

КЛЕТОЧНАЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКА  
И ПРОЛИФЕРАЦИЯ

УДК 591.392 /.881 /.815

ВЛИЯНИЕ СЕРОТОНИНА НА ОБРАЗОВАНИЕ НЕЙРОНОВ,  
ПРОДУЦИРУЮЩИХ ГОНАДОТРОПИН-РИЛИЗИНГ ГОРМОН,  
У КРЫС WISTAR<sup>1</sup>

© 2010 г. Т. С. Пронина<sup>\*,\*\*</sup>, А. Калас<sup>\*\*</sup>, М. В. Угрюмов<sup>\*,\*\*\*</sup>

<sup>\*</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН  
119334 Москва, ул. Вавилова, д. 26

<sup>\*\*</sup>Университет П. и М. Кюри, Париж

UMR 7624 CNRS, 7 Quai St Bernard, 75252 Paris, France

<sup>\*\*\*</sup>Институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН  
125009 Москва, ул. Моховая, д. 11, стр. 4

E-mail: [tatiana.pronina@mail.ru](mailto:tatiana.pronina@mail.ru)

Поступила в редакцию 06.05.09 г.

Окончательный вариант получен 19.08.09 г.

Изучено влияние серотонина на образование нейронов, продуцирующих гонадотропин-рилизинг гормон, в эмбриогенезе у крыс Wistar. Нейроны, продуцирующие гонадотропин-рилизинг гормон, выявляли иммуноцитохимически на 18-й и 21-й дни эмбрионального развития и на 15-е сут постнатального развития в мозгу крыс с нормальным метаболизмом серотонина и при ингибировании его синтеза *para*-хлорфенилаланином. Общее число продуцирующих гонадотропин-рилизинг гормон нейронов при дефиците серотонина было большим, чем при его нормальном метаболизме на всех изученных сроках развития. Это является косвенным показателем ингибирующего влияния серотонина на образование продуцирующих гонадотропин-рилизинг гормон нейронов. Для подтверждения морфогенетического влияния серотонина была изучена скорость образования продуцирующих гонадотропин-рилизинг гормон нейронов путем введения бромдезоксисуридина в период образования этих нейронов. Дефицит серотонина не оказывал влияния на время образования таких нейронов: более 97% нейронов образуются с 11-го по 15-й дни эмбрионального развития и в экспериментальной, и в контрольной группах. При этом при дефиците серотонина образование максимального числа продуцирующих гонадотропин-рилизинг гормон нейронов происходило на один день позже, чем в норме. Таким образом, серотонин ингибирует пролиферацию клеток-предшественников нейронов, продуцирующих гонадотропин-рилизинг гормон, оказывая морфогенетическое влияние на развитие таких нейронов.

**Ключевые слова:** пролиферация, 5-бром-2'-дезоксисуридин, гонадотропин-рилизинг гормон, серотонин, иммуноцитохимия.

В развитии организма ключевую роль играют физиологически активные вещества, способные оказывать морфогенетическое влияние на формирование систем и органов-мишеней. К таким веществам относятся моноамины — катехоламины и серотонин, участвующие в регуляции развития клеток-мишеней (Azmitia, Whitaker-Azmitia, 1991; Lauder, 1993; Whitaker-Azmitia et al., 1993). В частности, мишенями для серотонина являются нейроны, продуцирующие гонадотропин-рилизинг гормон (ГРГ). Нару-

шения в развитии этих нейронов приводят к патологии в регуляции репродуктивной функции и недоразвитию гонад (Schwanzel-Fukuda, Pfaff, 1989a; Radovick et al., 1991; Dacou-Voutetakis, 1992). Особенностью развития ГРГ-продуцирующих нейронов, по сравнению с другими нейросекреторными нейронами мозга, является то, что они образуются в назальной части черепа из эпителия обонятельных плакод. В процессе дифференцировки ГРГ-продуцирующие нейроны мигрируют по терминальным и вомероназальным нервам в передний мозг — до обонятельных луковиц и далее в септо-преоптическую область (Jennes, 1989; Wray, 1989). Ранее было показано, что серотонин ускоряет миграцию ГРГ-продуцирующих нейронов и, вероятно, влияет на их образование, изменяя общее число этих нейронов (Пронина и др., 2001; Pronina et al., 2003a, b). Цель нашей

<sup>1</sup> Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проекты № 08-04-01084 а, 08-04-09271-моб\_з, 07-04-92173-НЦНИ а), Российским гуманитарным научным фондом (проект №09-06-00543А), Программами Президента РФ “Ведущие научные школы” (проект НШ-2110.2008.4) и Президиума РАН “Фундаментальные науки — медицине”.

работы — изучить морфогенетическое влияние серотонина на образование ГРГ-продуцирующих нейронов.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Работу проводили на крысах Wistar. День обнаружения сперматозоидов во влагалищном мазке считали 1-м днем беременности (ДБ1) самки, а для плодов — 1-м днем эмбрионального развития (Э1). День рождения потомства считали 1-ми сут постнатального развития (П1). Исследования проводили на плодах разных сроков развития — Э18 (18 самцов) и Э21 (12 самцов) — и на потомстве от 34 самок на стадии П15 (60 самцов).

Для создания дефицита серотонина использовали ингибитор триптофангидроксилазы *para*-хлорфенилаланин (п-ХФА) — фермент, определяющий скорость синтеза серотонина. п-ХФА (100 мг/кг веса в 0.5 мл физиологического раствора) (“Sigma”, США) вводили беременным самкам внутрибрюшинно ежедневно с ДБ11 по ДБ17 (14 самок) или с ДБ11 по ДБ20 (3 самки). В контрольных группах (14 и 3 самки соответственно) беременным самкам внутрибрюшинно вводили 0.5 мл физиологического раствора в те же периоды.

Для определения срока последнего митотического деления клеток-предшественников ГРГ-продуцирующих нейронов разным группам беременных самок (по 4 особи) наряду с инъекциями п-ХФА или физиологического раствора делали две внутрибрюшинные инъекции 5-бром-2'-дезоксигуанидина (БрдУ) (“Sigma”, США; 100 мкг/г веса) в концентрации 20 мкг/мл в физиологическом растворе с 0.007 N NaOH на стадиях ДБ11 — ДБ15 (в 17 и 23 часа соответственно).

Самок на ДБ18 и ДБ21 и самцов на П15 наркотизировали пентобарбиталом (100 мг/кг веса) (“Sanofi, Liburne”, Франция), самцов на Э18, Э21 и П15 перфузировали или физиологическим раствором на 0.02 M фосфатном буфере (рН 7.4), или 4%-ным параформальдегидом на 0.1 M фосфатном буфере.

Мозг, выделенный у плодов на Э18, Э21, фиксировали в 4%-ном параформальдегиде, инкубировали в 20%-ном растворе сахарозы и замораживали в изопентане при  $-35^{\circ}\text{C}$ . Затем на криостате делали серийные сагитальные срезы правой половины мозга толщиной 16 мкм. На одни и те же стекла монтировали срезы мозга самцов экспериментальной и контрольной групп для стандартизации дальнейшей обработки материала.

Срезы последовательно инкубировали в физиологическом растворе на 0.02 M фосфатном буфере с: 1) 1%-ной нормальной сывороткой козы (30 мин,  $20^{\circ}\text{C}$ ); 2) антителами кролика к ГРГ (1 : 15000) (“Tramit”, Франция) (12 ч,  $20^{\circ}\text{C}$ ); 3) биотинилированными антителами (1 : 200) (“Vector Lab.”, США) (2 ч,

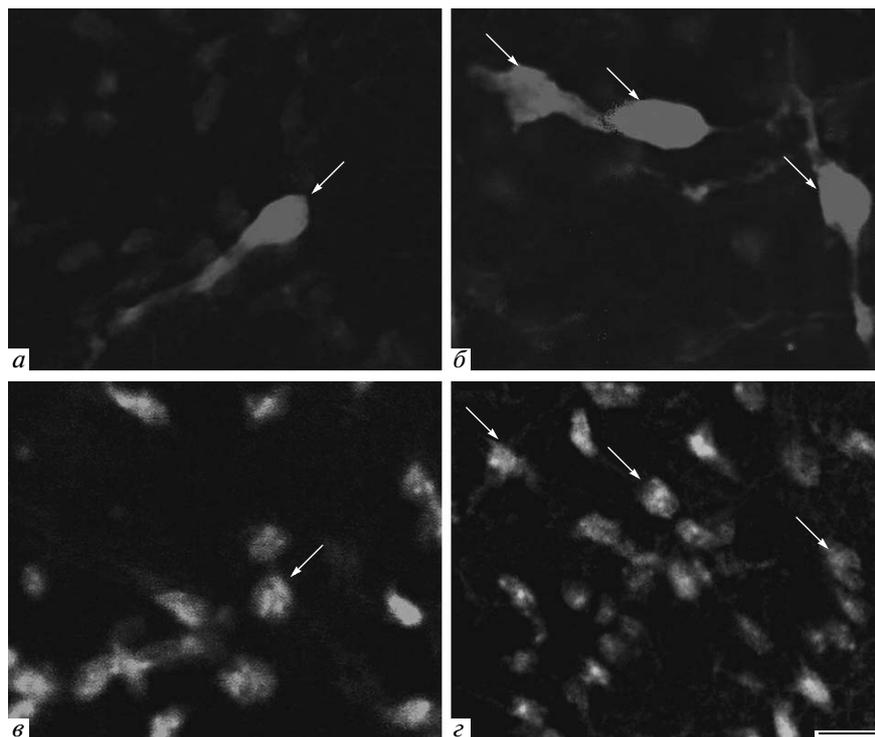
$20^{\circ}\text{C}$ ); 4) авидин-биотиновым комплексом (1 : 100) (“Vector Lab.”, США) (1 ч,  $20^{\circ}\text{C}$ ). Пероксидазу авидин-биотинового комплекса выявляли 0.03%-ным 3,3'-диаминобензидин тетрагидрохлоридом (“Sigma”, США) с 0.01%-ной перекисью водорода (2 мин,  $20^{\circ}\text{C}$ ).

Специфичность антител проверяли путем исключения антител к ГРГ из проводки и путем преабсорбции этих антител с синтетическим ГРГ (0.001 мкМ) (“Calbiochem”, США). При этом в указанных контролях отсутствовала иммунопозитивная реакция. Затем количественно оценивали общее число ГРГ-продуцирующих нейронов в переднем мозгу.

Мозг, выделенный у самцов на П15, фиксировали в 4%-ном параформальдегиде, затем на вибраторе делали серийные фронтальные срезы (50 мкм) септо-преоптической области мозга. Иммуноцитохимическую обработку проводили на плавающих срезах в одинаковых условиях. Срезы последовательно инкубировали в: 1) 50%-ном формамиде (“Sigma”, США) на 2 × цитратно-солевом буфере (рН 7.6) (1.5 ч,  $65^{\circ}\text{C}$ ); 2) 0.1 N HCl (10 мин,  $4^{\circ}\text{C}$ ); 3) 2 N HCl (10 мин,  $37^{\circ}\text{C}$  с акридин оранжевым для контроля времени реакции); 4) 2 N боратном буфере (5 мин,  $20^{\circ}\text{C}$ ); 5) физиологическом растворе на 0.02 M фосфатном буфере с 1%-ной нормальной сывороткой козы и 0.5%-ным Тритоном X-100 (30 мин,  $20^{\circ}\text{C}$ ); 6) физиологическом растворе на 0.02 M фосфатном буфере с 0.5%-ным Тритоном X-100, антителами мыши к БрдУ (1 : 50) (“Vecton Dickinson”, США) и антителами кролика к ГРГ (1 : 3000) (18 ч,  $20^{\circ}\text{C}$ ); 7) физиологическом растворе на 0.02 M фосфатном буфере с антителами овцы к антигенам мыши, мечеными флуоресцеином (1 : 400) (“Vectastain, Vector Lab.”, США) и антителами овцы к антигенам кролика, мечеными родамином (1 : 40) (“ДАКО”, Дания) (1 ч, в темноте,  $20^{\circ}\text{C}$ ). Между инкубациями срезы промывали в трех сменах физиологического раствора на 0.02 M фосфатном буфере, монтировали на стекла и заключали в мовиол.

Для контроля времени реакции использовали акридин оранжевый: при визуализации срезов с помощью флуоресцентного микроскопа с использованием FITC-фильтра 0.1%-ный акридин оранжевый в кислой среде (рН < 6) окрашивает ядра, содержащие двойную спираль ДНК, в зеленый цвет, а содержащие одинарные разделенные нити ДНК — в оранжево-красный. Изменение цвета окраски ядер является сигналом для прекращения инкубации в 2 N HCl.

Нейроны подсчитывали, используя флуоресцентный микроскоп Olympus BX51, Япония с объективом  $\times 20$ , и определяли общее число всех ГРГ-продуцирующих нейронов, а также долю ГРГ-продуцирующих нейронов, ядра которых при визуальной оценке максимально включали метку БрдУ, к общему числу ГРГ-продуцирующих нейронов.



**Рис. 1.** ГРГ-продуцирующие нейроны (→) с двойной меткой ГРГ (а, б) и БрдУ (в, г) в преоптической области мозга крысы на 15-е постнатальные сут развития в контрольной (0.9%-ный NaCl) (а, в) и экспериментальной (п-ХФА) (б, г) группах после инъекции БрдУ в обеих группах на 12-й день эмбрионального развития. Масштаб: 30 мкм.

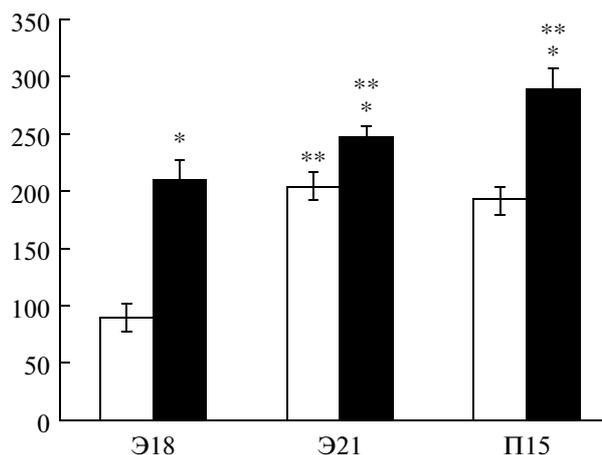
Полученные данные обрабатывали статистически для определения достоверности различий с помощью *F*-теста для определения однородности выборки, *t*-критерия Стьюдента и непараметрического парного теста Вилкоксона-Манна-Уитни. Кроме того, определяли доверительный интервал уровня достоверности в 95% ( $p < 0.05$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

**Общее число ГРГ-нейронов.** В контрольной группе ГРГ-продуцирующие нейроны овальной формы, уни- и биполярные, в переднем мозгу (рис. 1) были обнаружены на всех изученных сроках. Общее количество ГРГ-продуцирующих нейронов увеличилось с Э18 по Э21 и не изменилось с Э21 по П15 (рис. 2). По форме и числу отростков ГРГ-продуцирующие нейроны в переднем мозгу животных экспериментальной группы не отличались от таковых контрольной группы (рис. 1). Общее число ГРГ-продуцирующих нейронов увеличилось с Э18 по П15 (рис. 2). При дефиците серотонина в экспериментальной группе у крыс на всех изученных сроках (Э18, Э21 и П15) общее число ГРГ-продуцирующих нейронов было больше, чем в контрольной группе (рис. 2).

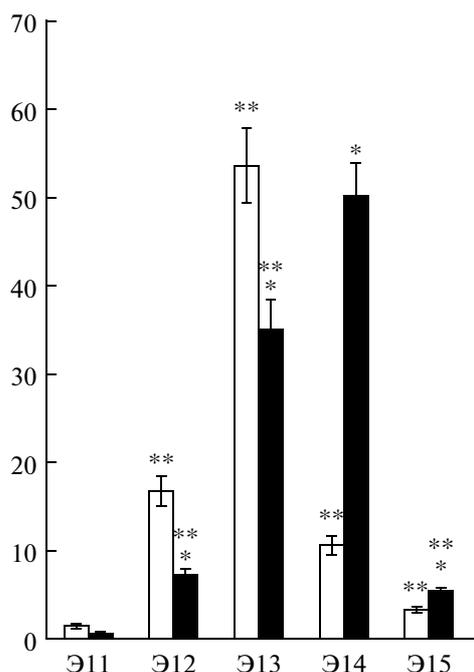
**Выявление БрдУ в ГРГ-продуцирующих нейронах.** В контрольной группе на П15 ГРГ-продуцирующие нейроны с максимальным содержанием БрдУ обна-

руживались при всех сроках введения БрдУ. Доля ГРГ-продуцирующих нейронов с максимальным содержанием БрдУ увеличивалась с Э11 по Э13, а за-



**Рис. 2.** Общее число ГРГ-продуцирующих нейронов (по оси ординат) в экспериментальной (■) и контрольной (□) группах самцов на 18-й и 21-й дни эмбрионального (Э18, Э21) и 15-е сут постнатального (П15) развития.

Здесь и на рис. 3 различия достоверны: \*  $p < 0.05$  между экспериментом и контролем, \*\*  $p < 0.05$  по сравнению с предыдущей возрастной группой.



**Рис. 3.** Количество ГРГ-продуцирующих нейронов с максимальной меткой бромдезоксипуридина (БрдУ, по оси ординат, %) в правой половине переднего мозга крыс на 15-е сут постнатального развития после его инъекции самкам крыс на 11–15-й дни беременности (Э11–Э15) в контрольной (□) и экспериментальной (■) группах.

тем снижалась с Э13 по Э15 (рис. 1, 3). В экспериментальной группе на П15 ГРГ-продуцирующие нейроны с максимальным содержанием БрдУ также обнаруживались при всех сроках введения БрдУ, как и в контрольных группах (рис. 1, 3). При дефиците серотонина доля ГРГ-продуцирующих нейронов с максимальным содержанием БрдУ у экспериментальных животных возрастала с Э11 по Э14, а затем снижалась с Э14 по Э15 и была наибольшей при введении БрдУ на Э14, т. е. на один день позже, чем в контрольной группе (рис. 3).

### ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время доступны два метода определения времени образования нейронов: введение тимидина, меченного тритием, или БрдУ – аналога тимидина (Gould, Tanapat, 1997). Оба метода основаны на включении метки в ДНК крысы в S-фазе митотического деления (Miller, Nowakowski, 1988).

Метод с использованием БрдУ имеет ряд преимуществ по сравнению с введением меченого тимидина. Во-первых, это отказ от использования радиоактивных изотопов. Во-вторых, глубина проникновения антител в толщину среза 25 мкм в отличие от 2–3 мкм пробега трития дает возмож-

ность исследовать больший объем материала. В-третьих, продолжительность иммуноцитохимической реакции для определения включения метки составляет 1 сут (в отличие от 1–2-месячной экспозиции тимидиновой метки на эмульсии), что значительно сокращает время получения результатов. Тем не менее, использование БрдУ имеет ряд технических сложностей и дает полуколичественные результаты в отличие от тимидинового метода. Антитела к БрдУ выработаны в одноцепочной последовательности ДНК (Gratzner, 1982), что требует проведения гидролиза двухцепочной ДНК (Miller, Nowakowski, 1988) с помощью добавления в инкубационную среду соляной кислоты (Miller, Nowakowski, 1988; Jankovski et al., 1998), щелочи натрия (Miller, Nowakowski, 1988; Schwob et al., 1995) или трипсина (Gould, Tanapat, 1997). Такое воздействие негативно влияет на сохранность второго антигена – специфического маркера клеток. Так, например, использование трипсина неприемлемо, если второй антиген – пептид. Выбор предпочтения щелочи натрия, или соляной кислоты, или инкубации с добавлением в инкубационную среду формамида или спирта, предохраняющих второй антиген и ткань в целом, проводится экспериментально.

Результаты анализируются путем визуального сравнения окраски ядер: наиболее интенсивно окрашенные ядра принадлежат клеткам, которые в момент введения БрдУ находились в S-фазе последнего митотического цикла. Если после введения БрдУ клеточное деление продолжалось, то присутствие БрдУ в ядре и, следовательно, интенсивность метки снижаются пропорционально числу прошедших делений (Markakis, Swanson, 1997). Для определения времени образования ГРГ-продуцирующих нейронов использовали метод двойного иммунофлуоресцентного мечения ГРГ и БрдУ (Miller, Nowakowski, 1988; Markakis, Swanson, 1997).

Мы показали, что при дефиците серотонина обнаруживалось большее число ГРГ-продуцирующих нейронов на всех изученных сроках развития крыс (Э18, Э21 и П15). Так как к П15 миграция и образование ГРГ-продуцирующих нейронов уже завершаются, это косвенно свидетельствует о том, что серотонин оказывает морфогенетическое влияние на количество образовавшихся и дифференцировавшихся ГРГ-продуцирующих нейронов. Это согласуется с результатами нашей предыдущей работы, в которой показано, что при избытке серотонина и норадреналина у плодов мышей общее количество ГРГ-продуцирующих нейронов было меньшим, чем у таковых с нормальным метаболизмом моноаминов (Pronina et al., 2003b). При этом на модельных объектах с дефицитом или избытком серотонина было показано, что уменьшение числа ГРГ-иммунорезистивных нейронов сопровождается увеличением их оптической плотности и, наоборот, увели-

чение числа нейронов сопровождается снижением их оптической плотности (Pronina et al., 2003b). Это свидетельствует о том, что в процессе эксперимента выявляются все ГРГ-иммунопозитивные нейроны, а не только дополнительные группы “молчащих” нейронов.

Введение БрДУ дало возможность определить период, в который клетки-предшественники ГРГ-продуцирующих нейронов вступают в последний митотический цикл делений, — более 97% ГРГ-продуцирующих нейронов образуются с Э11 по Э15. Этот период совпадает в опытной и контрольной группах и согласуется с результатами, полученными с помощью тимидинового метода на интактных животных (Schwanzel-Fukuda, Pfaff, 1989b).

Однако максимальное число ГРГ-продуцирующих нейронов в условиях дефицита серотонина образуется на один день позже, чем в условиях нормального метаболизма серотонина. Эти изменения могут быть связаны с тем, что серотонин: а) подавляет митотические деления, уменьшая их число; б) влияет на дальнейшую дифференцировку клеток-предшественников, изменяя соотношение дифференцирующихся ГРГ-продуцирующих нейронов и других нейронов; в) стимулирует апоптоз в эмбриогенезе. Ранее было показано, что серотонин подавляет пролиферацию клеток-предшественников нейронов-мишеней, уменьшая число митотических делений (Lauder, Krebs, 1976), а также снижает вероятность апоптоза, действуя через рецепторы 5-ГТ<sub>1A</sub> (Schaper et al., 2000).

Таким образом, наиболее вероятно то, что серотонин подавляет пролиферацию клеток-предшественников ГРГ-продуцирующих нейронов, уменьшая число митотических циклов, морфогенетически снижает число ГРГ-нейронов и способствует более раннему образованию этих нейронов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Прони́на Т., Угрюмов М., Калас А. и др. Влияние серотонина на развитие ГРГ-системы у эмбрионов крыс // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 2001. Т. 37. С. 426–431.
- Azmitia E.C., Whitaker-Azmitia P.M. Awakening the sleeping giant: anatomy and plasticity of the brain serotonergic system // J. Clin. Psychiatry. 1991. V. 52. P. 4–16.
- Dacou-Voutetakis C. Hypogonadotropic hypogonadism; the genetic defect. A hypothesis based on human and animal prototypes // Horm. Res. 1992. V. 37. P. 62–64.
- Gould E., Tanapat P. Lesion-induced proliferation of neuronal progenitors in the dentate gyrus of the adult rat // Neuroscience. 1997. V. 80. P. 427–436.
- Gratzner H.G. Monoclonal antibody to 5-bromo- and 5-iododeoxyuridine: A new reagent for detection of DNA replication // Science. 1982. V. 218. P. 474–475.
- Jankovski A., Garcia C., Soriano E., Sotelo C. Proliferation, migration and differentiation of neuronal progenitor cells in the adult mouse subventricular zone surgically separated from its olfactory bulbs // Eur. J. Neurosci. 1998. V. 10. P. 3853–3868.
- Jennes L. Prenatal development of the gonadotropin-releasing hormone-containing systems in rat brain // Brain. Res. 1989. V. 482. P. 97–108.
- Lauder J.M. Neurotransmitters as growth regulatory signals: role of receptors and second messengers // Trends. Neurosci. 1993. V. 16. P. 233–240.
- Lauder J.M., Krebs S. Effects of p-chlorophenylalanine on time of neuronal origin during embryogenesis in the rat // Brain Res. 1976. V. 107. P. 638–644.
- Markakis E.A., Swanson L.W. Spatiotemporal patterns of secretomotor neurone generation in the parvocellular neuroendocrine system // Brain Res. Rev. 1997. V. 24. P. 255–291.
- Miller M.W., Nowakowski R.S. Use of bromodeoxyuridine-immunohistochemistry to examine the proliferation, migration and time of origin of cells in the central nervous system // Brain Res. 1988. V. 457. P. 44–52.
- Pronina T., Adamskaya E., Ugrumov M. et al. Influence of serotonin on the development and migration of gonadotropin-releasing hormone neurones in rat fetuses // J. Neuroendocrinol. 2003a. V. 15. P. 549–558.
- Pronina T., Ugrumov M., Calas A. et al. Monoamine influence on the development of the gonadotropin-releasing-hormone-producing system in fetal mice // Ibid. 2003b. V. 15. P. 925–932.
- Radovick S., Wray S., Lee E. et al. Migratory arrest of gonadotropin-releasing hormone neurons in transgenic mice // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1991. V. 88. P. 3402–3406.
- Schaper C., Zhu Y., Kouklei M. et al. Stimulation of 5-HT<sub>1A</sub> receptors reduces apoptosis after transient forebrain ischemia in the rat // Brain Res. 2000. V. 883. P. 41–50.
- Schwanzel-Fukuda M., Pfaff D.W. Luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH)-expressing cells do not migrate normally in an inherited hypogonadal (Kallmann) syndrome // Mol. Brain Res. 1989a. V. 6. P. 311–326.
- Schwanzel-Fukuda M., Pfaff D.W. Origin of luteinizing hormone-releasing hormone neurons // Nature. 1989b. V. 338. P. 161–164.
- Whitaker-Azmitia P.M., Clarke C., Azmitia E.C. Localization of 5-HT<sub>1A</sub> receptors to astroglial cells in adult rats: implications for neuronal-glia interactions and psychoactive drug mechanism of action // Synapse. 1993. V. 14. P. 201–205.
- Wray S., Grant P., Gainer H. Evidence that cells expressing luteinizing hormone-releasing hormone mRNA in the mouse are derived from progenitor cells in the olfactory placode // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1989. V. 86. P. 8132–8136.

## Effect of Serotonin on the Formation of Neurons Producing Gonadotropin-Releasing Hormone in Wistar Rats

T. S. Pronina<sup>a, b</sup>, A. Kalas<sup>b</sup>, and M. V. Ugryumov<sup>a, c</sup>

<sup>a</sup> Kol'tsov Institute of Developmental Biology, Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova 26, Moscow, 119334 Russia

<sup>b</sup> CNRS-Université Pierre et Marie Curie, UMR 7624 CNRS, 7 Quai St. Bernard, Paris 75252, France

<sup>c</sup> Anokhin Institute of Normal Physiology, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Mokhovaya 11-4, Moscow, 125009 Russia  
e-mail: tatiana.pronina@mail.ru

**Abstract**—The effect of serotonin on the formation of neurons producing gonadotropin-releasing hormone (GnRH) during embryogenesis of Wistar rats was studied. The neurons producing GnRH were detected immunocytochemically on days 18 and 21 of embryonic development and on day 15 of postnatal development of rats with normal serotonin metabolism and rats in which the synthesis of serotonin was inhibited by *p*-chlorophenylalanine. The total number of GnRH neurons in serotonin deficiency was larger than in the case of its normal metabolism at all developmental stages studied. This is an indirect evidence for the inhibitory effect of serotonin on the formation of GnRH neurons. To confirm the morphogenetic effect of serotonin, we studied the rate of formation of GnRH neurons by injecting bromodeoxyuridine in the formation period of these neurons. It was found that serotonin deficiency had no effect on the time of formation of GnRH neurons: over 97% of neurons formed on days 11 to 15 of embryonic development both in the experimental and control groups. Note that, in serotonin deficiency, the maximum number of GnRH neurons formed one day later than in the normal state. Thus, serotonin inhibits the proliferation of GnRH neuron progenitor cells and thereby has a morphogenetic effect on the development of these neurons.

**Key words:** proliferation, 5-bromo-2'-deoxyuridine, gonadotropin-releasing hormone, serotonin, immunocytochemistry.