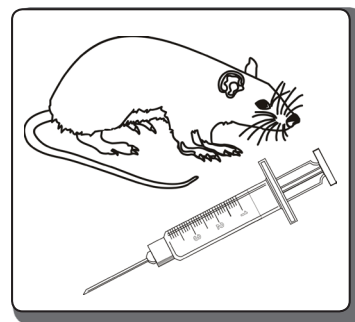


Теоретическая и экспериментальная медицина



УДК 611.81/612.82-018-27.2-053:599.323.4

Б.Я. Рыжавский, О.В. Лазинская

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ НЕЙРОНОВ ЗУБЧАТОЙ ИЗВИЛИНЫ И ПОЛЯ I ГИППОКАМПА КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ АКСЕЛЕРАЦИИ

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

Резюме

Проведено морфометрическое изучение нейронов зубчатой извилины (ЗИ) и поля I гиппокампа мозга 5-, 14-, 30- и 60-суточных крыс с экспериментальной акселерацией (ЭА), обусловленной уменьшением через сутки после рождения численности пометов до 4, и контрольных, из пометов численностью 10-13 крысят. На парафиновых срезах, окрашенных галлюцианином, измерялись площадь сечения ядрышек, ядер и цитоплазмы нейронов, а также их численная плотность. Установлено, что размеры ядрышек, ядер и цитоплазмы в поле I и ЗИ у крыс при ЭА отличаются от контрольных. У 5-суточных животных опытной группы были достоверно увеличены размеры ядрышек и ядер, имелась тенденция к увеличению площади сечения цитоплазмы нейронов. В 14-суточном возрасте размеры ядрышек, ядер и цитоплазмы у крыс с ЭА также превышали их в контроле в поле I и ЗИ (статистически достоверные межгрупповые различия – только у площади сечения цитоплазмы). У 30-суточных крыс в поле I гиппокампа размерные характеристики нейронов не имели достоверных межгрупповых различий, в 60-суточном они характеризовались достоверным увеличением площади сечения ядрышек и цитоплазмы. В ЗИ 30-суточных крыс с ЭА имелось лишь увеличение размеров ядрышек нейронов, у 60-суточных – достоверные межгрупповые различия не выявлялись.

Ключевые слова: мозг, акселерация, гиппокамп, зубчатая извилина, морфометрия.

B.Ya. Ryzhavskii, O.V. Lazinskaya

MORPHOMETRIC PECULIARITIES OF DENTATE GYRUS NEURONS AND FIELD I OF HIPPOCAMPUS IN RATS UNDER EXPERIMENTAL ACCELERATION

Far Eastern State Medical University, Khabarovsk

Summary

The authors conducted morphometric study of dentate gyrus (DG) neurons and field 1 brain hippocampus in 5-, 14-, 30- and 60-day old rats with experimental acceleration (EA), caused by decrease of the breed to 4 rats and control breed comprising 10-13 rats in 24 hours. The authors measured the cross sectional area of nucleoli, nuclei and cytoplasm of neurons as well as their number density on paraffin slices stained with hallocynine. It was detected that sizes of nucleoli and nuclei in the field I and DG in rats under EA differ from that of a control group 5 days old rats of the experimental group had reliably increased sizes of nucleoli and nuclei, there was a tendency toward an increase of cross sectional area of cytoplasm neurons.

At the age of 14 days, sizes of nucleoli and nuclei in cytoplasm of rats under EA also were bigger than in the control group in the field I and DG (statistically reliable intergroup differences were observed only cross sectional area of cytoplasm. In 30 days old rats, in the field I of hippocampus, size differences did not show reliable intergroup characteristics of neurons, at the age of 60 days, they were characterized by a reliable increase of cross sectional area of nucleoli and cytoplasm. In DG of 30 days old rats with EA there was enlargement of neurons nucleoli sizes, in 60 days old rats, no reliable intergroup differences were detected.

Key words: brain, acceleration, hippocampus, gyrus dentate, morphometry.

Головной мозг крыс при ЭА отличается увеличенной абсолютной и уменьшенной относительной массой, комплексом морфометрических и гистохимических особенностей неокортекса переднетеменной и собственно теменной доли свидетельствующих об опережающих темпах развития органа по сравнению с мозгом контрольных животных. При этом выраженность выявляемых различий зависит от возраста крыс, отдела мозга [8-12].

Ранее нами было показано, что нейроны поля I гиппокампа крыс-акселератов также отличались от таковых у контрольных по ряду морфометрических и гистохимических показателей [9, 10, 12]. Эти данные представляют интерес, поскольку гиппокамп является центральной структурой лимбической системы, играющей важнейшую роль в механизмах памяти и обучения, организации эмоций [7, 13-15].

В то же время, известно, что нейроны разных отделов гиппокампа различаются по ряду морфологических и функциональных характеристик. Одним из отделов гиппокампа является зубчатая извилина (ЗИ) [1, 3, 6, 7]. Важной особенностью ЗИ является выраженная способность к пролиферации плюрипотентных стволовых клеток, локализованных в субгранулярном

слое, сохраняющаяся в зрелом мозге человека и животных, в связи с чем, ЗИ рассматривается как одна из основных ниш локализации нейральных стволовых клеток. При этом установлено, что под влиянием целого ряда воздействий свойства нейронов ЗИ существенно изменяются [1, 2, 4, 6].

В связи с этим, представляет интерес вопрос о том, меняются ли показатели развития и функциональной активности нейронов ЗИ при ЭА. Его рассмотрение можно считать продолжением изучения нейронов гиппокампа при акселерации, с одной стороны, и зон мозга, рассматриваемых как места локализации стволовых нейральных клеток, с другой, у животных с ускоренными темпами роста мозга [9-11]. Последнее представляет интерес и в связи с выявленными ранее отличиями другой зоны расположения стволовых нейральных клеток, субвентрикулярной, в мозге однодневных крысят, отличавшихся массой мозга и толщиной неокортекса [6].

В настоящей работе проведено сопоставление особенностей морфометрических характеристик нейронов ЗИ и нейронов поля I гиппокампа крыс-акселератов в возрасте от 5 до 60 суток, то есть от неонатального периода до начала репродуктивного периода.

Материалы и методы

Моделирование ЭА проведено на разработанной модели, базирующейся на данных о том, что крысыта из пометов с экспериментально уменьшенной численностью отличаются ускоренными темпами роста массы и длины тела, развития гонад [8-12]. Исследовано потомство интактных белых крыс линии Вистар в возрасте 5, 14, 30 и 60 суток групп: 1) из интактных пометов (число крысят в помете 10-13) и 2) из искусственно уменьшенных пометов, в которых через сутки после родов оставляли по 4 крысенка. Животные «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 каждой возрастной группе исследовался мозг животных 2 пометов контрольной группы и 3 пометов – экспериментальной группы. Ле-

вое полушарие фиксировали в жидкости Карнуа, заливали в парафин, из собственно теменной доли готовили срезы толщиной 7 мкм, которые окрашивали метиленовым синим и на нуклеиновые кислоты галлоцианином по Эйнарсону. Проводилось обзорное изучение препаратов, а также (на срезах, окрашенных галлоцианином) – морфометрическое исследование нейронов поля I гиппокампа и ЗИ, включавшее в себя определение площади сечения ядрышек, ядер и цитоплазмы нейронов, и число нейронов в стандартной площади среза ЗИ. Исследования ЗИ проводили в стандартной зоне – под средним участком поля I гиппокампа. Морфометрические показатели определялись на аппарате «Мекос» (медицинские компьютерные системы). Статистический анализ количественных данных проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение

Обзорное изучение препаратов, окрашенных метиленовым синим, а также галлоцианином, не выявило деструктивных, дистрофических изменений нейронов в полях I-IV гиппокампа и зубчатой извилины. Морфометрическое изучение показало, что размеры ядрышек и ядер в поле I и ЗИ гиппокампа у крыс при ЭА отличаются от контрольных. Так, у 5-суточных животных опытной группы они были достоверно увеличены, имелась также тенденция к увеличению площади сечения их цитоплазмы. В 14-суточном возрасте размеры ядрышек, ядер и цитоплазмы у крыс с ЭА также превышали их в контроле в поле I и ЗИ, при этом статистически достоверные межгрупповые различия были только у площади сечения цитоплазмы – она была при ЭА увеличена на 16 % в поле I и 19,6 % в ЗИ (таблица). У 30-суточных крыс в поле I гиппокампа исследованные размерные характеристики нейронов не имели достоверных межгрупповых различий, в 60-суточном

они характеризовались достоверным увеличением площади сечения ядрышек (на 10,6 %) и цитоплазмы (на 12 %). В ЗИ 30-суточных крыс с ЭА имелось лишь увеличение размеров ядрышек нейронов, у 60-суточных – достоверные межгрупповые различия не выявлялись (таблица).

Сопоставление характера межгрупповых отличий размеров ядрышек, ядер и цитоплазмы позволяет полагать, что ядрышко-ядерные и ядерно-цитоплазматические соотношения в исследованных нейронах не претерпевали существенных изменений, так как размеры всех исследованных структур в мозге крыс с ЭА изменялись однонаправленно.

Определение численной плотности нейронов в ЗИ показало, что у 5- и 14-суточных крыс подопытной группы имелось ее достоверное уменьшение, что может объясняться увеличением у них размеров нейронов.

Морфометрические показатели нейронов гиппокампа при экспериментальной акселерации

Площадь сечения, мкм ²	5-суточные		14-суточные		30-суточные		60-суточные	
	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
Ядрышки нейронов поля I гиппокампа	3,3±0,09	3,7±0,10*	4,9±0,15	5,2±0,14	4,2±0,17	4,1±0,09	4,7±0,1	5,2±0,11*
Ядра нейронов поля I гиппокампа	39,9±1,55	45,4±1,4*	77,9±3,92	82,2±3,51	66,2±3,4	69,1±1,9	48,2±1,6	45,4±1,46
Цитоплазма нейронов поля I гиппокампа	29,9±1,04	31,7±0,9	49,9±1,74	57,9±1,9*	45,7±1,3	46,7±0,9	53,6±1,2	60,1±1,6*
Ядрышки нейронов ЗИ	2,9±0,11	3,3±0,11*	3,0±0,11	3,4±0,14	3,7±0,1	4,0±0,11*	3,9±0,15	4±0,1
Ядра нейронов ЗИ	34,6±1,3	40,8±2,2*	41,9±3,4	45,1±3,4	44,3±2,4	48,8±1,5	38,9±2,1	35,2±1,3
Цитоплазма нейронов гиппокампа ЗИ	26,9±0,6	31,7±1,9	30,6±1,0	36,6±1,5*	37,2±1,5	40,6±1,4	38,5±1,7	37,1±0,4
Число нейронов в поле зрения ЗИ	69,9±4,4	53,2±3,6*	71±3,2	61,5±3,8*	62,2±0,9	59,9±1,81	54,5±2,8	53,3±2,4

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

Сопоставление динамики и характера отличий нейронов поля I гиппокампа и ЗИ животных с ЭА от контроля показало, что они однотипны и более выражены в более ранние периоды онтогенеза – у 5- и 14-суточных крыс. Эта закономерность ранее была выявлена и при изучении неокортекса [9-12]. В связи с этим, можно предполагать, что выявленные межгрупповые морфометрические различия нейронов поля I и ЗИ гиппокампа являются одним из общих проявлений ускоренных темпов развития мозга при

ЭА [8-12]. С другой стороны, увеличенные размерные характеристики ядрышек, ядер и цитоплазмы нейронов могут косвенно отражать и повышенный уровень функциональной активности корковых нейронов [6, 7]. Таким образом, ряд морфометрических характеристик этих клеток у животных с ЭА обнаруживается в зонах коры, имеющих разное строение и взаиморасположение нейронов, их различную функциональную специализацию, однотипно отличается от контрольных показателей.

Литература

1. Ветровой О.В., Рыбникова Е.А., Глушенко Т.С., Самойлов М.О. Влияние различных режимов гипобарической гипоксии на экспрессию маркера нейрогенеза NeuroD2 в зубчатой извилине гиппокампа крыс // Бюлл. exper. биол. и мед. – 2015. – Т. 160. – № 10. – С. 519-522.
2. Гадушева Т.А., Поварина П.Ю., Серединин С.Б. Дипептидный миметик мозгового нейротрофического фактора предотвращает нарушение нейрогенеза у стрессированных мышей // Бюлл. exper. биол. и мед. – 2016. – Т. 162. – № 10. – С. 448-451.
3. Гомазков О.А. Нейрогенез как организующая функция взрослого мозга. Достаточно ли доказательств? // Успехи современной биологии. – 2016. – Т. 136. – № 3. – С. 227-246.
4. Лоншаков Д.А., Булыгина В.В., Романова И.В., Дыгало Н.Н. Иммуногистохимический анализ экспрессии активной каспазы-3 в структурах неонатального головного мозга // Бюлл. exper. биол. и мед. – 2009. – Т. 147. – № 5. – С. 567-570.
5. Максимова К.Ю., Стефанова Н.А., Логвинов С.В. Морфологические изменения нейронов в гиппокампе крыс при преждевременном старении // Бюлл. сибирской медицины. – 2014. – Т. 13. – № 1. – С. 56-60.
6. Матвеева Е.П., Рыжавский Б.Я. Морфометрические особенности субвентрикулярной области мозга новорожденных крыс, различающихся величиной массы мозга и степенью развития неокортекса // Дальневосточный медицинский журнал. 2011. – № 4. – С. 93-95.
7. Мотавкин П.А. Введение в нейробиологию. Владивосток: Медицина ДВ, 2003. – 251 с.
8. Рыжавский Б.Я. Развитие головного мозга: отдаленные последствия влияния некомфортных усло-
- вий. Изд. 3-е. – Хабаровск: Изд-во ГОУ ВПО ДВГМУ, 2009. – 278 с.
9. Рыжавский Б.Я., Литвинцева Е.М. Морфометрические и гистохимические особенности неокортекса и гиппокампа экспериментально увеличенного мозга в молочном периоде онтогенеза // Бюлл. exper. биол. и мед. – 2012. – Т. 154, № 7. – С. 108-111.
10. Рыжавский Б.Я., Литвинцева Е.М., Еременко И.Р., Рудман Ю.Ю., Матвеева Е.П., Васильева Е.В. Экспериментальные модели акселерации (морфологическая характеристика) // Дальневосточный медицинский журнал, 2014. – № 4. – С. 78-81.
11. Рыжавский Б.Я., Литвинцева Е.М., Матвеева Е.П. Морфометрические особенности неокортекса и гиппокампа при экспериментальном увеличении массы мозга у крыс (онтогенетический анализ) // Дальневосточный медицинский журнал. – 2010. – № 1. – С. 90-94.
12. Ткач О.В., Рыжавский Б.Я. Влияние акселерации на показатели развития головного мозга крыс // Дальневосточный медицинский журнал. – 2014. – № 3. – С. 83-86.
13. Bertoglio L.G., Joca S.R., Guimaraes F.S. Further evidence that anxiety and memory are regionally dissociated within the hippocampus // Behav Brain Res. – 2006. – № 175 (1). – P. 183-188.
14. Cameron H.A., McKay R.D. Restoring production of hippocampal neurons in old age // Nat. Neurosci. 1999. – Vol. 2. – P. 894-897.
15. Yau J.L., Hibberd C., Seckl J.R. Glucocorticoids and the ageing hippocampus // J. Anat. 2000. – № 197 (4). – P. 553-562.

Literature

1. Vetrovoy O.V., Rybnikova E.A., Glushchenko T.S., Samoilov M.O. Effects of hypobaric hypoxia in various modes on expression of neurogenesis marker NeuroD2 in the dentate gyrus of rats' hippocampus // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2015. – Vol. 160, № 10. – P. 519-522.
2. Gudasheva T.A., Povarina P.Yu., Seredinin S.B. Dipeptide mimetic of the brain-derived neurotrophic factor prevents impairments of neurogenesis in stressed mice // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2016. – Vol. 162, № 10. – P. 448-451.
3. Gomazkov O.A. Neurogenesis as an adaptive function of the adult brain. Is there enough evidence? // Advances in Current Biology. – 2016. – Vol. 136, № 3. – P. 227-246.
4. Lonshakov D.A., Bulygina V.V., Romanova I.V., Dygalo N.N. Immunohistochemical analysis of active caspase-3 expression in structures of neonatal brain // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2009. – Vol. 147, № 5. – P. 567-570.
5. Maksimova K.Yu., Stefanova N.A., Logvinov S.V. Morphological changes in the hippocampus of rats in accelerated aging // Bulletin of Siberian Medicine. – 2014. – Vol. 13, № 1. – P. 56-60.
6. Matveeva E.P., Ryzhavsky B.Ya., Morphometrical features of subventricular zones of the brain of the newborn rats differing in the weight of the brain and degree of neocortex // Far Eastern Medical Journal. – 2011. – № 4. – P. 93-95.
7. Motavkin P.A. Introduction into Neurobiology. – Vladivostok: Far Eastern Medicine, 2003. – 251 p.
8. Ryzhavsky B.Ya. Development of the brain: remote consequences of exposure to uncomfortable conditions. 3rd edition. – Khabarovsk: SEI HPE FESMU Publishing House, 2009. – 278 p.
9. Ryzhavsky B.Ya., Litvintseva E.M. Morphometric and histochemical characteristics of the neocortex and hippocampus of experimentally enlarged rat brain during the suckling period of ontogeny // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2012. – Vol. 154, № 7. – P. 108-111.
10. Ryzhavsky B.Ya., Litvintseva E.M., Eremenko I.R., Rudman Yu.Yu., Matveeva E.P., Vasilyeva E.V. Experimental acceleration models (morphological characteristics) // Far Eastern Medical Journal. – 2014. – № 4. – P. 78-81.
11. Ryzhavsky B.Ya., Litvintseva E.M., Matveeva E.P. Morphometric peculiarities of neocortex and hippocampus during experimental increase of brain mass (ontogenetic analysis) // Far Eastern Medical Journal. – 2010. – № 1. – P. 90-94.
12. Tkach O.V., Ryzhavsky B.Ya. Acceleration effect on rats brain development // Far Eastern Medical Journal. – 2014. – № 3. – P. 83-86.
13. Bertoglio L.G., Joca S.R., Guimaraes F.S. Further evidence that anxiety and memory are regionally dissociated within the hippocampus // Behav Brain Res. – 2006. – № 175 (1). – P. 183-188.
14. Cameron H.A., McKay R.D. Restoring production of hippocampal neurons in old age // Nat. Neurosci. – 1999. – Vol. 2. – P. 894-897.
15. Yau J.L., Hibberd C., Seckl J.R. Glucocorticoids and the ageing hippocampus // J. Anat. – 2000. – № 197 (4). – P. 553-562.

Координаты для связи с авторами: Рыжавский Борис Яковлевич – д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии ДВГМУ, тел. 8-(4212)-76-13-96, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru; Лазинская Ольга Владимировна – канд. биол. наук, доцент кафедры биологии и генетики ДВГМУ, тел. 8-(4212)-76-13-96, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru.



УДК 611.9:616.81:616-056.5]:599.323.4:591.3

Б.Я. Рыжавский, О.В. Лазинская

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ СОДЕРЖАНИЯ, СТИМУЛИРУЮЩИХ РОСТ МАССЫ ТЕЛА КРЫС, НА НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ РАЗВИТИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА В ПРЕПУБЕРТАТНОМ 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

Исследовался головной мозг (ГМ) крыс опытной группы, содержащихся в стандартных клетках по 2 особи в возрасте от 30 до 45 суток и получавших, в добавку к стандартному рациону, куриные яйца. Контрольные животные из этих же помётов содержались по 5 и 6 особей, получали *ad libitum* корм, состоящий из крупы, брикетов, рыбы, молока, овощей, растительного масла, сухарей. В возрасте 45 суток масса тела подопытных крыс превыша-