εγκέφαλο τελεόστεου του είδους *Sparus aurata*. (H, Θ: οπίσθιο τμήμα του διεγκεφάλου και κεντρικός μεσεγκέφαλος. I, K, Λ: κεντρικό και πρόσθιο τμήμα του διεγκεφάλου και πρόσθιος υποθάλαμος. M: πρόσθιο τμήμα του διεγκεφάλου και της οπτικής καλύπτρας). Κάθε κουκίδα, στο αριστερό τμήμα της εικόνας (.) αντιστοιχεί σε περίπου 30 κύτταρα. Το δεξί μισό της εικόνας περιλαμβάνει συντμήσεις (παράρτημα I) των περιοχών, που βρίσκουμε σε κάθε επίπεδο.



ΣΧΗΜΑ 3: Σχηματική αναπαράσταση της κατανομής των νεογεννηθέντων κυττάρων, στον εγκέφαλο τελεόστεου του είδους *Sparus aurata*. (N, E: κεντρικό και πρόσθιο τμήμα της προοπτικής περιοχής. O, Π: οπίσθιο τμήμα του τελεγκεφάλου. P, Σ: κεντρικό τμήμα του τελεγκεφάλου. T, Y: πρόσθιο τμήμα του τελεγκεφάλου και οπίσθιο τμήμα των οσφρητικών λοβών). Κάθε κουκίδα, στο αριστερό τμήμα της εικόνας (.) αντιστοιχεί σε περίπου 30 κύτταρα. Το δεξί μισό της εικόνας περιλαμβάνει συντμήσεις (παράρτημα I) των περιοχών, που βρίσκουμε σε κάθε επίπεδο.

B. ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΝΕΟ-ΓΕΝΝΗΘΕΝΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΡΕΙΣ ΗΜΕΡΕΣ ΜΕΤΑ ΤΗΝ
ΕΝΕΣΗ BrdU

Τα σημασμένα κύτταρα σε όλες σχεδόν τις περιοχές, που αναφέρθηκαν προηγουμένως, είναι ελαφρώς λιγότερα. Οι περιοχές με υψηλά ποσοστά γέννησης νέων κυττάρων, εξακολουθούν να είναι σημασμένες, ενώ αρκετά κύτταρα φαίνεται να έχουν μετακινηθεί (Πίνακας 3). Έτσι εμφανίζονται αρκετά σημασμένα κύτταρα στην κοκκώδη στοιβάδα της παρεγκεφαλίδας (CCbg, VCbg), (Εικ. 33, 34, 35), κοντά στον πρόσθιο πλάγιο σπειροειδή πυρήνα (PGI), (Εικ. 37) και στην εσωτερική κυτταρική στοιβάδα του οσφρητικού λοβού (ICL ή OBi), (Εικ. 36). Τέλος αρκετά θετικά κύτταρα παρατηρούνται σε παρακοιλιακές περιοχές. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα νεαρά ψάρια (0+), στα οποία ο αριθμός των σημασμένων κυττάρων στις περικοιλιακές διεγκεφαλικές περιοχές (CP, HAv, PPv, TA, TP, TPr, VM και ZL), έχει μειωθεί σημαντικά (Εικ. 38).

ΠΙΝΑΚΑΣ 3	
Όγκος σημασμένων κυττάρων σε κάθε περιοχή σε σχέση με τον συνολικό όγκο που καταλαμβάνουν τα σημασμένα κύτταρα στον εγκέφαλο ψαριών ηλικίας 0+, 1+ και 2+, που θυσιάστηκαν 3 ημέρες μετά την ένεση BrdU.	
Εγκεφαλικό στέλεχος & Μεσεγκέφαλος	
CCb μέση γραμμή	●●●
CCbg	●●
CCbm	●●●
Egm	●●
Iv	●
nuflm	●
SGC	●
SGFS	●
TeOdr	●●
TeOvr	●●
tlo	●
TSd	●
VCbg	●●
VCbm	●●●
Διεγκέφαλος	
CE	●
CP	●
HAv	●

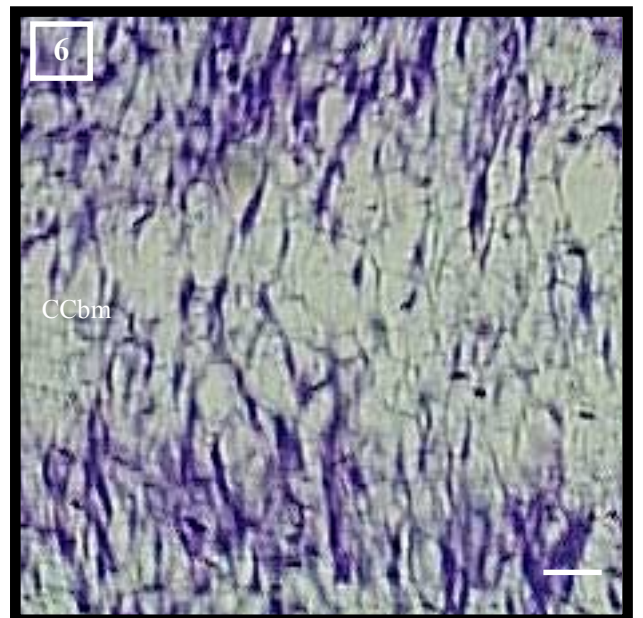
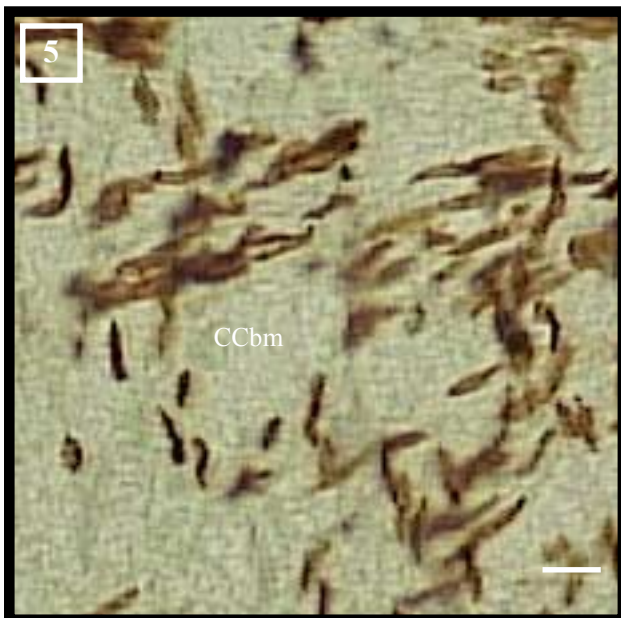
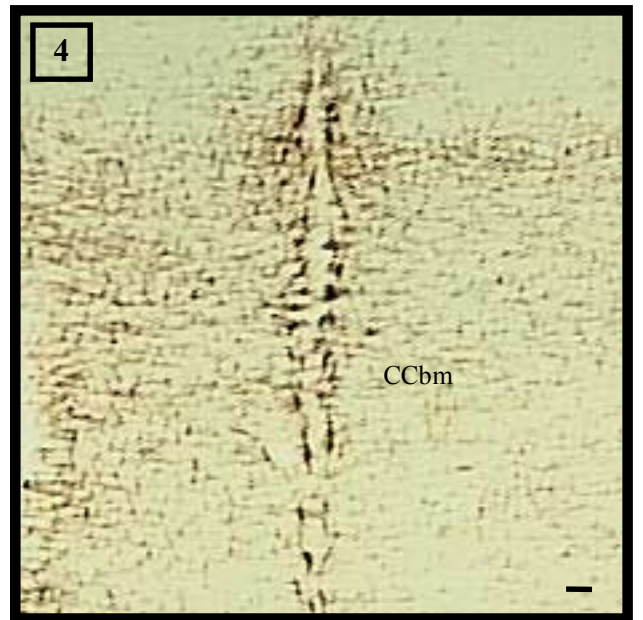
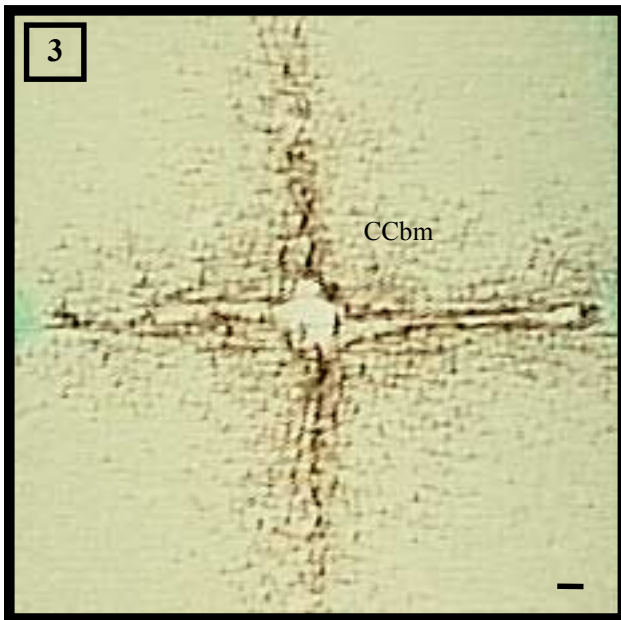
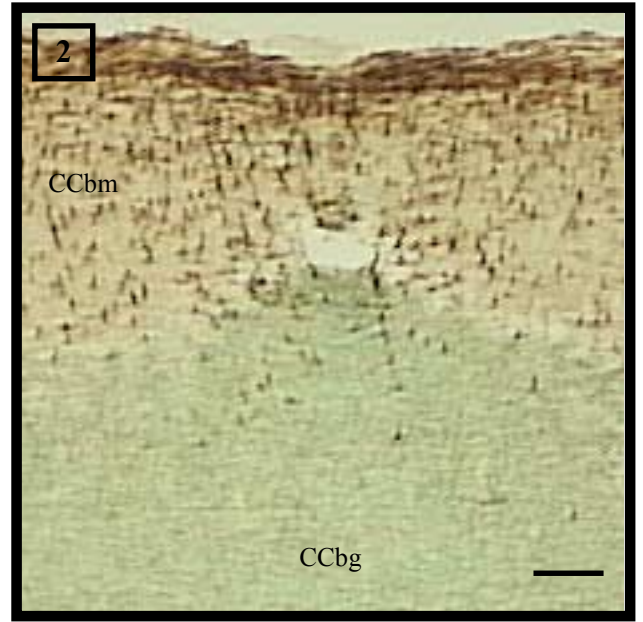
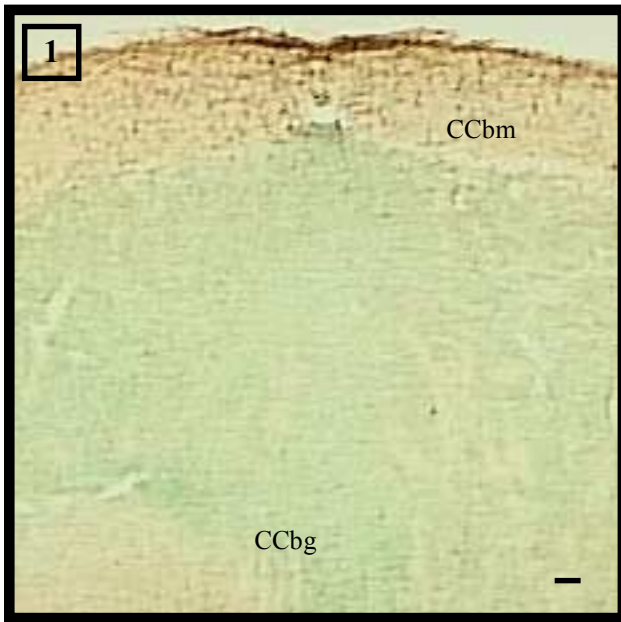
Hc	●
Hd	●
Hv	●
PPv	●
PVO	●
TA	●
TP	●
TPp	●
VM	●
ZL	●
Τελεγκέφαλος	
Dld	●
Dlp	●
Dlv	●
Dm2	●
Dm4	●
PP	●
OBi / ICL	●
OBe / GL	●
Vc	●
Vd	●
Vs	●
Vv	●

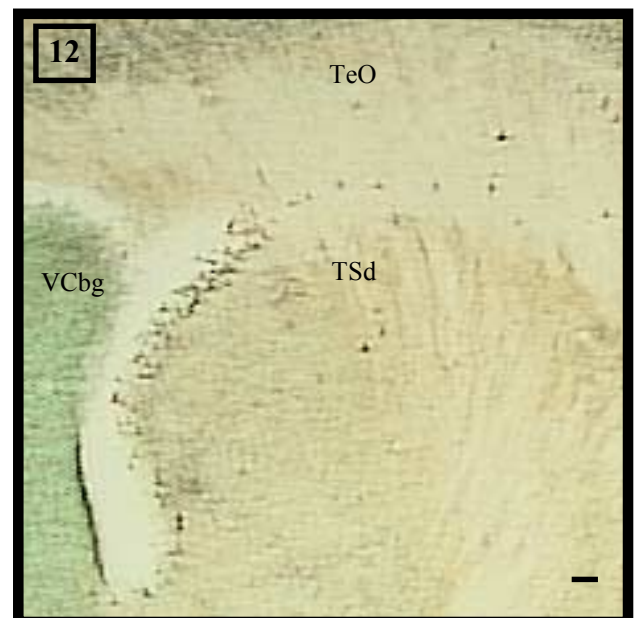
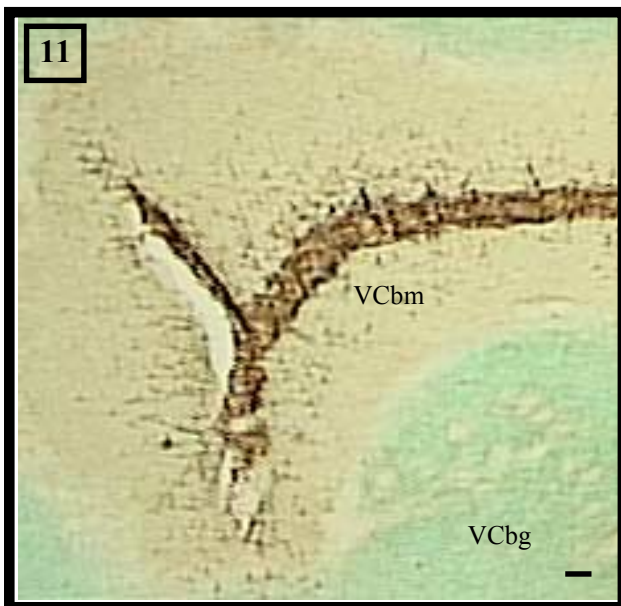
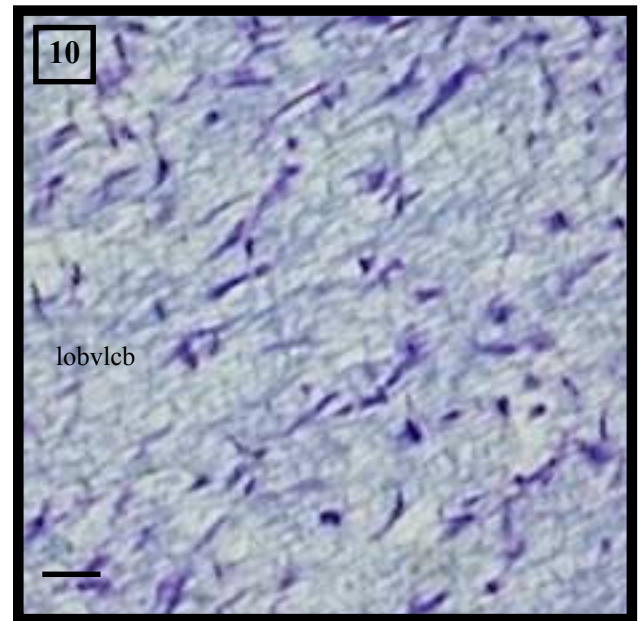
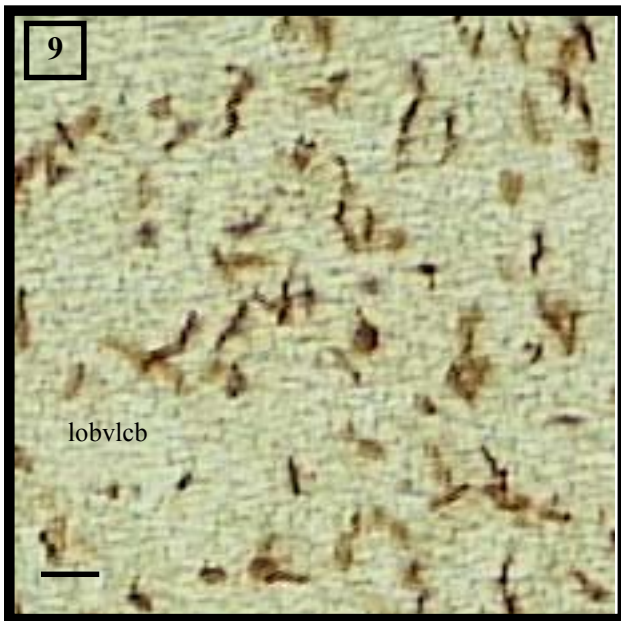
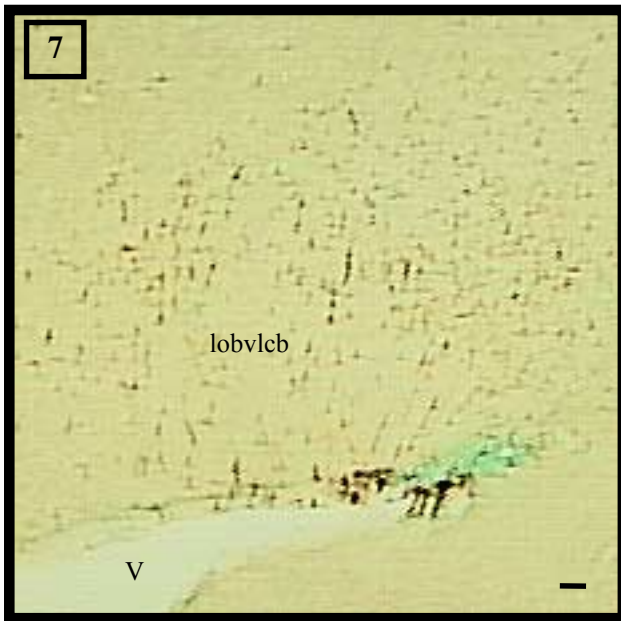
●●●: ο όγκος που καταλαμβάνουν τα σημασμένα κύτταρα της περιοχής κυμαίνεται μεταξύ του 20 και 30% του συνολικού όγκου των σημασμένων κυττάρων.

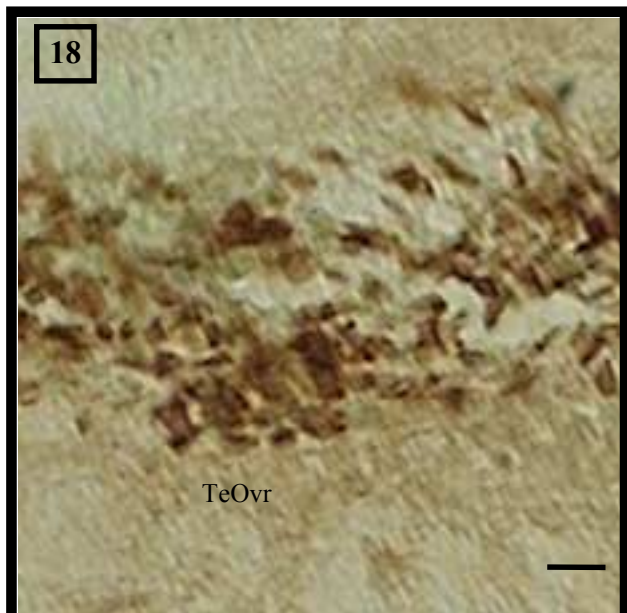
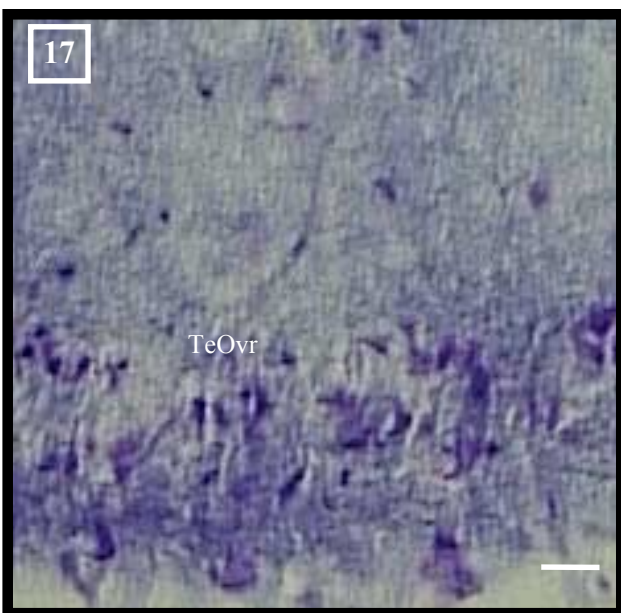
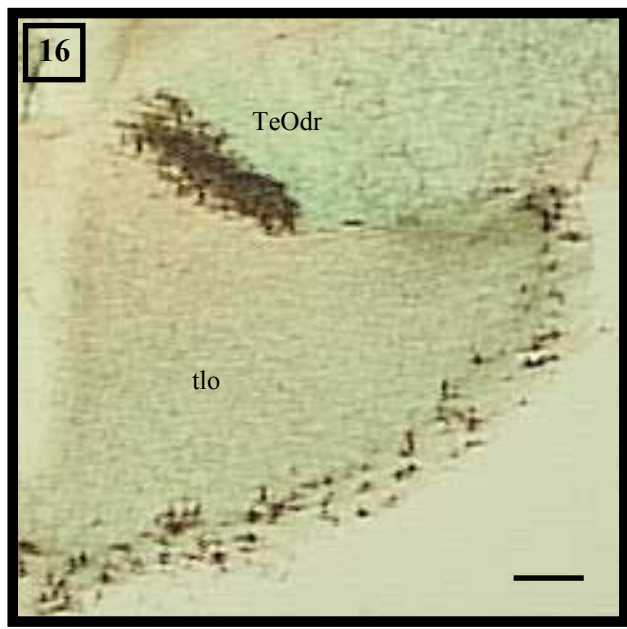
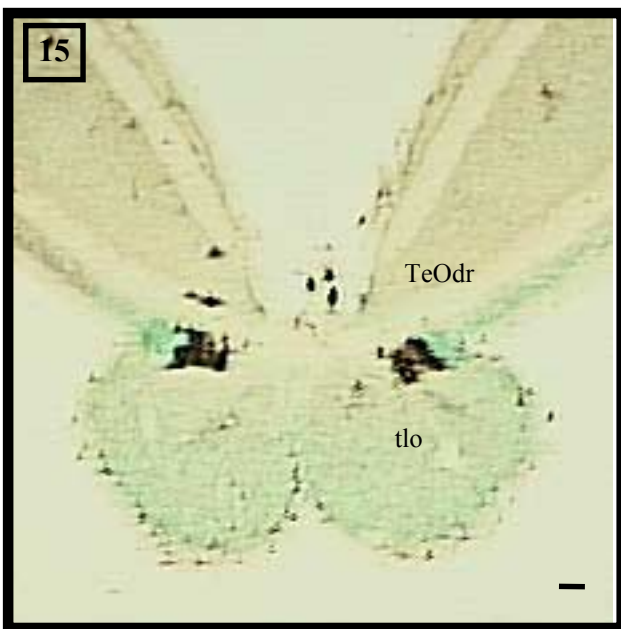
●●: ο όγκος που καταλαμβάνουν τα σημασμένα κύτταρα της περιοχής κυμαίνεται μεταξύ του 5 και 15% του συνολικού όγκου των σημασμένων κυττάρων.

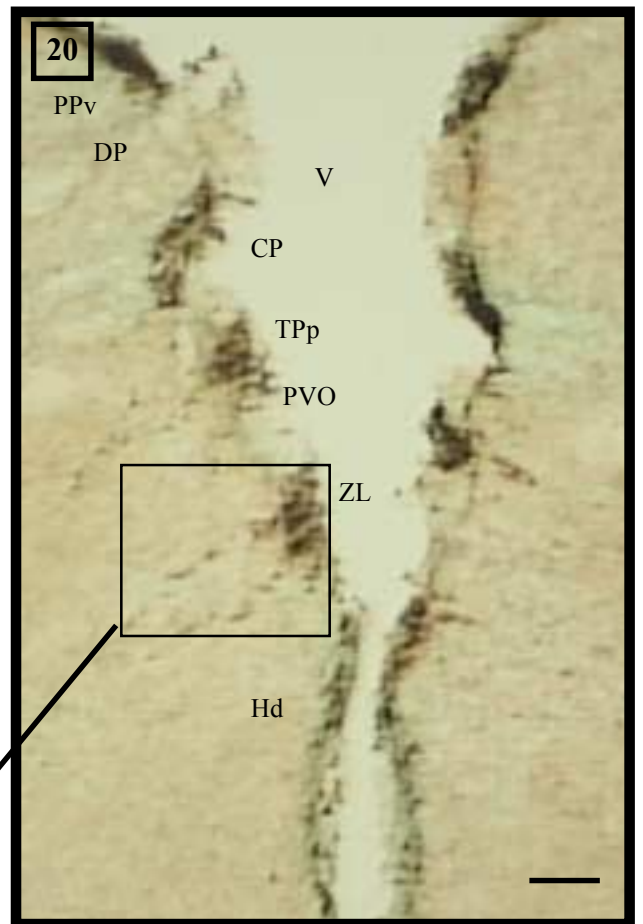
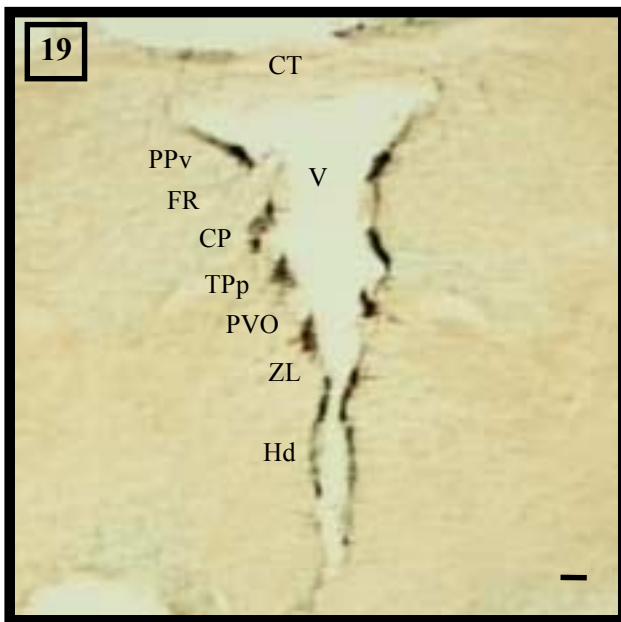
●: ο όγκος που καταλαμβάνουν τα σημασμένα κύτταρα της περιοχής είναι μικρότερος από το 5% του συνολικού όγκου των σημασμένων κυττάρων.

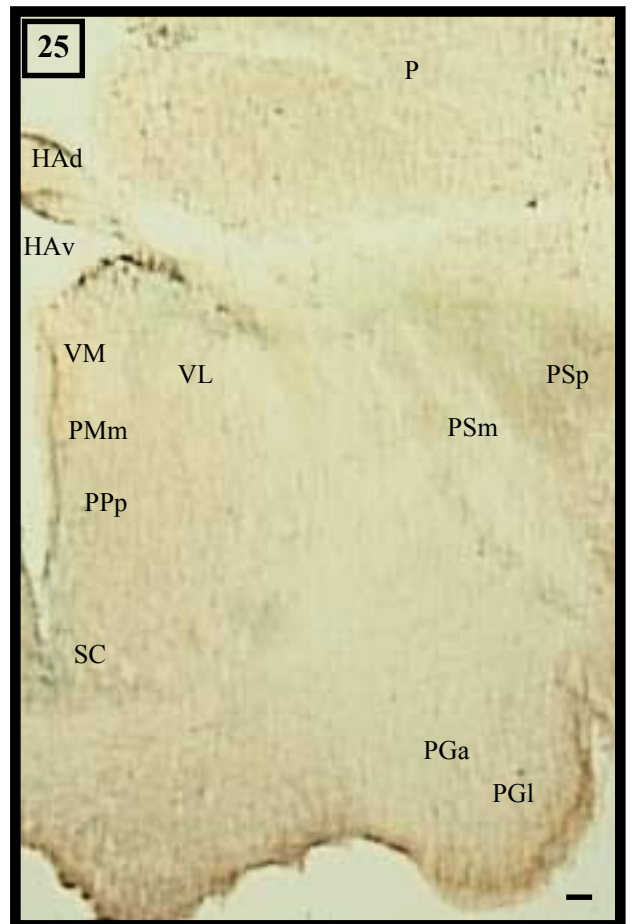
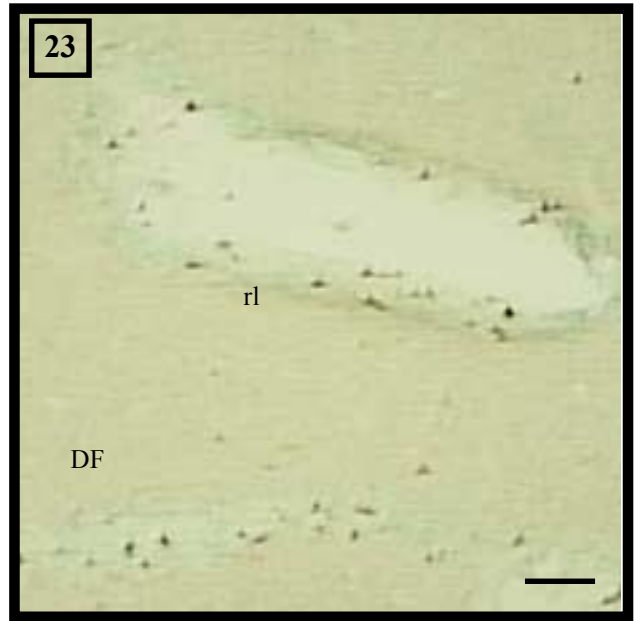
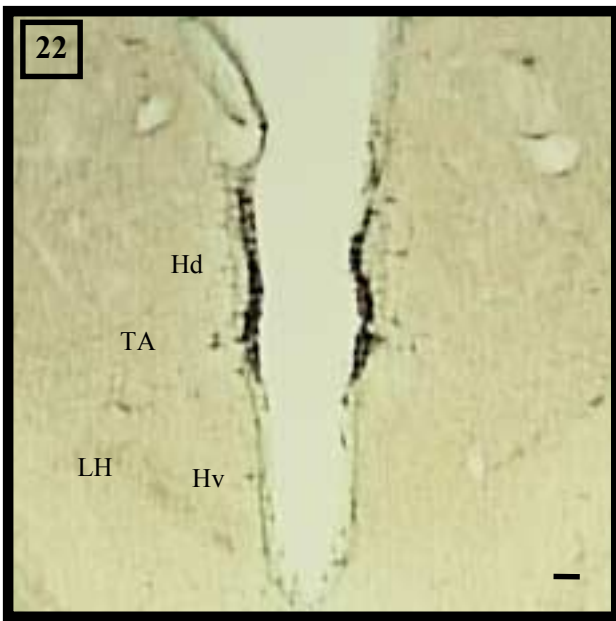
Όλες οι συντμήσεις αναφέρονται στο παράρτημα 1.

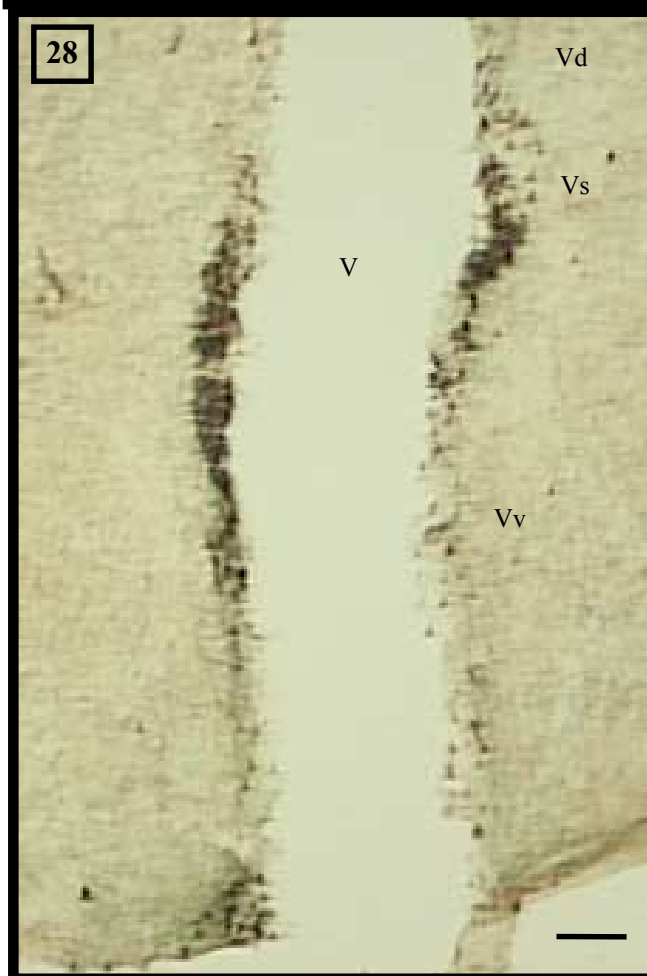
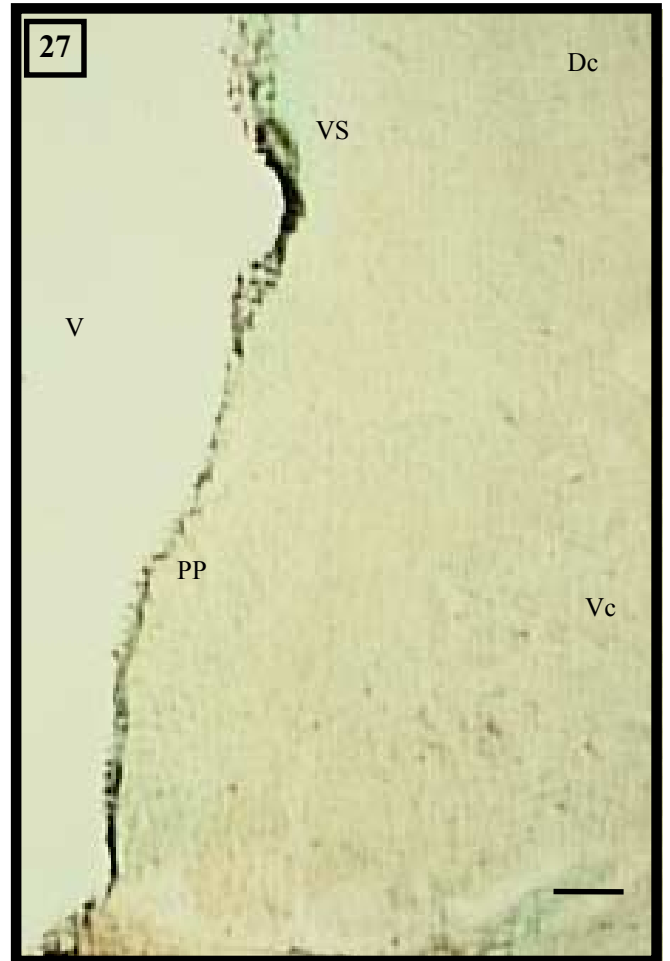


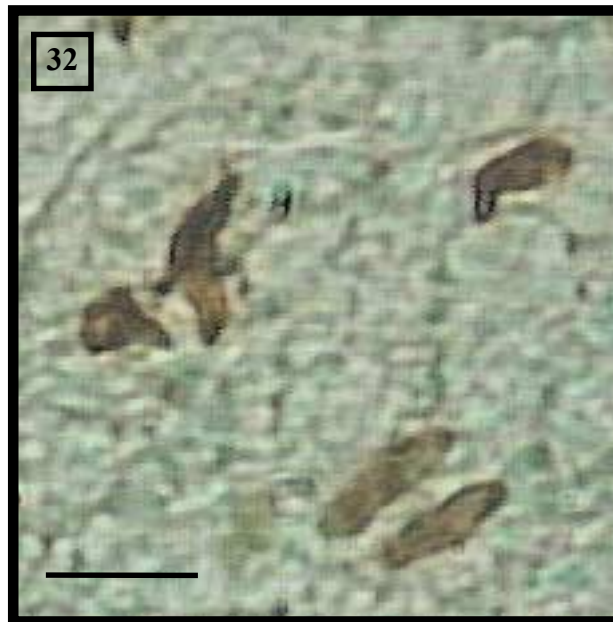
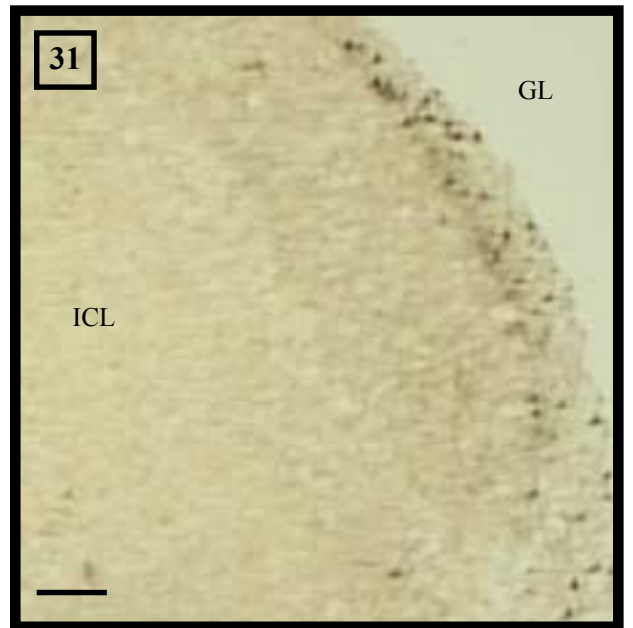
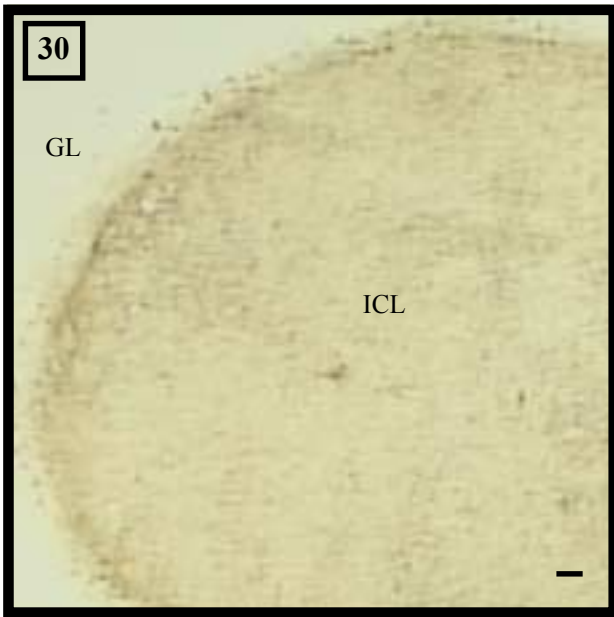


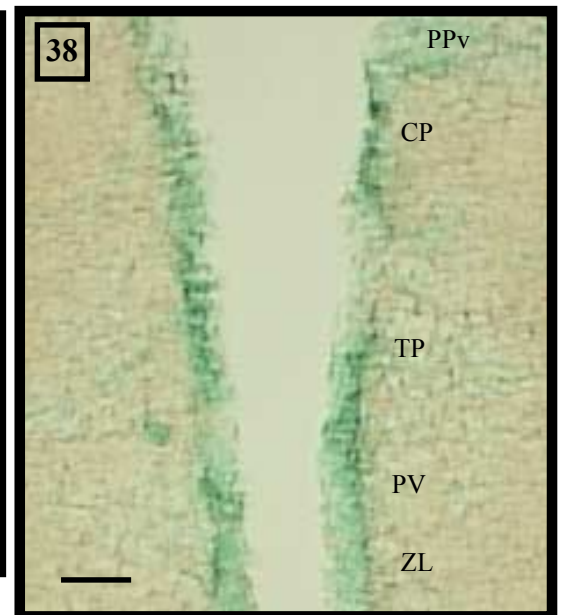
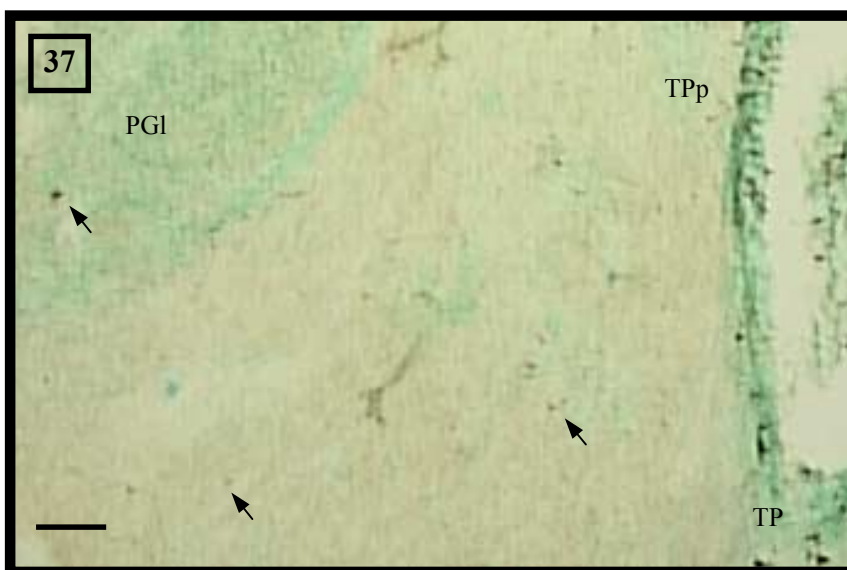
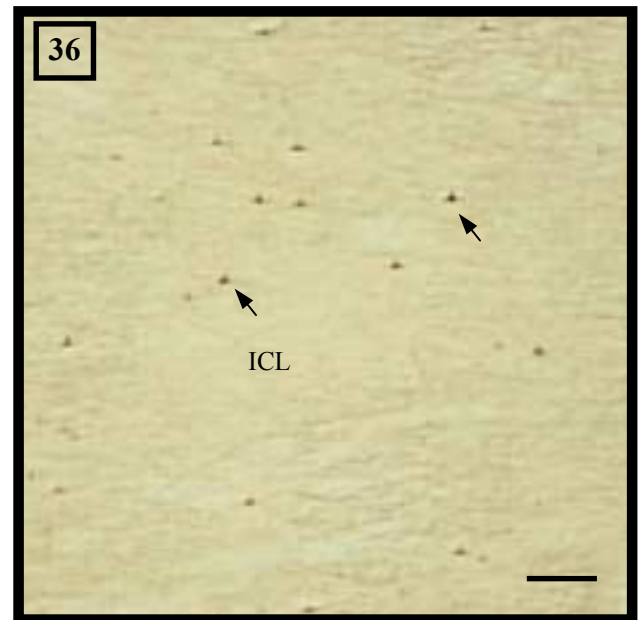
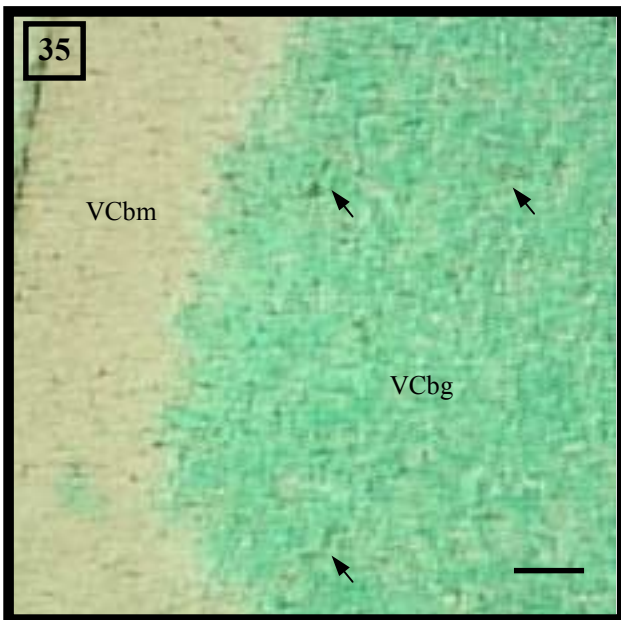
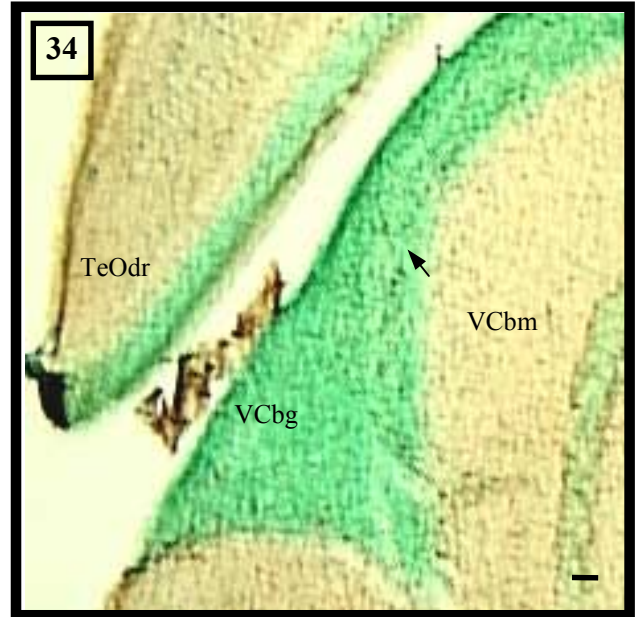
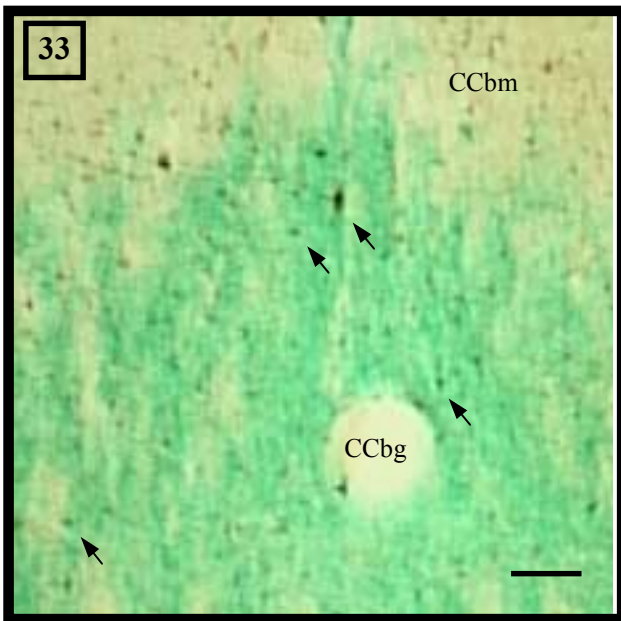












Εικόνα 1: Θετικά σημασμένα κύτταρα στο ραχιαίο τμήμα, της μοριακής στοιβάδας του παρεγκεφαλιδικού σώματος (CCbm), ιχθυδίου ηλικίας 0+. (Κλίμακα : 50 μm).

Εικόνα 2: Μεγέθυνση της προηγούμενης εικόνας. Διακρίνονται ελάχιστα κύτταρα και στο ραχιαίο, μεσαίο τμήμα της κοκκώδους στοιβάδας (CCbg). (Κλίμακα : 50 μm).

Εικόνα 3: Θετικά σημασμένα κύτταρα στη μέση γραμμή του παρεγκεφαλιδικού σώματος, σε ώριμο άτομο ηλικίας 2+. (Κλίμακα : 50 μm).

Εικόνα 4: Θετικά σημασμένα κύτταρα στη μέση γραμμή του παρεγκεφαλιδικού σώματος (πρόσθιο επίπεδο), σε ώριμο άτομο ηλικίας 2+. (Κλίμακα : 50 μm).

Εικόνα 5: Μεγέθυνση, στην οποία διακρίνεται η μορφολογία των κυττάρων (επιμηκυσμένο σχήμα), στη μοριακή στοιβάδα της παρεγκεφαλίδας, νεαρού ιχθυδίου ηλικίας 0+. (Κλίμακα : 10 μm).

Εικόνα 6: Επίπεδο αντίστοιχο με αυτό της προηγούμενης εικόνας, από ιστολογικό παρασκεύασμα (Cresyl violet) ατόμου ηλικίας 0+. Διακρίνεται ο έντονα βαμμένος και μεγάλος πυρήνας, που περιορίζει το κυτταρόπλασμα. (Κλίμακα : 10 μm).

Εικόνα 7: Κατανομή των θετικά σημασμένων κυττάρων στον αιθουσαίο λοβό της παρεγκεφαλίδας (lobnlcb), ώριμου ατόμου, ηλικίας 2+. (Κλίμακα : 50 μm).

Εικόνα 8: Θετικά σημασμένα κύτταρα στον πλάγιο βαλβιδοειδή πυρήνα, που υπάρχει μόνο στους ακτινοπερύγιους ιχθύες και στη ραχιαία άκρη της οπτικής καλύπτρας, σε τσιπούρα ηλικίας 1+. (Κλίμακα : 50 μm).

Εικόνα 9: Νεογεννηθέντα κύτταρα στον αιθουσαίο λοβό της παρεγκεφαλίδας (lobnlcb), νεαρού ιχθυδίου ηλικίας 0+. (Κλίμακα : 10 μm).

Εικόνα 10: Ιστολογικό παρασκεύασμα (Cresyl violet), αντίστοιχου επιπέδου της ίδιας περιοχής (lobnlcb), ατόμου ηλικίας 0+. Η ομοιότητα των κυττάρων είναι εμφανής. (Κλίμακα : 10 μm).

Εικόνα 11: Νεογεννηθέντα κύτταρα στη μοριακή στοιβάδα της πρόσθιας (βαλβιδοειδούς) παρεγκεφαλίδας (VCbm), ατόμου ηλικίας 1+. Φαίνεται ήδη πως τα κύτταρα μετακινούνται προς την κοκκώδη στοιβάδα (VCbg). (Κλίμακα : 50 μm). **Εικόνα 12:** Θετικά σημασμένα κύτταρα στη ραχιαία πλευρά του δακτυλοειδούς, ημικυκλικού πυρήνα (TSd) και της ραχιαίας άκρης της οπτικής καλύπτρας (TeOdr), σε ώριμο άτομο, ηλικίας 2+. (Κλίμακα : 50 μm).

Εικόνα 13: Θετικά σημασμένα κύτταρα στο κοιλιακό άκρο, της οπίσθιας οπτικής καλύπτρας (TeOvr), ιχθυδίου ηλικίας 0+. (Κλίμακα : 50 μm).

Εικόνα 14: Θετικά σημασμένα κύτταρα στο κοιλιακό άκρο, της κεντρικής οπτικής καλύπτρας (TeOvr), ατόμου ηλικίας 2+. (Κλίμακα : 50 μm).

Εικόνα 15 Νεογεννηθέντα κύτταρα στο ραχιαίο άκρο της οπτικής καλύπτρας (TeOdr) και στο κοιλιακό τμήμα του επιμήκους δακτυλοειδούς πυρήνα (flo), ατόμου ηλικίας 2+. (Κλίμακα : 50 μm).

Εικόνα 16: Μεγέθυνση του οπίσθιου τμήματος των προηγούμενων περιοχών, σε ιχθύδιο ηλικίας 0+. (Κλίμακα : 50 μm).

Εικόνα 17: : Μεγέθυνση του κοιλιακού άκρου της οπτικής καλύπτρας, ιχθυδίου ηλικίας 0+. (Κλίμακα : 10 μm).

Εικόνα 18: Ιστολογικό παρασκεύασμα (Cresyl violet), μεγέθυνση του κοιλιακού άκρου της

οπτικής καλύπτρας, ιχθυδίου ηλικίας 0+. Εύκολα διακρίνονται οι ομοιότητες των κυττάρων, στις εικόνες 15 και 16. (Κλίμακα : 10 μm).

Εικόνα 19: Θετικά σημασμένα κύτταρα σε περικοιλιακές περιοχές του ραχιαίου και κοιλιακού θαλάμου και του υποθαλάμου, σε ιχθύδιο ηλικίας 0+. (Κλίμακα : 50 μm).

Εικόνα 20: Μεγέθυνση της προηγούμενης τομής. Τα κύτταρα διατάσσονται περικοιλιακά σε μια ζώνη υψηλής μιτωτικής ενεργότητας. (Κλίμακα : 50 μm).

Εικόνα 21: Μεγέθυνση, όπου φαίνονται ορισμένα κύτταρα να μεταναστεύουν μακριά από τον πυρήνα ZL. (Κλίμακα : 10 μm).

Εικόνα 22: Θετικά σημασμένα κύτταρα σε περικοιλιακούς πυρήνες του υποθαλάμου, σε άτομο ηλικίας 2+. (Κλίμακα : 50 μm).

Εικόνα 23: Νεογεννηθέντα κύτταρα στην περικοιλιακή επιφάνεια του πυρήνα του πλάγιου κοιλώματος (rl) και του διάχυτου πυρήνα (DF), σε άτομο ηλικίας 2+. (Κλίμακα: 50 μm).

Εικόνα 24: BrdU- σημασμένα κύτταρα στους υποθαλαμικούς πυρήνες Hd, Hc, σε νεαρό άτομο ηλικίας 0+. (Κλίμακα : 50 μm).

Εικόνα 25: Θετικά κύτταρα στα περικοιλιακά τμήματα προοπτικών και θαλαμικών περιοχών, στο οπίσθιο μέρος του τελεγκεφάλου, σε ιχθύδιο ηλικίας 0+. (Κλίμακα: 50 μm).

Εικόνα 26: Θετικά σημασμένα κύτταρα στο περικοιλιακό τμήμα του προοπτικού πυρήνα, στον κοιλιακό τελεγκεφαλο , σε άτομο ηλικίας 1+. (Κλίμακα: 50 μm).

Εικόνα 27: Σημασμένα κύτταρα, που κατανέμονται στις περικοιλιακές επιφάνειες των πυρήνων PP, VS, του κοιλιακού τελεγκεφαλικού τμήματος, σε άτομο ηλικίας 2+. (Κλίμακα : 50 μm).

Εικόνα 28: Θετικά κύτταρα σε πρόσθιο επίπεδο του κοιλιακού τελεγκεφάλου (Vv, Vs), σε άτομο ηλικίας 0+. (Κλίμακα : 50 μm).

Εικόνα 29: Κύτταρα στην εξωτερική επιφάνεια του πλάγιου πυρήνα, του κοιλιακού τελεγκεφάλου (Vl), σε άτομο ηλικίας 1+. (Κλίμακα : 50 μm).

Εικόνα 30: Κύτταρα στην εξωτερική στοιβάδα του οσφρητικού λοβού (OBe), σε άτομο ηλικίας 1+. (Κλίμακα : 50 μm).

Εικόνα 31: Κύτταρα στην εξωτερική στοιβάδα του οσφρητικού λοβού (OBe), σε άτομο ηλικίας 0+. (Κλίμακα : 50 μm).

Εικόνα 32: Μεγέθυνση θετικά σημασμένων κυττάρων στον αιθουσαίο λοβό της παρεγκεφαλίδας (lobn1cb). (Κλίμακα : 10 μm).

Εικόνα 33: Θετικά σημασμένα κύτταρα στη μοριακή και κοκκώδη στοιβάδα της παρεγκεφαλίδας (CCbm, CCbg), τσιπούρας ηλικίας 1+, που θυσιάστηκε τρεις ημέρες μετά τη χορήγηση BrdU. Η μετανάστευση των κυττάρων βρίσκεται σε αρχικά ακόμη στάδια. (Κλίμακα : 50 μm).

Εικόνα 34: Μετανάστευση κυττάρων, μικρής κλίμακας, από τη μοριακή στην κοκκώδη στοιβάδα της πρόσθιας παρεγκεφαλίδας (VCbm, VCbg), σε άτομο ηλικίας 1+, που θυσιάστηκε τρεις ημέρες μετά τη χορήγηση BrdU. (Κλίμακα : 50 μm).

Εικόνα 35: Μεγέθυνση αντίστοιχης περιοχής (VCbm, VCbg) σε μεγαλύτερης ηλικίας (2+) άτομο. (Κλίμακα : 50 μm).

Εικόνα 36: Θετικά σημασμένα κύτταρα που έχουν μεταναστεύσει στο εσωτερικό τμήμα του οσφρητικού λοβού, σε άτομο ηλικίας 1+, τρεις ημέρες μετά την ένεση με BrdU. (Κλίμακα : 50 μm).

Εικόνα 37: Σχεδόν ανύπαρκτη μεταναστευτική δραστηριότητα σε περικοιλιακές θαλαμικές ή υποθαλαμικές περιοχές. Άτομο ηλικίας 2+, που θυσιάστηκε τρεις ημέρες μετά τη χορήγηση BrdU. (Κλίμακα : 50 μm).

Εικόνα 38: Σημαντική μείωση του αριθμού των θετικών κυττάρων, πιθανότατα λόγω αποπτωτικών φαινομένων, σε ιχθύδιο ηλικίας 0+, τρεις ημέρες μετά την ένεση BrdU. (Κλίμακα : 50 μm).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η χαρτογράφηση των ζωνών κυτταρικού πολλαπλασιασμού στον εγκέφαλο νεαρών και ενήλικων ατόμων του είδους *Sparus aurata*, έγινε με τη μέθοδο της βρωμοδεοξουριδίνης. Η μέθοδος αυτή επιλέχθηκε λόγω των πλεονεκτημάτων της, σε σύγκριση με άλλες μεθόδους μελέτης του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και κυρίως της μεθόδου αυτοραδιογραφίας με τριτιωμένη θυμιδίνη, η οποία έχει χρησιμοποιηθεί κατά κόρον μέχρι σήμερα, σε μελέτες που αφορούν το νευρικό σύστημα. Βασικό πλεονέκτημα της μεθόδου της βρωμοδεοξουριδίνης είναι η ευκολία με την οποία μπορεί κανείς να διαχωρίσει τα σημασμένα από τα μη σημασμένα κύτταρα, ακόμη και σε τομές μεγάλου πάχους (50 μm). Αντίθετα με τη μέθοδο τριτιωμένης θυμιδίνης διακρίνονται τα σημασμένα κύτταρα που είναι δίπλα στο ευαίσθητο στην ακτινοβολία γαλάκτωμα (2-3 μm). Οι υπόλοιποι τρόποι μελέτης του κυτταρικού πολλαπλασιασμού (μέθοδος ιστοχημικής σήμανσης οργανωτών του πυρηνίσκου, μέθοδος Ki67 και μέθοδος PCNA) δεν δίνουν τόσο ικανοποιητικά αποτελέσματα, κυρίως επειδή έχουν σχεδιαστεί για τη μελέτη όγκων, όπου δεν ενδιαφέρει τόσο η διατήρηση της μορφολογίας του ιστού και η υψηλή διακριτική ικανότητα. Εκτός από την υψηλή ευαισθησία της, η μέθοδος BrdU είναι επίσης γρήγορη, εφόσον η επεξεργασία του ιστού και το σύνολο της ανοσοϊστοχημικής διαδικασίας, ολοκληρώνονται σε τρεις ημέρες. Τέλος για την εφαρμογή της μεθόδου δεν απαιτείται ειδικός εξοπλισμός, με αποτέλεσμα το σχετικά χαμηλό κόστος.

Ένα από τα βασικά μειονεκτήματα της μεθόδου έχει να κάνει με το χειρισμό του ιστού. Το αντίσωμα, που διατίθεται για τον εντοπισμό της βρωμοδεοξουριδίνης, μπορεί να δράσει πάνω σε μονόκλωνο DNA. Έτσι το πρώτο βήμα της ανοσοϊστοχημικής διαδικασίας είναι η αποδιάταξη του DNA, με μερική υδρόλυση του ιστού (επώαση με HCl). Ο χειρισμός αυτός επηρεάζει αρνητικά τη μορφολογία του ιστού, κάνοντας δύσκολη την αναγνώριση διαφορετικών κυτταρικών τύπων ακόμη και σε παρασκευάσματα που έχουν αντιδράσει με ειδικές χρώσεις αντίθεσης (Methyl green κλπ). Η κατάλληλη τροποποίηση της μεθόδου, ώστε να μη χρειάζεται αποδιάταξη του DNA, ίσως με την παρασκευή ενός νέου αντισώματος, θα μπορούσε να λύσει αυτό το πρόβλημα.

Παρόλα αυτά η μέθοδος της βρωμοδεοξουριδίνης έχει επικρατήσει τα τελευταία χρόνια και έχει εφαρμοστεί με επιτυχία σε θηλαστικά, πτηνά, ερπετά και αμφίβια. Όσον αφορά τους τελεόστεους, η εργασία αυτή είναι η πρώτη, που μελετά τον πολλαπλασιασμό κυττάρων στο κεντρικό νευρικό σύστημα σπαροειδών, ενώ συγκεκριμένα το είδος *Sparus aurata* είναι το δεύτερο είδος τελεόστεου, που μελετάται με τη χρήση της συγκεκριμένης μεθόδου, μετά το είδος *Apteronotus leptorhynchus* (Gymnotiform), (Weisleder P. et al, 1994; Zupanc G. K. H. et al, 1995). Πρέπει επίσης να τονιστεί ότι η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη που γίνεται σε τελεόστεους, που γεννήθηκαν και μεγάλωσαν σε συνθήκες εντατικής ή ημι-εντατικής

ιχθυοκαλλιέργειας.

Όλα τα άτομα *Sparus aurata*, που χρησιμοποιήθηκαν για τη χαρτογράφηση των ζωνών κυτταρικού πολλαπλασιασμού στον εγκέφαλο, θυσιάστηκαν μία ημέρα μετά τη χορήγηση BrdU. Η επιλογή αυτή δεν ήταν τυχαία και είχε ως στόχο τη σήμανση όλων των κυττάρων, που θα έμπαιναν στη φάση διπλασιασμού του γενετικού τους υλικού(S). Η επίτευξη του στόχου αυτού εξαρτάται από τη διαθεσιμότητα της βρωμοδεοξουριδίνης στον οργανισμό. Μελέτες, που έχουν γίνει σε θηλαστικά, έδειξαν ότι η BrdU είναι διαθέσιμη στα κύτταρα για 30 ως 60 λεπτά περίπου (Takahashi T. et al, 1993). Στους τελεόστεους αντίθετα η διαθεσιμότητα της BrdU έχει ελεγχθεί μόνο σε άτομα του είδους *Apteronotus leptorhynchus* (Zuranc G. K. H. et al, 1995) και έχει βρεθεί ότι η βρωμοδεοξουριδίνη σημαίνει μιτωτικά ενεργά κύτταρα για τουλάχιστον δύο ώρες. Με βάση αυτά τα δεδομένα (ή καλύτερα την έλλειψη δεδομένων), επιλέχθηκε τα ζώα να θυσιαστούν μία ημέρα μετά την χορήγηση βρωμοδεοξουριδίνης, ώστε να γίνει σήμανση τουλάχιστον ενός μιτωτικού κύκλου.

ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΖΩΝΩΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ ΚΑΙ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕ ΑΛΛΑ ΣΠΟΝΔΥΛΩΤΑ

Όπως αναφέρθηκε στα αποτελέσματα, η πλειοψηφία των νεογεννηθέντων κυττάρων κατανέμεται σε περιοχές δίπλα ή πολύ κοντά στις κοιλίες. Το γεγονός αυτό ενισχύει την άποψη ότι πρόκειται για απομεινάρια των εμβρυϊκών ζωνών κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Τον ισχυρισμό αυτό εξέφρασε πρώτος ο Kirshe, το 1967 (από Raymond P. A. and Easter S. S., 1983), όταν παρατήρησε ότι τόσο σε έμβρυα όσο και σε ενήλικα άτομα, οι περιοχές αυτές συνδέονται άμεσα με τις κοιλίες και η μορφολογία των κυττάρων είναι παρόμοια. Ισχυρίστηκε επίσης ότι οι περιοχές αυτές, στα ενήλικα άτομα, παρουσιάζονται στα τμήματα του εγκεφάλου, που ωριμάζουν τελευταία. Οι απόψεις του Kirsche ισχυροποιούνται από τα αποτελέσματα διαφόρων μελετών (Raymond P. A. and Easter S. S., 1983), συμπεριλαμβανομένης της παρούσας. Στην οπτική καλύπτρα, για παράδειγμα, βρέθηκε σημαντικός αριθμός σημασμένων κυττάρων στη ραχιαία και κοιλιακή άκρη, που είναι σε άμεση επαφή με την κοιλία. Οι θετικά σημασμένες αυτές ζώνες, δεν παρατηρούνται σε όλο το μήκος της οπτικής καλύπτρας, παρά μόνο στο κεντρικό και οπίσθιο τμήμα της, σε αντίθεση με μελέτες σε τελεόστεους του είδους *Apteronotus leptorhynchus*, στις οποίες κύτταρα βρέθηκαν μόνο στο οπίσθιο τμήμα της καλύπτρας (Zuranc G. K. H. et al, 1995). Οι περιοχές αυτές "ωριμάζουν" τελευταίες κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη της οπτικής καλύπτρας τόσο στα πτηνά όσο και στα αμφίβια και ιχθύες. Αξίζει λοιπόν να επικεντρώσουμε την προσοχή μας σε περι- και παρακοιλιακές ζώνες πολλαπλασιασμού των κυττάρων.

ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ ΚΑΙ ΜΕΣΕΓΚΕΦΑΛΟΣ

Τα τμήματα αυτά του εγκεφάλου μπορούν άνετα να χαρακτηριστούν ως οι κεντρικές μονάδες παραγωγής κυττάρων στο κεντρικό νευρικό σύστημα της τσιπούρας. Εκτός από την οπτική καλύπτρα, η συντριπτική πλειοψηφία των σημασμένων κυττάρων βρέθηκε στις τρεις υποδιαιρέσεις της παρεγκεφαλίδας (CCb, VCb και lobvlcb), γεγονός που έρχεται σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες σε τελεόστεους (Zupanc G. K. H. et al, 1995; Zupanc G. K. H. et al, 1996). Ο αιθουσαίος λοβός του παρεγκεφαλιδικού σώματος είναι η μόνη περιοχή, που σχετίζεται άμεσα με την κοιλία και σ' αυτήν ακριβώς την οριακή, περικοιλιακή ζώνη, παρατηρείται ιδιαίτερα αυξημένη πυκνότητα των θετικά σημασμένων κυττάρων. Στο κυρίως παρεγκεφαλιδικό σώμα, τα νεογεννηθέντα κύτταρα εντοπίζονται στο ραχιαίο και κοιλιακό τμήμα της μοριακής στοιβάδας και ιδιαίτερα κοντά και γύρω από τη μέση γραμμή. Κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ανάπτυξης η παρεγκεφαλίδα χωρίζεται σε δύο τμήματα, κατά μήκος αυτής της γραμμής και παρατηρείται αυξημένη μιτωτική ενεργότητα των κυττάρων σ' αυτό το επίπεδο (Zupanc G. K. H. et al, 1996). Αντίστοιχη ζώνη πολλαπλασιασμού έχει βρεθεί στην έξω-κοκκώδη στοιβάδα της παρεγκεφαλίδας θηλαστικών, κατά την εμβρυογένεση και για μικρό χρονικό διάστημα μετά τη γέννηση (Jacobson M., 1991). Τέλος στην βαλβιδοειδή παρεγκεφαλίδα, νεογεννηθέντα κύτταρα βρέθηκαν σε όλη τη μοριακή στοιβάδα, σε αντίθεση με προηγούμενες μελέτες σε *Gymnotiforms*, που εντόπισαν κύτταρα μόνο κοντά στη μέση γραμμή (Zupanc G. K. H. et al, 1995; Zupanc G. K. H. et al, 1996). Εργασίες, που έγιναν για τη μελέτη της μορφογένεσης του εγκεφάλου σε άλλα σπαιοειδή, έδειξαν ότι αυτό το τμήμα της παρεγκεφαλίδας διαφοροποιείται τελευταίο (Toyoda J. et al, 1994).

ΔΙΕΓΚΕΦΑΛΟΣ

Πολύ ενδιαφέρον στοιχείο για τις περιοχές αυτές, είναι ο τρόπος με τον οποίο κατανέμονται τα θετικά σημασμένα κύτταρα σε κάθε πυρήνα. Αν και τα κύτταρα, που παρατηρήθηκαν σ' αυτές τις περιοχές είναι σαφώς λιγότερα σε σύγκριση με τα κύτταρα στο εγκεφαλικό στέλεχος και το μεσεγκέφαλο, το ποσοστό του όγκου που καταλαμβάνουν σε σχέση με τον όγκο του κάθε πυρήνα, είναι ιδιαίτερα αυξημένο. Η σχέση αυτή βεβαίως εξαρτάται από το μέγεθος του κάθε πυρήνα και το φαινόμενο αυτό εξηγείται πολύ εύκολα, αν λάβει κανείς υπόψη του, το μικρό μέγεθος της πλειοψηφίας των πυρήνων αυτών.

Όλα σχεδόν τα κύτταρα εντοπίζονται σε περικοιλιακές περιοχές και φαίνεται πως ακολουθούν τα όρια κάθε πυρήνα, γεγονός που διευκολύνει τη χαρτογράφηση αυτών των ζωνών πολλαπλασιασμού. Με εξαίρεση κάποιες πολύ μικρές, σε μέγεθος, περιοχές (PVO, ZL), όλοι οι υπόλοιποι περικοιλιακοί θαλαμικοί, υποθαλαμικοί και προοπτικοί πυρήνες χωρίζονται σε δύο

τμήματα. Σε άμεση επαφή με την κοιλία, παρατηρείται μία ζώνη αυξημένου κυτταρικού πολλαπλασιασμού και ακριβώς δίπλα μία ζώνη με ελάχιστα ή καθόλου σημασμένα κύτταρα. Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνεται και από μελέτες, που έγιναν σε τελεόστεους του είδους *Apteronotus leptorhynchus* (Zupanc G. K. H. et al, 1995; Soutschek J. et al, 1995). Τέλος πειράματα με τριτιωμένη θυμιδίνη, που έγιναν σε ενήλικα αμφίβια του είδους *Rana temporaria*, εντόπισαν και ταυτοποίησαν νέους νευρώνες σε περικοιλιακές υποθαλαμικές και προοπτικές περιοχές (Polenov A. L. et al, 1993).

ΤΕΛΕΓΚΕΦΑΛΟΣ

Σε αντίθεση με τις προαναφερθείσες μελέτες στο είδος *Apteronotus leptorhynchus*, δεν παρατηρήθηκε κανένα κύτταρο στο εσωτερικό του τελεγκεφάλου της τσιπούρας. Όλα σχεδόν τα θετικά σημασμένα κύτταρα εντοπίστηκαν στο κοιλιακό και μεσαίο τμήμα του τελεγκεφάλου (Vv, Vs). Όπως και στις διεγκεφαλικές και υποθαλαμικές περιοχές, έτσι και εδώ εμφανίζεται έντονη διαστρωμάτωση και οι πυρήνες αυτοί (Vv, Vs) χωρίζονται σε μία ζώνη έντονου κυτταρικού πολλαπλασιασμού, περικοιλιακά και σε μία "ανενεργό" ζώνη στο εσωτερικό. Χαρακτηριστική είναι επίσης η έλλειψη σημασμένων κυττάρων στην εσωτερική κοκκώδη στοιβάδα των οσφρητικών λοβών και ο περιορισμός τους στην εξωτερική του στοιβάδα.

Γέννηση νέων κυττάρων έχει παρατηρηθεί σε αντίστοιχες περιοχές του εγκεφάλου αμφιβίων (Polenov A. L. et al, 1993) και συγκεκριμένα στην εξωτερική στοιβάδα του οσφρητικού λοβού και στις περικοιλιακές περιοχές του κοιλιακού τελεγκεφάλου. Στον εγκέφαλο πτηνών (Arai O. et al, 1995) νεογεννηθέντα κύτταρα έχουν βρεθεί στις περικοιλιακές περιοχές του προσθεγκεφάλου, πολλά από τα οποία μεταναστεύουν σε τελεγκεφαλικά φωνητικά κέντρα (HVc). Επίσης κύτταρα έχουν βρεθεί στον έσω πυρήνα του διαφράγματος, ο οποίος σύμφωνα με τους Northcutt R. G. και Davis R. E. (Fish Neurobiology, Chapter six, 1983) αντιστοιχεί στον πυρήνα Vv, που υπάρχει στους τελεόστεους. Τέλος σε κάποια θηλαστικά (ποντίκια) (Corotto F. S. et al, 1993; Kaplan M. S., 1981; Gates M. A. et al, 1995) αντίστοιχα κύτταρα έχουν βρεθεί σε κοιλιακές και παρακοιλιακές περιοχές του τελεγκεφάλου καθώς επίσης και στο υποεπενδυματικό στρώμα των οσφρητικών λοβών.

ΜΟΙΡΑ ΝΕΟΓΕΝΝΗΘΕΝΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Αναφέρθηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο, ότι η μέθοδος της βρωμοδεοξουριδίνης προσφέρει πλεονεκτήματα, όσον αφορά τη μελέτη της μετανάστευσης και εγκατάστασης των νεογεννηθέντων κυττάρων στις τελικές περιοχές στόχους τους. Κάτι τέτοιο είναι εφικτό αν τα

άτομα στα οποία χορηγήθηκε η βρωμοδεοξουριδίνη αφεθούν να επιβιώσουν για αρκετά μεγάλο χρονικό διάστημα. Η βρωμοδεοξουριδίνη παραμένει μέσα στο κύτταρο μέχρι το τέλος της ζωής του και η ένταση του σήματος μειώνεται μόνο αν το κύτταρο αυτό διαιρεθεί ξανά (Menez J. R. et al, 1995).

Με βάση αυτό το σκεπτικό, κάποια άτομα του είδους *Sparus aurata* θυσιάστηκαν τρεις ημέρες μετά τη χορήγηση BrdU και επανεξετάστηκε η κατανομή και το πλήθος των θετικά σημασμένων κυττάρων. Η πλειοψηφία των σημασμένων κυττάρων παραμένει στις ζώνες πολλαπλασιασμού. Αρκετά κύτταρα όμως έχουν μετακινηθεί, έστω και λίγο, σε παρακοιλιακές περιοχές στο εσωτερικό του εγκεφάλου. Πιο εμφανής είναι η μετακίνηση κυττάρων από τη μοριακή στην κοκκώδη στοιβάδα της παρεγκεφαλίδας (CCbg, VCbg, Egl).

Ενδιαφέρον είναι ότι η πλειοψηφία των νεογεννηθέντων κυττάρων, ακόμη και σε άτομα που θυσιάστηκαν μία ημέρα μετά τη χορήγηση BrdU, έχει επιμηκυσμένο σχήμα. Παρόμοια επιμηκυσμένα κύτταρα βρέθηκαν σε όλες τις ζώνες πολλαπλασιασμού ή κοντά σε αυτές, σε ιστολογικά παρασκευάσματα, με τη χρώση Cresyl violet. Τα κύτταρα αυτά είναι έντονα βαμμένα, γεγονός που πιθανότατα σημαίνει ότι έχουν μεγάλο πυρήνα και πολλά ριβοσώματα. Όλες οι μελέτες σε τελεόστεους, που έχουν γίνει είτε με χορήγηση τριτιωμένης θυμιδίνης είτε με χορήγηση βρωμοδεοξουριδίνης, έχουν εντοπίσει παρόμοια κύτταρα στις ζώνες κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Περαιτέρω ανάλυση με τη βοήθεια ηλεκτρονικού μικροσκοπίου, που έγινε από τους Raymond και Easter, για τα κύτταρα της ζώνης πολλαπλασιασμού της οπτικής καλύπτρας χρυσόψαρου, απέδειξε ότι τα κύτταρα αυτά έχουν πράγματι επιμηκυσμένο και με πολλούς λοβούς πυρήνα και βασεόφιλο κυτταρόπλασμα, πλούσιο σε ριβοσώματα. Το σχήμα των κυττάρων αυτών θεωρείται χαρακτηριστικό σχήμα κυττάρων που μεταναστεύουν.

Είναι φανερό ότι τρεις ημέρες δεν είναι αρκετές για να παρακολουθήσει κανείς την πορεία και τελική εγκατάσταση των κυττάρων αυτών. Η μοναδική ίσως εξαίρεση είναι ο οσφρητικός λοβός όπου αρκετά κύτταρα σφαιρικού σχήματος εντοπίστηκαν στην εσωτερική (κοκκώδη) στοιβάδα. το σφαιρικό σχήμα των κυττάρων αυτών υποδεικνύει ότι η περιοχή αυτή αποτελεί τον τελικό ή έναν ενδιάμεσο σταθμό στη μετακίνησή τους. Πειράματα στα οποία οι τελεόστεοι, που χρησιμοποιήθηκαν αφέθηκαν να ζήσουν για πολύ μεγάλα χρονικά διαστήματα (ως και 160 ημέρες), έδειξαν ότι η μετανάστευση των κυττάρων της παρεγκεφαλίδας (Zuranc G. K. H. et al, 1996) και της οπτικής καλύπτρας (Raymond P. A. et al, 1983) γίνεται με πολύ αργούς ρυθμούς. Τα αποτελέσματα της εργασίας αυτής επιβεβαιώνουν προηγούμενες παρατηρήσεις και απ' ότι φαίνεται το μοντέλο αυτό της αργής μετανάστευσης μπορεί να γενικευτεί και στα σπαροειδή.

Το μεγάλο ερώτημα, στο οποίο η εργασία αυτή αδυνατεί να απαντήσει κατηγορηματικά, είναι σε τι διαφοροποιούνται τελικά όλα αυτά τα κύτταρα. Αναφέρθηκε ήδη στην εισαγωγή ότι εκτός από τη νευρογένεση, αυτό που συχνότερα παρατηρείται σε ώριμο νευρικό ιστό είναι η γλοιογένεση και η αγγειογένεση. Μέχρι πρόσφατα μάλιστα η άποψη που επικρατούσε υποστήριζε, ότι όλα τα κύτταρα που γεννιούνται στο νευρικό ιστό ενήλικων σπονδυλωτών είναι είτε γλοιακά είτε κύτταρα που επενδύουν τα τοιχώματα αγγείων. Κανείς πλέον δεν ενστερνίζεται

αυτές τις απόψεις, τουλάχιστον όσον αφορά τα αμφίβια και τους τελεόστεους.

Παλαιότερες μελέτες, με χρήση τριτιωμένης θυμιδίνης, κυρίως σε χρυσόψαρα (*Carassius auratus*) απέδειξαν ότι αρκετά νεογεννηθέντα κύτταρα στην εξωτερική επιφάνεια των οσφρητικών λοβών, εισέρχονται στα εσωτερικά του στρώματα και διαφοροποιούνται σε νευρικά, κοκκώδη κύτταρα, ενώ κάποια άλλα διαφοροποιούνται σε γλοιακά αστροκύτταρα (Alonso J. R. et al, 1989). Λίγο πριν (Raymond P. A. et al, 1983) είχε αποδειχθεί, ότι η πλειοψηφία των κυττάρων που γεννιούνται στη ραχιαία και κοιλιακή άκρη της οπτικής καλύπτρας ενήλικου χρυσόψαρου, διαφοροποιείται σε νευρώνες, ενώ όλα τα υπόλοιπα νεογεννηθέντα κύτταρα στην οπτική καλύπτρα και στον γειτονικό της δακτυλιοειδή, επιμήκη πυρήνα (tlo) γίνονται είτε γλοιακά κύτταρα είτε επιθηλιακά κύτταρα των αγγείων. Πρόσφατα προτάθηκε, επίσης ότι αρκετά κύτταρα, που γεννιούνται στη μοριακή στοιβάδα της παρεγκεφαλίδας, διαφοροποιούνται σε κοκκώδη κύτταρα (Zupanc G. K. H. et al, 1996) και ότι νέα κύτταρα στον πρόσθιο κεντρικό πυρήνα του ραχιαίου θαλάμου (CP) διαφοροποιούνται σε λειτουργικούς νευρώνες (Zupanc G. K. H. and Stroh T., 1996). Δεν θα είναι διόλου απίθανο αν οι παραπάνω διαπιστώσεις ισχύουν και για τα σπαιοειδή.

Είναι γενικά αποδεκτό ότι σημαντικό ποσοστό των κυττάρων, που γεννιούνται στο κεντρικό νευρικό σύστημα τόσο κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ανάπτυξης όσο και μετά τη γέννηση, υπόκεινται σε προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (απόπτωση). Το πιο κλασικό μορφολογικό χαρακτηριστικό των αποπτωτικών κυττάρων είναι ο πυκνωτικός πυρήνας και ο θρυμματισμός του DNA (Lo A. C. et al, 1995). Μελέτες σε ενήλικους αρουραίους έχουν δείξει ότι πολλά από τα νεογεννηθέντα κύτταρα πεθαίνουν στον τόπο γέννησής τους, πριν ακόμα αρχίσουν τη μετανάστευσή τους (Thomaidou et al, 1997). Στην παρούσα μελέτη δεν παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των σημασμένων κυττάρων, σε ψάρια ηλικίας 1+ και 2+, που θυσιάστηκαν τρεις ημέρες μετά τη χορήγηση BrdU, γεγονός που σημαίνει ότι το ποσοστό κυτταρικού θανάτου, σ' αυτή τη φάση τουλάχιστον της ζωής των κυττάρων είναι αμελητέο. Εξαιρεση ίσως να αποτελούν τα ελάχιστα νεογεννηθέντα κύτταρα στην εξωτερική επιφάνεια του εγκεφάλου και ειδικότερα στα ραχιαία τμήμα του τελεγκεφάλου και στην πλάγια, εξωτερική επιφάνεια του υποθαλάμου, τα οποία χάνονται. Στα πιο νεαρά άτομα (0+), φαίνεται πως τα αποπτωτικά φαινόμενα είναι πιο έντονα, σε περικολιακές περιοχές του διεγκεφάλου και συγκεκριμένα στους πυρήνες CP, HAv, PPv, TA, TP, TPp, VM και ZL.

Αν και εκ πρώτης όψεως το φαινόμενο της γένεσης κυττάρων και του σχεδόν άμεσου θανάτου τους, δε φαίνεται να έχει λογική υπόσταση, μπορεί να εξηγηθεί από την έλλειψη τροφικών παραγόντων, αναγκαίων για την επιβίωση ενός κυττάρου (Jelsma N. T. et al, 1994) ή από την ανικανότητα ενός κυττάρου να σχηματίσει τις κατάλληλες συνδέσεις, που θα το ενσωματώσουν στο ήδη υπάρχον λειτουργικό δίκτυο (Jacobson M., 1991). Δύο πρόσφατες μελέτες για τον κυτταρικό θάνατο στον εγκεφαλο τελεόστεου του είδους *Apteronotus leptorhynchus*, επιβεβαιώνουν τις παραπάνω παρατηρήσεις. Βρέθηκε ότι αρκετά νεογεννηθέντα κύτταρα στην παρεγκεφαλίδα του τελεόστεου αυτού, πεθαίνουν αφού φτάσουν στις τελικές τους

θέσεις, στην κοκκώδη στοιβάδα και όχι πριν ή κατά τη διάρκεια της μετανάστευσης (Zupanc G. K. H. and Soutschek J., 1996). Αντιθέτως λίγα νεογεννηθέντα κύτταρα στον πρόσθιο κεντρικό πυρήνα του θαλάμου (CP), πεθαίνουν πριν μεταναστεύσουν ή διαφοροποιηθούν (Soutschek J. et al, 1995), παρόλα αυτά για την πλειοψηφία των κυττάρων που πεθαίνουν τελικά, ισχύει ότι και για τα παρεγκεφαλιδικά κύτταρα.

Είναι λογικό λοιπόν κανείς να υποθέσει, ότι αν και δεν υπάρχουν σοβαρές ενδείξεις ανιχνεύσιμης μείωσης του αριθμού των θετικά σημασμένων κυττάρων, στον εγκέφαλο ενήλικης τσιπούρας, αποπτωτικοί μηχανισμοί θα πρέπει να δρουν αργότερα, ώστε να διατηρείται μία ισορροπία και να ελέγχεται η υπέρμετρη αύξηση του εγκεφαλικού ιστού.

ΠΙΘΑΝΕΣ ΕΞΗΓΗΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΟ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΥ ΣΤΟΝ ΕΓΚΕΦΑΛΟ ΕΝΗΛΙΚΩΝ ΤΕΛΕΟΣΤΕΩΝ

Ο ρυθμός γέννησης νέων κυττάρων, που παρατηρείται στον εγκέφαλο ενήλικων τελεόστεων, είναι εντυπωσιακός και δεν έχει παρατηρηθεί, σε τέτοια έκταση, σε κανένα από τα υπόλοιπα σπονδυλωτά. Είναι γεγονός ότι το μέγεθος των περισσότερων τελεόστεων αυξάνει συνεχώς κατά το μεγαλύτερο μέρος της ζωής τους. Στη συγκεκριμένη μελέτη το βάρος των ατόμων, που χρησιμοποιήθηκαν αυξάνει 21 φορές από την ηλικία 0+ στην ηλικία 1+ και 2,6 φορές από την ηλικία 1+ στη 2+. Συνολικά το βάρος αυξάνεται 55 φορές, μέσα σε τρία σχεδόν χρόνια. Για το ίδιο χρονικό διάστημα το βάρος του εγκεφάλου αυξάνει 8 φορές (Πίνακες 4 και 5). Όπως ακριβώς συμβαίνει με το βάρος του σώματος, έτσι και η αύξηση του βάρους του εγκεφάλου είναι μεγαλύτερη στα νεαρά ψάρια και ο ρυθμός αύξησης μειώνεται όσο αυξάνεται η ηλικία (Brandstatter R. et al, 1990).

ΠΙΝΑΚΑΣ 4: Μορφολογικά χαρακτηριστικά ψαριών που χρησιμοποιήθηκαν					
	ΕΤΟΣ ΖΩΗΣ	ΦΥΛΟ	ΒΑΡΟΣ (gr)	ΜΗΚΟΣ (cm)	ΒΑΡΟΣ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ (gr)
0+/1	1 ⁰	A	4,5	6,5	0,059
0+/2	1 ⁰	A	5,3	6,7	0,059
0+/3	1 ⁰	A	6,1	7	0,078
0+/4	1 ⁰	A	5,1	6,5	0,05
0+/5	1 ⁰	A	6	7	0,07
0+/6	1 ⁰	A	5,8	7	0,063
0+/V	1 ⁰	A	6	7,1	0,072
1+/1	2 ⁰	A	110	19	0,35
1+/2	2 ⁰	A	120	19	0,38
1+/3	2 ⁰	Θ	140	21	0,38
1+/4	2 ⁰	A	110	19	0,31

1+/5	2 ⁰	A	117	19	0,33
1+/V	2 ⁰	A	105	18	0,33
2+/1	3 ⁰	Θ	300	23	0,5
2+/2	3 ⁰	Θ	290	22	0,5
2+/3	3 ⁰	Θ	310	25	0,55
2+/4	3 ⁰	Θ	290	23	0,5
2+/5	3 ⁰	Θ	320	24	0,56
2+/V	3 ⁰	Θ	310	25	0,51

ΠΙΝΑΚΑΣ 5				
ΗΛ. ΚΛΑΣΗ ΖΩΟΥ	ΜΕΣΟ ΒΑΡΟΣ (gr)	ΜΕΣΟ ΜΗΚΟΣ (cm)	M. B. (gr) ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ	A (%)
0+	5,54	6,83	0,065	1,17
1+	117	19,2	0,35	0,3
2+	303	23,7	0,52	0,17

A: % ποσοστό του μέσου βάρους των εγκεφάλων σε σχέση με το μέσο βάρος των ζώων. Φαίνεται ότι η αύξηση του βάρους και του μεγέθους του εγκεφάλου ακολουθεί φθίνουσα πορεία, αντίστοιχη με αυτήν της αύξησης του βάρους/μεγέθους του σώματος.

Με βάση αυτές τις παρατηρήσεις, εύλογο είναι να υποθέσει κανείς ότι η αύξηση του βάρους, επομένως και του μεγέθους του εγκεφάλου, οφείλεται σε σημαντικό βαθμό στην προσθήκη νεογεννηθέντων κυττάρων στον ήδη υπάρχοντα κυτταρικό πληθυσμό. Κάποια από αυτά τα κύτταρα διαφοροποιούνται τελικά σε νευρώνες, κάποια σε γλοιακά κύτταρα και κάποια σε επιθηλιακά κύτταρα των αγγείων. Βεβαίως σημαντική είναι και η συνεισφορά των νευραξόνων και δενδριτών, στην αύξηση αυτή (Raymond P. A. et al, 1983). Η παραπάνω υπόθεση δεν μπορεί να γενικευτεί για όλες τις εγκεφαλικές περιοχές. Μελέτες στους οσφρητικούς λοβούς αρκετών τελεόστεων, οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι τα νεογεννηθέντα κύτταρα μάλλον αντικαθιστούν πλήρως τα ήδη υπάρχοντα (Alonso J. R. et al, 1989).

Εκτός από την αύξηση του μεγέθους του εγκεφάλου, πολλές εξηγήσεις έχουν δοθεί αναφορικά με τη σκοπιμότητα του κυτταρικού πολλαπλασιασμού στον εγκέφαλο ενήλικων τελεόστεων. Η παραγωγή νευρώνων ίσως να σχετίζεται με την πλαστικότητα του νευρικού συστήματος, κυρίως όσον αφορά την κατάλληλη διαμόρφωση των νευρικών κυκλωμάτων, που ελέγχουν ποικίλες λειτουργίες, όπως για παράδειγμα τη διαμόρφωση της μνήμης. Αντίστοιχα η γέννηση γλοιακών κυττάρων είναι απαραίτητη για την υποστήριξη του ολοένα αυξανόμενου αριθμού νευρώνων και την προστασία του νευρικού ιστού (Jacobson M., 1991).

Πολλές μελέτες για την πλαστικότητα του ΚΝΣ και ιδιαίτερα για την ικανότητα επιδιόρθωσης του οπτικού συστήματος μετά από κακώσεις, συνδέουν την αυξημένη νευρο- και γλοιογένεση, στα αμφίβια και τους ιχθύες με την εντυπωσιακή πλαστικότητα του νευρικού

συστήματος (Beazley L. D. et al, 1998; Par Hayes W. et al, 1988; Meyer R. L., 1980). Η γέννηση νέων κυττάρων τόσο στη ρέτινα (Chiu J. F. et al, 1995) όσο και στο οπτικό σύστημα των σπονδυλωτών αυτών, θεωρείται ότι βοηθά στην αναγέννηση και λειτουργική επανασύνδεση κατεστραμμένων οπτικών αξόνων, μα αποτέλεσμα την επαναφορά της όρασης. Αν και παρόμοια αναγέννηση των αξόνων του οπτικού συστήματος, παρατηρείται και στα υπόλοιπα σπονδυλωτά (Carr V. M. et al, 1998; Alvarez-Buylla A., 1992), η απουσία αντίστοιχης γέννησης κυττάρων πιστεύεται ότι οδηγεί στην έλλειψη ουσιών αναγκαίων για τη σωστή τοπογραφική οργάνωση και λειτουργική επανασύνδεση των αξόνων αυτών.

Πρέπει να σημειωθεί βεβαίως ότι όσα μόλις αναφέρθηκαν περί πλαστικότητας του νευρικού συστήματος είναι μάλλον συνέπειες και όχι αίτια του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Μία πιθανή εξήγηση του φαινομένου θα πρέπει να συνδέει το μέγεθος της "περιφέρειας" με τον αριθμό των νευρώνων (Jacobson M., 1991). Πράγματι όσο μεγαλύτερο είναι το πεδίο, που πρέπει να καλύψει ή ελέγξει το νευρικό σύστημα, τόσο μεγαλύτερος είναι και ο αριθμός των νευρώνων, που χρειάζονται και τελικά επιβιώνουν. Ενώ στα περισσότερα σπονδυλωτά υπάρχει ένα ανώτατο όριο για την αύξηση του μεγέθους του σώματος (περιφέρεια), στους ιχθύες, οι οποίοι αγγίζουν αυτό το όριο σχεδόν στο τέλος της ζωής τους, ο ρυθμός αύξησης των κυττάρων του νευρικού συστήματος συμβαδίζει με τον φθίνοντα ρυθμό αύξησης του σώματος. Επόμενο είναι, αν και ελάχιστες παρατηρήσεις το επιβεβαιώνουν (Birse S. C. et al, 1980) ο ρυθμός αύξησης του εγκεφάλου να ελαχιστοποιείται σε ηλικιωμένους ιχθύες.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ- ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

Η εργασία αυτή για πρώτη φορά κατέγραψε και μελέτησε με επιτυχία τις ζώνες γέννησης νέων κυττάρων και τα αρχικά στάδια της μετανάστευσής τους, στον εγκέφαλο νεαρών και ώριμων ατόμων του είδους *Sparus aurata* (Sparidae).

Ο αριθμός των νεογεννηθέντων κυττάρων είναι εντυπωσιακός και δεν παρουσιάζεται σημαντική διακύμανση μεταξύ ατόμων διαφορετικών ηλικιών. Η πλειοψηφία των κυττάρων εντοπίστηκε σε περι- και παρακοιλιακές περιοχές του εγκεφάλου, που πιθανότατα λειτουργούν ως ζώνες κυτταρικού πολλαπλασιασμού κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ανάπτυξης.

Τα περισσότερα νεογεννηθέντα κύτταρα βρέθηκαν στην παρεγκεφαλίδα, σημαντική όμως μιτωτική ενεργότητα παρατηρήθηκε στο κοιλιακό τμήμα του τελεγκεφάλου, στις περικοιλιακές περιοχές του υποθαλάμου και του θαλάμου και στο ραχιαίο και κοιλιακό άκρο της οπτικής καλύπτρας. Το επιμηκυμένο σχήμα των κυττάρων αυτών υποδηλώνει τη μετανάστευσή τους στο εσωτερικό του εγκεφάλου.

Δεδομένης της παράλληλης αύξησης του μεγέθους, τόσο του σώματος όσο και του εγκεφάλου δεν μπορούμε παρά να συμπεράνουμε ότι κάποια από τα νεογεννηθέντα κύτταρα διαφοροποιούνται σε νευρώνες και ενσοματώνονται στο ήδη υπάρχον δίκτυο.

Όπως κάθε μελέτη έτσι και αυτή δημιουργεί νέα ερωτήματα, που πρέπει να απαντηθούν, για να κατανοήσουμε το φαινόμενο αυτό και τις συνέπειές του καλύτερα. Καταρχήν είναι επιτακτική η ανάγκη για τη μελέτη σε βάθος της εμβρυϊκής ανάπτυξης του εγκεφάλου των σπαροειδών. Το γεγονός ότι ο χειρισμός των αυγών, προνυμφών και νυμφών είναι ιδιαίτερα δύσκολος, έχει επιδράσει αρνητικά στη μελέτη της εμβρυϊκής ανάπτυξης των τελεόστεων γενικά, με αποτέλεσμα να υπάρχουν πολλά κενά. Αφού κατανοήσουμε τα αρχικά στάδια ανάπτυξης του εγκεφάλου, θα είναι ευκολότερο να καταλάβουμε γιατί και πώς συνεχίζει η ανάπτυξη αυτή.

Μια ολοκληρωμένη μελέτη οφείλει να συγκρίνει το φαινόμενο του κυτταρικού πολλαπλασιασμού στον εγκέφαλο διαφόρων σπαροειδών και να παρακολουθήσει τη μετανάστευση και τελική διαφοροποίηση των νεογεννηθέντων κυττάρων (Bravo H. et al, 1997). Έτσι θα δούμε αν τα κύτταρα αυτά απλά προστίθενται ή σε κάποιες περιπτώσεις αντικαθιστούν πλήρως τον ήδη υπάρχοντα κυτταρικό πληθυσμό, καθώς επίσης και πώς αλληλεπιδρούν και ρυθμίζονται τα φαινόμενα του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου και της γέννησης νέων κυττάρων στον ίδιο εγκέφαλο (Clarke P. G. et al, 1995). Μελέτη ατόμων απο όσο το δυνατόν περισσότερες ηλικιακές κλάσεις θα μπορούσε να φανερώσει πότε σταματά ή τουλάχιστον

μειώνεται σημαντικά η γέννηση νέων κυττάρων.

Ενδιαφέρον, αν και δύσκολο για πρακτικούς λόγους, είναι να δει κανείς ποιές είναι οι διαφορές, όσον αφορά τη διαδικασία αυτή, φυσικών και εκτρεφόμενων πληθυσμών και πως οι συνθήκες εντατικής ιχθυοκαλλιέργειας ή άλλοι παράγοντες την επηρεάζουν (Cui H. et al, 1998). Τέτοιοι παράγοντες είναι διάφορα φάρμακα ή ορμόνες, που πολλές φορές χορηγούνται στα εκτρεφόμενα είδη. Ήδη γνωρίζουμε οτι στα ενήλικα πτηνά η αύξηση των επιπέδων θυροξίνης μειώνει τον αριθμό των νεογεννηθέντων κυττάρων στον εγκέφαλο (Arai O. et al, 1995).

Η κατανόηση της σημασίας των παραπάνω φαινομένων αλλά και της λειτουργίας του εγκεφάλου, μέσω της ανάλυσης νευρικών κυκλωμάτων, θα μπορούσε να καταδείξει μια πιθανή συσχέτιση της γέννησης κυττάρων με διαδικασίες μνήμης και μάθησης (Alvarez-Buylla A. et al, 1990; Bottjer S. W. et al, 1997; Kempermann G. et al, 1998; Patel S. N. et al, 1997) ή διαδικασίες αλλαγής φύλου. Ειδικά τα σπαροειδή, λόγω του ερμαφροδιτισμού τους, αποτελούν ιδανικό μοντέλο για να μελετήσει κανείς πως ο εγκέφαλος ελέγχει και πως τελικά επηρεάζεται απο τις διαδικασίες αλλαγής φύλου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η γέννηση κυττάρων στον εγκέφαλο ενήλικων τελεόστεων και αμφιβίων, φαίνεται πως αποτελεί τον κανόνα, σε αντίθεση με τα υπόλοιπα σπονδυλωτά. Η σύγχρονη ανοσοϊστοχημική μέθοδος της βρωμοδεοξουριδίνης χρησιμοποιήθηκε, στην παρούσα μελέτη, για τη χαρτογράφηση των ζωνών κυτταρικού πολλαπλασιασμού και τη μελέτη των αρχικών σταδίων της μετανάστευσης των νεογεννηθέντων κυττάρων, στον εγκέφαλο νεαρών και ώριμων τελεόστεων του είδους *Sparus aurata* (Sparidae), που γεννήθηκαν και μεγάλωσαν σε συνθήκες εντατικής ιχθυοκαλλιέργειας.

Ο συνολικός αριθμός των νεογεννηθέντων κυττάρων είναι εντυπωσιακός και δεν παρουσιάζεται σημαντική διακύμανση μεταξύ ατόμων διαφορετικής ηλικίας. Σχεδόν όλα τα θετικά σημασμένα κύτταρα εντοπίστηκαν σε περι- ή παρακοιλιακές περιοχές του εγκεφάλου, που πιθανότατα λειτουργούν ως ζώνες κυτταρικού πολλαπλασιασμού και κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ανάπτυξης του νευρικού συστήματος. Τα περισσότερα κύτταρα βρέθηκαν σε παρεγκεφαλιδικές περιοχές, σημαντική όμως γένεση κυττάρων παρατηρήθηκε στις περικοιλιακές περιοχές του υποθαλάμου, του θαλάμου και του τελεγκεφάλου, καθώς και στο ραχιαίο και κοιλιακό άκρο της οπτικής καλύπτρας.

Η πλειοψηφία των θετικά σημασμένων κυττάρων έχει επιμηκυμένο σχήμα, γεγονός που υποδηλώνει τη μεταναστευτική τους δραστηριότητα. Αν και φαίνεται πως η μετακίνησή τους γίνεται με αργούς ρυθμούς, αρκετά κύτταρα εντοπίζονται στην κοκκώδη στοιβάδα της παρεγκεφαλίδας και σε παρακοιλιακές περιοχές του υπόλοιπου εγκεφάλου.

Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής επιβεβαιώνουν την άποψη ότι η αύξηση του μεγέθους του εγκεφάλου, που γίνεται παράλληλα με την αύξηση μεγέθους του σώματος ενός τελεόστεου, οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στην προσθήκη νέων κυττάρων στον ήδη υπάρχοντα πληθυσμό.

SUMMARY

Unlike other vertebrates, cell proliferation in the brain of adult teleosts and amphibians seems to be a common feature. Incorporation of 5-bromo-2-deoxyuridine (BrdU) was used both to map the proliferation zones and to examine the early migration stages of newly born cells in the brain of juvenile and adult teleosts (*Sparus aurata*), that were born and kept under intensive fish-farming conditions.

The total number of labeled cells observed was impressive and stayed constant throughout the various postnatal ages studied. The majority of positively labeled cells were found in ventricular or subventricular areas of the brain, which in most cases coincide with embryonic proliferation zones. High mitotic activity was observed in all the hypothalamic, thalamic and telencephalic ventricular areas as well as the dorsal and ventral rim of the optic tectum. However, the cerebellar areas exhibited by far the highest number of newly born cells.

Most of the labeled cells were elongated suggesting that they were migrating. Even though motility was moderate a significant number of cells reached the cerebellar granular cell layer and subventricular areas after a short period of time.

These results support previous observations and strengthen theories which suggest that the substantial increase in the size of the teleost brain is partially due to the generation and addition of new cells to the already existing population.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Alonso J. R., Lara J., Vecino E., Covenas R., Aijon J., 1989. Cell proliferation in the olfactory bulb of adult freshwater teleosts. *J. Anat.* 163: 155-163.
- Alvarez-Buylla A., 1990. Commitment and migration of young neurons in the vertebrate brain. *Experientia* 46:9, 879-82.
- Alvarez-Buylla A., 1990. Mechanism of neurogenesis in adult avian brain. *Experientia* 46:9, 948-55.
- Alvarez-Buylla A., 1992. Neurogenesis and plasticity in the CNS of adult birds. *Exp. Neurol.* 115:1, 110-4.
- Alvarez-Buylla A., Kirn J. R., Nottebohm F., 1990. Birth of projection neurons in adult avian brain may be related to perceptual or motor learning [published erratum appears in *Science* 1990 Oct 19;250(4979):360] *Science* 249:4975, 1444-6.
- Alvarez-Buylla A., Ling C. Y., Yu W. S., 1994. Contribution of neurons born during embryonic, juvenile, and adult life to the brain of adult canaries: regional specificity and delayed birth of neurons in the song-control nuclei. *J. Comp. Neurol.* 347:2, 233-48.
- Alvarez-Buylla A., Theelen M., Nottebohm F., 1990. Proliferation "hot spots" in adult avian ventricular zone reveal radial cell division. *Neuron.* 5:1, 101-9.
- Arai O., Saito N., 1995. Thyroxine reduces the production rate of BrdU- labelled cells in the ventricular zone of the adult canary brain. *Neurosci. Lett.* 198: 135-138.
- Bauer U. M., Schneider-Hirsch S., Reinhardt S., Pauly T., Maus A., Wang F., Heiermann R., Rentrop M., Maelicke A., 1997. Neuronal cell nuclear factor: a nuclear receptor possibly involved in the control of neurogenesis and neuronal differentiation. *Eur. J. Biochem.* 249:3, 826-37.
- Beazley L. D., Tennant M., Stewart T. M., Anstee S. D., 1998. The primary visual system of adult lizards demonstrates that neurogenesis is not obligatorily linked to central nerve regeneration but may be a prerequisite for the restoration of maps in the brain. *Vision Res.* 38:6, 789-93.
- Becerra M., Manso M. J., Rodriguez-Moldes I., Anadon R., 1994. Primary olfactory fibres project to the ventral telencephalon and preoptic region in trout (*salmo trutta*): A developmental immunocytochemical study. *J. Comp. Neurol.* 342: 131-143.
- Bhat K. M., 1998. Cell-cell signaling during neurogenesis: some answers and many questions. *Int. J. Dev. Biol.* 42:2, 127-39.
- Birse S. C., Leonard R. B., Coggeshall R. E., 1980. Neuronal increase in various areas of the nervous system of the guppy, *lebistes*. *J. Comp. Neurol.* 194: 291-301.
- Bolam J. P., 1992. *Experimental Neuroanatomy. A Practical Approach.* IRL Press at Oxford University Press.
- Bottjer S. W., Arnold A. P., 1997. Developmental plasticity in neural circuits for a learned behavior. *Annu. Rev. Neurosci.* 20: 459-81.
- Brandstätter R., Kotschal K., 1990. Brain growth patterns in four European cyprinid fish species

(Cyprinidae, Teleostei): roach (*Rutilus rutilus*), bream (*Abramis brama*), common carp (*Cyprinus carpio*) and sabre carp (*Pelecus cultratus*). Brain. Behav. Evol. 35:4, 195-211.

Bravo H., Inzunza O., Fernandez V., Sanheuzza M., 1997. Distribution of NADPH-d positive neurons during postnatal development of the rat somatosensory cortex correlates with gradients of neurogenesis and development. Neurosci. Lett. 234: 103-106.

Burek M. J., Oppenheim R. W., 1996. Programmed cell death in the developing nervous system. Brain Pathol. 6:4, 427-46.

Butler A. B. and Hodos W., 1996. Comparative vertebrate neuroanatomy. Evolution and adaptation. Wiley-Liss Inc., New York.

Carr V. M., Walters E., Margolis F. L., Farbman A. I., 1998. An enhanced olfactory marker protein immunoreactivity in individual olfactory receptor neurons following olfactory bulbectomy may be related to increased neurogenesis. J. Neurobiol. 34:4, 377-90.

Cattaneo E., Magrassi L., Butti G., Santi L., Giavazzi A., Pezzotta S., 1994. A short term analysis of the behavior of conditionally immortalized neuronal progenitors and primary neuroepithelial cells implanted into the fetal rat brain. Brain Res. Dev. Brain Res. 83: 2, 197-208.

Chiu J. F., Mack A. F., Fernald R. D., 1995. Daily rhythm of cell proliferation in the teleost retina. Brain Res. 673: 119-125.

Clarke P. G., Oppenheim R. W., 1995. Neuron death in vertebrate development: in vitro methods. Methods Cell Biol. 46: 277-321.

Corotto F. S., Henegar J. A., Maruniak J. A., 1993. Neurogenesis persists in the subependymal layer of the adult mouse brain. Neurosci. Lett. 149: 111-114.

Cowan W. M., 1982. A synoptic view of the development of the vertebrate central nervous system. Repair and regeneration of the nervous system. Ed. J. G. Nicholls. Dahlem Konferenzen, Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag. pp. 7-24.

Crocker J., 1989. Nucleolar organiser regions. Current Topics in Pathology: Nuclear Pathology. (edited by Underwood J. C. E.) Berlin: Springer Verlag.

Cui H., Bulleit R. F., 1998. Potassium chloride inhibits proliferation of cerebellar granule neuron progenitors. Brain Res. Dev. Brain Res. 106:1-2, 129-35.

Divanach P., Kentouri M., Charalambakis G., Pouget F., Sterioti A., 1993. Comparison of growth performance of six Mediterranean fish species reared under intensive farming conditions in Crete (Greece), in raceways with the use of self feeders. Production, environment and quality. Bordeaux aquaculture '92. Barnabe G., Kestemont P., (Eds). European Aquaculture Society. Special publication No. 18, Ghent, Belgium.

Dodd J., Jessell T., 1988. Axon guidance and the patterning of neuronal projections in vertebrates. Science 242: 692-698.

Doetsch F., Garcia-Verdugo J. M., Alvarez-Buylla A., 1997. Cellular composition and three-dimensional organization of the subventricular germinal zone in the adult mammalian brain. J. Neurosci. 17:13, 5046-61.

Fritz A., Gorlick D. L., Burd G. D., 1996. Neurogenesis in the olfactory bulb of the frog *Xenopus laevis* shows unique patterns during embryonic development and metamorphosis. Int. J. Dev. Neurosci. 14:7-8, 931-43.

- Ganzler S. I. I., Redies C., 1995. R-Cadherin expression during nucleus formation in chicken forebrain neuromeres. *The Journal of Neuroscience* 15:6, 4157-4172.
- Gates M. A., Brannon Thomas L., Howard E. M., Laywell E. D., Sajin B., Faissner A., Gotz B., Silver J., Steindler D. A., 1995. Cell and molecular analysis of the developing and adult mouse subventricular zone of the cerebral hemispheres. *J. Comp. Neurol.* 361: 249-266.
- Gerdes J., Schwab U., Lemke H., Stein H., 1983. Production of a monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int. J. Cancer* 31: 13-20.
- Goldman S. A., Nottebohm F., 1983. Neuronal production, migration and differentiation in a vocal control nucleus of the adult female canary brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80: 2390-2394.
- Gratzner H. G., 1982. Monoclonal antibody to 5-bromo-and- 5 iododeoxyuridine. A new reagent for detection of DNA replication. *Science* 218: 474-475.
- Gray W. P., Sundstrom L. E., 1998. Kainic acid increases the proliferation of granule cell progenitors in the dentate gyrus of the adult rat. *Brain Res.* 790:1-2, 52-9.
- Hoffarth R. M., Johnston J. G., Krushel L. A., Van Der Kooy D., 1995. The mouse mutation reeler causes increased adhesion within a subpopulation of early postmitotic cortical neurons. *The Journal of Neuroscience* 15:7, 4838-4850.
- Ito H., Morita Y., Sakamoto N., Ueda S., 1980. Possibility of telencephalic visual projection in teleosts, Holocentridae. *Brain Res.* 197: 219-222.
- Jacobson M. 1991. *Developmental Neurobiology*. 3rd Ed. New York: Plenum Press.
- Jelsma N. T., Aguayo A. J., 1994. Trophic factors. *Current Opinion in Neurobiology* 4: 717-725.
- Kandel E. R., Schwartz J. H., Jessel T. M., 1991. *Principles of neural science*. Third edition. Chapter 21: Development as a guide to the regional anatomy of the brain (Martin J. H., Jessel T. M.) pp. 296-308. Prentice Hall International.
- Kandel E. R., Schwartz J. H., Jessel T. M., 1991. *Principles of neural science*. Third edition. Chapter 57: Control of cell identity (Jessel T. M., Schacher S.) pp. 887-907. Prentice Hall International.
- Kandel E. R., Schwartz J. H., Jessel T. M., 1991. *Principles of neural science*. Third edition. Chapter 58: Cell migration and axon guidance. (Jessel T. M.) pp. 909-927. Prentice Hall International.
- Kandel E. R., Schwartz J. H., Jessel T. M., 1991. *Principles of neural science*. Third edition. Chapter 59: Neuronal survival and synapse formation. (Jessel T. M.) pp. 929-933. Prentice Hall International.
- Kaplan M. S., 1981. Neurogenesis in the 3-month-old rat visual cortex. *J. Comp. Neurol.* 195: 323-338.
- Kempermann G., Kuhn H. G., Gage F. H., 1998. Experience-induced neurogenesis in the senescent dentate gyrus. *J. Neurosci.* 18:9, 3206-12.
- Keynes R., Geoffrey M., Cook W., 1995. Axon Guidance molecules. *Cell* 161-168.

- Kolodkin A. L., 1996. Semaphrins : mediators of repulsive growth cone guidance. Trends in Cell Biology 6: 15-22.
- Kotrschal K., Junger H., 1988. Patterns of brain morphology in mid-European Cyprinidae (Pisces, Teleostei): a quantitative histological study. J. Hirnforsch 29:3, 341-52.
- Krueger B. K., Burne J. F., Raff M. C., 1995. Evidence for large-scale astrocyte death in the developing cerebellum. The Journal of Neuroscience 15:5, 3366-3374.
- Lanskey A. R., Fairman P. M., Blow J. J., 1989. S phase of the cell cycle. Science 246: 609-614.
- Leblond C. P., Messier B., Kopriwa B., 1959. Thymidine-H3 as a tool for the investigation of the renewal of cell populations. Lab. Invest. 8: 276-306.
- Lillien E. L., Raff C. M., 1990. Differentiation signals in the CNS: Type-2 astrocyte development in vitro as a model system. Neuron 5: 111-119.
- Lim D. A., Fishell G. J., Alvarez-Buylla A., 1997. Postnatal mouse subventricular zone neuronal precursors can migrate and differentiate within multiple levels of the developing neuraxis. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 94:26, 14832-6.
- Ling C., Zuo M., Alvarez-Buylla A., Cheng M. F., 1997. Neurogenesis in juvenile and adult ring doves. J. Comp. Neurol. 379:2, 300-12.
- Llinas R. R., 1990. The workings of the brain. Development, memory and perception. Readings from Scientific American Magazine. W. H. Freeman and company. New York.
- Lo A. C., Houenou L. J., Oppenheim R. W., 1995. Apoptosis in the nervous system: morphological features, methods, pathology, and prevention. Arch. Histol. Cytol. 58:2, 139-49.
- Lois C., Alvarez-Buylla A., 1993. Proliferating subventricular zone cells in the adult mammalian forebrain can differentiate into neurons and glia. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90:5, 2074-7.
- Lois C., Alvarez-Buylla A., 1994. Long-distance neuronal migration in the adult mammalian brain. Science 264:5162, 1145-8.
- Lois C., Garcia-Verdugo J. M., Alvarez-Buylla A., 1996. Chain migration of neuronal precursors. Science 271:5251, 978-81.
- Mancera J. M., Fernandez-Llebrez P., 1995. Development of melanin-concentrating hormone-immunoreactive elements in the brain of gilthead seabream (*sparus auratus*). Cell Tissue Res. 282: 523-526.
- Mansour-Robaey S., Pinganaud G., 1990. Quantitative and morphological study of cell proliferation during morphogenesis in the trout visual system. J. Hirnforsch 31:4, 495-504.
- Mc Connell S. K., 1995. Constructing the cerebral cortex neurogenesis and fate mechanisms of growth cone guidance. Cell 78: 353-356.
- Meek H. J., 1990. The visual system of fish. Chapter 8: Tectal morphology: connections, neurones and synapses. Chapman and Hall Ltd.
- Menez J. R., Smith C. M., Nelson K. C., Luskin M. R., 1995. The division of neuronal progenitors cells during migration in the neonatal mammalian forebrain. Mol. Cell. Neuroscience 6: 496-508.

- Meyer R. L., 1980. Mapping the normal and regenerating retinotectal projection of goldfish with autoradiographic methods. *J. Comp. Neurol.* 189: 273-289.
- Miller M. W., Nowakowski R. S., 1988. Use of bromodeoxyuridine-immunohistochemistry to examine the proliferation, migration and time of origin of cells in the central nervous system. *Brain Res.* 457: 44-52.
- Morshead C. M., van der Kooy D., 1992. Postmitotic death is the fate of constitutively proliferating cells in the subependymal layer of the adult mouse brain. *J. Neurosci.* 12:1, 249-56.
- Morstyn G., Hsu S. M., Kinsella T., Gratzner A., Russo A., Mitchell J. B., 1983. Bromodeoxyuridine in tumours and chromosomes detected with a monoclonal antibody. *J. Clin. Invest.* 72: 1844-50.
- Μπέης Ι. Δ., 1989. Μαθήματα φυσιολογίας Ι. Εκδόσεις Γιαχούδη-Γιαπούλη Ο. Ε. Θεσσαλονίκη.
- Northcutt R. G., 1981. Evolution of the telencephalon in non mammals. *Ann. Rev. Neuroscience* 4: 301-350.
- Northcutt R. G., Davis R. E., 1983. *Fish Neurobiology*. Bradford M. R. Jr., Northcutt R. G. Chapter 4: Organization of the diencephalon and pretectum of the ray-finned fishes. Ed. Arbor A. The University of Michigan Press.
- Northcutt R. G., Davis R. E., 1983. *Fish Neurobiology*. Chapter 6: Telencephalic organization in ray-finned fishes. Ed. Arbor A. The University of Michigan Press.
- Northcutt R. G., Davis R. E., 1983. *Fish Neurobiology*. Nieuwenhuys R., Pouwels E. Chapter 2: The brain stem of actinopterygian fishes. Ed. Arbor A. The University of Michigan Press.
- O' Rourke N. A., Chenn A., Mc Connell S. K., 1997. Postmitotic neurons migrate tangentially in the cortical ventricular zone. *Development* 124:5 997-1005.
- Oppenheim R. W., 1991. Cell death during development of the nervous system. *Annu. Rev. Neurosci.* 14: 453-501.
- Par Hayes W., Meyer R. L., 1988. Normal and regenerating optic fibres in goldfish tectum: HRP-EM evidence for rapid synaptogenesis and optic fibre affinity. *J. Comp. Neurol.* 274: 516-538.
- Patel S. N., Clayton N. S., Krebs J. R., 1997. Spatial learning induces neurogenesis in the avian brain. *Behav. Brain Res.* 89:1-2, 115-28.
- Polenov A. L., Chetverukhin V. K., 1993. Ultrastructural radioautographic analysis of neurogenesis in the hypothalamus of the adult frog, *Rana temporaria*, with special reference to physiological regeneration of the preoptic nucleus. *Cell Tissue Res.* 271: 351-362.
- Polleux F., Dehay C., Kennedy H., 1997. The timetable of laminar neurogenesis contributes to the specification of cortical areas in mouse isocortex. *J. Comp. Neurol.* 385:1, 95-116.
- Powers M. K., Raymond P. A., 1990. The visual system of fish. Chapter 12: Development of the visual system. Chapman and Hall Ltd.
- Perez-Canellas M. M., Font E., Garcva-Verdugo J. M., 1997. Postnatal neurogenesis in the telencephalon of turtles: evidence for nonradial migration of new neurons from distant proliferative ventricular zones to the olfactory bulbs. *Brain Res. Dev. Brain Res.* 101:1-2, 125-37.

- Raff M., Barres B. A., Burne J. F., Coles S. H., Yasuki I., Jacobson M., 1993. Programmed cell death and the control of cell survival : lessons from the nervous system. *Science* 262: 695-700.
- Rakic P., 1985. Limits of neurogenesis in primates. *Science* 227: 1054-1056.
- Rakic P., Sidman R. L., 1973. Sequence of developmental abnormalities leading to granule cell deficit in cerebellar cortex of weaver mutant mice. *Science* 134: 768-777.
- Raymond P. A., Easter S. S. Jr., 1983. Postembryonic growth of the optic tectum in goldfish. I. Location of germinal cells and numbers of neurons produced. *The Journal of Neuroscience* 3: 5, 1077-1091.
- Rousselot P., Lois C., Alvarez-Buylla A., 1994. Embryonic (PSA) N-CAM reveals chains of migrating neuroblasts between the lateral ventricle and the olfactory bulb of adult mice. *J. Comp. Neurol.* 351:1, 51-61.
- Sadikot A. F., Sasseville R., 1997. Neurogenesis in the mammalian neostriatum and nucleus accumbens: parvalbumin-immunoreactive GABAergic interneurons. *J. Comp. Neurol.* 389:2, 193-211.
- Schmidt M., 1997. Continuous neurogenesis in the olfactory brain of adult shore crabs, *Carcinus maenas*. *Brain Res.* 762: 131-143.
- Shankle W. R., Landing B. H., Rafii M. S., Schiano A., Chen J. M., Hara J., 1998. Evidence for a postnatal doubling of neuron number in the developing human cerebral cortex between 15 months and 6 years. *J. Theor. Biol.* 191:2, 115-40.
- Shariful Islam A. T., Nakamura K., Seki T., Kuraoka A., Hirata K., Emson P. C., Kawabuchi M., 1998. Expression of NOS, PSA-N-CAM and S100 protein in the granule cell migration pathway of the adult guinea pig forebrain. *Brain Res. Dev. Brain Res.* 107:2, 191-205.
- Soutschek J., Zupanc G. K. H., 1995. Apoptosis as a regulator of cell proliferation in the central posterior/prepacemaker nucleus of adult gymnotiform fish, *Apteronotus leptorhynchus*. *Neurosci. Lett.* 202: 133-136.
- Soutschek J., Zupanc G. K. H., 1996. Apoptosis in the cerebellum of adult teleost fish, *Apteronotus leptorhynchus*. *Dev. Brain Res.* 97: 279-286.
- Stevenson J. A., Yoon M. G., 1980. Kinetics of cell proliferation in the halved tectum of adult goldfish. *Brain Res.* 184: 11-22.
- Stroh T., Zupanc G. K. H., 1996. The postembryonic development of somatostatin immunoreactivity in the central posterior / pacemaker nucleus of weakly electric fish, *Apteronotus leptorhynchus*: a double- labelling study. *Dev. Brain Res.* 93: 76-87.
- Takahashi T., Nowakowski R. S., Caviness V. S. Jr., 1993. Cell cycle parameters and patterns of nuclear movement in the neocortical proliferative zone of the fetal mouse. *The Journal of Neuroscience* 13:2, 820-833.
- Thomaidou D., Mione M. C., Gavanagh J. F., Parnavelas J. G., 1997. Apoptosis and its relation to the cell in the developing cerebral cortex. *J. Neuroscience* 17:3, 1075-1085.
- Toyoda J., Uematsu K., 1994. Brain morphogenesis of the red sea bream, *Pagrus major* (teleostei) *Brain Behav. Evol.* 44: 324-337.

Trent J. M., Gerner R., Broderick R., Crossen P. E., 1986. Cell cycle analysis using bromodeoxyuridine: comparison of methods for analysis of total cell transit time. *Cancer Genet. Cytogenet.* 19: 43-50.

Waseem N. H., Lane D. P., 1990. Monoclonal antibody analysis of the proliferating cell nuclear antigen (PCNA). Structural conservation and the detection of a nucleolar form. *J. Cell. Sci.* 96: 121-9.

Weisleder P., Lu Y., Zacon H. H., 1994. Effects of denervation upon receptor cell survival and basal cell proliferation in tuberous electroreceptor organs of a weakly electric fish. *J. Comp. Neurol.* 347: 545-552.

Wichterle H., Garcia-Verdugo J. M., Alvarez-Buylla A., 1997. Direct evidence for homotypic, glia-independent neuronal migration. *Neuron* 18:5, 779-91.

Wilson G. D., McNally N. J., Dische S., 1988. Measurement of cell kinetics in human tumours *in vivo* using bromodeoxyuridine. *Cell Tissue Kinet.* 20: 1-6.

Wong-Riley M. T. T., 1976. Endogenous peroxidatic activity in brain stem neurons as demonstrated by their staining with diaminobenzidine in normal squirrel monkeys. *Brain Res.* 108: 257-277.

Yu C. C. W., Woods A. L., Levinson D. A., 1991. The assessment of cellular proliferation by immunohistochemistry: a review of currently available methods and their applications. *Biochemical Journal* 24: 121-131.

Zupanc G. K. H., Horschke I., 1995. Proliferation zones in the brain of adult gymnotiform fish: a quantitative mapping study. *J. Comp. Neurol.* 353: 213-233.

Zupanc G. K. H., Horschke I., Ott R., Rascher G. B., 1996. Postembryonic development of the cerebellum in gymnotiform fish. *J. Comp. Neurol.* 370: 443-464.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι**ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ** (κατά Northcutt R.G. et al, 1983)

a	: cell mass situated in the isthmus region, projecting to the cerebellum
A	: nucleus anterioris
CCb	: corpus cerebelli
CCbg	: granular layer of corpus cerebelli
CCbm	: molecular layer of corpus cerebelli
CE	: nucleus centralis lobi inferiori
CM	: corpus mamillare
CP	: nucleus centralis posterioris
crcb	: crista cerebellaris
CT	: commissura tectalis
Dc	: central zone of area dorsalis telencephali
Dd	: dorsal zone of area dorsalis telencephali
DF	: nucleus diffusus lobi inferiori
Dld	: dorsal part of lateral zone of area dorsalis telencephali
Dlp	: posterior part of lateral zone of area dorsalis telencephali
Dlv	: ventral part of lateral zone of area dorsalis telencephali
Dm1	: medial zone of area dorsalis telencephali 1
Dm2	: medial zone of area dorsalis telencephali 2
Dm3	: medial zone of area dorsalis telencephali 3
Dm4	: medial zone of area dorsalis telencephali 4
DP	: nucleus dorsalis posterioris
Dp	: posterior zone of area dorsalis telencephali
E	: nucleus entopeduncularis
Egl	: eminentia granularis lateralis
Egm	: eminentia granularis medialis
flm	: fasciculus longitudinalis medialis
FR	: fasciculus retroflexus
G	: nucleus glomerulosus
gc	: griseum centrale
H	: hypophysis
HAd	: nucleus habenularis dorsalis
HAv	: nucleus habenularis ventralis
Hc	: hypothalamus periventricularis caudalis
Hd	: hypothalamus periventricularis dorsalis
Hv	: hypothalamus periventricularis ventralis
ICL	: internal cellular layer
is	: nucleus isthmi
LH	: nucleus lateralis hypothalami
ll	: lateral lemniscus
lobvlcb	: lobus vestibulolateralis cerebelli
lv	: nucleus lateralis valvulae
mcb	: tractus mesencephalocerebellaris anterior
mcbp	: tractus mesencephalocerebellaris posterior
nIV	: nucleus nervi trochlearis
nMLF	: nucleus of the medialis longitudinalis fasciculus
Nt	: nucleus taenia
OBc/GL	: bulbus olfactorius externus
OBi	: bulbus olfactorius internus

Otr	: tractus opticum
P	: pallium
PC	: nucleus pretectalis centralis
PCo	: commissura posterioris
PGa	: nucleus preglomerulosus anterioris
PGc	: nucleus preglomerulosus caudalis
PGl	: nucleus preglomerulosus lateralis
PMg	: nucleus preopticus magnocellularis, pars gigantocellularis
PMp	: nucleus preopticus magnocellularis, pars parvocellularis
PP	: nucleus preopticus periventricularis
PPp	: nucleus preopticus parvocellularis posterioris
PPv	: nucleus pretectalis periventricularis, pars ventralis
PSm	: nucleus pretectalis superficialis, pars magnocellularis
PSp	: nucleus pretectalis superficialis, pars parvocellularis
PVO	: nucleus paraventricularis
rl	: nucleus recessus lateralis
rs	: nucleus reticularis superioris
SC	: nucleus suprachiasmaticus
SG	: nucleus subglomerulosus
SGC	: stratum griseum centrale
SGFS	: stratum griseum et fibrosum superficiale
sv	: saccus vasculosus
TA	: nucleus tuberis anterioris
TeOdr	: tectum opticum (dorsal rim)
TeOvr	: tectum opticum (ventral rim)
tlo	: torus longitudinalis
TP	: nucleus tuberis posterioris
TPp	: nucleus periventricularis tuberculum posteriori
TSd	: torus semicircularis dorsalis
V	: ventricle
Vc	: nucleus commissuralis of area ventralis telencephali
VCbg	: granular layer of valvula cerebelli
VCbm	: molecular layer of valvula cerebelli
Vd	: nucleus dorsalis of area ventralis telencephali
VI	: nucleus lateralis of area ventralis telencephali
VM	: nucleus ventromedialis
Vp	: nucleus postcommissuralis of area ventralis telencephali
Vs	: nucleus supracommissuralis of area ventralis telencephali
Vv	: nucleus ventralis of area ventralis telencephali
ZL	: zona limitans diencephali

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ

ΓΛΩΣΣΑΡΙ ΟΡΩΝ

GFAP:	όξινη ινώδης γλοιακή πρωτεΐνη, χαρακτηριστική των αστροκυττάρων
NCAM:	μόριο σύνδεσης νευρικών κυττάρων (ανοσοσφαιρίνη).
Αγγειοβλάστης:	πρόδρομο (αδιαφοροποίητο) επιθηλιακό κύτταρο αγγειακού τοιχώματος.
Απόπτωση:	σύνολο φαινομένων, που προκαλούν προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο νευρώνων ή γλοιοκυττάρων, που δε χρειάζονται ή δε μπορούν να επιβιώσουν.
Αστροκύτταρα:	γλοιοκύτταρα με διατροφικό και στηρικτικό ρόλο.
Αυξητικός κώνος:	απόληξη αποφυάδων ανώριμου νευρώνα, ο οποίος καθοδηγεί την επιμήκυνση και τελική σύνδεση ενός νευράξονα.
Γαστριδίωση:	αλληπάλληλες κυτταρικές διαιρέσεις και αναδίπλωση του βλαστιδίου, κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ανάπτυξης με αποτέλεσμα το σχηματισμό του γαστρίδιου, όπου διαχωρίζονται πλήρως τα τρία βλαστικά δέρματα.
Γλοιοκύτταρο:	κύτταρο του νευρικού συστήματος, που δεν μεταβιβάζει νευρικές πληροφορίες αλλά στηρίζει, επηρεάζει και επιδιορθώνει τους νευρώνες.
Δενδρίτης:	μικρού μεγέθους αποφυάδα νευρώνα, με έντονες, συνήθως, διακλαδώσεις, που δρουν κυρίως σαν δεκτικές περιοχές, μέσω πληθώρας συνάψεων.
Διεγκεφάλος:	τμήμα του εγκεφάλου, που περιλαμβάνει υποθαλαμικές, θαλαμικές, προκαλυπτριδικές και προοπτικές περιοχές και εκτείνεται από τις κοιλιακές περιοχές της κεντρικής οπτικής καλύπτρας ως το οπίσθιο και κοιλιακό τμήμα του τελεγκεφάλου.
Εκτόδερμα:	ένα από τα τρία εμβρυϊκά βλαστικά δέρματα, που δημιουργεί το νευρικό σύστημα και την επιδερμίδα.
Εκφυλισμός συνάψεων:	σύνολο φαινομένων, που έχουν ως αποτέλεσμα τον περιορισμό του αριθμού των συνάψεων.
Ιντεγκρίνες:	οικογένεια γλυκοπρωτεϊνικών μορίων, που συνδέουν νευρώνες με άλλες πρωτεΐνες στον εξωκυττάριο χώρο.
Καδερΐνες:	οικογένεια γλυκοπρωτεϊνικών μορίων, που συνδέουν νευρώνες ακόμη και μετά τη διαφοροποίησή τους.
Κοιλία:	κοιλότητα του εγκεφάλου γεμάτη με εγκεφαλονωτιαίο υγρό.
Κοκκώδες κύτταρο:	σφαιρικός νευρώνας, μικρού μεγέθους, με ιδιαίτερα μεγάλο πυρήνα.

Κόμβος του Ranvier:	τμήμα νευράξονα, που δεν καλύπτεται από μυελίνη, επιτρέποντας το σχηματισμό συνάψεων και την πιο γρήγορη μετάδοση των νευρικών ώσεων.
Κονεξίνη:	ελκτικό ή απωθητικό (ανάλογα με την περιοχή στην οποία εκφράζεται), για τους νευρώνες, γλυκοπρωτεϊνικό μόριο.
Κύτταρα της ακτινωτής γλοίας: Κύτταρα του Schwann:	γλοιοκύτταρα, που έχουν στηρικτικό ρόλο. γλοιοκύτταρα, που σχηματίζουν το μονωτικό κάλυμμα μυελίνης γύρω από ορισμένους νευράξονες, για τη διευκόλυνση της μεταβίβασης των νευρικών ώσεων.
Λαμινίνη:	πεπλατυσμένο γλυκοπρωτεϊνικό μόριο, που έχει δράση παρόμοια με αυτή της φιμπρονεκτίνης.
Μεσεγκεφάλος:	κεντρικό τμήμα του εγκεφάλου σε άμεση επαφή με την παρεγκεφαλίδα, που εκτείνεται καθ' όλο το μήκος της οπτικής καλύπτρας.
Μεσόδερμα:	ένα από τα τρία εμβρυϊκά βλαστικά δέρματα, που δημιουργεί το μυϊκό και το στηρικτικό ιστό.
Μετάλλαξη weaver:	μετάλλαξη των κυττάρων της ακτινωτής γλοίας ποντικού, με αποτέλεσμα τον εκφυλισμό τους.
Μετεγκεφάλος:	εγκεφαλική υποδιαίρεση, που βρίσκεται στο πρόσθιο, τμήμα του μεσεγκεφάλου και περιλαμβάνει τον διεγκεφαλο και τον τελεγκεφαλο.
Μήνιγγα:	προστατευτικό περίβλημα της εξωτερικής επιφάνειας του εγκεφάλου και του νωτιαίου μυελού. Στα θηλαστικά υπάρχουν 3 μήνιγγες: η σκληρή, η αραχνοειδής και η χοριοειδής (από έξω προς τα μέσα), ενώ στους ιχθύες μόνο μία, η πρωτόγονη.
Μικρογλοία:	γλοιοκύτταρα, που προστατεύουν τον εγκέφαλο και δρουν σαν φαγοκύτταρα.
Μυελεγκέφαλος:	οπίσθιο τμήμα του οπισθεγκεφάλου.
Νετρίνες:	βλ. κονεξίνη.
Νευράξονας:	ίνα νευρώνα, με αρκετά μεγάλο μέγεθος, που μεταβιβάζει νευρικές ώσεις.
Νευρικός σωλήνας:	εγκόλπωση της νευρικής πλάκας (εκτοδέρματος), που σχηματίζεται κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ανάπτυξης σε όλα τα σπονδυλωτά και σχηματίζει τελικά το κεντρικό νευρικό σύστημα.
Νευροβλάστης:	πρόδρομο (αδιαφοροποίητο) νευρικό κύτταρο.
Νευροεπιθήλιο:	λεπτό στρώμα αδιαφοροποίητων κυττάρων, που καλύπτει τις κοιλίες του εγκεφάλου.
N-καδερίνη:	νευρική καδερίνη, αντιπρόσωπος της οικογένειας των καδερινών.
Ολιγοδενδροκύτταρα:	προστασία νευρώνων και παραγωγή μυελίνης στον εγκέφαλο.
Οπισθεγκεφάλος:	οπίσθιες εγκεφαλικές περιοχές, που συμπεριλαμβάνει το παρεγκεφαλιδικό σώμα και το στέλεχος.

Παρακοιλιακή περιοχή:	περιοχή, που βρίσκεται σε άμεση επαφή με κάποια περικοιλιακή ζώνη.
Περικοιλιακή περιοχή:	λεπτό στρώμα (ζώνη), που βρίσκεται σε άμεση επαφή με κάποια κοιλία του εγκεφάλου.
Πλαστικότητα ΚΝΣ:	ικανότητα αναγέννησης, επιδιόρθωσης και αναπροσαρμογής συνδέσεων, νευρώνων και γλοιακών κυττάρων, μετά απο τραυματισμό ή πολύπλοκες διεργασίες (μνήμη-μάθηση).
Προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος:	βλ. απόπτωση
Προσθεγκέφαλος:	τελεγκεφαλικές και προοπτικές περιοχές.
Πυρήνας:	σύνολο νευρικών σωμάτων με συγκεκριμένη δομική και λειτουργική ανατομία.
Σεμαφορίνες:	εκκρινόμενες ή διαμεμβρανικές, απωθητικές γλυκοπρωτείνες.
Στέλεχος:	οπίσθιο κοιλιακό τμήμα, που αποτελείται απο τη γέφυρα και τον προμήκη μυελό.
Τελεγκέφαλος:	το πιο πρόσθιο τμήμα του εγκεφάλου, που περιλαμβάνει τα ανώτερα κέντρα ελέγχου διαφόρων λειτουργιών.
Φιμπρονεκτίνη:	εξωκυττάρια, ινώδης γλυκοπρωτείνη, που αλληλεπιδρά με ιντεγκρίνες και παίζει σπουδαίο ρόλο στη μετανάστευση νευρώνων.
Χοριοειδές πλέγμα:	επικαλυμματικός ιστός των κοιλιών, ο οποίος αποτελείται απο κύτταρα, που παράγουν εγκεφαλονωτιαίο υγρό.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ

ΛΑΤΙΝΟ-ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΓΛΩΣΣΑΡΙ

Οι περιοχές, που περιλαμβάνονται στο γλωσσάρι αυτό αναφέρονται όλες στο κείμενο. Οι ελληνικές και λατινικές τους ονομασίες στηρίζονται σε ανατομικά δεδομένα και δεν έχουν καμία σχέση με τις πιθανές λειτουργικές ιδιομορφίες κάθε περιοχής. Οι λειτουργίες των περισσότερων περιοχών είναι είτε άγνωστες είτε υπό αμφισβήτηση, ειδικά όσον αφορά τους τελεόστεους. Η μετάφραση λατινικών όρων στα ελληνικά όλων των εγκεφαλικών περιοχών τελεόστεου έγινε από τον συγγραφέα, εφόσον δεν υπάρχουν αντίστοιχες αναφορές σε ελληνικά συγγράματα.

basal amygdala	βασικός αμυγδαλοειδής πυρήνας
bulbus olfactorius externus	εξωτερική στοιβάδα του οσφρητικού λοβού
bulbus olfactorius internus	εσωτερική στοιβάδα του οσφρητικού λοβού
central zone of area dorsalis telencephali	κεντρική ζώνη της ραχιαίας τελεγκεφαλικής περιοχής
commissura posterioris	οπίσθιος σύνδεσμος
commissura tectalis	καλυπτριδικός σύνδεσμος
corpus cerebelli	παρεγκεφαλιδικό σώμα
corpus mamillare	έσω πυρήνας του μαστίου
crista cerebellaris	παρεγκεφαλιδικό λοφίο
dentate gyrus	οδοντωτή έλικα
dorsal pallium	ραχιαίος χιτώνας τελεγκεφάλου
dorsal part of lateral zone of area dorsalis telencephali	ραχιαίο τμήμα της πλάγιας ζώνης της ραχιαίας τελεγκεφαλικής περιοχής
dorsal striatum (caudoputamen)	ραχιαίο ραβδωτό σώμα (κερκοφόρος πυρήνας)
dorsal zone of area dorsalis telencephali	ραχιαία ζώνη της ραχιαίας τελεγκεφαλικής περιοχής
eminentia granularis lateralis	πλάγια κοκκώδης ουσία
eminentia granularis medialis	μεσαία κοκκώδης ουσία
external granular layer corpus cerebelli	έξω κοκκώδης στοιβάδα παρεγκεφαλιδικού σώματος
fasciculus longitudinalis medialis	έσω επιμήκης δεσμίδα
fasciculus retroflexus	οπισθόκαμπτη δεσμίδα
granular layer of corpus cerebelli	κοκκώδης στοιβάδα παρεγκεφαλιδικού σώματος
granular layer of valvula cerebelli	κοκκώδης στοιβάδα πρόσθιου παρεγκεφαλιδικού σώματος
griseum centrale	κεντρική φαιά ουσία
hyperstriatum ventralis caudalis	οπίσθιο τμήμα του κοιλιακού άνω ραβδωτού σώματος
hypophysis	υπόφυση
hypothalamus periventricularis caudalis	οπίσθιος πυρήνας του περικοιλιακού υποθαλάμου
hypothalamus periventricularis dorsalis	ραχιαίος πυρήνας του περικοιλιακού υποθαλάμου

hypothalamus periventricularis ventralis	κοιλιακός πυρήνας του περικοιλιακού υποθαλάμου
inferior colliculus	κάτω διδύμιο
internal cellular layer	εσωτερική κυτταρική στοιβάδα οσφρητικού λοβού
lateral lemniscus	έξω λεμνίσκος
lateral pallium (piriform cortex)	έξω χιτώνας τελεγκεφάλου
lobus vestibulolateralis cerebelli	πλάγιος αιθουσαίος λοβός του παρεγκεφαλιδικού σώματος
magnocellular neuroendocrine system	μεγακυτταρικό νευροενδοκρινικό σύστημα
medial hypothalamic nucleus	έσω υποθαλαμικός πυρήνας
medial pallium	έσω χιτώνας τελεγκεφάλου
medial zone of area dorsalis telencephali 1	πρώτη μεσαία περιοχή του ραχιαίου τελεγκεφάλου
medial zone of area dorsalis telencephali 2	δεύτερη μεσαία περιοχή του ραχιαίου τελεγκεφάλου
medial zone of area dorsalis telencephali 3	τρίτη μεσαία περιοχή του ραχιαίου τελεγκεφάλου
medial zone of area dorsalis telencephali 4	τέταρτη μεσαία περιοχή του ραχιαίου τελεγκεφάλου
molecular layer of corpus cerebelli	μοριακή στοιβάδα του παρεγκεφαλιδικού σώματος
molecular layer of valvula cerebelli	μοριακή στοιβάδα του πρόσθιου παρεγκεφαλιδικού σώματος
neostriatum	νεοραβδωτό σώμα
nucleus accumbens	επικλινής πυρήνας
nucleus anterioris	πρόσθιος πυρήνας
nucleus centralis lobii inferiori	κεντρικός πυρήνας του κάτω λοβού
nucleus centralis posterioris	πρόσθιος κεντρικός πυρήνας
nucleus commissuralis of area ventralis telencephali	παρασυνδεσμικός πυρήνας της κοιλιακής τελεγκεφαλικής περιοχής
nucleus diffusus lobii inferiori	διάχυτος πυρήνας
nucleus dorsalis of area ventralis telencephali	ραχιαίος πυρήνας της κοιλιακής τελεγκεφαλικής περιοχής
nucleus dorsalis posterioris	οπίσθιος πυρήνας του ραχιαίου θαλάμου
nucleus entopeduncularis	πυρήνας του έσω μίσχου
nucleus glomerulosus	σπειραματικός πυρήνας
nucleus habenularis dorsalis	ραχιαίο τμήμα των ηνίων
nucleus habenularis ventralis	κοιλιακό τμήμα των ηνίων
nucleus isthmi	ισθμικός πυρήνας
nucleus lateralis hypothalami	πλάγιος υποθαλαμικός πυρήνας
nucleus lateralis of area ventralis telencephali	πλάγιος πυρήνας του κοιλιακού τελεγκεφάλου
nucleus lateralis valvulae	πλάγιος βαλβιδοειδής πυρήνας
nucleus nervi trochlearis	πυρήνας του τέταρτου νεύρου
nucleus of the medialis longitudinalis fasciculus	πυρήνας της έσω επιμήκου δεσμίδας
nucleus parabigeminalis	παραδιδυμικός πυρήνας
nucleus paraventricularis	παρακοιλιακός πυρήνας
nucleus periventricularis tuberculum posteriori	περικοιλιακός πυρήνας του πρόσθιου φύματος

nucleus postcommissuralis of area ventralis telencephali	προσυνδεσμικός πυρήνας του κοιλιακού τελεγκεφάλου
nucleus preglomerulosus anterioris	πρόσθιος προσπειραματικός
nucleus preglomerulosus caudalis	οπίσθιος προσπειραματικός πυρήνας
nucleus preglomerulosus lateralis	πλάγιος προσπειραματικός πυρήνας
nucleus preopticus magnocellularis, pars gigantocellularis	προοπτικός μεγακυτταρικός και εν μέρη γιγαντοκυτταρικός πυρήνας
nucleus preopticus magnocellularis, pars parvocellularis	προοπτικός μεγακυτταρικός και εν μέρη ωκυτταρικός πυρήνας
nucleus preopticus parvocellularis posterioris	οπίσθιος προοπτικός ωκυτταρικός πυρήνας
nucleus preopticus periventricularis	προοπτικός περικοιλιακός πυρήνας
nucleus pretectalis centralis	κεντρικός προκαλυπτρικός πυρήνας
nucleus pretectalis periventricularis, pars ventralis	κοιλιακός προκαλυπτρικός περικοιλιακός πυρήνας
nucleus pretectalis superficialis, pars magnocellularis	επιφανειακός, μεγακυτταρικός προκαλυπτρικός πυρήνας
nucleus pretectalis superficialis, pars parvocellularis	επιφανειακός, ωκυτταρικός προκαλυπτρικός πυρήνας
nucleus recessus lateralis	πυρήνας του πλάγιου κολπώματος
nucleus reticularis superioris	ανώτερος δικτυωτός πυρήνας
nucleus septalis lateralis	έξω πυρήνας διαφράγματος
nucleus septalis medialis	έσω πυρήνας διαφράγματος
nucleus subglomerulosus	υποσπειραματικός πυρήνας
nucleus suprachiasmaticus	υπερχιασματικός πυρήνας
nucleus supracommissuralis of area ventralis telencephali	υπερσυνδεσμικός πυρήνας του κοιλιακού τελεγκεφάλου
nucleus taenia	πυρήνας της ταινίας
nucleus tuberis anterioris	κεντρικός πυρήνας του πρόσθιου φύματος
nucleus tuberis posterioris	πυρήνας του πρόσθιου φύματος
nucleus ventralis of area ventralis telencephali	κοιλιακός πυρήνας του κοιλιακού τελεγκεφάλου
nucleus ventromedialis	μεσαίος, κοιλιακός θαλαμικός πυρήνας
olfactory tubercle (basal ganglia)	βασικά γάγγλια
pallial amygdala	ραχιαίος αμυγδαλοειδής πυρήνας
pallium	χιτώνας τελεγκεφάλου
posterior part of lateral zone of area dorsalis telencephali	οπίσθιος, εξωτερικός πυρήνας του ραχιαίου τελεγκεφάλου
posterior zone of area dorsalis telencephali	οπίσθιος πυρήνας του ραχιαίου τελεγκεφάλου
saccus vasculosus	αγγειοφόρος σάκος
stratum griseum centrale	κεντρική φαιά στοιβάδα
stratum griseum et fibrosum superficiale	υπερκείμενη φαιά και ινώδης στοιβάδα
substantia nigra	μέλανα ουσία
superior colliculus	άνω διδύμια
tectum opticum (dorsal rim)	ραχιαίο άκρο οπτικής καλύπτρας
tectum opticum (ventral rim)	κοιλιακό άκρο οπτικής καλύπτρας

torus longitudinalis	δακτυλιοειδής επιμήκης πυρήνας
torus semicircularis	δακτυλιοειδής ημικυκλικός πυρήνας
torus semicircularis dorsalis	ραχιαίος δακτυλιοειδής ημικυκλικός πυρήνας
tractus mesencephalocerebellaris anterior	πρόσθια μεσεγκεφαλοπαρεγκεφαλιδική οδός
tractus mesencephalocerebellaris posterior	οπίσθια μεσεγκεφαλοπαρεγκεφαλιδική οδός
tractus opticum	οπτική οδός
ventral part of lateral zone of area dorsalis telencephali	κοιλιακό τμήμα της πλάγιας ζώνης της ραχιαίας τελεγκεφαλιδικής περιοχής
ventral striatum (globus pallidus)	κοιλιακό ραβδωτό σώμα (ωχρή σφαίρα)
ventricle	κοιλία
zona limitans diencephali	τελική ζώνη ορισμού του διεγκεφάλου