

О. В. Ткач, Б. Я. Рыжавский

ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ ДЕГИДРОЭПИАНДРОСТЕРОНА НОВОРОЖДЕННЫМ КРЫСАМ НА ПОКАЗАТЕЛИ РАЗВИТИЯ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА

*Дальневосточный государственный медицинский университет,
680000, ул. Муравьева-Амурского, 35, тел. 8-(4212)-32-63-93, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru, г. Хабаровск*

Резюме

Исследовались показатели развития коры мозга белых крыс, которым в возрасте 1 суток был введен масляный раствор дегидроэпиандростерона (ДГЭА). В качестве контроля изучался мозг крыс, которым был введен растворитель. Установлено, что введение гормона обусловило ряд изменений показателей развития мозга подопытных животных. Наблюдались тенденция к увеличению массы мозга, достоверное увеличение массы полушария, увеличение толщины коры собственно теменной доли (СТД), слоя I переднетеменной доли (ПТД). Нейроны коры ПТД у подопытных крыс имели уменьшенные размеры ядер в слое II, ядер и ядрышек – в слое V. В противоположность этому, размеры ядер и цитоплазмы в нейронах гиппокампа у них были достоверно большими, чем в контроле. Нейроны коры СТД не имели достоверных межгрупповых различий размеров. Концентрация РНК в цитоплазме нейронов всех исследованных локализаций также не имела достоверных различий. Активность НАДН-дегидрогеназы в нейронах слоя II у крыс, которым вводили ДГЭА, была выше, чем у контрольных. Активность этого фермента в нейронах других локализаций, а также активность НАДФН-дегидрогеназы и 3 β -гидроксистероиддегидрогеназы в изученных нейронах мозга не имела достоверных межгрупповых различий.

Ключевые слова: мозг, развитие, дегидроэпиандростерон, морфометрия.

O. V. Tkach, B. Ya. Ryzhavskii

THE INFLUENCE OF DEHYDROISOANDROSTERONE ON INDICATORS OF BRAIN CORTEX DEVELOPMENT IN NEWBORN RATS

Far Eastern State Medical University, Khabarovsk

Summary

The authors studied the indexes of brain development of albino rats who were introduced oil solution of dehydroisoandrosterone (DHAS) at the age of 1 day. The control brains were introduced the solvent. Hormone introduction resulted in brain development changes. There were tendencies to brain mass increase, reliable increase of hemisphere mass, parietal proper lobe (PPL) cortex became thicker, as well as the I layer of the supraparietal lobe (SPL). SPL cortex neurons in the experimental rats had a smaller nuclei in the layer II, nuclei and nucleoli in layer V. Nuclei size and hippocampus neurons cytoplasm were larger than in the control. PPI cortex neurons did not have reliable intergroup changes. RNA concentration in plasma in all the studied locations did not reveal any significant differences. Activity of NADN-dehydrogenase in neuron layer II in rats having received DHAS was higher than in the control group. This enzyme activity in neurons of other localizations as well as NADFN-dehydrogenase and 3 β -hydroxysteroiddehydrogenase in the studied cerebral neurons did not demonstrate any significant changes between the two groups.

Key words: brain, development, dehydroepiandrosterone, morphometry.

Данные литературы свидетельствуют о влиянии андрогенов, оказанном в разные периоды онтогенеза, на развитие головного мозга, его морфологические и функциональные характеристики в последующие периоды [2, 3, 6, 10, 14–16]. Установлено, что такой андрогенный гормон как дегидроэпиандростерон (ДГЭА) обладает многочисленными эффектами [11] в отношении головного мозга [5, 10]. Он имеет гораздо меньшую андрогенную активность, чем тестостерон, а его концентрация в крови значительно выше, чем у других стероидных гормонов [12]. Его влияние на мозг проводилось клиницистами, физиологами, биохимиками.

Интерес к изучению влияния ДГЭА на развитие мозга обуславливается, в частности, тем, что во время беременности его концентрация в крови значительно возрастает, причем она даже в норме отличается высокой вариабельностью [1, 11, 13]. Нами впервые было

исследовано влияние введения ДГЭА на морфологические показатели развития мозга. Было установлено, что введение беременным крысам ДГЭА обуславливает ряд отличий в развитии мозга их потомства. Они включают в себя увеличение массы мозга, толщины неокортекса, морфометрические и гистохимические отличия нейронов неокортекса и гиппокампа [7]. Настоящая работа является продолжением данного исследования и посвящена изучению влияния ДГЭА новорожденным крысам на показатели развития неокортекса и гиппокампа их мозга.

Материалы и методы

Исследовался головной мозг 14-дневных беспородных белых крыс, которым в 1-дневном возрасте внутримышечно был введен раствор дегидроэпиандростерона (200 мг/кг) в персиковом масле. Контрольным животным из этих же помётов в возрасте 1 суток

введен в эквивалентном количестве растворитель (персиковое масло). Опытная группа состояла из 5 самцов и 6 самок, контрольная – из 6 самцов и 3 самок. При этом подопытные и контрольные животные содержались одновременно в условиях одного вивария, корм и воду получали *ad libitum*.

Забой животных производили декапитацией на 14-й день жизни, определяли массу тела, головного мозга, полушария. Тотчас после забоя из собственно теменной доли (СТД) правого полушария изготавливали криостатные срезы толщиной 30 мкм, на которых ставили реакцию на НАДН- и НАДФН-дегидрогеназы (НАДН-д, НАДФН-д) по [4], а также, для определения интенсивности синтеза нейростероидов, проводили реакцию на 3 β -гидроксистероиддегидрогеназу (ГСДГ), как описано [8]. Активность НАДН-д, НАДФН-д и ГСДГ определяли при помощи компьютерной цитоспектрофотоморфометрии на аппарате «МЕКОС» по оптической плотности продуктов реакции в цитоплазме клеток, при длине волны 550 нм. Левое полушарие фиксировали в жидкости Карнуа, разрезали в переднетеменной (ПТД) доле и СТД, пользуясь схемами [9] и, после заливки в парафин, готовили срезы толщиной 7 мкм. Препараты окрашивали галлоцианином по Эйнарсону на нуклеиновые кислоты. На этих препаратах проводился морфометрический анализ, который включал в себя измерение толщины коры ПТД и СТД, их слоя I. В 5 стандартных полях зрения слоя II и V ПТД и СТД, а также гиппокампа методом компьютерной морфометрии измерялись площади сечения ядрышек, ядер и цитоплазмы нейронов. В цитоплазме этих же нейронов определяли концентрацию РНК. Статистическую обработку количественных данных проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение

Подопытные животные имели большие, чем контрольные, массу тела и головного мозга. Данные отличия от контроля не были статистически значимыми. Масса полушарий мозга подопытных животных была достоверно больше, чем у контрольных (таблица). Морфометрический анализ выявил у животных, получавших ДГЭА, увеличение толщины коры СТД, а также слоя I ПТД.

Морфометрия нейронов показала, что размеры ядер и цитоплазмы в нейронах гиппокампа мозга подопытных крыс были больше чем у крыс контрольной группы. В противоположность этому, в ПТД размеры ядер нейронов в слое II, ядер и ядрышек – в слое V мозга подопытных крыс были меньше, чем у контрольных. Нейроны коры СТД не имели достоверных межгрупповых различий размеров. Концентрация РНК в цитоплазме нейронов всех исследованных локализаций также не имела достоверных межгрупповых различий.

Активность НАДН-дегидрогеназы в нейронах слоя II у крыс, которым вводили ДГЭА, была выше, чем у контрольных, ($0,377 \pm 0,029$ против $0,291 \pm 0,023$). Активность этого фермента в нейронах других локализаций, а также активность НАДФН-дегидрогеназы и 3 β -гидроксистероиддегидрогеназы в изученных нейронах мозга не имела достоверных межгрупповых различий.

Таблица

Влияние дегидроэпиандростерона на кору головного мозга крыс

| Показатели | Группа | |
|-----------------------------------|------------------|-----------------|
| | опыт | контроль |
| Масса тела, г | 22,3 \pm 0,44 | 20,7 \pm 1,02 |
| Масса головного мозга, мг | 1127 \pm 13,5 | 1094 \pm 11,8 |
| Масса полушария, мг | 433 \pm 8,97* | 396 \pm 14,97 |
| ПТД, толщина, мкм, кора | 1538 \pm 25,3 | 1565 \pm 9,6 |
| слой I | 170 \pm 4,1* | 144 \pm 5,3 |
| площадь сечения, мкм ² | | |
| ядрышки нейронов слоя II | 5,5 \pm 0,12 | 5,7 \pm 0,19 |
| ядра нейронов слоя II | 55,7 \pm 1,36* | 65,1 \pm 4,27 |
| цитоплазма нейронов слоя II | 47,4 \pm 1,56 | 52,2 \pm 2,46 |
| ядрышки нейронов слоя V | 6,6 \pm 0,18* | 7,7 \pm 0,22 |
| ядра нейронов слоя V | 87,3 \pm 3,31* | 98,5,28 |
| цитоплазма нейронов слоя V | 80,2 \pm 2,60 | 88 \pm 5,56 |
| СТД, толщина мкм, кора | 1249 \pm 23,8* | 1167 \pm 24,8 |
| слой I | 144 \pm 3,7 | 131 \pm 7,6 |
| площадь сечения, мкм ² | | |
| ядрышки нейронов слоя II | 5,3 \pm 0,14 | 5,7 \pm 0,16 |
| ядра нейронов слоя II | 55,9 \pm 1,4 | 54,2 \pm 2,4 |
| цитоплазма нейронов слоя II | 45,3 \pm 0,9 | 46 \pm 1,7 |
| ядрышки нейронов слоя V | 7,3 \pm 0,15 | 7,5 \pm 0,23 |
| ядра нейронов слоя V | 89,3 \pm 2,9 | 96 \pm 3,9 |
| цитоплазма нейронов слоя V | 82,5 \pm 2,4 | 82,3 \pm 4,11 |
| ядрышки нейронов гиппокампа | 5,4 \pm 0,18 | 5,7 \pm 0,13 |
| ядра нейронов гиппокампа | 77,3 \pm 1,44* | 65,0 \pm 3,61 |
| цитоплазма нейронов гиппокампа | 56,8 \pm 1,93* | 51,1 \pm 1,48 |

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

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что введение ДГЭА новорожденным крысам не вызвало выраженных отклонений исследованных показателей. При этом эффект введения ДГЭА новорожденным крысам отличается от эффекта, оказанного при введении ДГЭА беременным крысам [8] на развитие головного мозга их потомства. Различия эффектов, по-видимому, объясняются рядом причин. Во-первых, это разная степень зрелости мозга у плодов (при введении гормона беременным крысам) и у новорожденных крысят. Меньшая степень зрелости мозга у плодов, вероятно, способствует тому, что при введении ДГЭА беременным крысам в нейронах различных отделов коры у их потомства размерные характеристики меняются однонаправленно [7]. В отличие от этого, данные показатели нейронов ПТД, СТД и гиппокампа у крыс, подвергнутых инъекции ДГЭА в неонатальном периоде онтогенеза, меняются по-разному. Во-вторых, во время беременности, при функционировании системы «мать-плацента-плод» ДГЭА используется в качестве предшественника в синтезе эстрогенного гормона – эстриола, который может оказывать прямое влияние на развивающийся мозг [1, 7, 13].

В целом полученные в настоящей работе результаты, а также данные, опубликованные нами ранее [7], позволяют считать, что ДГЭА, продуцируемый клетками ряда эндокринных структур, в том числе клетками мозга, может оказывать влияние на морфологию развивающегося мозга, которое заслуживает дальнейшего изучения.

Литература

1. Ерофеев Б.Б., Иосефзон С.А., Ерофеева Л.Г. Содержание гормонов фетоплацентарного комплекса при угрожающих преждевременных родах // Дальневосточный медицинский журнал. – 2009. – № 4. – С. 69-72.
2. Задворная О.В., Лебедько О.А., Рыжавский Б.Я. Влияние введения сустанона-250 самцам и самкам крыс в препубертатном периоде онтогенеза на показатели их развития и свободнорадикальное окисление в коре головного мозга // Дальневосточный медицинский журнал. – 2010. – № 2. – С. 108-111.
3. Задворная О.В., Лебедько О.А., Учакина Р.В., Рыжавский Б.Я. Влияние гонадэктомии на морфометрические, биохимические и гистохимические показатели развития коры головного мозга крыс // Дальневосточный медицинский журнал. – 2010. – № 4. – С. 111-114.
4. Лойда З., Госсрау Р., Шиблерт Т. Гистохимия ферментов. – М.: МИР, 1982. – 270 с.
5. Овсюкова М.В., Обут Т.А., Сарыч С.К. Влияние дегидроэпиандростерон-сульфата на тревожное и депрессивное поведение: участие μ -опиоидных рецепторов // Российский физиологический журнал имени И.М. Сеченова. – 2011. – Т. 97, № 9. – С. 903-913.
6. Рыжавский Б.Я., Васильева Е.В., Еременко И.Р., и др. Влияние введения производных тестостерона беременным крысам на головной мозг их потомства (отдаленные последствия) // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2004. – Т. 137, № 6. – С. 710-713.
7. Рыжавский Б.Я., Демидова О.В. Влияние половых гормонов на развитие головного мозга. Морфологические аспекты. – Хабаровск: Изд-во ДВГМУ, 2013.
8. Рыжавский Б.Я., Литвинцева Е.М. Гистохимическое выявление 3β -гидроксистероиддегидрогеназы в нейронах головного мозга // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2011. – Т. 152, № 9. – С. 347-349.
9. Светухина В.М. Цитоархитектоника новой коры мозга в отряде грызунов (белая крыса) // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1962. – Т. 42, № 2. – С. 31-45.
10. Семенова О.Г., Ракицкая В.В., Вершинина Е.А. и соавт. Избирательное влияние дегидроэпиандростерон-сульфата на тревожность, вызванную кортиколиберином // Российский физиологический журнал имени И.М. Сеченова. – 2010. – Т. 96, № 10. – С. 988-907.
11. Суплотова Л.А., Храмова Е.Б., Макарова О.Б., и др. Скрининг беременных на наличие гиперандрогении // Акушерство и гинекология. – 2006. – № 5. – С. 61-63.
12. Титов В.Н. Эндогенная система противостояния окислительному стрессу. Роль дегидроэпиандростерона и олеиновой жирной кислоты // Успехи современной биологии. – 2009. – Т. 129, № 1. – С. 10-26.
13. Шмогель К.В., Черешнев В.А. Стероидные гормоны: физиологическая роль и диагностическое значение в период беременности // Успехи физиологических наук. – 2004. – Т. 35, № 3. – С. 61-71.
14. Peper J.S., Brouwer R.M., Schnack H.G., et al. Sex steroids and brain structure in pubertal boys and girls // Psychoneuroendocrinology. – 2009. – Vol. 3, № 34. – P. 332-342.
15. Perrin J.S. Growth of white matter in the adolescent brain: role of testosterone and androgen receptor // Neurosci. – 2008. – Vol. 28, № 38. – P. 9519-9524.
16. Tunes L., Feijoo M., Collado J.A., et al. Effect of testosterone on oxidative stress and cell damage induced by 3-nitropropionic acid in striatum of ovariectomized rats // Life Sci. – 2007. – Vol. 80, № 13. – P. 1221-1227.

Literature

1. Erofejev B.B., Yosephzon S.A., Erofejeva L.G. Fetoplacental complex hormonal levels in threatened preterm labor // Far Eastern Medical Journal. – 2009. – № 4. – P. 69-72.
2. Zadvornaya O.V., Lebedko O.A., Ryzhavsii B.Ya. Effect of sustanon-250 injection to male and female rats in prepubertal period of ontogenesis on their developmental milestones and oxidative stress in brain cortex // Far Eastern Medical Journal. – 2010. – № 2. – P. 108-111.
3. Zadvornaya O.V., Lebedko O.A., Uchakina R.V., Ryzhavsii B.Ya. Effect of gonadectomy on morphometric, biochemical and histochemical measures of brain cortex growth in rats // Far Eastern Medical Journal. – 2010. – № 4. – P. 111-114.
4. Loyd Z., Gossrau R., Shiblert T. Histochemistry of enzymes. – M.: MIR, 1982. – P. 270.
5. Ovsyukova M.V., Obut T.A., Sarych S.K. Effect of dehydroepiandrosteron-sulfate on anxious and depressive behavior: the role of μ -opiate receptors // Russian physiology journal named after I.M. Sechenov. – 2011. – Vol. 97, № 9. – P. 903-913.
6. Ryzhavsii B.Ya., Vasilieva E.V., Eremenko I.R., Sapozhnikov U.A., Sokolova T.V., Rudman U.U. Effect of the injection of testosterone derivatives to pregnant rats on the brain of their off-springs (long-term consequences) // Bulletin of experimental biology and medicine. – 2004. – Vol. 137, № 6. – P. 710-713.
7. Ryzhavsii B.Ya., Demidova O.V. Effect of sex hormones on brain development. Morphological aspects. – Khabarovsk, 2013.
8. Ryzhavsii B.Ya., Litvintseva E.M. Histochemical detection of 3β -hydroxysteroiddehydrogenase in brain neurons // Bulletin of experimental biology and medicine. – 2011. – Vol. 152, № 9. – P. 347-349.
9. Svetukhina V.M. Cytoarchitectonics of new brain cortex in rodents (white rat) // Archives of anatomy, histology and embryology. – 1962. – Vol. 42, № 2. – P. 31-45.
10. Semenova O.G., Rakitskaya V.V., Vershinina E.A., et al. Selective effect of dehydroepiandrosteron-sulfate on corticoliberin-induced anxiety // Russian physiological journal named after I.M. Sechenov. – 2010. – Vol. 96, № 10. – P. 988-907.
11. Suplotova L.A., Khranova E.B., Makarova O.B., Starkova O.B., Kakturskaya I.I. Screening of pregnant women for hyperandrogenism // Obstetrics and gynecology. – 2006. – № 5. – P. 61-63.

12. Titov V.N. Endogenous system of defense against oxidative stress. Role of dehydroepiandrosterone and oleic fatty acid // *Advances of modern biology*. – 2009. – Vol. 129, № 1. – P. 10-26.

13. Shmogel K.V., Chereshnev V.A. Steroid hormones: physiological role and diagnostic value in pregnancy // *Advances of physical sciences*. – 2004. – Vol. 35, № 3. – P. 61-71.

14. Peper J.S., Brouwer R.M., Schnack H.G., et al. Sex steroids and brain structure in pubertal boys and girls //

Psychoneuroendocrinology. – 2009. – Vol. 3, № 34. – P. 332-342.

15. Perrin J.S. Growth of white matter in the adolescent brain: role of testosterone and androgen receptor // *Neurosci*. – 2008. – Vol. 28, № 38. – P. 9519-9524.

16. Tunes L., Feijoo M., Collado J.A., et al. Effect of testosterone on oxidative stress and cell damage induced by 3-nitropropionic acid in striatum of ovariectomized rats // *Life Sci*. – 2007. – Vol. 80, № 13. – P. 1221-1227.

Координаты для связи с авторами: Ткач Ольга Владимировна – аспирант кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ДВГМУ; Рыжавский Борис Яковлевич – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии ДВГМУ, тел. 8-(4212)-32-63-93, e-mail: nauka@fesmu.ru.



УДК 618.33/36-092/18

С. С. Целуйко¹, Е. Н. Гордиенко¹, С. И. Колесников²

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПАРЕНХИМЫ ЛЕГКОГО КРЫС НА ЭТАПЕ ПОЗДНЕГО ЭМБРИОГЕНЕЗА

¹Амурская государственная медицинская академия,

675000, ул. Горького, 97, тел. 8-(4162)-77-06-07, г. Благовещенск;

²ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, 664003, ул. Тимирязева, 16, тел. 8-(3952)-20-73-67, г. Иркутск

Резюме

Дана сравнительная морфологическая и морфометрическая оценка легких эмбрионов крыс на сроке 14 суток внутриутробного развития от интактных крыс (n=30) с датированной беременностью. Животные содержались в оптимальных условиях вивария при качественном кормлении. Забой проводили декапитацией беременных самок с последующим вскрытием концептов и извлечением эмбрионов. Морфометрическими критериями (показатели плоскостных параметров, форм-факторов) на полутонких срезах правого легкого объективно идентифицированы 2 основных морфотипа легкого эмбриона у интактных животных: I – «компактный» и II – «воздушный». Дискордантность плоскостных показателей паренхимы легких крыс на критическом эмбриофетальном периоде развития свидетельствует о существовании индивидуальных вариантов эмбриогенеза органа, как проявление особенностей реализации гистогенетических потенциалов паренхимы легкого эмбриона интактных крыс на переходном – эмбриофетальном, одном из важнейших критических периодов онтогенеза.

Ключевые слова: легкие эмбриона крыс, морфометрия, оценка развития эмбриональных легких.

S. S. Tseluyko¹, E. N. Gordienko¹, S. I. Kolesnikov²

COMPARATIVE MORPHOMETRIC ANALYSIS OF RATS LUNG PARENCHYMA IN THE LATE STAGE OF EMBRYOGENESIS

¹Amur State Medical Academy, Blagoveshchensk;

²Federal state institution «Research centre for family health and human reproduction» of the Siberian branch of the Russian Academy of medical Sciences, Irkutsk

Summary

Comparative morphological and morphometric assessment of lung embryos of rats within 14 days of prenatal development from intact rats (n=30) with a dated pregnancy was conducted. Animals were kept in optimal conditions of the vivarium with being well fed. The slaughter was carried out by decapitation of pregnant females with subsequent autopsy of the concepts and removing embryos. Morphometric criteria (indicators plane of parameters, form factors) on the half-thin slices of the right lung objectively identified 2 major morphotypes of the embryo in the intact animals: I – «compact» and the II – «air». Discordantly plane indicators of lung parenchyma in rats during critical embryonic fetal development period indicates the existence of individual variants of embryogenesis manifesting the peculiarities of implementation of