

Литература

1. Бузолева Л.С., Пручкина З.В. Метод определения липазы бактерий кишечной группы // Лаб. дело. – 1990. – № 12. – С. 74–75.
2. Микробиологическая диагностика кампилобактериоза: метод. рек. – М.: Фед. центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008. – 25 с.
3. Минаева Н.З. Внутривидовое типирование кампилобактеров как элемент эпидемиологического надзора за кампилобактериозом: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 1992.
4. Черкасский Б.Л., Воротынцева Н.В., Ющук Н.Д. и др. Инструкция по клинической и лабораторной диагностике кампилобактериоза. – М., 1989.
5. Чистович Г.Н. Стафилококковая лецитиназа // ЖМЭИ. – 1950. – № 10. – С. 54–57.
6. Newell D.G., Kettley J.M., Feldman R.A. Campylobacters, Helicobacters and Related Organisms. – N. Y.: Plenum Press, 1997. – P. 751.

Координаты для связи с автором: Тазалова Елена Вячеславовна – доцент кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии ДВГМУ, тел.: +7-924-213-24-71.



УДК 611.813.1-013-018:599.323.4-092.9

Б.Я. Рыжавский, Е.М. Литвинцева

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ НЕОКОРТЕКСА И ГИППОКАМПА КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО УВЕЛИЧЕННОЙ И УМЕНЬШЕННОЙ МАССОЙ МОЗГА

*Дальневосточный государственный медицинский университет, 680000,
ул. Муравьева-Амурского, 35, тел.: 8-(4212)-30-53-11, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru, г. Хабаровск*

Резюме

Проведено сравнение мозга двух групп 40-дневных крыс, у которых экспериментально моделировано: 1) увеличение (1 группа) и 2) уменьшение абсолютной массы головного мозга (2 группа). Оно показало, что кора мозга животных сравниваемых групп различалась по объему, числу нейронов, их размерным и гистохимическим характеристикам. В мозге, характеризовавшемся большей массой, объем неокортекса, а также количество корковых нейронов, активность NADH-дегидрогеназы и NADPH-дегидрогеназы в нейронах неокортекса и гиппокампа превосходили таковые в мозге крыс 2 группы. На основании этих данных делается заключение, что факторы, оказывающие влияние на темпы роста мозга, его массу, воздействуют и на его микроструктуры, в частности, на корковые нейроны различных зон и слоев коры. Степень и характер этого влияния на нейроны разных локализаций не являются полностью идентичными. Поведение крыс сравниваемых групп также имело достоверные различия.

Ключевые слова: масса мозга, кора, нейроны, морфометрия, гистохимия.

B. Ya. Ryzhavskii, E.M. Litvintseva

MORPHOMETRIC AND HISTOCHEMIC PECULIARITIES OF NEOCORTEX AND HIPPOCAMP OF RATS WITH EXPERIMENTALLY INCREASED AND DECREASED BRAIN MASS

Far Eastern state Medical University

Summary

We have compared the brain of two groups of 40-days old rats. Increase and decrease of absolute brain mass were received in experimental models. It was revealed, that brain cortex of animals in both groups differed in volume, neurons number, their size and histochemical characteristics. In brain characterized by a larger mass, neocortex volume, quantity of cortex neurons, NADH- and NADPH-dehydrogenase in neocortex neurons and hippocampus exceeded those in rats brain in the second group. Based on these data we have concluded that factors influencing brain growth rate, its mass, have an impact on its microstructure, that is, cortex neurons of different zones and layers of cortex. Degree and character of such effect on neurons of different localization are not completely identified. Behavior of rats in both groups was reliably different.

Key words: brain mass, cortex, neurons, morphometry, histochemistry.

Соотношение макроскопических и микроскопических характеристик мозга, их взаимосвязь с его функциональными свойствами в течение многих лет привлекает внимание представителей нейронаук [1–3, 6, 7, 10–13]. Одним из подходов, позволяющих анализировать данные зависимости, может быть изучение мозга, макроскопические параметры (размеры, масса) которого существенно больше или меньше, чем среднестатистические. Подобные исследования могут проводиться как на мозге человека, так и экспериментальных животных. Ранее нами было показано, что воспитание крысят в экспериментально уменьшенных пометах приводит к тому, что масса их мозга в 14-, 30- и 40-дневном возрасте достоверно превосходит ее у контрольных животных, тогда как воспитание в искусственно созданных, «смешанных» пометах приводит к уменьшению массы мозга в 40-дневном возрасте. При этом кора мозга и ее нейроны у животных обеих экспериментальных групп, а также их поведение имели достоверные отличия от таковых у контрольных крыс [8, 9].

В то же время, в обеих экспериментальных группах имелись животные, максимально отличавшиеся от контрольных по массе мозга. При этом у таких крыс из экспериментально уменьшенных пометов масса мозга была значительно большей, а у крыс из «смешанных» пометов – меньшей, чем в контроле. Таким образом, масса мозга этих животных имела весьма существенную разницу. В связи с этим крысы из этих подгрупп занимали близкие к «крайним» позиции по одному из важных показателей, часто используемых для характеристики развития мозга. Настоящая работа была посвящена анализу морфометрических, гистохимических и функциональных различий мозга таких крыс – с мозгом, имеющим: 1) максимальную и 2) минимальную величину массы.

Материалы и методы

1 экспериментальная группа состояла из 40-дневных животных из пометов с искусственно уменьшенной численностью (6 пометов, 30 крысят), достигавшуюся путем удаления из пометов средней величины (число крысят – 9–10) в однодневном возрасте по 4–5 крысят. При их забое определялись масса тела, мозга и полушария, затем для дальнейшей обработки из этой группы было выбрано 10 животных (6 самцов, 4 самки), масса мозга которых была максимальной.

2 экспериментальная группа состояла из 40-дневных крыс, воспитанных в искусственно сформированных, «смешанных» пометах (4 помета, 47 крысят). Они были образованы из пометов средней величины (число крысят – 8–10), в которые были добавлены по 4–6 «приемных» крысенка и убрано по столько же «родных». Для дальнейшей обработки из этой группы было выбрано 11 (5 самцов, 6 самок) животных, масса мозга которых была минимальной.

Все животные сравниваемых групп содержались одновременно в условиях одного вивария, корм и воду получали *ad libitum*. Для изучения ВНД крысы в 30-дневном возрасте были подвергнуты исследованию в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ). Забой контрольных и подопытных животных прово-

дили одновременно, декапитацией. Левое полушарие фиксировали в жидкости Карнуа, заливали в парафин. На микротоме фирмы «Reichert» готовили срезы из переднетеменной (ПТД) и собственно теменной (СТД) долей толщиной 7 мкм. На парафиновых срезах толщиной 7 мкм, окрашенных метиленовым синим, а также галлоцианином на нуклеиновые кислоты (НК) по Эйнарсону, проводился, как описано в [5], морфометрический и гистохимический анализ показателей, отраженных в табл. 1 и 2. На криостатных срезах СТД правого полушария, толщиной 20 мкм, проводилась гистохимическая реакция на NADH- и NADPH-дегидрогеназы. Ее интенсивность оценивали измерением оптической плотности продуктов реакции [5]. Статистический анализ результатов проведен с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0.

Таблица 1

Морфометрическая характеристика коры мозга крыс с разной массой мозга

Показатели	Группы	
	Крысы с большей массой мозга (1 группа)	Крысы с меньшей массой мозга (2 группа)
Масса:		
- тела, г	128±6*	39±2
- головного мозга, мг	1673±14*	1309±14
- полушария, мг	623±14*	455±12
Относительная масса мозга, мг/г	13,4±0,8*	34±1,5
-полушария, мг/г	5±0,3*	12±0,5
Толщина коры мозга ПТД, мкм	1543±14	1554±18
Толщина слоя I ПТД, мкм	141±3*	161±4
Число нейронов в поле зрения ПТД:		
- слоя II	19±0,4	20±0,4
- слоя V	7±0,1	7±0,2
Площадь сечения, мкм ² , ПТД		
- ядрышек нейронов слоя II	2,01±0,11	2,17±0,05
- ядер нейронов слоя II	56,5±1,7*	51,2±1,4
- цитоплазмы нейронов слоя II	40,2±2,2*	32,8±1,7
- ядрышек нейронов слоя V	4±0,3	4,4±0,1
- ядер нейронов слоя V	91,1±4,8	94,3±1,6
- цитоплазмы нейронов слоя V	79±3,4*	65±1,1
Толщина коры мозга СТД, мкм	1279±16*	1150±20
Толщина слоя I СТД, мкм	130±7	146±4
Число нейронов в поле зрения СТД:		
- слоя II	20±0,3	21±0,6
- слоя V	7±0,2	7±0,2
Площадь сечения, мкм ² , СТД		
- ядрышек нейронов слоя II	2,12±0,05	1,95±0,04
- ядер нейронов слоя II	63,1±2,7*	49,4±1,6
- цитоплазмы нейронов слоя II	44,2±1,6*	32±1,1
- ядрышек нейронов слоя V	4,1±0,2	4,4±0,09
- ядер нейронов слоя V	96,5±3,4	91±1,6
- цитоплазмы нейронов слоя V	83,7±4,4*	68,4±1,1
- ядрышек нейронов гиппокампа	2,7±0,15*	2,3±0,05
- ядер нейронов гиппокампа	72,1±2,9*	65,8±0,7
-цитоплазмы нейронов гиппокампа	52,4±4,9*	37±0,6

Примечание. * – различия между группами статистически достоверны ($p < 0,05$).

Таблица 2

Гистохимическая характеристика нейронов коры мозга крыс с разной массой мозга

Показатели	Группы	
	Крысы с большей массой мозга (1 группа)	Крысы с меньшей массой мозга (2 группа)
Концентрация РНК, усл. ед., в цитоплазме нейронов ПТД:		
- слой II	0,302±0,03	0,287±0,032
- слой V	0,380±0,027	0,362±0,018
Концентрация РНК, усл. ед., в цитоплазме нейронов СТД:		
- слой II	0,303±0,038	0,326±0,021
- слой V	0,381±0,029	0,380±0,024
Концентрация РНК, усл. ед., в цитоплазме нейронов гиппокампа:	0,379±0,02	0,330±0,026
Активность NADH-дегидрогеназы в нейронах, усл. ед.:		
- слой II СТД	0,455±0,037	0,372±0,029
- слой V СТД	0,481±0,032*	0,353±0,025
- гиппокамп	0,496±0,028*	0,368±0,01
Активность NADPH-дегидрогеназы в нейронах, усл. ед.:		
- слой II СТД	0,471±0,01*	0,365±0,012
- слой V СТД	0,511±0,033*	0,373±0,013
- гиппокамп	0,498±0,012*	0,390±0,02

Примечание. * - различия между группами статистически достоверны (p<0,05).

Результаты и обсуждение

Животные 1 и 2 групп более чем трехкратно отличались по массе тела, абсолютная масса мозга у крыс 1 группы (1673±14 мг) превышала ее у крыс 2 группы (1309±14 мг) на 27,8%, масса полушария – на 36,9%. В то же время, относительная масса мозга у крыс из уменьшенных пометов (1 группа) была меньше, чем у крыс их смешанных пометов (2 группа), примерно в 2,5 раза. Эти данные свидетельствуют о том, что зависимость массы мозга и массы тела является прямой, но не является линейной. В результате этого у крыс с большей массой тела и абсолютной массой мозга на единицу массы мозга приходится большая масса регулируемых ею структур.

Морфометрический анализ показал, что толщина коры в ПТД не имела межгрупповых различий, в СТД у крыс 1 группы она была достоверно больше, чем у крыс 2 группы (1279±16 мкм и 1150±20 мкм соответственно). При этом численная плотность нейронов в слое II и V ПТД и СТД практически не различалась в сравниваемых группах (табл. 1). В совокупности с данными о различиях массы полушария эти результаты свидетельствуют о том, что в мозге, характеризовавшемся большей массой (1 группа), объем неокортекса ПТД и СТД, а также количество нейронов в них превышали эти показатели в мозге с меньшей массой (2 группа). Межгрупповая разница объема коры и численности нейронов может рассматриваться как свидетельство большей интенсивности постнатального нейроногенеза и/или меньшей апоптотической гибели этих клеток у животных 1 экспериментальной группы, содержащихся в пометах меньшей численности, при

более комфортных условиях по сравнению с крысятами из 2 группы, воспитывавшимися в «смешанных» пометах.

Морфометрическое изучение нейронов неокортекса и гиппокампа показало, что они имели статистически достоверные межгрупповые различия, проявлявшиеся большими размерами ядер и цитоплазмы в мозге крыс 1 группы. В нейронах гиппокампа у них большими были, кроме того, и размеры ядрышек (табл. 1). Гистохимический анализ не выявил достоверных межгрупповых различий концентрации РНК в цитоплазме нейронов всех исследованных локализаций. Однако, учитывая, что размеры цитоплазмы корковых нейронов у крыс 1 группы были больше, чем у крыс 2 группы, можно заключить, что содержание РНК, в пересчете на всю цитоплазму этих клеток, у крыс 1 группы также превышало его у крыс 2 группы (табл. 1, 2).

Активность NADH-дегидрогеназы в нейронах слоя V СТД и гиппокампа, активность NADPH-дегидрогеназы в нейронах слоя II, слоя V СТД и гиппокампа мозга крыс 1 группы превосходила таковые в мозге крыс 2 группы (табл. 2), свидетельствуя о большей интенсивности внутри- и немитохондриального окисления [4].

Таким образом, кора мозга крыс сравниваемых групп различалась по объему, числу нейронов, их размерным и гистохимическим характеристикам. На основании этих данных можно заключить, что факторы, оказывающие влияние на темпы роста мозга, его массу, оказывают воздействие и на его микроструктуры, в частности, на корковые нейроны. При этом такое воздействие на кору является «диффузным», то есть распространяется на ее разные зоны, их различные слои. Следует отметить, что степень и характер влияния на нейроны разных локализаций не является полностью идентичным. Это дает основания предполагать, что формирующиеся морфологические различия могут внести изменения во взаимодействия между нейронами, которые являются важным фактором, определяющим функциональные свойства мозга. Рассматривая возможные механизмы формирования межгрупповых различий мозга крыс, можно полагать, что они зависят от таких факторов, как: 1) большие темпы роста мозга у крыс 1 группы, обусловливаемые повышенной интенсивностью синтетических и обеспечивающих их энергетических процессов, а также 2) уменьшение относительной массы органа, увеличение величины массы тела, регулируемой «единицей массы» мозга, по сравнению с таковыми у животных 2 группы.

Выявленные межгрупповые морфологические различия крыс исследованных групп сочетались с различиями их поведения в ПКЛ. «Частотные» характеристики поведения – число движений, стоек, заходов в закрытые и выходов в открытые рукава, а также интегральный показатель «исследовательская активность» у крыс 1 группы были большими, чем у крыс 2 группы. Вместе с тем, временные характеристики этих показателей не имели достоверных межгрупповых различий.

Таким образом, нами проведено сравнение двух групп животных, у которых экспериментально моделировано: 1) увеличение и 2) уменьшение абсолютной

массы головного мозга. Оно показало, что различия по данному макропоказателю развития и состояния мозга сочетаются с достоверными различиями размерных и метаболических характеристик корковых нейронов,

показателей ВНД животных. Мы полагаем, что эти данные могут быть полезными для понимания взаимосвязей морфологических характеристик мозга и его функциональных свойств.

Литература

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Боголепова И.Н. Цитоархитектонические критерии индивидуальной вариабельности мозга человека // Морфология. – 2000. – Т. 117, № 3. – С. 24–25.
3. Боголепова И.Н., Малофеева Л.И., Суслова Л.П. Особенности цитоархитектоники некоторых корковых структур мозга профессионально одаренных людей // Макро- и микроуровневая организация мозга в норме и патологии: мат. симпозиума РАМН НИИ мозга. – М., 1992. – С. 30.
4. Ленинджер А.Л. Основы биохимии: в 3-х т. – М.: Мир, 1985. – Т. 2. – 368 с.
5. Лойда З., Россарау Р., Шиблер Т. Гистохимия ферментов (лабораторные методы). – М.: Мир, 1980. – 270 с.
6. Лурия А.Р. Мозг человека и психические процессы – М.: Педагогика, 1970. – 496 с.
7. Маркина Н.В., Перепелкина О.В., Плеханова И.Л. Асимметрия поведения и морфология мозга у мышей, селектированных по весу мозга // Журнал высш. нервной деятельности им. И.И. Павлова. – 2003. – Т. 53, № 2. – С. 176–183.
8. Рыжавский Б.Я., Литвинцева Е.М. Влияние содержания крысят в «чужих» пометах на некоторые показатели развития их головного мозга // Дальневост. мед. журнал. – 2009. – № 2. – С. 101–104.
9. Рыжавский Б.Я., Матвеева Е.П., Литвинцева Е.М. Морфологические особенности неокортекса и гиппокампа при экспериментальном увеличении массы мозга у крыс (онтогенетический анализ) // Дальневост. мед. журнал. – 2010. – № 1. – С. 90–94.
10. Fuller J.L. Development and Evolution of Brain Size // Eds M.E. Hahn, C. Jensen, B.C. Dudek. N. Y.: Acad. Press. – 1979. – P. 518–539.
11. Gilmore J.H., Lin W., Prastawa M.W. Regional gray matter growth, sexual dimorphism, and cerebral asymmetry in the neonatal brain // J. Neurosci. – 2007. – Vol. 27, № 6. – P. 1255–1260.
12. Räikkönen K., Forsen T., Henriksson M. Growth trajectories and intellectual abilities in young adulthood: The Helsinki Birth Cohort study // Am. J. Epidemiol. – 2009. – Vol. 170, № 4. – P. 447–455.
13. Sowell E.R., Thompson P.M., Leonard C.M. Longitudinal mapping of cortical thickness and brain growth in normal children // J. Neurosci. – 2004. – Vol. 24, № 38. – P. 8223–8231.

Координаты для связи с авторами: Рыжавский Борис Яковлевич – доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии ДВГМУ, тел.: 8- (4212) –30–53–11, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru; Литвинцева Екатерина Марковна – канд. биол. наук, доцент кафедры химии ДВГМУ.

