

© А.В. Ахмадеев, Л.Б. Калимуллина, 2008
УДК 611.81:612.65:599.323.4

А.В. Ахмадеев и Л.Б. Калимуллина

МОРФОГЕНЕЗ ПАЛЕОАМИГДАЛЫ КРЫСЫ В РАННЕМ ЮВЕНИЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

Кафедра морфологии и физиологии человека и животных (зав. — проф. Л.Б. Калимуллина) Башкирского государственного университета, г. Уфа

С целью охарактеризовать структурные перестройки палеоамигдалы в ранний ювенильный период развития проведены исследования на 40 крысах линии Вистар обоего пола на 21-, 24-, 28-е и 31-е сутки постнатальной жизни. На серийных фронтальных срезах головного мозга, окрашенных крезильным фиолетовым по Нисслю, изучали цитоархитектонику структур палеоамигдалы (дорсомедиального — Med, заднего медиального — Мер и заднего кортикального — Сор ядер) и динамику их формирования путем регистрации планиметрических характеристик, подсчета количества нейронов, глиоцитов, вычисления глиального и апоптотического индексов. Полученные результаты свидетельствуют о гетерохронии морфогенеза и половых различиях дифференцировки структур палеоамигдалы. На 21-е сутки (начало раннего ювенильного периода) дифференцируется только Med, на 24-е сутки распознается Мер, а Сор приобретает характерную цитоархитектонику только на 31-е сутки (начало позднего ювенильного периода). Значимые различия строения, связанные с полом, обнаруживаются в Med начиная с 28-х суток, в Сор и Мер — на 31-е сутки.

Ключевые слова: палеоамигдала, морфогенез, половой диморфизм, крыса.

Палеоамигдала включает в себя дорсомедиальное, заднее медиальное и заднее кортикальное ядра, располагается в заднем отделе миндалевидного тела (МТ), формируя медиобазальный угол полушария конечного мозга. Проведенный ранее сравнительный анализ цитоархитектоники, нейронной организации и цитологических особенностей нейронов указанных структур МТ мозга крыс показал, что исследованный комплекс ядер представляет собой единую по структурно-функциональной организации и механизмам развития область, формирование которой происходит на самых ранних этапах становления МТ в историческом развитии позвоночных [5]. Все указанные структуры палеоамигдалы вовлечены в процесс половой дифференциации мозга и обладают половым диморфизмом [2, 4].

Известно, что МТ принимает участие в регуляции процессов полового созревания организмов [1], однако, конкретные механизмы остаются мало изученными. До сих пор нет сведений о том, как происходит морфогенез палеоамигдалы в пубертатный период, а следовательно, нет данных, которые позволили бы судить о ее причастности к процессам полового созревания.

Цель данной работы — охарактеризовать происходящие в палеоамигдале структурные перестройки в раннем ювенильном периоде у крыс.

Материал и методы. Исследования проведены на 40 крысах линии Вистар, головной мозг которых изучали на 21-, 24-, 28-е и 31-е сутки постнатального развития (по 5 самок и 5 самцов каждого срока). Для изучения цитологических и планиметрических характеристик готовили серий-

ные фронтальные срезы, которые окрашивали крезильным фиолетовым по Нисслю. Площадь полушарий головного мозга, МТ и структур палеоамигдалы определяли на зарисовках их проекций с помощью планиметра. Полученные величины выражали в условных единицах и вычисляли удельные площади МТ, палеоамигдалы и ее структур в левом и правом полушариях головного мозга. Подсчет количества нейронов, содержащих ядрышки, и глиоцитов проводили в поле зрения микроскопа МБИ-11 (ЛОМО, Россия) на срезах толщиной 10 мкм при об. 40, ок. 15, площадь поля зрения при этом составляла 0,035 мм². Апоптотические клетки выявляли методом TUNEL с использованием набора реактивов ApopTag In Situ Apoptosis Detection Kit (Chemicon, США) в парафиновых срезах толщиной 5 мкм, которые докрашивали гематоксилином. Апоптотический индекс (АИ) определяли по формуле, предложенной S.Rakic и N.Zeczevic [14], вводя в нее суммарное количество клеток, содержащихся в трех следующих друг за другом срезах. Статистическую обработку выполняли с использованием пакета программ «Statistica 5.5». Для оценки значимости цифровых данных использовали t-критерий Стьюдента.

Результаты исследования. Изучение цитоархитектоники и цитологических характеристик нейронов структур палеоамигдалы в различные сроки раннего ювенильного периода с учетом пола позволило выявить динамику происходящих перестроек, имеющих определенные особенности в каждом из изученных ядер.

На 21-е сутки удается легко дифференцировать только дорсомедиальное ядро (Med), представленное компактным скоплением малого и среднего размера нейронов, расположенных на медиальной поверхности полушария конечного мозга, дорсальнее его медиобазального угла, в тесном контакте с волокнами конечной полоски

Таблица 1

Удельная площадь миндалевидного тела и структур палеоамигдалы в различные сроки раннего ювенильного периода развития крыс ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Сутки постнатального развития	MT		Med		Cор+Мер	
	Самки	Самцы	Самки	Самцы	Самки	Самцы
21-е	16,83±0,29	17,1±0,5	2,79±0,21	3,23±0,25	17,7±0,9	17,4±1,0
24-е	15,4±0,3	17,7±0,7	1,74±0,19	2,72±0,29	16,27±1,14	20,0±1,4
28-е	15,84±0,21	16,8±0,3	2,09±0,11	3,18±0,20**	18,53±0,76	17,3±0,5
31-е	16,8±0,3	18,2±0,5*	2,78±0,14	3,25±0,17*	17,83±1,12	19,1±1,0**

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3: MT — миндалевидное тело; Med — дорсомедиальное ядро; Сор — заднее кортикальное ядро; Мер — заднее медиальное ядро. Различия значимы по сравнению с показателями у самок того же срока развития: * при $P < 0,05$; ** при $P < 0,01$.

(*stria terminalis*). У самцов крыс Med, в отличие от самок, содержит больше волокнистых прослоек и характеризуется дисперсным распределением нейронов. Значимые различия величины удельной площади Med (табл. 1), а также количества содержащихся в нем нейронов, глиоцитов и величины глиального индекса (ГИ) (табл. 2) у самцов и самок крыс отсутствуют. Заднее медиальное (Мер) и заднее кортикальное (Сор) ядра формируют единое, довольно большое по площади, мономорфное скопление среднего размера нейронов, выходящее на базальную поверхность полушария конечного мозга. Провести границу между этими двумя ядрами не представлялось возможным, поэтому мы определяли общую площадь, занятую Мер и Сор. Половых различий на 21-е сутки по удельной площади этих двух ядер выявить не удалось, но эти различия имели место в Мер по количеству нейронов и глиоцитов, а в медиальной части Сор по количеству нейронов и величине ГИ (см. табл. 2).

У самцов и самок на 24-е сутки вследствие увеличения размеров полушария и роста кпереди нижнего рога бокового желудочка мозга изменяется взаиморасположение бокового желудочка и Med, оно «смещается» под желудочек и располагается субвентрикулярно. Различия величины удельной площади Med не достигают уровня значимости ($P = 0,054$). Подсчет количества нейронов, глиоцитов и определение ГИ в Med показывают, что у самок крыс больше, чем у самцов, плотность расположения нейронов и существуют различия в величине ГИ (см. табл. 2). Отражением происходящих в Мер перестроек являются значимые половые различия в величине ГИ (см. табл. 2). В Сор отмечается тенденция к дифференциации его медиальной и латеральной частей, что проявляется неравномерным расположением нейронов и появлением их полиморфизма в латеральной части.

На 28-е сутки выявляются значимые половые различия в величине площади Med (см. табл. 1), а также и в плотности расположения нейронов

(см. табл. 2), которая больше у самок. Это хорошо видно при больших увеличениях микроскопа — тела нейронов тесно прилегают друг другу, а глиоциты располагаются около их поверхности. Мер хорошо распознается по большей плотности расположения нейронов. Происходящие в этом ядре перестройки проявляются значимо различающимися ГИ (см. табл. 2). У самцов и самок отмечается дальнейшая дифференциация Сор на медиальную и латеральную части, а в латеральной части выявляется явная тенденция к расслоению клеточных масс на зоны — поверхностно-клеточную и глубокую, а также увеличение площади поверхностной зоны.

На 31-е сутки нейроны, формирующее Med, у самок, в отличие от самцов, образуют группу с плотным расположением клеток и значимо меньшей удельной площадью (см. табл. 1). Увеличивается суммарная удельная площадь Мер и Сор у самцов, что предопределяет у них больший размер палеоамигдалы. Над поверхностной зоной в латеральной части Сор хорошо определяется поверхностно-клеточная зона. Следует также отметить, что к 31-м суткам у крыс выявляются значимые различия и в удельной площади всего MT (см. табл. 1).

Выявленный половой диморфизм количественных характеристик палеоамигдалы в препубертатном периоде развития продиктовал необходимость изучения интенсивности апоптоза в различных ее структурах.

Признаки апоптоза как у самцов, так и у самок крыс встречались крайне редко и в единичных клетках (табл. 3). Выявленные различия в величинах АИ во все сроки изучения были статистически незначимы.

Обсуждение полученных данных. Основным событием раннего ювенильного периода является созревание механизма положительной эстрогенной обратной связи, в котором, как предполагалось, принимает участие кортико-медиальная часть заднего отдела MT [10]. Результаты

Таблица 2

Количество нейронов (Н), глиоцитов (Г) и глиальный индекс (ГИ) в структурах палеоамигдалы в различные сроки раннего ювенильного периода развития крыс ($\bar{x} \pm s_x$)

Сутки пост-натального развития	Пол	Med			Mer			Cortm			Cortl		
		Н	Г	ГИ	Н	Г	ГИ	Н	Г	ГИ	Н	Г	ГИ
21-е	Самки	21±3	34±6	1,8±0,5	24±3	33±5	1,35±0,01	26,9±1,7	30,7±1,2	1,13±0,05	19,9±0,8	26,7±1,9	1,34±0,08
	Самцы	18±4	31,7±0,7	2,0±0,4	21±3*	28±4*	1,34±0,01	21,3±2,3*	28±3	1,34±0,01*	18,7±1,0	26,5±1,6	1,42±0,05
24-е	Самки	21,86±2,6	32±5	1,45±0,05	23,9±1,5	32,9±2,1	1,37±0,01	21,1±2,0	31±3	1,45±0,01	19,9±1,9	26,7±2,1	1,36±0,13
	Самцы	16,7±2,4**	31±5	1,89±0,04*	24,1±0,9	33,7±1,3	1,39±0,002*	20±4	30±6	1,49±0,01	20,1±0,8	28±3	1,56±0,03
28-е	Самки	24,1±1,4	27±4	1,09±0,12	22±4	34±5	1,55±0,02	22±3	32±5	1,47±0,01	18,3±1,2	25,5±2,7	1,41±0,16
	Самцы	16,7±1,4*	31±4	1,91±0,28	20,1±2,6	32±4	1,61±0,02**	20,1±2,4	34,3±2,7	1,59±0,12	19,2±0,9	27,1±2,6	1,42±0,16
31-е	Самки	28±4	38±6	1,360±0,010	22,5±2,2	35±3	1,57±0,01	20,5±1,6	30,5±2,6	1,48±0,02	17,5±2,0	27±3	1,57±0,06
	Самцы	16,5±0,9*	27±3	1,65±0,21	20±4	34±8	1,65±0,03	20,3±2,6	33±4	1,66±0,12	18,5±0,7	30,1±0,9	1,63±0,08

Примечание. Здесь и в табл. 3: Cortm — медиальная часть заднего кортикального ядра; Cortl — латеральная часть заднего кортикального ядра. Различия по сравнению с показателями у самок того же срока развития значимы: *при $P < 0,05$; ** при $P < 0,01$.

нашей работы указывают на правомерность такого предположения.

На 21-е сутки, знаменующие собой начало раннего ювенильного периода у крысы, среди структур палеоамигдалы хорошо дифференцируется только Med, на 24-е сутки распознается Mer, а Cort приобретает характерную для него citoархитектонику на 31-е сутки, с которых у крысы начинается поздний ювенильный период. Гетерохронное созревание структур палеоамигдалы, несомненно, связано с неодинаковой сложностью их структурно-функциональной организации.

Med является самым древним ядром МТ и местом формирования конечной полоски, одной из первых систем волокон мозга. Конечная полоска присутствует в мозгу низших позвоночных (круглоротых и рыб), обеспечивая связь добавочной обонятельной луковицы с древней амигдалой, и последней с преоптической областью мозга [1]. Она является путем, через который феромоны достигают гипоталамической области, сигналы из которой обеспечивают процесс вымета гамет в водную среду, и успех их оплодотворения зависит от синхронности этого процесса у особей противоположного пола. У наземных организмов с переходом на внутреннее оплодотворение и изменением роли половых партнеров, кроме системы регуляции секреции гонадотропинов (осуществляемой у них с участием не только преоптической области мозга, но и структур медиобазального гипоталамуса, которые формируются на этом этапе эволюции мозга), формируются центры полового поведения. У самцов крысы центр полового поведения локализуется в латеральной части преоптической области мозга, в то время как у самок в медиальной части этой области находится циклический центр регуляции секреции гонадотропинов [1]. Изложенные данные позволяют, очевидно, объяснить выявленные нами citoархитектонические особенности Med, обнаруженные у самцов и самок крыс.

Начиная с 24-х суток, в этом ядре происходят перестройки, приводящие к появлению половых различий, которые сводятся к уменьшению его площади у самок крысы при одновременном увеличении плотности расположения в нем нейронов, что согласуется с citoархитектоническими особенностями полового диморфизма этого ядра у взрослых крыс [1]. Половой диморфизм в Med, очевидно, указывает на особенности его функционирования у самок и самцов крысы, а именно, на причастность этого ядра у самцов к регуляции копулятивного поведения [8, 11], а у самок — к

Таблица 3

Апоптотический индекс в структурах палеоамигдалы в раннем ювенильном периоде развития крысы ($\bar{x} \pm s_x$)

Структуры палеоамигдалы	21-е сутки		24-е сутки		28-е сутки		31-е сутки	
	Самки	Самцы	Самки	Самцы	Самки	Самцы	Самки	Самцы
Med	0	3,4 $\pm$ 1,0	2,3 $\pm$ 0,7	2,40 $\pm$ 0,29	1,4 $\pm$ 0,4	2,5 $\pm$ 0,5	0	2,7 $\pm$ 0,4
Mer	2,3 $\pm$ 0,3	3,8 $\pm$ 0,3	1,92 $\pm$ 0,25	3,8 $\pm$ 0,8	2,6 $\pm$ 0,9	2,8 $\pm$ 0,5	1,77 $\pm$ 0,15	2,6 $\pm$ 0,5
Corn	2,1 $\pm$ 0,4	2,82 $\pm$ 0,19	3,5 $\pm$ 0,5	3,58 $\pm$ 0,27	3,1 $\pm$ 1,2	3,8 $\pm$ 0,7	2,4 $\pm$ 0,6	2,6 $\pm$ 1,0
CopI	2,8 $\pm$ 0,8	3,8 $\pm$ 0,6	3,00 $\pm$ 0,21	3,6 $\pm$ 0,6	2,2 $\pm$ 0,3	3,1 $\pm$ 0,4	1,71 $\pm$ 0,14	2,5 $\pm$ 0,4

модуляции активности циклического центра секрции гонадотропинов [10, 13].

По-видимому, тесное прилегание нейронов Med у самок друг к другу и формируемые при этом межнейрональные и нейроно-глиоцитарные контакты способствуют синхронизации деятельности нейроэндокринных нейронов этого ядра. Ранее при проведении электронно-микроскопических исследований последнего у половозрелых крыс было отмечено наличие протяженных межнейрональных контактов [6]. Известно, что половые стероиды влияют на экспрессию коннексина 43 (CX43), участвующего в создании и функционировании щелевидных контактов в преоптической области мозга, обеспечивающих синхронизацию возбуждения нейронов, вовлекаемых в регуляцию эстрального цикла [12].

Corn обладает сложной структурной организацией, подробная характеристика которой была приведена ранее [3]. Медиальная часть ядра имеет прямые связи с добавочной обонятельной луковицей, латеральная — с основной обонятельной луковицей [1]. На территории этого ядра происходит интеграция обонятельной информации, поступающей из обеих обонятельных луковиц, которая затем передается в другие структуры МТ и мозга. Это ядро «оформляется» только на 31-е сутки, что можно объяснить сложностью структурно-функциональной его организации. При этом, несомненно, играет роль и длительный морфогенез основной обонятельной луковицы, который в отличие от добавочной обонятельной луковицы (5-е сутки ПР) продолжается до 30-х суток ПР [15].

Полученные в работе данные согласуются с результатами экспериментальных исследований, выполненных на крысах препубертатного возраста [10], и мнением авторов о том, что на 4-й неделе у крыс в каудальной части кортико-медиального отдела МТ формируется район, участвующий в реализации положительной эстрогенной связи.

Величины АИ, рассчитанные в структурах палеоамигдалы, указывают на то, что запрограммированная клеточная гибель в раннем ювениль-

ном периоде развития крысы не является решающим фактором в перестройках этого периода. По всей видимости, апоптоз обусловлен специализацией синаптических мишеней и отражает процесс формирования нервных связей структур палеоамигдалы с добавочной и основной обонятельной луковицами, а также гипоталамическими репродуктивными центрами [7, 9].

ЛИТЕРАТУРА

1. Акмаев И.Г. и Калимуллина Л.Б. Миндалевидный комплекс мозга: функциональная морфология и нейроэндокринология. М., Наука, 1993.
2. Ахмадеев А.В. Влияние фактора пола и неонатальной андрогенизации на дендроархитектуру нейронов дорсомедиального ядра миндалевидного тела мозга. Морфология, 2006, т. 129, вып. 3, с. 30–33.
3. Ахмадеев А.В. и Калимуллина Л.Б. Структурная и количественная характеристика ядерных и экранных образований заднего отдела миндалевидного тела мозга. Морфология, 2000, т. 117, вып. 5, с. 19–21.
4. Ахмадеев А.В. и Калимуллина Л.Б. Дендроархитектура нейронов заднего кортикального ядра миндалевидного тела мозга крысы под влиянием фактора пола и неонатальной андрогенизации. Морфология, 2004, т. 125, вып. 2, с. 22–25.
5. Ахмадеев А.В. и Калимуллина Л.Б. Древняя амигдала: цитоархитектоника, организация и цитологические характеристики нейронов. Морфология, 2004, т. 126, вып. 5, с. 15–19.
6. Калимуллина Л.Б., Ахмадеев А.В. и Нагаева Д.В. Электронно-микроскопическая характеристика дорсомедиального ядра миндалевидного тела мозга. Морфология, 1999, т. 115, вып. 3, с. 32–37.
7. Калинин С.Г. и Матвеева Н.Ю. Морфологическая характеристика апоптоза и его значение в нейрогенезе. Морфология, 2007, т. 131, вып. 2, с. 16–28.
8. Cooke B.M., Breedlove S.M. and Jordan C.L. Both estrogen and androgen receptors contribute to testosterone-induced changes in the morphology of the medial amygdala and sexual arousal in male rats. Horm. Behav., 2003, v. 43, № 2, p. 336–346.
9. Coolen L.M. and Wood R.I. Bidirectional connections of the medial amygdaloid nucleus in the Syrian hamster brain: simultaneous anterograde and retrograde tract tracing. J. Comp. Neurol., 1998, v. 399, № 6, p. 189–209.
10. Docke F., Rohde W., Moldenhauer U. and Dorner G. Maturation of the oestrogen-dependent LH-stimulating activity of the

mediocortical amygdala in female rats. *Endokrinologie*, 1977, Bd. 69, № 2, S. 262–265.

11. Dominguez J.M., Riolo J.V., Xu Z. and Hull E.M. Regulation by the medial amygdala of copulation and medial preoptic dopamine release. *J. Neurosci.*, 2001, v. 21, № 1, p. 349–355.
12. Gulino M. and Etgen A.M. Sexually dimorphic hormonal regulation of the gap junction protein, CX43, in rats and altered female reproductive function in CX43^{+/–} mice. *Brain Res.*, 2005, v. 1045, № 1–2, p. 107–115.
13. Hosokawa N. and Chiba A. Effects of sexual experience on conspecific odor preference and male odor-induced activation of the vomeronasal projection pathway and the nucleus accumbens in female rats. *Brain Res.*, 2007, v. 1066, № 1–2, p. 101–108.
14. Rakic S. and Zecevic N. Programmed cell death in developing human telencephalon. *Eur. J. Neurosci.*, 2000, v. 12, p. 2721–2734.
15. Salazar I., Sanchez-Quintero P., Cifuentes J.M. and Fernandez de Troconiz P. General organization of the perinatal and adult accessory olfactory bulb in mice. *Anat. Rec. A Discov. Mol. Cell. Evol. Biol.*, 2006, v. 288, № 9, p. 1009–1025.

Поступила в редакцию 09.02.08

RAT PALEOAMYGDALA MORPHOGENESIS IN THE EARLY JUVENILE PERIOD

A.V. Akhmedeyev and L.B. Kalimullina

To characterize the structural remodeling of paleoamygdala during the early juvenile period, the studies were performed in 40 male and female Wistar rats on 21, 24, 28 and 31 postnatal days. Serial frontal brain sections stained with Nissl's cresyl violet were used to study the cytoarchitectonics of paleoamygdala (dorsomedial – Med, posterior medial – Mep and posterior cortical nuclei – Cop), as well as the dynamics of the formation of these structures, by means of the registration of planimetry characteristics, counting the number of neurons and glial cells, calculation of glial and apoptotic indexes. The results obtained suggest the heterochronism of the morphogenesis and gender-dependent differences in the differentiation of paleoamygdala structures. By day 21 (the beginning of early juvenile period), only Med appeared to be differentiated, while Mep became recognizable by day 24, and Cop acquired the characteristic cytoarchitectonics only by day 31 (the beginning of late juvenile period). Significant gender-associated structural differences were found in Med since day 28, and in Cop and Mep – on day 31.

Keywords: *paleoamygdala, morphogenesis, sexual dimorphism, rat.*

Department of Human and Animal Morphology and Physiology, Bashkir State University, Ufa.

© Коллектив авторов, 2008
УДК 611.018.8-053:599.323.4

М.Б. Корзина, А.И. Емануилов, С.А. Новаковская, Л.И. Арчакова и П.М. Маслюков

РАЗВИТИЕ НЕЙРОНОВ ЗВЕЗДЧАТОГО УЗЛА КРЫС, СОДЕРЖАЩИХ МЕМБРАННЫЕ МУСКАРИНОВЫЕ И ПУРИНОРЕЦЕПТОРЫ

Кафедра нормальной физиологии с курсом биофизики (зав. — проф. В.Н. Воловенко) и кафедра анатомии человека (зав. — проф. В.В. Шилкин) Ярославской государственной медицинской академии, Центр электронной и световой микроскопии (зав. — С.А. Новаковская) Института физиологии НАН Беларуси, г. Минск

Цель работы — исследование локализации и морфометрических характеристик нейронов звездчатого узла (ЗУ), содержащих мускариновые холино- и пуринорецепторы у крыс разного возраста (новорожденных, 10-, 20-, 30-, 60-, 180-суточных) с использованием иммуногистохимических методов. Результаты исследования показали, что у всех исследованных животных большинство нейронов являются иммунореактивными к M1-холинорецепторам, P2X2- и P2X6-пуринорецепторам с момента рождения. На срезах выявлены единичные нейроны, содержащие P2X3-пуринорецепторы, количество которых увеличивается с 10-х суток жизни к 20-суточному возрасту, а затем вновь уменьшается. В онтогенезе доля нейронов, экспрессирующих M1-холинорецепторы, P2X2- и P2X6-пуринорецепторы, значительно не меняется. Таким образом, к моменту рождения мускариновая синаптическая передача в ЗУ у крыс уже существует, а окончательный набор пуринорецепторов на нейронах симпатического узла формируется к 30-суточному возрасту.

Ключевые слова: *звездчатый узел, нейроны, рецепторы, иммуногистохимия, постнатальное развитие.*

При исследовании синаптической передачи в симпатических узлах взрослых млекопитающих было установлено, что ацетилхолин активирует никотиновые и мускариновые мембранные рецепторы, тем самым, вызывая быстрый и медленный возбуждающий постсинаптический потенциал [7, 8]. Среди мускариновых рецепторов, экспрессирующихся на симпатических нейронах, выде-

лены типы M1 и M2 [17]. Также была доказана роль пуринорецепторов в синаптической передаче в симпатических узлах, где в качестве медиатора выступает аденозинтрифосфорная кислота (АТФ). АТФ при этом воздействует на P2X- и P2Y-рецепторы, которые, в свою очередь, подразделяются на ряд подтипов [5, 6].