

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.

Summary

The authors studied the brain of 5-, 14-, 30-day old albino rats. The experimental group comprised the animals raised in the breeds where acceleration was caused by reducing the number of rats in a day after delivery up to 4 (3 breeds in each age group). The control group consisted of rats out of breeds including from 10 to 13 (two breeds of each age group). The authors determined body and brain mass, right hemisphere mass, activity NADN and NADFN-dehydrogenase (NADN-d, NAADFN-d), 3 β -hydroxysteroiddehydrogenase (HSDH) in neurons of layers II, V of neocortex and field I of hippocampus. HSDH activity was also examined in ependymocytes of lateral ventricles and cilia of vascular plexuses. The authors noticed that at the age of 5 days, experimental animals had hippocampus neurons with a higher activity of NADN and NADFN, HSDH was decreased in neurons layer II of neocortex. In 14- and 30-day old rats, NADN-d, NAADFN-d activity did not show any reliable differences between the groups. HSDH activity at the age of 14 and 30-day was lower in neocortex layer II in experimental animals compared to the control group. At the age of 30 days, decrease was also observed in neurons of layer V of neocortex and hippocampus. At the age of 14 days there was HSDH activity decrease in ependymocytes.

Key words: brain, acceleration enzymes.

В работах, ранее выполненных в нашей лаборатории, было показано, что изменения условий, в которых происходит развитие животных, отражается на темпах их соматического роста, развития половых желез, надпочечников [3, 4]. При этом, в частности, было установлено, что крысята из экспериментально уменьшенных пометов имели отличия перечисленных показателей от контроля, совокупность которых свидетельствовала об акселерации этих животных. Изучение головного мозга также показало, что орган имеет морфологические признаки опережающего развития [4]. Эти результаты получены при исследовании мозга животных из пометов, содержавших 5-7 крысят. Настоящая работа является продолжением данных исследований. В ней изучалась активность ряда ферментов в нейронах и эпендимоцитах мозга 5-, 14-, 30-дневных крыс из пометов меньшей, чем в предыдущих исследованиях, численности.

Материалы и методы

В работе изучался головной мозг 5-, 14-, 30-дневных белых крыс. Экспериментальная группа состояла из животных, выращенных в малочисленных пометах. Уменьшение их численности осуществлялось через сутки после родов путем оставления в помете по 4 крысенка. В каждой экспериментальной возрастной группе исследовано по 3 помета. Контрольная группа включала в себя крысят из пометов численностью от 10 до 13. В каждой возрастной группе контроля было изучено по 2 помета. Экспериментальные и контрольные животные содержались одновременно в условиях одного вивария, корм и воду получали *ad libitum*. Забой крыс осуществлялся путем декапитации. Тотчас после забоя определяли массу тела, головного мозга, правого полушария. Из собственно теменной доли (СТД) правого полушария готовили криостатные срезы толщиной 30 мкм, на которых ставили гистохимическую реакцию на НАДН- и НАДФН-дегидрогеназы (НАДН-д, НАДФН-д) [1], а также для определения интенсивности синтеза нейростероидов проводили реакцию на 3 β -гидроксистероиддегидрогеназу (ГСДГ), как описано в предыдущих исследованиях [2]. Активность НАДН-д, НАДФН-д определяли в цитоплазме нейронов слоя II и V СТД неокортекса и гиппокампа, активность ГСДГ – в этих же клетках, а также в эпендимоцитах, выстилающих полость боковых желудочков и

покрывающих ворсинки их сосудистого сплетения, при помощи компьютерной цитоспектрофотометрии на аппарате «МЕКОС» по оптической плотности продуктов реакции в цитоплазме клеток, при длине волны 550 нм. Обработку результатов проводили при помощи программы Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение

Масса тела крыс из уменьшенных пометов в 5-дневном возрасте превосходила таковую у контрольных на 19,1 %, в 14-дневном – на 82,3 %, в 30-дневном – на 29,9 %, абсолютная масса мозга – на 13,5 %, 12 % и 10,8 % соответственно. Масса полушария у подопытных крыс также превосходила ее у контрольных животных (таблица). Параллельно с этим, во всех возрастных группах, в связи с меньшей степенью увеличения роста массы мозга, чем массы тела, относительная масса органа у подопытных крыс была значительно меньшей, чем в контроле (таблица). Сопоставление приведенных данных показывает, что максимальные различия массы мозга подопытных и контрольных животных наблюдались в 14-дневном возрасте. То есть темпы роста мозга у сравниваемых групп крысят существенно различаются в первые 2 недели постнатального периода. В интервале от 14- до 30-дневного возраста увеличение массы мозга у подопытных и контрольных животных было практически равным, несмотря на то, что темпы роста массы тела у животных подопытной группы продолжали превышать их в контрольной (таблица).

Гистохимический анализ активности ферментов показал, что в 5-дневном возрасте, когда темпы роста мозга у подопытных животных значительно превышали их у контрольных, нейроны гиппокампа отличались большей активностью НАДН-д и НАДФН-д. Эти отличия можно расценивать соответственно как свидетельство интенсификации процессов внутримитохондриального и немитохондриального биологического окисления. При этом последние тесно связаны с такими важными для роста и созревания мозга процессами, как синтез нуклеиновых кислот и других биомолекул [5]. В то же время, активность ГСДГ, отражающая интенсивность синтеза нейростероидов, у подопытных 5-дневных крыс была снижена в нейронах слоя II неокортекса.

Влияние экспериментального уменьшения численности пометов на активность ферментов в клетках мозга крыс

Показатель	5-дневные		14-дневные		30-дневные	
	контроль (2 помета)	акселерация (3 помета)	контроль (2 помета)	акселерация (3 помета)	контроль (2 помета)	акселерация (3 помета)
Масса тела, г	8,9±0,56	10,6±0,66*	18,1±0,36	33,0±1,11*	61,5±2,21	79,9±3,03*
Масса ГМ абсолютная, мг	421±22,76	478±12,29*	1048±16,3	1174±16,18*	1371±23,6	1486±17,8*
Масса ГМ относительная, мг/г	48,1±0,911	46,2±1,96	58,3±0,756	35,9±0,936*	22,6±0,62	18,8±0,56*
Масса полушария, мг	151±9,4	180±6,6*	397±6,4	431±14,5*	514±11,8	550±10,5*
Активность ферментов, у. е.						
НАДН-д, слой II	0,446±0,016	0,460±0,031	0,368±0,018	0,380±0,024	0,392±0,020	0,348±0,017
НАДН-д, слой V	0,367±0,021	0,402±0,019	0,328±0,021	0,371±0,031	0,313±0,013	0,315±0,011
НАДН-д, гиппокамп	0,496±0,024	0,557±0,017*	0,375±0,019	0,390±0,022	0,465±0,020	0,468±0,028
НАДФН-д, слой II	0,412±0,017	0,507±0,02*	0,416±0,013	0,417±0,020	0,462±0,022	0,445±0,015
НАДФН-д, слой V	0,362±0,013	0,390±0,016	0,382±0,018	0,376±0,021	0,448±0,019	0,405±0,017
НАДФН-д, гиппокамп	0,450±0,012	0,502±0,015*	0,412±0,026	0,426±0,021	0,664±0,031	0,597±0,027
ГСДГ, слой II	0,293±0,011	0,260±0,012*	0,211±0,011	0,179±0,008*	0,251±0,007	0,229±0,01*
ГСДГ, слой V	0,248±0,01	0,250±0,01	0,197±0,012	0,167±0,011	0,229±0,007	0,209±0,007*
ГСДГ, гиппокамп	0,278±0,014	0,265±0,009	0,219±0,015	0,212±0,014	0,279±0,010	0,257±0,009*
ГСДГ, эпандима желудочка	0,342±0,018	0,336±0,030	0,415±0,026	0,265±0,031*	0,386±0,019	0,371±0,045
ГСДГ, эпандима ворсинок	0,539±0,037	0,503±0,036	0,563±0,042	0,382±0,044*	0,517±0,031	0,556±0,061

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

У 14- и 30-дневных крыс, когда различия темпов роста мозга у подопытных и контрольных крыс нивелировались, активность НАДН-д и НАДФН-д в исследованных нейронах не имела достоверных межгрупповых различий. Параллельно с этим, активность ГСДГ в нейронах слоя II СТД неокортекса, как и у 5-дневных животных, в 14- и 30-дневном возрасте у подопытных крыс была меньшей, чем в контроле. В 30-дневном возрасте это снижение наблюдалось также в нейронах слоя V СТД и гиппокампа. Кроме того, в 14-дневном возрасте снижение активности ГСДГ имелось в эпандимочитах выстилки боковых желудочков мозга и ворсинок сосудистых сплетений (таблица). Оценивая выявленные различия активности ГСДГ, следует учитывать, что синтезируемые с участием данного фермента нейростероиды обладают способностью стимулировать процессы роста и развития нейронов, формирования синаптических контактов, дендритообразование, рост аксонов [6, 7]. В связи с этим, можно предположить, что у подопытных крыс, в условиях опережающих темпов роста мозга, при достижении

его клетками определенных размеров, интенсивность синтеза нейростероидов ингибируется как в нейронах, так и в глиальных клетках органа.

В целом изложенные результаты свидетельствуют о том, что акселерация, признаки которой выявляются у животных, выращенных в искусственно уменьшенных пометах и включающая в себя ускорение темпов роста мозга [4], сопровождается изменениями активности ряда ферментов как в нейронах, так и в клетках глии. Эти изменения происходят как с общеметаболическими ферментами (НАДН-д, НАДФН-д), так и с ключевым ферментом синтеза стероидных гормонов – ГСДГ. При этом характер реакции нейронов разных слоев неокортекса и гиппокампа, связанных с выполнением различных функций, в условиях акселерации изменяется по-разному. Мы полагаем, что полученные данные могут быть полезными при анализе механизмов, регулирующих рост и развитие мозга, а также при выяснении функциональных особенностей мозга при акселерации.

Литература

1. Лойда З., Госспрау Р., Шиблер Т. Гистохимия ферментов. – М.: Мир, 1982. – 270 с.
2. Рыжавский Б.Я., Литвинцева Е.М. Гистохимическое выявление 3 β -гидроксистероиддегидрогеназы в нейронах головного мозга // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2011. – Т. 152, № 9. – С. 347-349.
3. Рыжавский Б.Я., Соколова Т.В., Учакина Р.В. и соавт. Влияние эмоционального стресса самок-крыс в период, предшествующий беременности, на показатели развития головного мозга их потомства // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2002. – Т. 134, № 8. – С. 146-150.
4. Рыжавский Б.Я., Литвинцева Е.М., Учакина Р.В. Влияние численности пометов крыс на показатели раз-
5. вития мозга, гонад и надпочечников // Дальневосточный медицинский журнал, 2009. – № 1. – С. 85-87.
5. Стайер Л. Биохимия. – Т. 2. – М.: Мир. – 1984. – 310 с.
6. Tsutsui K., Sakamoto H., Ukena K. // Biosynthesis and action of neurosteroids in the cerebellar Purkinje neuron // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. – 2009. – Vol. 85, № 2-5. – P. 311-321.
7. Karishma, K.K., Herbert J. Dehydroepiandrosterone (DHEA) stimulates neurogenesis in the hippocampus of the rat, promotes survival of newly formed neurons and prevents corticosterone-induced suppression // Eur. J. Neurosci. – 2002. – Vol. 16, № 3. – P. 445-453.

Literature

1. Loida Z., Gossrau R., Shibley T. Enzyme histochemistry. – Mir, 1982. – 270 p.
2. Ryzhavskii 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.
3. Ryzhavskii B.Ya., Sokolova T.V., Uchakina R.V., et al. Effect of emotional stress experienced by female rats in pre-gestational period on developmental milestones of the brain in their off-springs // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2002. – Vol. 134, № 8. – P. 146-150.
4. Ryzhavskii B.Ya., Litvintseva E.M., Uchakina R.V. Effect of litter size in rats on developmental milestones of the brain, sex glands and adrenal glands // Far Eastern Medical Journal. – 2009. – № 1. – P. 85-87.
5. Stryer L. Biochemistry. – Vol. 2. – M.: Mir, 1984. – 310 p.
6. Tsutsui K., Sakamoto H., Ukena K. Biosynthesis and action of neurosteroids in the cerebellar Purkinje neuron // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. – 2009. – Vol. 85, № 2-5. – P. 311-321.
7. Karishma, K.K., Herbert J. Dehydroepiandrosterone (DHEA) stimulates neurogenesis in the hippocampus of the rat, promotes survival of newly formed neurons and prevents corticosterone-induced suppression // Eur. J. Neurosci. – 2002. – Vol. 16, № 3. – P. 445-453.

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@mail.fesmu.ru.

