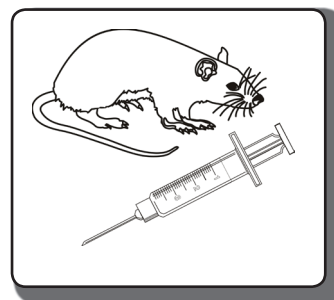


Теоретическая и экспериментальная медицина



УДК 611.81-053.31-027.12:599.323.4-092.9

О.В. Ткач, Б.Я. Рыжавский

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ АКСЕЛЕРАЦИИ В НЕОНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ОНТОГЕНЕЗА

*Дальневосточный государственный медицинский университет, 680000,
ул. Муравьева-Амурского, 35, тел. 8-(4212)-76-13-96, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru, г. Хабаровск*

Резюме

Изучался головной мозг 5-дневных крыс из искусственно уменьшенных через сутки после рождения помётов (оставленное число крысят в каждом помёте – 4). Контролем служили крысята из двух интактных помётов (число крысят в каждом помёте – 12). Животные из малочисленных помётов отличались увеличенной массой тела, головного мозга (ГМ) и полушария. Они имели ряд морфологических признаков ускорения созревания коры ГМ: увеличение толщины, а также слоя I в переднетеменной и собственно теменной доле, уменьшение плотности расположения нейронов в неокортексе, признаки ускорения миелинизации слоя I и белого вещества полушария. Наблюдалась также статистически достоверно увеличенные размеры цитоплазмы, ядер и ядрышек нейронов, повышенная концентрация РНК в цитоплазме корковых нейронов разной локализации.

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

O.V. Tkatch, B.Ya. Ryzhavskii

MORPHOLOGICAL PECULIARITIES OF RATS' BRAIN IN ACCELERATION DURING NEONATAL ONTOGENESIS

Far Eastern State Medical University, Khabarovsk

Summary

We studied the brain of 5-day old rats from artificially reduced breeds n a day after birth (4 rats from each breed). The control group included rats from two intact breeds (12 rats in every breed). Animals from small in number breeds had increased body and brain mass and a hemisphere. They had certain morphological signs of accelerated cortex maturation: increased thickness, and the layer in the I anterior parietal and parietal proper lobes, decrease in density of neurons location in neocortex, signs of myelinization in layer I and white substance of the hemisphere. There were statistically reliable increase of cytoplasm size, neuron nuclei and nucleoli, elevated concentration of RNA in the cytoplasm of cortex neurons with different localization.

Key words: brain, development, acceleration, morphology.

Темпы онтогенетического развития детей в течение многих десятилетий в разных странах подвергались существенным и разнонаправленным изменениям: акселерации и ретардации, которые могли сменять друг друга. В качестве свидетельств акселерации детей считаются, в частности, опережающие темпы роста массы тела, а также полового развития по сравнению «группой сравнения». При этом признаки акселерации могут наблюдаться в разные периоды онтогенеза, в том числе, у новорожденных [2, 4, 11]. В связи с этим представляют интерес данные литературы, свидетельствующие о том, что масса тела,

которая при акселерации увеличивается ускоренными темпами, на ранних стадиях постнатального онтогенеза имеет положительную корреляционную связь с массой головного мозга (ГМ) [1, 8]. При этом вполне обоснованна постановка вопроса о влиянии ускоренного соматического развития на развитие ГМ, его морфофункциональные свойства.

Ранее в нашей лаборатории исследовались морфологические особенности ГМ 14-, 30- и 40-дневных крыс, имевших такие признаки акселерации, как ускоренные темпы роста массы тела, развития эндокринных желез и гонад. Животные, имевшие их, были по-

лучены при нахождении в искусственно уменьшенных пометах. Постановка этих экспериментов базировалась на данных о большей скорости роста массы тела у крысят из пометов малой численности. При этом нами было установлено, что ГМ экспериментальных животных отличался от мозга контрольных крыс увеличенной массой, а также показателями развития и цитофизиологии различных корковых нейронов [3, 4, 8-10].

Настоящая работа является продолжением этих исследований и посвящена изучению особенностей развития мозга животных с признаками акселерации в неонатальном периоде, являющемся одним из критических периодов онтогенеза, характеризующимся высокими темпами изменений ГМ и имеющим особую роль в определении свойств этого органа [6, 8].

Материалы и методы

В работе изучался головной мозг 5-дневных белых крыс. Экспериментальная группа включала животных из трех малочисленных пометов, уменьшение численности которых осуществлялось через сутки после родов путем оставления в помете по 4 крысенка. В качестве контрольной группы исследовались два интактных помета, в каждом из которых было по 12 крысят. Животные из «уменьшенных» и «больших» пометов содержались одновременно в условиях одного вивария, корм и воду получали *ad libitum*. Условия содержания животных соответствовали нормам международного и российского законодательства. Взвешиванием на электронных весах определяли массу тела, головного мозга, полушария. Для суждения о степени миелинизации волокон из собственно теменной доли (СТД) правого полушария получали криостатные срезы толщиной 30 мкм, которые окрашивали суданом черным В (для выявления липидов). Концентрацию липидов в слое I и белом веществе головного мозга (под неокортексом) измеряли на аппарате «Мекос» при длине волны 600 нм. Левое полушарие мозга фиксировали в жидкости Карнуа. Из переднетеменной доли (ПТД) и СТД, после заливки в парафин, готовили срезы толщиной 7 мкм, которые окрашивали на нуклеиновые кислоты галлоцианином по Эйнарсону. На этих срезах проводили морфометрическое исследование препаратов, включавшее в себя определение толщины коры и слоя I в ПТД и СТД; измерение площади сечения цитоплазмы, ядер и ядрышек нейронов слоев II и V ПТД и СТД, а также поля I гиппокампа. На этих же препаратах при помощи цитоспектрофотометрии, при длине волны 550 нм, определяли концентрацию РНК в цитоплазме данных клеток. Все перечисленные показатели определяли на основании измерений, проведенных в каждом случае, в 25 нейронах каждой локализации. О численной плотности нейронов в коре ПТД и СТД судили на основании подсчета их числа в 5 стандартных полях зрения слоев II и V. Статистический анализ количественных данных проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение

Масса тела крыс из уменьшенных пометов в 5-дневном возрасте превосходила таковую у контрольных на 19,1 %. Таким образом, подопытные животные

имели важный признак акселерации – значительное опережение темпов роста массы тела, что согласуется с ранее полученными данными [3, 5, 9, 10]. Увеличенные темпы роста массы тела подопытных животных могут быть объяснены лучшей доступностью питания (молока матери), большим вниманием со стороны матери, меньшей конкуренцией за пищу и снижением стрессогенности среды в малочисленных пометах.

Абсолютная масса ГМ у крысят из уменьшенных пометов превышала массу ГМ у крысят контрольной группы на 12,7 % (таблица). Учитывая, что масса ГМ у однодневных крыс – около 230 мг [8], можно рассчитать, что к 5-дневному возрасту у подопытных животных она увеличилась на 248 мг, тогда как в контроле – на 194 мг, то есть темпы прироста массы мозга у крыс из уменьшенных пометов были выше, чем в контроле на 27,8 %. При этом относительная масса мозга у животных сравниваемых групп не имела статистически достоверных различий, свидетельствуя, что в неонатальном периоде при акселерации величины отклонений от контроля темпов роста массы тела и массы ГМ близки. Кроме того, эти результаты говорят о том, что темпы роста мозга в неонатальном периоде у животных из группы контроля не являются предельными и могут быть существенно увеличены при изменении условий развития.

Морфометрический анализ выявил, что показатели развития неокортекса, исследованных корковых нейронов у крысят из малочисленных пометов отличались от таковых у животных из группы контроля. ГМ крысят подопытной группы отличался большей толщиной коры в ПТД и СТД, уменьшенной численной плотностью нейронов в слое II и V ПТД и СТД. В сочетании с данными об увеличении массы полушария эти результаты говорят об увеличении объема коры ГМ у животных с акселерацией, во всяком случае, в ПТД и СТД. В то же время, в связи с уменьшением численной плотности нейронов в исследованных зонах неокортекса, они не доказывают увеличения суммарной численности нейронов в неокортексе.

Измерение площади сечения цитоплазмы, ядер и ядрышек показало их увеличение в исследованных нейронах неокортекса. Большую, чем в контроле концентрацию РНК в цитоплазме нейронов слоя II и V СТД, слоя II ПТД можно расценивать как свидетельство интенсификации синтеза белка в этих клетках. Темпы миелинизации, о которых мы судили по степени суданофилии, в слое I и белом веществе полушария, зависящие, прежде всего, от активности олигодендроцитов, у животных подопытной группы были выше, чем в контроле (таблица).

Таблица

Морфометрические и гистохимические особенности коры головного мозга крыс в неонатальном периоде при акселерации

Показатели	Контроль	Опыт
Масса тела, г	8,9±0,56	10,6±0,66*
Масса ГМ абсолютная, мг	424±22,7	478±12,3*
Масса ГМ относительная, мг/г	48,1±0,91	46,2±1,96
Масса полушария, мг	150,3±9,4	180,3±6,58*

Показатели	Контроль	Опыт
СТД , толщина коры, мкм	865±21,7	1014±18,2*
толщина слоя I	73±2,04	94±2,7*
Число нейронов в поле зрения , слой II	54±3,6	42,8±1,39*
слой V	23,0±0,97	16,7±0,35*
Площадь сечения , мкм ²		
ядрышки нейронов слоя II	2,5±0,06	3,0±0,11*
ядра нейронов слоя II	23,4±1,16	28,8±0,90*
цитоплазма нейронов слоя II	22,1±0,50	25,4±0,87*
ядрышки нейронов слоя V	3,9±0,18	4,8±0,13*
ядра нейронов слоя V	45,4±3,66	59,7±2,77*
цитоплазма нейронов слоя V	35,2±2,13	41,1±1,51*
ядрышки нейронов гиппокампа	3,3±0,09	3,7±0,10*
ядра нейронов гиппокампа	39,9±1,55	45,4±1,37*
цитоплазма нейронов гиппокампа	29,9±1,04	31,7±0,98
ПТД , толщина коры, мкм	985±14	1091±22*
толщина слоя I	87±2,3	99±3,1*
Число нейронов в поле зрения , слой II	49,2±2,85	36,3±0,59*
слой V	22,7±1,01	16,4±0,25*
Площадь сечения , мкм ²		
ядрышки нейронов слоя II	2,8±0,13	3,1±0,13
ядра нейронов слоя II	23,8±1,01	27,8±1,63*
цитоплазма нейронов слоя II	23,9±0,89	26,6±0,97
ядрышки нейронов слоя V	4,0±0,14	5,0±0,21*
ядра нейронов слоя V	47,5±3,28	61,3±2,84*
цитоплазма нейронов слоя V	37,7±2,8	44,8±2,06
Концентрация РНК в цитоплазме нейронов , усл. ед.		
слой II СТД	0,276±0,012	0,328±0,016*
слой V СТД	0,255±0,014	0,310±0,02*
гиппокамп	0,315±0,011	0,349±0,018
слой II ПТД	0,286±0,021	0,308±0,023*
слой V ПТД	0,275±0,017	0,287±0,022
Концентрация липидов , усл. ед.		
слой I	0,360±0,017	0,461±0,03*
белое вещество	0,264±0,012	0,303±0,018*

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

Примененные нами морфометрические и гистохимические показатели закономерно изменяются в процессе онтогенетического развития ГМ [6, 8], а их межгрупповые отличия в совокупности однозначно свидетельствуют о его опережающем развитии у крысят из малочисленных пометов. Анализ представленных данных выявил также следующую закономерность: хотя исследованные зоны и слои коры мозга функционально различны [6, 7], характер межгрупповых отличий исследованных показателей был в них однонаправленным. По-видимому, это может быть обусловлено как однотипностью изменений условий развития для разных зон мозга у подопытных крысят, так

и взаимозависимостью и взаимообусловленностью процесса развития различных частей органа. Наличие достоверных отличий ГМ подопытных крысят почти по всем исследованным показателям от контроля, по-видимому, обусловлено тем, что в первые дни жизни (в неонатальном периоде) зависимость животных от количества молока, внимания матери особенно сильна. С другой стороны, в данном возрасте важнейшими видами «деятельности» крысят являются получение пищи и контакты с матерью, условия которых у животных малочисленных и контрольных пометов существенно различаются. Такое объяснение подтверждается данными о том, что у 14-, 30- и 40-дневных крысят, зависимость которых от матери снижается, количество статистически достоверных различий морфологии ГМ животных из малочисленных и контрольных пометов уменьшается, а характер различий меняется [5, 8-10].

Оценивая выявленные в работе межгрупповые различия показателей развития мозга, необходимо подчеркнуть, что они обусловлены различиями условий воспитания в течение небольшого срока, всего 4 суток – от однодневного до пятидневного возраста. Сопоставление полученных в работе данных с результатами изучения ГМ однодневных крыс [8] говорит о том, что этот возрастной интервал у крыс отличается исключительно высокими темпами онтогенетических изменений органа. Так, в течение 4 суток масса ГМ увеличивается более чем на 80 %, полушария – примерно вдвое, толщина коры ГМ в ПТД – на 90 %, площадь сечения нейронов слоя V ПТД – в полтора раза, концентрация РНК в их цитоплазме – более чем двукратно, а численная плотность нейронов здесь уменьшается более чем в 3 раза. Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что в этом периоде условия, в которых происходит развитие животных, могут существенно влиять на многие стороны развития ГМ, в частности, способствуя его ускорению.

В целом, представленные материалы свидетельствуют о том, что ГМ животных с акселерацией в неонатальном периоде имеет отличия от ГМ контрольных животных по целому ряду показателей. Эти результаты дополняют данные, полученные нами ранее по рассматриваемой проблеме. При этом, оценивая выявленные у животных разного возраста межгрупповые различия, можно вполне обоснованно полагать, что они могут определять не только функциональные особенности мозга животных в каждом исследованном возрасте, но, как следует из данных литературы [8, 12, 13], влиять и на дальнейшее развитие органа. Мы полагаем, что материалы настоящей статьи, как и полученные ранее, могут представлять интерес не только для нейроморфологов, нейрофизиологов, педиатров, а также и для педагогов, обучающихся и воспитывающих детей, отличающихся разными темпами развития.

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 увели-

чении 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: дисс. ... канд. биол. наук. – Владивосток, 2010.

6. Максимова Е.В. Онтогенез коры больших полушарий. – М.: Наука, 1990.

7. Мотавкин П.А. Введение в нейробиологию. – Владивосток: Медицина-ДВ, 2003.

8. Рыжавский Б.Я. Развитие головного мозга: отдаленные последствия влияния некомфортных условий. – Хабаровск: Изд-во ДВГМУ, 2009.

9. Рыжавский Б.Я., Литвинцева Е.М., Учакина Р.В. Сопоставления величины массы головного мозга

с морфометрическими и гистохимическими характеристиками нейронов коры, показателями высшей нервной деятельности у крыс в препубертатном периоде онтогенеза // Бюллетень экспериментальной биологии. – 2009. – Т. 148, № 8. – С. 236-240.

10. 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.

11. Сауткин М.Ф., Стунева Г.И. Материалы многолетних исследований физического развития школьников // Здоровоохранение Российской Федерации. – 2005. – № 1. – С. 55-57.

12. Guesty P. The role of nutrition in brain development // Prev. Med. – 1998. – Vol. 27, № 2. – P. 269-270.

13. 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. Avatandilov G.G. Medical morphology. – M.: Medicine, 1990. – P. 384.

2. Godina E.Z. Secular trend: history and perspectives. Human physiology. – 2009. – Vol. 35, № 6. – P. 128-135.

3. Eremenko I.P., Vasileva E.V., Ryzhavskii B.Ya., Litvinceva E.M. Lipid concentration in suckling rats and prepubertal rats in normal conditions and experimental brain enlargement // Far Eastern Medical Journal. – 2010. – № 4. – P. 109-111.

4. Krasilnikov V.A., Budukol K., Aizman R.I. Morphofunctional development of Tuvian and Russian pupils // Human Physiology. – 2008. – Vol. 34, № 1. – P. 74-81.

5. Litvinceva E.M. Morphological and experimental analysis of brood run-down, rats development in artificial brood and their influence on the development of brain, suprarenal glands and gonads in rats // Abstract of authors thesis of Candid. Sc. (biology). – Vladivostok, 2010.

6. Maksimova E.V. Ontogenesis of cerebral cortex. – M.: Science, 1990.

7. Motavkin P.A. Introduction in neurobiology. – Vladivostok: Medicine FE, 2003.

8. Ryzhavskii B.Y. Brain development: postponed influence of uncomfortable development conditions. 3rd pub-

lication. – Khabarovsk: FESMU publishing house, 2009. – P. 278.

9. Ryzhavskii B.Y., Litvinceva E.M. Comparison of brain volume and morphometrical and histochemical characteristics of neocortex neurons and brain activity in prepubertal period of rats ontogenesis // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2009. – Vol. 148, № 8. – P. 236-240.

10. Ryzhavskii B.Ya., Litvinceva E.M., Uchakina R.B. Influence of offspring numbers on brain, gonads and suprarenal glands development in rats // Far Eastern Medical Journal. – 2009. – № 1. – P. 85-87.

11. Sautkin M.F., Stuneva G.I. Materials of long-term research of pupils development // Health Care of Russian Federation. – 2005. – № 1. – P. 55-57.

12. Guesty P. The role of nutrition in brain development // Prev. Med. – 1998. – Vol. 27, № 2. – P. 269-270.

13. 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 ДВГМУ, тел. 8-(4212)-76-13-96, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru; Рыжавский Борис Яковлевич – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой биологии и гистологии ДВГМУ, тел. 8-(4212)-76-13-96, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru.

