

О.В. Ткач, Б.Я. Рыжавский

ВЛИЯНИЕ АКСЕЛЕРАЦИИ НА ПОКАЗАТЕЛИ РАЗВИТИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС*Дальневосточный государственный медицинский университет, 680000, ул. Муравьева-Амурского, 35, тел. 8-(4212)-32-63-93, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru, г. Хабаровск***Резюме**

Изучался головной мозг 14-дневных крыс из 3 искусственно уменьшенных пометов (число крысят в каждом помете – 4). Контролем служили 14-дневные крысята из 5 интактных пометов (число крысят в помете – более 10). Установлено, что животные из малых пометов отличались значительно увеличенной массой тела, достоверно большими, чем в контроле, массой мозга и полушария. При этом степень отклонений от контроля не превышала имевшуюся в ранее поставленных опытах, при числе крысят в помете равном 5-6 и меньшей степени увеличения массы тела. Делается заключение, что ускоренное увеличение массы тела только до определенного предела влияет на темпы роста массы мозга. Экспериментальные животные имели ряд морфологических признаков ускорения созревания коры мозга: увеличение ее толщины, а также слоя I в переднетеменной (ПТД) и собственно теменной доле (СТД), увеличенные размеры цитоплазмы нейронов слоя II СТД и ПТД, слоя V ПТД, гиппокампа. Отмечались также признаки ускорения миелинизации – повышенная концентрация липидов в слое I неокортекса и белом веществе головного мозга.

Ключевые слова: головной мозг, развитие, акселерация, морфология.

O.V. Tkach, B.Ya. Ryzhavskii

ACCELERATION EFFECT ON RATS BRAIN DEVELOPMENT*Far Eastern State Medical University, Khabarovsk***Summary**

The Authors studied the brain of 14-days old rats from artificially reduced breeds (4 rats in each breed). The control group comprised 14-days old rats from 5 intact breeds (the amount of rats in a breed is over 10). Animals from small breeds have a significantly higher body mass, as well as a bigger brain and hemisphere mass. At the same time, the deviation value from the control group did not exceed the one observed in the previous experiments when the number of rats in a breed equaled 5-6 and less out of body mass increase. It suggests that accelerated body mass has a temporary limited effect on the brain mass growth. Experimental animals had some morphological signs of cerebral cortex maturation: its thickness increase, as well as thickness of layer I in anterior parietal lobe (APL) and parietal lobe proper (PLP), increased size of neurons' cytoplasm in layer II of APL and PLP, layer V of APL, hippocampus. The authors also observed the signs of myelinization acceleration – increased concentration of lipids in layer I of neocortex and brain white substance.

Key words: brain, development, acceleration, morphology.

Увеличение массы головного мозга (ГМ) особенно интенсивно происходит после рождения. Так, в течение первого года жизни у ребенка она возрастает почти в 3 раза – с 350 г до почти 1 кг [1], то есть значительно больше, чем как за пренатальный период онтогенеза, так и в течение последующей жизни [1, 6]. Подобные закономерности описаны и в отношении таких лабораторных животных, как крысы. У новорожденных животных этого вида масса мозга составляет около 230 мг, а к середине молочного периода, т. е. к 14-дневному возрасту – достигает примерно 1 г, т. е. увеличивается вчетверо. При этом у взрослых животных она равняется 1,5-1,7 г [6]. Таким образом, данный период онтогенеза является уникальным по вкладу в окончательные размеры и массу органа.

Данные литературы свидетельствуют о том, что средовые факторы могут оказывать существенное влияние на темпы роста мозга как в пре-, так и в постнатальном периодах онтогенеза [6, 10, 11]. При изучении роста ГМ было, в частности, установлено, что масса мозга имеет достоверную прямую корреляционную связь с массой тела [5-8]. Этот факт привлекает внима-

ние в связи с тем, что темпы роста последней имеют у детей большую вариабельность. Кроме того, в разных странах они меняются в разные периоды времени, проявляясь такими процессами, как акселерация и ретардация, одной из причин которых считаются изменения условий жизни [2, 4, 9].

Ранее в нашей лаборатории было показано, что путем экспериментального уменьшения численности пометов у крыс можно получить 14-, 30-, 40-дневных животных, имеющих важные признаки акселерации: существенное увеличение массы тела, гонад, показателей развития последних. Подопытные животные отличались также увеличенной массой ГМ. Так у 14-дневных подопытных крыс из пометов, состоявших из 5 и 6 крысят, она равнялась 1 189±20 мг, тогда как в контроле – 984±43 мг. При этом ГМ подопытных крысят отличался от ГМ контрольных животных по ряду морфометрических, гистохимических и физиологических показателей [4, 7, 8].

Приведенные данные обусловили постановку вопроса о том, будет ли еще более интенсивно увеличиваться темп роста ГМ при более значительном

уменьшении численности пометов и большей степени увеличения массы тела животных. Ответу на данный вопрос, дальнейшему анализу характера взаимоотношений между массой тела (одного из признаков, отражающих наличие акселерации) и массой ГМ, морфометрическим и гистохимическим особенностям его коры у крыс в период онтогенеза, характеризующийся максимальными темпами роста органа, посвящена настоящая работа.

Материалы и методы

Исследовано 14-дневное потомство белых интактных крыс следующих групп: 1) из естественно больших пометов (число крысят в помете 10-13); 2) из искусственно уменьшенных пометов, в которых через сутки после родов оставляли по 4 крысенка. Животные из «больших» и уменьшенных пометов содержались одновременно в условиях одного вивария, корм и воду получали *ad libitum*. Забой крыс контрольной и подопытной групп проводили декапитацией в 14-дневном возрасте. Взвешиванием на электронных весах определяли массу тела, ГМ, полушария. Для суждения о степени миелинизации волокон из СТД правого полушария изготавливали криостатные срезы толщиной 30 мкм, которые монтировали на предметные стекла и окрашивали суданом черным В (для выявления липидов). Концентрацию липидов в слое I и белом веществе головного мозга измеряли при помощи компьютерной цитоспектрофотоморфометрии на аппарате «МЕКОС» при длине волны 600 нм. Левое полушарие фиксировали в жидкости Карнуа. Из переднетеменной (ПТД) и собственно теменной доли (СТД), после заливки в парафин, готовили срезы толщиной 7 мкм, которые окрашивали на нуклеиновые кислоты галлоцианином по Эйнарсону. На этих же срезах проводили морфометрическое исследование препаратов, включавшее в себя определение толщины коры головного мозга и слоя I в ПТД и СТД; измерение площади сечения ядрышек, ядер и цитоплазмы нейронов слоев II и V ПТД, СТД и гиппокампа. На этих же препаратах с помощью морфометрического аппарата «Мекос» определяли концентрацию РНК в цитоплазме данных клеток. О численной плотности нейронов в коре ПТД и СТД (слой II и V) судили на основании подсчета их числа в 5 стандартных полях зрения каждого слоя. Статистический анализ количественных данных проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение

Полученные данные свидетельствуют, что животные из уменьшенных пометов значительно превосходили контрольных по массе тела (на 83,3 % – 33±1,1 г и 18,1±0,36 г соответственно). Увеличенные темпы ее роста могут быть объяснены большей доступностью питания (молока матери), большим вниманием со стороны матери, меньшей конкуренцией за пищу и меньшей стрессогенностью среды в уменьшенных пометах. Абсолютная масса ГМ у подопытных крысят была больше, чем у контрольных на 12 %, масса полушария – на 8,4 %. Таким образом, увеличение темпов роста ГМ и полушария было значительно меньшим, чем увеличение темпов роста мозга. В результате этого относитель-

ная масса ГМ у животных экспериментальной группы была намного меньшей, чем у контрольных (таблица). Данное отличие, по-видимому, можно расценивать как фактор, приводящий к увеличению «нагрузки» на ГМ по регуляции функционирования органов.

Таблица

Влияние уменьшения численности пометов на морфометрические и гистохимические показатели

Показатели	Группа	
	«контроль»	«акселерация»
Масса тела, г	18,1±0,35	33±1,11*
Масса головного мозга абсолютная, мг	1 048±16,32	1 173,833±16,18*
Масса головного мозга относительная, мг/г	58,3±0,76	35,9±0,94*
Масса полушария, мг	397,4±6,39	431,1±14,52*
СТД, толщина, мкм, кора	1 185±25,8	1 248±18,50*
слой I	142±4,7	160±2,3*
число нейронов в поле зрения, слой II	27,4±0,58	25,9±0,57
слой V	11,5±0,38	10,3±0,31*
Площадь сечения, мкм ²		
ядрышки нейронов слоя II	4,5±0,15	4,89±0,16
ядра нейронов слоя II	53,5±1,79	58,01±2,80
цитоплазма нейронов слоя II	42,7±0,942	46,63±0,982*
ядрышки нейронов слоя V	6,6±0,164	6,96±0,23
ядра нейронов слоя V	99,9±4,75	104±6,34
цитоплазма нейронов слоя V	81,1±3,14	85,9±2,79
ядрышки нейронов гиппокампа	4,9±0,15	5,2±0,14
ядра нейронов гиппокампа	77,9±3,92	82,2±3,51
цитоплазма нейронов гиппокампа	49,9±1,74	57,9±1,9*
ПТД, толщина, мкм, кора	1 550±13,09	1 615±7,7*
слой I	153±4,30	166±4,3*
число нейронов в поле зрения, слой II	24,4±0,79	22,8±0,62
слой V	10,9±0,42	10,1±0,29
Площадь сечения, мкм ²		
ядрышки нейронов слоя II	4,79±0,13	4,96±0,25
ядра нейронов слоя II	58,7±1,73	62,0±2,76
цитоплазма нейронов слоя II	45,64±1,66	51,0±1,55*
ядрышки нейронов слоя V	6,71±0,163	7,26±0,21*
ядра нейронов слоя V	98,22±4,39	107,0±5,14
цитоплазма нейронов слоя V	85,38±4,94	94,7±2,59*
Концентрация липидов, у. е.		
слой I	0,327±0,014	0,395±0,028*
белое вещество	0,276 ±0,015	0,378±0,015*
Концентрация РНК в цитоплазме нейронов, у. е.		
слой II СТД	0,402±0,014	0,413±0,021
слой V СТД	0,416±0,023	0,435±0,025
гиппокампа	0,386±0,013	0,422±0,026
слой II ПТД	0,394±0,014	0,401±0,012
слой V ПТД	0,411±0,025	0,413±0,016

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

Особый интерес представляет сопоставление массы ГМ исследованных крыс из уменьшенных пометов, состоявших из 4 крысят, с массой ГМ у крыс из пометов с 5 и 6 крысятами, исследованных ранее. Масса

тела этих животных составляла $25 \pm 0,7$ г, абсолютная масса ГМ – $1\ 180 \pm 13$ мг, относительная – 44 ± 2 мг/г, масса полушария – 450 ± 10 мг [6]. Таким образом, при меньшей численности пометов в настоящем исследовании масса тела крысят была значительно большей (таблица), чем у экспериментальных животных, изученных ранее, абсолютная масса ГМ и полушария у них были очень близкими по значению и не имели статистических различий. Эти сопоставления позволяют предполагать, что ускоренное увеличение массы тела у животных, возникающее при уменьшении численности пометов в период максимальной скорости роста мозга, только до определенного предела сопровождается увеличением массы этого органа и его полушарий. После превышения этого предела ускорение роста массы тела уже не сочетается с ускорением роста массы ГМ. В связи с этим, значительное ускорение роста массы тела обуславливает при этом снижение относительной массы ГМ. Причины прекращения «следования» массы мозга за массой тела не выяснены. Можно предположить, что оно может определяться «исчерпанием» механизмов, способствующих росту органа, или/и быть следствием выработки ингибиторов роста ГМ внутри органа при достижении им определенных размеров или за его пределами.

Изучение гистологических препаратов показало, что ГМ подопытных крыс имеет ряд признаков ускоренного развития неокортекса. К ним относятся большая толщина коры СТД ($p > 0,05$), ПТД ($p < 0,05$), слоя I СТД ($p < 0,05$) и слоя I ПТД ($p < 0,05$), а также меньшая численная плотность нейронов в слое II и V СТД ($p < 0,05$). Средние размеры цитоплазмы были достоверно увеличены у нейронов слоя II СТД, слоя II и V ПТД, гиппокампа. Поскольку концентрация РНК

в цитоплазме данных клеток у животных сравнимых групп была близкой (таблица), можно считать, что суммарное количество РНК в цитоплазме перикарионов у животных из экспериментально уменьшенных пометов было большим, чем у контрольных. Эти межгрупповые морфометрические и гистохимические отличия корковых нейронов сочетались с гистохимическими признаками ускоренной миелинизации слоя I неокортекса, а также белого вещества, расположенного под корой, что проявлялось большей интенсивностью их суданофилии: в слое I концентрация суданофильных липидов у животных подопытной группы была больше, чем у контрольных на 20,8 %, в белом веществе полушария – почти на 37 % (таблица). Таким образом, направленность гистохимических изменений мозга у подопытных животных, как и у животных из уменьшенных пометов численностью 5 и 6 крысят, описанная ранее [3, 5, 7], свидетельствует о ее ускоренном созревании.

Заключение

Совокупность полученных данных подтвердила полученные ранее результаты, свидетельствующие о том, что уменьшение численности пометов приводит к акселерации животных, значительному увеличению массы их тела, а также ГМ, полушарий, ускоренному развитию коры ГМ. В то же время, было установлено, что стимулирующее влияние ускоренного роста массы тела на массу и развитие ГМ прекращается или резко снижается при достижении массы тела определенной величины. Иначе говоря, увеличение массы у растущих животных ГМ путем ускорения роста массы тела имеет ограничения, проявляющиеся реализацией принципа эквивалентности.

Литература

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Година Е.З. Секулярный тренд: история и перспективы // Физиология человека. – 2009. – Т. 35, № 6. – С. 128-135.
3. Еременко И.Р., Васильева Е.В., Рыжавский Б.Я., Литвинцева Е.М. Содержание липидов в полушариях мозга и мозжечка у крыс в молочном и препубертатном периоде в норме и при экспериментальном увеличении массы мозга // Дальневосточный медицинский журнал. – 2010. – № 4. – С. 109-111.
4. Красильников В.А., Будук-оол Л.К., Айзман Р.И. Морфофункциональное развитие школьников тувинской и русской национальностей // Физиология человека. – 2008. – Т. 34, № 1. – С. 74-81.
5. Литвинцева Е.М. Экспериментально-морфологический анализ влияния уменьшения численности пометов и воспитания в искусственно сформированных пометах на показатели развития головного мозга, надпочечников и гонад у крыс: дис. ... канд. биол. наук. – Владивосток, 2010.
6. Рыжавский Б.Я. Развитие головного мозга: отдаленные последствия влияния некомфортных условий. – Хабаровск: 2002. – 162 с.
7. Рыжавский Б.Я., Литвинцева Е.М. Морфометрические и гистохимические особенности неокортекса и гиппокампа крыс с экспериментально увеличенной и уменьшенной массой тела // Дальневосточный медицинский журнал. – 2012. – № 3. – С. 94-97.
8. Рыжавский Б.Я., Литвинцева Е.М., Учакина Р.В. Влияние численности пометов у крыс на показатели развития мозга, гонад и надпочечников // Дальневосточный медицинский журнал. – 2009. – № 1. – С. 85-87.
9. Сауткин М.Ф., Стунева Г.И. Материалы многолетних исследований физического развития школьников // Здоровоохранение Российской Федерации. – 2005. – № 1. – С. 55-57.
10. Guesty P. The role of nutrition in brain development // Prev. Med. – 1998. – Vol. 27, № 2. – P. 269-270.
11. Kesler S.R., Reiss A.L., Vohr B., et al. Brain volume reductions within multiple cognitive systems in male preterm children at age twelve // J. Pediatr. – 2008. – Vol. 152, № 4. – P. 513-520.

Literature

1. Avtandilov G.G. Medical morphometry. – M.: Medicine, 1990. – 384 p.
2. Godina E.Z. Secular trend: history and prospects // Human Physiology. – 2009. – Vol. 35, № 6. – P. 128-135.
3. Eremenko I.R., Vasilyeva E.V., Ryzhavskii B.Ya., Litvintseva E.M. Concentration of lipids in brain hemispheres and cerebellum in rats in milk and pre-pubertal periods in normal state and after experimental increase in brain weight // Far Eastern Medical Journal. – 2010. – № 4. – P. 109-111.
4. Krasilnikov V.A., Buduk-ool L.K., Ayzman R.I. Morphofunctional development of Tuvian and Russian school students // Human Physiology. – 2008. – Vol. 34, № 1. – P. 74-81.
5. Litvintseva E.M. Experimental and morphological analysis of the effect of decreased size of litter and the upbringing of in-vitro formed litters on developmental milestones of the brain, adrenal glands and sex glands in rats // Theses of a cand. of biol. sciences. – Vladivostok, 2010.
6. Ryzhavskii B.Ya. Brain development: long-term effects of exposure to uncomfortable conditions. – Khabarovsk: 2002. – 162 p.
7. Ryzhavskii B.Ya., Litvintseva E.M. Morphometric and histochemical special features of neocortex and hippocampus in rats with experimentally increased or decreased body weight // Far Eastern Medical Journal. – 2012. – № 3. – P. 94-97.
8. Ryzhavskii B.Ya., Litvintseva E.M., Uchakina R.V. Effect of litter size in rats on the indices of brain, sex gland and adrenal gland development // Far Eastern Medical Journal. – 2009. – № 1. – P. 85-87.
9. Sautkin M.F., Stutneva G.I. Materials of perennial studies of physical development of school children // Health Care in the Russian Federation. – 2005. № 1. – P. 55-57.
10. Guesty P. The role of nutrition in brain development // Prev. Med. – 1998. – Vol. 27, № 2. – P. 269-270.
11. Kesler S.R., Reiss A.L., Vohr B., et al. Brain volume reductions within multiple cognitive systems in male preterm children at age twelve // J. Pediatr. – 2008. – Vol. 152, № 4. – P. 513-520.

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 611.81-027.12:612.015.1]:599.323.4-092.9

О.В. Ткач, Б.Я. Рыжавский

ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ В КЛЕТКАХ МОЗГА КРЫС ПРИ АКСЕЛЕРАЦИИ

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

Резюме

Изучался головной мозг 5-, 14-, 30-дневных белых крыс. Экспериментальная группа состояла из животных, выращенных в пометах, где акселерация вызывалась уменьшением числа крысят, через сутки после родов, до 4 (по 3 помета каждой возрастной группы). Контрольная группа включала в себя крысят из пометов численностью от 10 до 13 (по 2 помета из каждой возрастной группы). Определяли массу тела, головного мозга, правого полушария, а также активность НАДН- и НАДФН-дегидрогеназы (НАДН-д, НАДФН-д), 3 β -гидроксистероиддегидрогеназы (ГСДГ) в нейронах слоев II и V неокортекса, поля 1 гиппокампа. Активность ГСДГ исследовали также в эпендимоцитах боковых желудочков и ворсинок сосудистых сплетений. Установлено, что в 5-дневном возрасте у подопытных животных нейроны гиппокампа отличались большей активностью НАДН-д и НАДФН-д, активность ГСДГ была снижена в нейронах слоя II неокортекса. У 14- и 30-дневных крыс активность НАДН-д и НАДФН-д в исследованных нейронах не имела достоверных межгрупповых различий. Активность ГСДГ в 14- и 30-дневном возрасте у подопытных крыс в нейронах слоя II неокортекса была меньшей, чем в контроле, в 30-дневном возрасте снижение наблюдалось также в нейронах слоя V неокортекса и гиппокампа. В 14-дневном возрасте имелось снижение активности ГСДГ в эпендимоцитах.

Ключевые слова: мозг, акселерация, ферменты.