

Б. Я. Рыжавский, Е. М. Литвинцева, О. В. Ткач, Ю. Ю. Рудман

ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ И ГИСТОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ РАЗВИТИЯ КОРЫ 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

Представлены морфометрические и гистохимические данные о развитии неокортекса и гиппокампа intact-ных крыс, полученные при изучении мозга 1, 5, 14, 30 и 40-дневных животных. Установлено, что наиболее интенсивные изменения исследованных показателей происходят в возрастных интервалах с 1 до 5 и от 5 до 14-дневного возраста. Возрастные изменения в интервале 1–40 дней включают в себя многократное увеличение массы мозга и полушария, толщины коры, размеров ядер и цитоплазмы нейронов неокортекса и гиппокампа. Ядерно-цитоплазматические соотношения при этом не претерпевают существенных изменений. Численная плотность нейронов в переднетеменной доле снижается примерно в 10 раз. Толщина коры и ее слоя I в переднетеменной доле (ПТД) стабилизируется в возрасте 14 суток, в собственно теменной доле ее увеличение наблюдается и у 30- и 40-дневных животных. Концентрация РНК в цитоплазме нейронов значительно возрастает к 14-дневному возрасту, остается на этом уровне у 30-дневных животных и затем, у 40-дневных – уменьшается.

Ключевые слова: мозг, развитие, морфометрия, гистохимия.

B. Ya. Ryzhavskii, E. M. Litvintceva, O. V. Tkach, Yu.Yu. Rudman

AGE DYNAMICS OF MORPHOMETRIC AND HISTOCHEMICAL PARAMETERS OF CEREBRAL CORTEX DEVELOPMENT IN RATS

Far Eastern State Medical University, Khabarovsk

Summary

The article presents morphometric and histochemical data on the development of neocortex and hippocampus in intact rats. The findings were received by studying the brain of 1-, 5-, 14-, 30- and 40-day old animals. The most intensive changes in the studied parameters were observed in the age intervals from 1- to 5- and from 5- to 14-days. Age changes in the period from 1–40 days include a large increase of brain and hemispheres mass, cortex thickness, nuclei and cytoplasm neurons sizes of neocortex and hippocampus. Nuclei-cytoplasm ratio did not reveal any considerable changes. Neurons' number density in the anterior parietal lobe has a 10-time decrease. Cortex thickness and its layer I in anterior parietal lobe stabilizes at the age of 14 days, in the parietal proper lobe its enlargement is observed in 30 and 40-day old animals. RNA concentration in neuron cytoplasm dramatically increases by the age of 14 days and remains stable at the same level in 30-day old rats, later; in 40-day old animals, it diminishes.

Key words: brain, development, morphometry, histochemistry.

Изучение закономерностей развития головного мозга, его реагирования на действие различных агентов, лекарственных препаратов в работах медицинского профиля проводится в значительной мере на экспериментальных животных, преимущественно на грызунах – крысах и мышах. Один из вопросов, возникающих при интерпретации результатов таких исследований, это вопрос о «соотношении» возраста животных этих видов и человека, поскольку свойства органа, его реагирование на различные воздействия существенно различается в разные периоды онтогенеза. Ответ на данный вопрос необходим, в частности, для суждения о возможности адекватного «перенесения» результатов, полученных при исследовании животных, на человека. Анализ данных литературы и наши собственные исследования свидетельствуют о выраженной динамике многих морфометрических, гистохимических, биохимических показателей, закономерно меняющихся в процессе онтогенетического развития головного мозга [2, 5–8].

В то же время, можно отметить, что часто исследуемые показатели не являются равнозначными по тому, что они отражают: 1) уровень онтогенетического развития мозга (как на клеточном, так и преимущественно на надклеточных уровнях); 2) степень функциональной активности органа, проявляющуюся преимущественно на клеточном уровне.

При этом некоторые из исследуемых показателей зависят как от стадии онтогенетического развития мозга, так и от его функциональной активности в момент исследования. Тем не менее, морфометрические и гистохимические показатели могут быть разделены, по нашему мнению, на следующие группы:

Показатели уровня онтогенетического развития:

- масса мозга;
- масса полушария или какого-то иного отдела мозга;
- толщина коры в разных отделах полушария;
- численная плотность нейронов и глиоцитов;
- уровень миелинизации.

Показатели, меняющиеся как в процессе онтогенетического развития, так и при изменениях функциональной активности мозга:

- размеры ядрышка, ядра, цитоплазмы, соотношения этих показателей;
- концентрация функционально значимых веществ (РНК, белков, медиаторов и др.);
- активность общеметаболических и связанных с выполнением специфических функций ферментов.

В связи с вышеизложенным, целью настоящей работы было описание закономерностей изменений некоторых из перечисленных морфометрических и гистохимических характеристик коры мозга крыс в период наиболее интенсивно идущих процессов его постнатального органогенеза.

Материалы и методы

В работе суммированы данные, полученные в нашей лаборатории [2–4]. Представлены результаты исследования головного мозга 1, 5, 14, 30 и 40-дневных интактных беспородных белых крыс обоего пола, исследованных в разное время в качестве интактного контроля для животных, подвергнутым различным экспериментальным воздействиям. Число самцов и самок в каждой возрастной группе было близким и равным не менее 10 (каждого пола) во всех возрастных группах. Все животные являлись потомством интактных 3, 4–5-месячных самок и 3,5–5-месячных самцов, содержались в условиях одного вивария, корм и воду получали *ad libitum*. Забой животных осуществляли декапитацией. Определялись масса головного мозга, полушария. Гистологическая, морфометрическая, ги-

стохимическая и статистическая обработка материала проводилась по показателям, отраженным в таблице, как описано ранее [3, 4]. Поскольку направленность возрастных изменений не имела гендерных различий, а исследованные показатели развития мозга самцов и самок были близкими, при статистической обработке они были объединены.

Результаты и обсуждение

Темпы роста мозга в исследованном интервале очень высокие. Масса органа в 14-дневном возрасте (середина молочного периода) превышала таковую у однодневных крыс в 4,3 раза. Для сравнения можно указать, что у взрослого человека этот показатель больше, чем у новорожденного примерно вчетверо [1]. При этом ежесуточный прирост массы мозга у крыс в интервале от 1 до 5-дневного возраста составлял около 50 мг, в возрасте 5–14 суток – более 60 мг, между 14 и 30 сутками (конец молочного периода) – около 20 мг и между 30 и 40 сутками (препубертатный период) – около 10 мг (таблица). Таким образом, абсолютный ежедневный прирост массы мозга после 14-дневного возраста снижается. Расчеты показывают еще более значительное снижение темпов удельного роста массы мозга, т. е. прироста, рассчитанного на единицу массы органа. Закономерности роста массы полушария повторяют характерные для всего мозга (таблица). При этом масса полушария составляет во всех возрастных группах почти одинаковую часть органа: 32,4 % – у однодневных и 36–38 % – в остальных возрастных группах.

Таблица

Возрастная динамика морфометрических и гистохимических показателей коры головного мозга крыс

Показатели	1-дневные	5-дневные	14-дневные	30-дневные	40-дневные
Масса мозга, абс., мг	228±5,9	421±22,76	984±18	1 285±18	1 481±11
полушарие, мг	74±1,3	151±9,4	375±8	476±7	547±9
ПТД, толщина коры, мкм	516±14	985±14	1494±21	1553±17	1573±12
толщина слоя I, мкм	42±1,4	87±2,3	140±3	142±3	147±3
Число нейронов в поле зрения, слой II	–	49,2±2,9	23,2±0,4	19±0,3	20±0,68
слой V	70±2,0	22,8±1	8,4±0,1	7,2±0,1	6,8±0,16
Площадь сечения, мкм ²	–	2,8±0,13	1,63±0,03	1,6±0,04	2,47±0,1
ядрышки нейронов слой II	–	23,8±1	54,03±1,09	50,9±0,9	61,4±1,3
ядра нейронов слоя II	–	23,9±0,89	36,8±0,7	37,9±0,7	45,8±1,2
цитоплазма нейронов слой II	–	4,0±0,14	4,22±0,08	4,08±0,08	4,77±0,11
ядрышки нейронов слой V	–	47,5±3,28	115,1±2,4	96,2±3,9	105±2
ядра нейронов слоя V	–	37,7±2,8	100,6±2,7	91,7±2,4	88,7±2,4
цитоплазма нейронов слоя V	–	865±22	1183±24	1213±18	1367±15
СТД, толщина коры, мкм	–	73±2	105±3	123±2	142±4
толщина слоя I, мкм	–	54±3,6	25,3±0,4	20±0,4	20,8±0,53
число нейронов в поле зрения, слой II	–	23±1	9±0,2	7,2±0,1	7,1±0,23
слой V	–	2,5±0,06	1,53±0,03	1,6±0,04	2,56±0,17
площадь сечения, мкм ² :	–	23,4±1,16	52,9±0,8	49,9±0,9	60±1,5
ядрышки нейронов слоя II	–	22,2±0,5	35,8±0,75	36,5±0,7	45,3±1,3
ядра нейронов слоя II	–	3,9±0,18	3,9±0,07	3,8±0,08	4,35±0,08
цитоплазма нейронов слоя V	–	45,4±3,66	106,5±5,6	99,8±2,2	95±2,4
ядра нейронов слоя V	–	35,2±2,14	95,6±2,1	89,6±2,04	82±1,9
цитоплазма нейронов слоя V	–	3,3±0,088	1,82±0,03	1,98±0,04	2,94±0,2
ядрышки нейронов гиппокампа	–	39,9±1,55	75,01±1,16	70,2±0,9	73,8±1,9
ядра нейронов гиппокампа	–	29,9±1	40,3±0,9	44,08±0,7	50,5±2,06
цитоплазма нейронов гиппокампа	–	0,286±0,021	0,394±0,018	0,402±0,02	0,259±0,013
Концентрация РНК, усл. ед., цитоплазма нейронов: слой II ПТД	–	0,325±0,046	0,457±0,02	0,497±0,016	0,312±0,017
слой V ПТД	0,149±3,9	0,276±0,012	0,379±0,02	0,416±0,015	0,243±0,015
слой II СТД	–	0,255±0,014	0,452±0,016	0,459±0,017	0,307±0,017
слой V СТД	–	0,315±0,011	0,423±0,02	0,498±0,017	0,255±0,019
гиппокамп	–	0,36±0,017	0,327±0,014	0,553±0,039	–
Концентрация липидов, усл. ед., слой I	–	–	–	–	–

Толщина коры, подобно массе мозга и полушария наиболее интенсивно увеличивается от 1 до 5-дневного возраста. Так, в переднетеменной доле (ПТД) она возрастает почти на 91%, а от 1 до 14-дневного возраста – в 2,9 раза. Ее рост в последующем незначителен и различия данного показателя в ПТД у 30 и 40-дневных животных статистически недостоверны. В собственно теменной доле (СТД) у 40-дневных крыс толщина коры незначительно, но достоверно превышает ее у 14- и 30-дневных животных (таблица). При этом следует отметить, что поскольку в этом возрастном интервале (от 14 до 40 дней) продолжается рост массы полушария (и его поверхности), можно считать, что объем коры в этот период продолжает возрастать даже в тех зонах неокортекса, где толщина коры не увеличивается. Представляют интерес сопоставления изложенных результатов с данными, полученными при исследованиях мозга детей. Последние, в частности, показали, что в возрасте от 1 до 3 лет толщина коры возрастает на 75–83% и составляет при этом 86% от этого показателя у взрослых [5]. У детей в возрасте от 4 до 7 лет темпы увеличения толщины коры снижаются. E. R. Sowel, et al. [8]. Методом магнитно-резонансной томографии установили, что в возрасте 5–7 лет толщина коры у детей увеличивается ежегодно на 0,4–1,5 мм. В последующие годы, по данным магнитно-резонансных исследований наблюдается уменьшение толщины коры. Оно начинается в возрасте 8–11 лет, причем возраст начала ее сужения различается у детей с разными умственными способностями [7]. В период от 13 до 16 лет толщина коры и ее различных слоев не изменяются [6]. Таким образом, возрастная динамика изменений толщины коры мозга крыс имеет общие черты с ее изменениями у человека. В связи с этим можно полагать, что по темпам роста мозга, полушария, толщины коры в ПТД мозг 30–40-дневных крыс имеет уровень развития, сопоставимый с мозгом детей подросткового возраста.

Толщина слоя I, образованного преимущественно отростками нейронов слоев лежащих глубже, связывающими разные зоны коры, в 14-дневном возрасте становится примерно в 3,5 раза больше, чем у 1-дневных (140 ± 3 мкм) и после этого не претерпевает достоверных изменений. В противоположность этому, в СТД толщина слоя I продолжает увеличиваться до 40-дневного возраста. Таким образом, в СТД изменения толщины коры и ее слоя I продолжают дольше, чем в ПТД, что отражает асинхронность достижения дефинитивных показателей развития функционально разных зон коры.

Изучение концентрации липидов (цитоспектрофотометрический анализ препаратов, окрашенных суданом черным) в этом слое в СТД показало ее суще-

ственное увеличение у 30-дневных крыс по сравнению с 5- и 14-дневными что, по-видимому, обуславливается интенсивно идущими в этом возрасте процессами миелинизации [2].

Число нейронов в поле зрения (численная плотность) в слое V ПТД однодневных крысят равнялось 70 ± 2 , в 5-дневном – $22,8 \pm 1$, в 14-дневном – $8,4 \pm 0,1$, в 30-дневном – $7,2 \pm 0,1$, в 40-дневном – $6,8 \pm 0,16$. Таким образом, данный показатель наиболее резко уменьшался в течение первых 14 суток постнатального онтогенеза и затем медленно продолжал снижаться до препубертатного периода. Подобный процесс происходил также и в слое II ПТД и в СТД (таблица).

Анализ размерных характеристик различных компонентов нейронов (компьютерная морфометрия) показал, что во все исследованные периоды онтогенеза ядерно-цитоплазматическое соотношение в перикарионах близко к 1 и не подвержено существенным возрастным изменениям. В то же время, площадь сечения ядер и цитоплазмы в исследованном возрастном интервале возрастала примерно вчетверо (таблица). Аналогичные процессы происходят и при развитии мозга детей. Так, в возрасте от 1 до 3 лет размеры нейронов становятся больше, чем у новорожденных в 1,9–4,6 раза [6]. Увеличение размеров этих клеток в коре мозга человека и крыс можно считать важным механизмом, обуславливающим уменьшение численной плотности нейронов. Вторым фактором, способствующим этому, является увеличение объема нейрона и числа глиоцитов. Эти же механизмы в основном обуславливают и рост толщины неокортекса [2].

Концентрация РНК в цитоплазме исследованных нейронов была минимальной у 1 и 5-дневных крыс, значительно возрастала к 14-дневному возрасту и сохранялась на этом уровне у 30-дневных животных, снижаясь к возрасту 40 дней. Таким образом, наиболее высокой она была в интервале, характеризующемся максимальным (в абсолютном выражении) приростом массы мозга и полушария, увеличением объема нейронов.

Мы полагаем, что в целом полученные нами результаты могут использоваться как нормативные, отражающие развитие коры мозга крыс в дорепродуктивном периоде их онтогенеза. При этом представленные результаты свидетельствуют о том, что характер изменений регистрируемых показателей, исследованных морфометрически, происходящих в процессе постнатального развития мозга крыс, близок таковому в органогенезе мозга человека. В связи с этим, можно полагать, что отклонения характера развития органа животных этого вида, наблюдающиеся при различных воздействиях, могут расцениваться как моделирующие последствия аналогичных воздействий на человека.

Литература

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. – М.: Медицина. – 1990. – 384 с.
2. Рыжавский, Б.Я. Развитие головного мозга: отдаленные последствия влияния некомфортных условий. – Изд. 3-е. – Хабаровск: Изд-во ДВГМУ, 2002. – 162 с.
3. Рыжавский Б.Я., Баранова С.Н., Матвеева Е.П. Влияние экспериментального уменьшения численности пометов у самок-крыс на показатели развития головного мозга и эндокринных желез их потомства // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2007. – Т. 143, № 3. – С. 349–353.
4. Рыжавский Б.Я., Литвинцева Е.М. Морфометрические и гистохимические особенности неокортекса и гиппокампа экспериментально увеличенного мозга

в молочном периоде онтогенеза // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – Т. 154, № 7. – С. 108-111.

5. Цехмистренко Т. А., Васильева В. А. Структурные преобразования ассоциативных зон коры больших полушарий как морфологическая основа формирования когнитивных функций мозга человека от рождения до 20 лет // Физиология человека. – 2001. – Т. 27, № 5. – С. 41-48.

6. Цехмистренко Т. А., Черных Н. А., Шеховцев Н. А. Структурные преобразования cito- и фибро-

архитектоники фронтальной коры мозга человека от рождения до 20 лет // Физиология человека. – 2010. – Т. 36, № 1. – С. 32-40.

7. Shaw P., Greenstein D., Lerch J., et al. Intellectual ability and cortical development in children and adolescents // Nature. – 2006. – Vol. 440, № 7084. – P. 676-679.

8. Sowell E. R., Thompson P. M., Leonard C. M., et al. Longitudinal mapping of cortical thickness and brain growth in normal children // J. Neurosci. – 2004. – Vol. 24, № 38. – P. 8223-8231.

Literature

1. Avtandilov G. G. Medical morphometry. – M. Medicine. – 1990. – P. 384.

2. Rizhavskiy B. Y. Brain development: postponed influence of uncomfortable conditions. – 3rd publication. – Khabarovsk: FESMU publishing house, 2002. – P. 162.

3. Rizhavskiy B. Y., Baranova S. N., Matveeva E. P. Experimental breed decrease in female rats and influence on the offsprings brain development // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2007. – Vol. 143, № 3. – P. 349-353.

4. Rizhavskiy B. Y., Litvinceva E. M. Experimental brain enlargement. Morphometrical and histochemical aspects of neocortex and hippocampus in suckling period of ontogenesis // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2012. – Vol. 154, № 7. – P. 108-111.

5. Tsehmistrenko T. A., Vasileva V. A. Structural modification of brain associative zones as morphologic basis of human cognitive functions from birth up to age 20 // Human physiology. – 2001. – Vol. 27, № 5. – P. 41-48.

6. Tsehmistrenko T. A., Chernih N. A., Shehovtsev N. A. Structural modifications of human frontal lobe cito- and fibroarchitectonics from birth to age 20 // Human physiology. – 2010. – Vol. 36, № 1. – P. 32-40.

7. Shaw P., Greenstein D., Lerch J., et al. Intellectual ability and cortical development in children and adolescents // Nature. – 2006. – Vol. 440, № 7084. – P. 676-679.

8. Sowell E. R., Thompson P. M., Leonard C. M., et al. 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 – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой биологии и гистологии ДВГМУ, тел. 8-(4212)-32-63-93; Литвинцева Екатерина Марковна – канд. биол. наук, доцент кафедры химии ДВГМУ; Ольга Владимировна Ткач – аспирант кафедры биологии и гистологии ДВГМУ; Рудман Юлия Юрьевна – канд. мед. наук, доцент кафедры физиологии ДВГМУ.



УДК 615.32:616-092.18:574

В. А. Доровских, О. Н. Ли, Н. В. Симонова, М. А. Штарберг, В. Ю. Доровских

ВЛИЯНИЕ СУКЦИНАТСОДЕРЖАЩИХ ПРЕПАРАТОВ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ПРОЦЕССОВ ПЕРОКСИДАЦИИ В УСЛОВИЯХ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ОБЛУЧЕНИЯ

Амурская государственная медицинская академия,
675000, ул. Горького, 95, тел. 8-(4162)-31-90-09, г. Благовещенск

Резюме

Представлены результаты исследований, направленных на решение важнейшей проблемы – защиты организма от стресса и экологически неблагоприятных факторов окружающей среды. В экспериментальных условиях исследована возможность коррекции свободнорадикального окисления липидов мембран организма крыс введением сукцинатсодержащих препаратов «Ремаксол» и «Цитофлавин» (НТФФ «Полисан», Санкт-Петербург). Животные были разделены на 4 группы, в каждой по 15 крыс: интактные животные, которые содержались в стандартных условиях вивария; контрольная группа, где крысы подвергались ультрафиолетовому облучению в течение 3 минут ежедневно; подопытная группа, где животным перед облучением ежедневно вводили ремаксол в дозе 100 мг/кг; подопытная группа, где животным перед облучением ежедневно вводили цитофлавин в дозе 100 мг/кг. Установлено, что ежедневное ультрафиолетовое облучение в течение трех минут способствует повышению содержания гидропе-