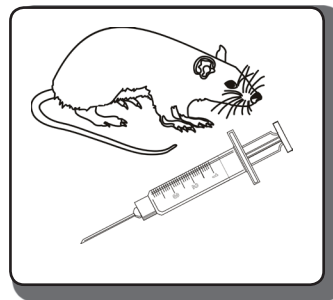


Теоретическая и экспериментальная медицина



УДК [612.821:591.513.5]:599.323.4

Б.Я. Рыжавский, О.В. Ткач

РАЗВИТИЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ АКСЕЛЕРАЦИИ: МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ЗАКОНОМЕРНОСТИ

*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-, 14- 30- и 60-дневных крыс из искусственно уменьшенных через сутки после рождения пометов. Контролем служили крысята из интактных пометов (число крысят в помете 10-13). Животные из малочисленных пометов отличались значительно увеличенной массой тела, мозга и полушария. Относительная масса мозга у крысят подопытных групп была меньше, чем в контроле. Экспериментальные животные имели ряд морфологических признаков ускорения созревания коры мозга: увеличение толщины, а также слоя I в передне-теменной (ПТД) и собственно теменной доле (СТД), уменьшение плотности расположения нейронов в неокортексе, признаки ускорения миелинизации слоя I и белого вещества полушария. У 5-дневных подопытных крыс наблюдались статистически достоверно увеличенные размеры цитоплазмы нейронов, а также повышенная концентрация РНК в цитоплазме нейронов разной локализации, более высокая активность НАДН-дегидрогеназы (НАДН-д) и НАДФН-дегидрогеназы (НАДФН-д) в нейронах гиппокампа, НАДФН-д – в нейронах слоя II ПТД. У 14-дневных подопытных животных нейроны имели увеличенные размеры цитоплазмы нейронов слоя II СТД и ПТД, слоя V ПТД.

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

B.Ya. Ryzhavskii, O.V. Tkach

THE DEVELOPMENT OF THE BRAIN OF RATS UNDER ACCELERATION: MORPHOLOGICAL FEATURES AND PATTERNS

Far Eastern State Medical University, Khabarovsk

Summary

We have studied the brain of 5-, 14-, 30- and 60-days old rats from artificially decreased litter after 24 hours of birth (we left 4 rats in each litter). Small rats in the control group were taken from intact litters (the number of rats in litter was 10-13). It was revealed, that animals in all age groups from scanty litters had considerably increased body mass, much bigger brain mass and hemisphere than those in the control group. Relative mass brain in rats from experimental group was less than that in the control. Experimental animals had a number of morphological signs of accelerated maturation of cerebral cortex, that is increase of thickness and layer I in the parietal anteriorlobe (PAL) and parietal proper lobe (PPL), decrease of density in neurons site in neocortex, signs of accelerated myelinization in layer I, in hemisphere white substance. We revealed statistically reliable increased size of neuron cytoplasm and elevated RNA concentration cytoplasm in neurons of different localization, higher NADH-dehydrogenase in hippocampal neurons and NADPH-dehydrogenase in neurons layer IPAL. In 14-days old experimental rats neurons had increased size of neurons cytoplasm in layer II and VPPL, layer V PAL.

Key words: brain, development, acceleration, morphology.

Развитие головного мозга представляет собой сложный процесс, для физиологического течения которого требуется нормальный генотип и целый комплекс средовых условий [8, 13, 14]. Последние могут влиять на темпы развития всего организма, обуславливая, в частности, акселерацию, определяемую как ускорен-

ное физическое и половое развитие, которая в течение XX века имела место у населения многих стран мира, в том числе, Советского Союза и России [1-5, 7, 15]. Наши предыдущие экспериментальные исследования показали, что у животных с признаками акселерации отмечается целый ряд особенностей развития голов-

ного мозга [10-12]. В связи с этим, целью настоящей работы явилось суммирование данных, отражающих морфологические особенности мозга при акселерации у крыс разного возраста, от пятидневных (период новорожденности) до 60-дневных (молодые половозрелые животные). При этом мы учитывали данные о том, что путем экспериментального уменьшения числа крысят в помете можно получить животных, имеющих важные признаки акселерации [9].

Материалы и методы

В работе изучался головной мозг 5-, 14-, 30- и 60-дневных белых крыс линии Вистар. Экспериментальная группа состояла из животных, выращенных в малочисленных пометах, уменьшение численности которых осуществлялось через сутки после родов путем оставления в помете по 4 крысенка. В каждой экспериментальной возрастной группе было исследовано по 3 помета. Контрольная группа включала в себя крысят из интактных пометов численностью от 10 до 13. В каждой возрастной группе контроля было изучено по 2 помета. Животные сравниваемых групп содержались одновременно в условиях одного вивария, корм и воду получали *ad libitum*. 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. На таких же срезах проводили гистохимические реакции на НАДН- и НАДФН-дегидрогеназы (НАДН-д, НАДФН-д) по [6]. Левое полушарие мозга фиксировали в жидкости Карнуа. Из переднетеменной (ПТД) и СТД, после заливки в парафин, готовили срезы толщиной 7 мкм, которые окрашивали на нуклеиновые кислоты галлоцианином по Эйнарсону. Об интенсивности ферментативных реакций и концентрации РНК в цитоплазме нейронов судили при помощи компьютерной цитоспектрофотоморфометрии на аппарате «Мекос». На срезах, окрашенных галлоцианином, при помощи окуляр-микрометра измеряли толщину коры и слоя I в ПТД и СТД; площади сечения цитоплазмы, ядер и ядрышек нейронов слоев II и V ПТД и СТД и поля I гиппокампа измеряли на аппарате «Мекос». О численной плотности нейронов в коре ПТД и СТД судили на основании подсчета числа этих клеток 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 подопытных крысят обоего пола всех возрастов превышала ее у контрольных животных (рис. 1). Масса гонад в опытной группе 14-дневных самцов была достоверно больше, чем в контрольной – 40 ± 3 и $20,7 \pm 1,6$ мг соответственно. У самок масса яичников составила $4,4 \pm 0,2$ мг против $3,3 \pm 0,4$ мг ($p < 0,05$). У месячных опытных самцов масса семенников равнялась $537 \pm 95,4$ мг и превышала ее у контрольных более чем в 6 раз (83 ± 6 мг). Статистически достоверные различия массы гонад выявились и у 30-дневных самок контрольной и опытной групп ($15 \pm 1,2$ мг и $29 \pm 3,4$ мг

соответственно). В 60-дневном возрасте масса семенников у самцов опытной группы была больше, чем контрольной, однако различия не были статистически достоверны ($1394 \pm 198,7$ и $1242 \pm 36,1$ мг, $p > 0,05$). У самок контрольной группы масса яичников увеличилась до $66 \pm 3,0$ мг, у опытной – до $73 \pm 4,2$. Между опытной и контрольной группами двухмесячных самок статистически достоверных различий не наблюдалось ($73 \pm 4,2$ и $66 \pm 3,0$ мг, $p > 0,05$). Таким образом, по темпам роста массы тела, гонад подопытные крысята имели выраженные признаки акселерации.

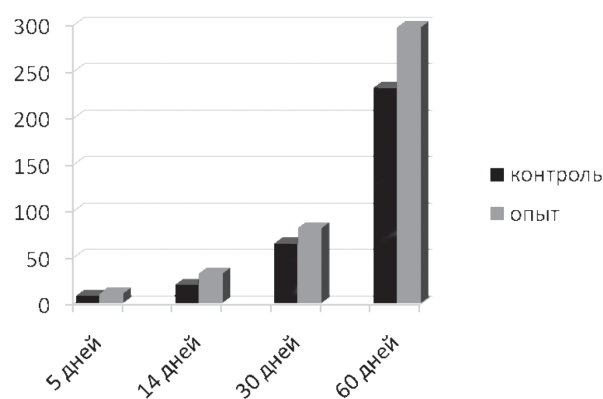


Рис. 1. Масса тела, г*

Примечание. *В гистограммах приведены данные по самцам.

Возрастная динамика массы мозга. Абсолютная масса головного мозга 5-дневных крысят из уменьшенных пометов превышала ее у крысят контрольной группы на 12,7 % ($478 \pm 12,3$ и $424 \pm 22,7$ мг). В контроле у двухнедельных крысят масса мозга равнялась $1048 \pm 16,32$ мг. У крысят опытной группы она составляла $1174 \pm 16,2$ мг, то есть на 12 % больше, чем у контрольных. Прирост абсолютной массы мозга между 5-м и 14-м днями постнатального онтогенеза у крыс с акселерацией был больше, чем в контрольной группе (рис. 2).

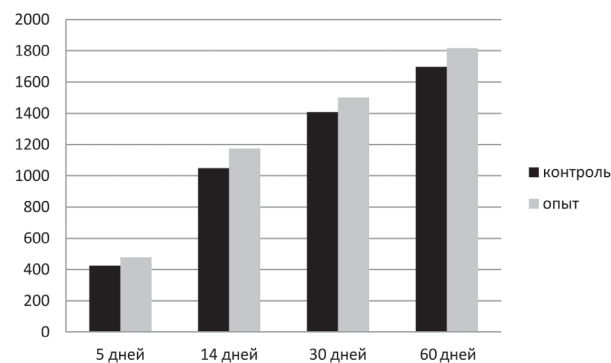


Рис. 2. Абсолютная масса головного мозга, мг

У 30-дневных крыс контрольной группы масса головного мозга равнялась $1371 \pm 23,6$ мг (у самцов – 1407 ± 30 мг, у самок – $1324 \pm 31,6$ мг). У животных опытной группы абсолютная масса головного мозга месячных крыс составила $1486 \pm 17,8$ мг (у самцов – $1501 \pm 23,9$ мг, у самок – $1458 \pm 23,3$ мг), то есть больше на 8,4 % (115 мг), чем у контрольных крыс этого же возраста. У 60-дневных крыс контрольной группы аб-

солютная масса головного мозга была равна $1694 \pm 17,2$ мг (у самцов – $1697 \pm 21,9$ мг, у самок – $1682 \pm 19,5$ мг). В подопытной группе она составила – $1724 \pm 36,3$ мг (у самцов – $1817 \pm 56,1$ мг, у самок – $1663 \pm 28,1$ мг) (рис. 2). Таким образом, абсолютная масса мозга у животных исследованных групп с акселерацией превосходила ее у контрольных, причем преимущественно за счет больших темпов ее роста в течение 1-го месяца жизни, для которого характерны наиболее высокие темпы роста органа. Масса полушария у крыс подопытной группы также была больше, чем в контроле (рис. 3).

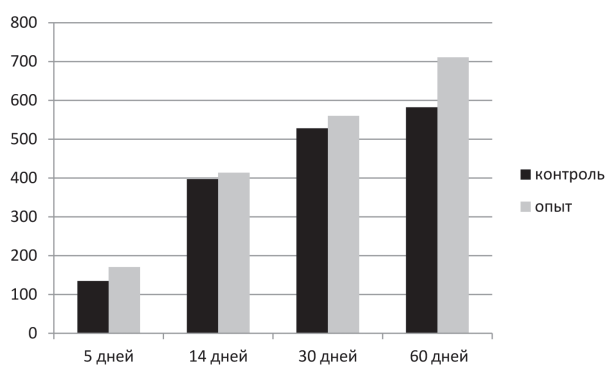


Рис. 3. Масса полушария, мг

Важной особенностью мозга крыс при акселерации была его значительно меньшая относительная масса, причем это имело место у крыс всех возрастов, по сравнению с таковой у контрольных животных (рис. 3). Это обуславливалось меньшей степенью межгрупповых различий абсолютной массы мозга по сравнению с различиями массы тела животных (рис. 2, 4).

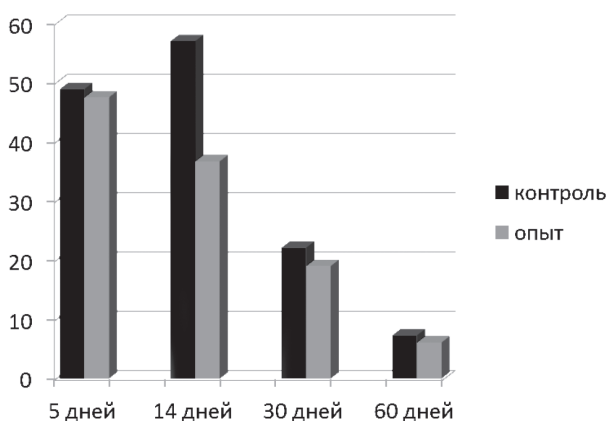


Рис. 4. Относительная масса мозга, мг/г

Морфометрический и гистохимический анализ гистологических препаратов выявил, что максимальное количество достоверных межгрупповых различий наблюдалось у крыс самой младшей исследованной группы – 5-дневных. Животные с акселерацией в этом возрасте отличались увеличенной толщиной коры в ПТД и СТД, уменьшенной численной плотностью нейронов в них (рис. 5-8), а также увеличенными размерами цитоплазмы, ядер и ядрышек нейронов всех, изученных локализаций, концентрации в цитоплазме РНК. Слой I и белое вещество полушария при этом имели боль-

шую степень суданофилии, по сравнению с контролем. Активность НАДН-д и НАДФН-д в нейронах гиппокампа была увеличена. Активность НАДФН-д была увеличена также и в нейронах слоя II.

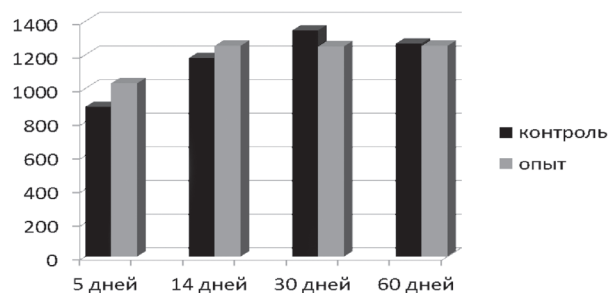


Рис. 5. Толщина коры СТД, мкм

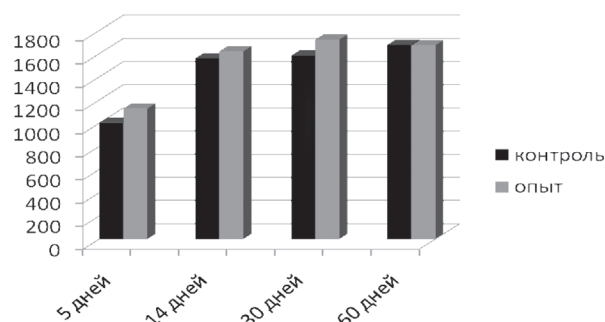


Рис. 6. Толщина коры ПТД, мкм

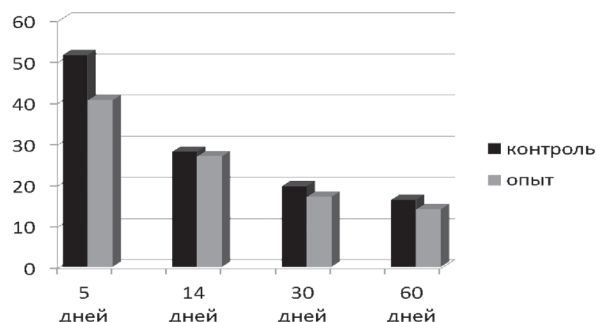


Рис. 7. Число нейронов в поле зрения слоя II СТД

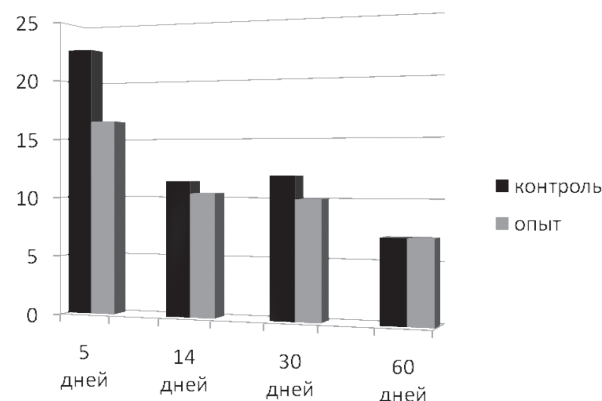


Рис. 8. Число нейронов в поле зрения слоя V СТД

У 14-дневных подопытных крыс имелся ряд признаков ускоренного развития неокортекса, включающих в себя большую толщину коры СТД ($p > 0,05$), ПТД ($p < 0,05$), слоя I СТД ($p < 0,05$) и ПТД ($p < 0,05$), а также меньшую численную плотность нейронов

в слоях II и VSTD ($p < 0,05$), слое II ПТД (рис. 5-8). Площадь сечения цитоплазмы в мозге подопытных животных была достоверно увеличена в нейронах слоя II STD и слоя II ПТД, гиппокампа. Поскольку концентрация РНК в цитоплазме данных клеток была у животных сравниваемых групп близкой, можно полагать, что суммарное количество РНК в цитоплазме перикарионов этих нейронов у животных из экспериментально уменьшенных пометов было большим, чем у контрольных. Перечисленные межгрупповые морфометрические и гистохимические отличия корковых нейронов сочетались с гистохимическими признаками ускоренной миелинизацией слоя I неокортекса, а также белого вещества, расположенного под корой, что проявлялось большей интенсивностью их суданофилии: в слое I концентрация липидов у животных подопытной группы была больше, чем у контрольных на 20,8 %, в белом веществе полушария – почти на 37 %. Активность НАДН-д и НАДФН-д в исследованных нейронах не имела достоверных межгрупповых различий.

В 30-дневном возрасте (окончание молочного периода) крысы с акселерацией имели увеличенную толщину коры ПТД, слоя I ПТД и STD, уменьшенную численную плотность нейронов в неокортексе (рис. 5-8), а также увеличенную концентрацию липидов в белом веществе коры. В то же время, исследованные размерные характеристики нейронов, а также – концентрация РНК, активность НАДН-д и НАДФН-д в их цитоплазме не отличались достоверно от соответствующих показателей в контроле.

Изученные нами двухмесячные крысы из уменьшенных пометов не имели достоверных отличий от контрольных по толщине неокортекса и его слоя I в ПТД и STD. Численная плотность нейронов в мозге самцов была достоверно снижена в слое II. В других исследованных локализациях коры у самцов, а также у самок этот показатель не имел межгрупповых различий. Концентрация липидов в слое I неокортекса и в белом веществе у крыс с акселерацией была увеличена в мозге животных обоего пола. Размеры цитоплазмы, ядер и ядрышек в нейронах исследованных локализаций у подопытных животных не имели достоверных отличий от контрольных или превосходили их. Концентрация РНК в цитоплазме нейронов всех исследованных локализаций, а также активность НАДН-д и

НАДФН-д не имели достоверных межгрупповых различий.

Таким образом, полученные данные свидетельствовали о том, что наибольшее количество достоверных отличий показателей развития мозга у крыс с акселерацией имелось в 5-дневном и 14-дневном возрасте. Можно предполагать, что в этих возрастных группах условия жизни крыс сравниваемых групп отличались наиболее значительно, поскольку в первые дни постнатального онтогенеза зависимость животных от количества молока матери и ее внимания особенно сильна, а важнейшей «деятельностью» крыс в данном возрасте является получение пищи и контакты с матерью, условия которых у животных малочисленных и контрольных пометов существенно различаются. В последующем, по мере уменьшения зависимости от матери, изменения характера питания, часть межгрупповых различий уменьшается, они становились статистически недостоверными. В результате у молодых половозрелых животных (60-дневных) многие имевшиеся у 5-, 14-, 30-дневных крыс межгрупповые различия развития мозга нивелируются. Однако, оценивая это, следует учитывать, что особенности состояния мозга в ранние периоды онтогенеза могут оказывать существенное влияние на его свойства в последующем [8].

Представленные данные показывают, что головной мозг крыс с акселерацией в неонатальном, молочном периодах, а также у молодых половозрелых животных отличается от мозга контрольных животных: 1) увеличенной абсолютной и уменьшенной относительной массой, увеличенной массой полушария; 2) сниженной численной плотностью нейронов в неокортексе (ПТД и STD); 3) увеличенной концентрацией липидов в слое I неокортекса и белом веществе полушария, свидетельствующей о большей скорости миелинизации.

Совокупность перечисленных отличий можно рассматривать как свидетельство опережающих темпов развития мозга у крыс при акселерации. Увеличенная толщина коры ПТД и STD, слоя I, выявленные морфометрические и гистохимические особенности нейронов неокортекса и гиппокампа крыс некоторых возрастных групп также говорят об этом. Межгрупповые различия показателей развития мозга у 60-дневных животных становятся менее выраженными, чем у 5-, 14, и 30-дневных.

Литература

1. Величковский Б.Т., Баранов А.А., Кучма В.Р. // Рост и развитие детей и подростков в России // Вестник Рос. академии наук. – 2004. – № 1. – С. 43-45.
2. Властовский В.Г. Акселерация роста и развития детей. – М.: Изд-во Московского университета, 1976.
3. Година Е.З. Секулярный тренд: история и перспективы // Физиология человека. – 2009. – Т. 35, № 6. – С. 128-135.
4. Козлов В.К. Здоровье детей и подростков на Дальнем Востоке. – Новосибирск, 2003.
5. 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.
6. Лойда З., Госсрай Р., Шиблер Т. Гистохимия ферментов (лабораторные методы). – М.: Мир, 1980. – 270 с.
7. Сауткин М.Ф., Стунева Г.И. Материалы многолетних исследований физического развития школьников // Здравоохран. РФ. – 2005. – № 1. – С. 55-57.
8. Рыжавский Б.Я. Развитие головного мозга: отдаленные последствия влияния некомфортных условий. – Хабаровск: Издательство ДВГМУ. – 2009.
9. 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.

10. Рыжавский Б.Я., Ткач О.В. Изменения активности некоторых ферментов в клетках мозга крыс при акселерации // Дальневосточный медицинский журнал. – 2012. – № 3. – С. 86-89.

11. Рыжавский Б.Я., Ткач О.В. Морфологические особенности головного мозга крыс при акселерации в неонатальном периоде онтогенеза // Дальневосточный медицинский журнал. – 2015. – № 1. – С. 51-54.

12. Ткач О.В., Рыжавский Б.Я. Влияние акселерации на показатели развития головного мозга крыс // Дальневосточный медицинский журнал. – 2014. – № 3. – С. 83-85.

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

14. 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.

15. Kryst L., Kowal M., Woronkovich A. Secular changes in height, bodyweight, body mass index and pubertal development in male children and adolescents in Krakow // Poland. J. Biosoc. Sci. – 2012. – № 6. – P. 1-13.

Literature

1. Velichkovskiy B.T., Baranov A.A., Kuchma V.R. // Children and teenagers growth and development in Russia // Journal of RAMS. – 2004. – № 1. – P. 43-45.

2. Vlastovskiy V.G. Acceleration of children body height and development. – M.: Moscow university publishing house. – 1976.

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

4. Kozlov V.K. Children and teenagers health on the Far East. – Novosibirsk. – 2003.

5. Krasilnikov V.A., Buduk-ool L.K., Aizman R.I. Morphofunctional development of Tuvian and Russian pupils // Human physiology. – 2008. – Vol. 34, № 1. – P. 74-81.

6. Loida Z., Gossrau R., Shibley T. Histochemistry of enzymes (laboratory methods). – M.: Mir, 1980. – P. 270.

7. Sautkin M.F., Stuneva G.I. Materials of long-term research on pupils' physical development // Healthcare of Russian Federation. – 2005. – № 1. – P. 55-57

8. Rizhavskii B.Ya. Brain development: long-term effects of uncomfortable conditions. – Khabarovsk: FESMU publishing house, 2009.

9. Rizhavskii B.Ya., Litvintseva E.M. Morphometric and histochemical peculiarities of rat neocortex and hippo-

campus with experimentally increased and decreased body weight // Far Eastern medical journal. – 2012. – № 3. – P. 94-97.

10. Rizhavskii B.Ya., Tkach O.V. Changes in some enzymes activity in accelerated rat brain cells // Far Eastern Medical Journal. – 2012. – № 3. – P. 86-89.

11. Rizhavskii B.Ya., Tkach O.V. Morphologic peculiarities of accelerated rat brains in neonatal period of ontogenesis // Far Eastern Medical Journal. – 2015. – № 1. – P. 51-54.

12. Tkach O.V., Rizhavskiy B.Ya. Influence of acceleration on brain development rate // Far Eastern Medical Journal. – 2014. – № 3. – P. 83-85.

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

14. 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.

15. Kryst L., Kowal M., Woronkovich A. Secular changes in height, bodyweight, body mass index and pubertal development in male children and adolescents in Krakow // Poland. J. Biosoc. Sci. – 2012. – № 6. – P. 1-13.

Координаты для связи с авторами: 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; Ткач Ольга Владимировна – аспирант кафедры биологии и гистологии Дальневосточного государственного медицинского университета, тел. 8-(4212)-76-13-96, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru.

