

Координаты для связи с авторами: Винник Юрий Семенович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой общей хирургии им. проф. М.И. Гульмана ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России; Дунаевская Светлана Сергеевна – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры общей хирургии им. проф. М.И. Гульмана ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России тел. +7-963-191-29-70, e-mail: Vikto-potapenk@yandex.ru; Арапова Валерия Анатольевна – соискатель кафедры общей хирургии им. проф. М.И. Гульмана ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России; Якимов Сергей Владимирович – д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры общей хирургии им. проф. М.И. Гульмана ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России.



УДК 616.805: [613.244 + 577.125]

Б.Я. Рыжавский, О.В. Лазинская

ВЛИЯНИЕ СДЕРЖИВАЮЩЕЙ РОСТ ДИЕТЫ НА НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ РАЗВИТИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС 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) полуторамесячных крыс, содержавшихся с месячного возраста на сдерживающей рост диете. Крысы опытной группы имели значительно уменьшенную, по сравнению с контролем, массу тела (на 35,5 %), гонад. Абсолютная масса ГМ у подопытных крыс была меньше, а относительная – больше, чем в контроле. Толщина коры и ее слоя I в переднетеменной доле (ПТД) не имела достоверных межгрупповых различий, в собственно теменной доле (СТД) ГМ имелось уменьшение толщины коры и слоя I. Численная плотность нейронов в коре СТД, размеры ядрышек, ядер и цитоплазмы нейронов СТД, концентрация в их цитоплазме РНК не различались в ГМ подопытных и контрольных крыс. Активность НАДН-д и НАДФН-д в нейронах неокортекса СТД и НАДФН-д в нейронах поля I гиппокампа у подопытных животных была достоверно выше, чем в контроле.

Ключевые слова: головной мозг, сдерживающая рост массы тела диета, морфометрия, гистохимия.

B.Ya. Rizhavskii, O.V. Lazinskaya

THE EFFECT OF GROWTH RESTRAINING DIET ON SOME INDICATORS OF BRAIN DEVELOPMENT IN RATS IN PRE-PUBERTY PERIOD OF ONTOGENESIS.

Far Eastern State Medical University, Khabarovsk

Summary

The authors studied a month and a half old rats who had been on a growth restraining diet since the age of one month. The rats of the experimental group had significantly gonad body mass compared to a control group decreased (35,5 % less). Brain absolute mass in the experimental group of rats was less and a relative was more than in the control group. Thickness of cortex and its layer in the anterior parietal lobe (APL) does not have a reliable intergroup differences. In the parietal proper lobe (PPL) of the brain there was a decrease of cortex thickness and layer I. Quantitative density of neurons in the cortex of PPL, nucleoli size and cytoplasm of PPL neurons, their concentration in RNA cytoplasm did not differ in the brains of experimental and control animals. Activity of NADN-d and NADFN-d in neurons of neocortex of PPL and in the neurons of hippocampus field I as reliably higher in the experimental group compared to a control one.

Key words: brain, restraining the growth of body weight diet, morphometry, histochemistry.

Сдерживающая рост диета – один из методов, в отношении которого доказана способность значительно увеличивать продолжительность жизни экспериментальных животных. Этот эффект описан в 30-х годах прошлого века и многократно подтвержден. Его реализация осуществлялась резким уменьшением калорийности пищи, потребляемой молодыми, растущими крысами [2, 4, 9].

В то же время известно, что в дорепродуктивном периоде онтогенеза у интактных животных между мас-

сой тела и головного мозга (ГМ) имеется положительная корреляционная зависимость. Установлено также, что при экспериментальной акселерации ГМ имеет большую массу, тогда как при сниженной по разным причинам массе тела наблюдаются уменьшение массы ГМ и его полушарий по сравнению с контрольными показателями [1, 5-7].

Значимость этих фактов заслуживает внимания в связи с тем, что повышение и понижение указанных граvimетрических показателей сочетается с показате-

лями развития разных зон коры ГМ, их нейронов [5-7]. Это обуславливает изучение размерных характеристик ГМ в качестве важного показателя характера его онтогенетического развития и функциональных свойств. При этом в настоящее время изучение проводится как традиционными морфологическими методиками, так и методом магнитно-резонансной томографии [3, 10-12].

Вышеизложенное обосновывает интерес к изучению особенностей развития ГМ животных в усло-

виях содержания их на сдерживающей рост диете. Во-первых, это будет способствовать более полному описанию модели, признанной обуславливающей увеличение продолжительности жизни [2, 4, 9]. Во-вторых, мы полагаем, что получение такой информации будет полезным и для изучения особенностей развития ГМ при отставании темпов роста, дефиците массы тела, которые нередко наблюдаются у детей.

Материалы и методы

Изучались крысы линии Вистар из 2 пометов, каждый из которых в возрасте 1 месяц (возраст окончания молочного периода онтогенеза) был разделен по полам. Из них были сформированы 2 группы: 1) контроль (3 самца, 5 самок) и 2) опыт (4 самца, 5 самок). Крысы контрольной и подопытной групп находились в условиях одного вивария. У контрольных животных рацион состоял из крупы, брикетов, рыбы, молока, овощей, растительного масла, сухарей, который они получали *ad libitum*. Животные опытной группы, начиная с возраста 1 месяц, то есть сразу после окончания молочного периода, в течение 15 суток получали корм из тех же продуктов, уменьшенный по массе до 1/3 от массы корма, съедаемого контрольными крысами в возрасте 1 месяц. Перед началом эксперимента, в месячном возрасте, а также, в возрасте полутора месяцев, была определена масса опытных и контрольных животных. Кроме того, для суждения о величине прироста массы ГМ в возрастном интервале от одного до полутора месяцев определяли массу ГМ у интактных одномесячных крысят (9 самцов, 7 самок из 2 пометов – интактный контроль). После одновременной эвтаназии крыс опытной и контрольной групп (в

возрасте 1,5 месяца) определяли массу их ГМ, правого полушария, гонад. Левое полушарие фиксировали в жидкости Карнуа, заливали в парафин, из области ПТД и СТД готовили срезы толщиной 7 мкм, которые окрашивали метиленовым синим и на нуклеиновые кислоты – галлоцианином по Эйнарсону. Проводили обзорное изучение гистологических препаратов и их морфометрическое изучение. Окуляр-микрометром измеряли толщину коры ПТД и СТД и их слоя I. На криостатных срезах правого полушария в области СТД проводили гистохимическую реакцию на НАДН- и НАДФН-дегидрогеназы (НАДН-д и НАДФН-д соответственно). На компьютерном аппаратном комплексе «Мекос» определяли число нейронов в стандартном поле зрения слоя II и V неокортекса СТД (численную плотность), измеряли площадь сечения ядрышек, ядер и цитоплазмы нейронов слоя II и V неокортекса СТД и гиппокампа, концентрацию РНК в цитоплазме указанных клеток, а также активность НАДН-д и НАДФН-д как описано в [6]. Полученные данные обрабатывали в программе Statistica 6, используя опцию «дескриптивная статистика».

Результаты и обсуждение

Крысы опытной группы имели достоверно и значительно уменьшенную (на 35,5 %) (таблица), по сравнению с контролем, массу тела. Поскольку в возрасте 1 месяц, перед началом эксперимента, она составляла в опытной группе $68 \pm 1,6$ г, в контрольной – 69 ± 2 г, прирост массы тела составил 26 г и 77 г соответственно. Полученные данные свидетельствуют, что примененная диета не привела к остановке роста массы тела, но резко его замедлила. Параллельно с этим у подопытных крыс была достоверно снижена масса гонад (таблица), что можно расценивать как свидетельство замедления их полового созревания.

Абсолютная масса ГМ у подопытных крыс была меньше, чем у контрольных на 5,3 % ($1500 \pm 14,7$ мг против $1584 \pm 15,4$ мг). Поскольку сдерживающая рост диета начала применяться в возрасте 1 месяц, когда у интактного контроля масса ГМ составляла $1371 \pm 23,6$ мг (таблица), можно считать, что ее прирост к достижению возраста 45 суток составил в контроле 213 мг, в опыте – 129 мг, то есть прирост массы ГМ в возрасте от 30 до 45 суток в контроле был выше, чем в опытной группе на 65,1 %. В результате этого абсолютная масса ГМ, а также масса полушария, у подопытных крыс в возрасте 45 суток были достоверно уменьшены. При этом обращает на себя внимание, что степень уменьшения массы ГМ у подопытных крыс была значительно ниже, чем степень уменьшения у

них массы тела, что обусловило значительное увеличение относительной массы ГМ у этих животных (таблица).

Изучение гистологических препаратов полушария ГМ в ПТД и СТД не выявило дистрофических изменений у животных подопытной группы. Толщина коры и ее слоя I в ПТД (соматосенсорная зона) не имела достоверных межгрупповых различий. В СТД (ассоциативная зона) ГМ имелось уменьшение толщины коры и слоя I. Сопоставление этих отличий с приведенными данными об уменьшении массы ГМ и его полушария, не имеющей достоверных различий численной плотности нейронов в коре СТД (таблица) позволяют предполагать, что объем неокортекса в СТД и ПТД а также суммарное число нейронов в коре СТД у подопытных крыс было меньше, чем у контрольных.

Размерные характеристики ядрышек, ядер и цитоплазмы нейронов СТД, концентрация в их цитоплазме РНК не имели статистически достоверных различий в ГМ подопытных и контрольных крыс (таблица). Активность НАДН-д и НАДФН-д в нейронах неокортекса СТД и НАДФН-д в нейронах поля I гиппокампа у подопытных животных была достоверно выше, чем в контроле, что позволяет предполагать интенсификацию в них процессов внутри- и внемитохондриального окисления [8].

Влияние сдерживающей рост диеты на показатели развития головного мозга

Показатели	Опыт	Контроль
Масса тела в 30 сут., г (интактный контроль)	–	61±2,2
Масса мозга в 30 сут., мг (интактный контроль)	–	1371±23,6
Масса тела в 30 сут., г	68±1,6	69±2
Масса тела в возрасте 45 сут., г	94±5,1*	146±1,9
Масса яичника, мг	22,5±0,5*	53,3±5,0
Масса семенника, мг	341±21,7*	600,5±51,0
Масса мозга абс., мг	1500±14,7*	1584±15,4
Масса мозга отн., мг/г	16,1±0,82*	10,9±0,12
Масса полушария, мг	535±12*	568±11
Толщина коры, мкм, ПТД	1710±55	1716±69
Толщина слоя I, мкм, ПТД	130±16	133±14
Толщина коры, мкм, СТД	1225±25*	1330±31,9
Толщина слоя I, мкм, СТД	94±7,3*	124±8,9
Число нейронов в поле зрения, слой II	27,8±1,6	29,6±1,6
Число нейронов в поле зрения, слой V	11,1±0,2	11,6±0,8
Размеры ядрышек, мкм ² :		
слой II	4,1±0,13	3,8±0,1
слой V	6,1±0,22	5,6±0,16
гиппокамп	4,8±0,26	4,6±0,11
Размеры ядер, мкм ² :		
слой II	39±2,2	44±1,96
слой V	68±2,8	64±3,2
гиппокамп	54±1,0	56±1,7
Размеры цитоплазмы, мкм ² :		
слой II	45±2,4	44±1,8
слой V	88±5,2	80±4,1
гиппокамп	55±1,0	55±1,8
Концентрация РНК в цитоплазме, усл. ед.:		
слой II	0,467±0,080	0,456±0,0167
слой V	0,496±0,0189	0,495±0,087
гиппокамп	0,580±0,031	0,580±0,0165
НАДН-д, слой V	0,353±0,0315*	0,262±0,0265
НАДН-д гиппокамп	0,373±0,0335	0,382±0,0089
НАДФН-д, слой V	0,331±0,016*	0,256±0,0072
НАДФН-д гиппокамп	0,479±0,022*	0,325±0,020

Примечание. * – различия между группами статистически достоверны.

Таким образом, замедляющая рост массы тела диета, примененная у крыс после окончания молочного периода онтогенеза, когда интенсивный рост ГМ уже закончен, отражается на некоторых показателях, закономерно изменяющихся в течение онтогенетического развития органа, обусловила уменьшение темпов роста массы мозга, его полушария, а также толщины коры СТД и ее молекулярного слоя. В то же время, замедление темпов роста массы тела не привело к снижению показателей, хотя и меняющихся в онтогенезе,

но тесно связанных и с функциональным состоянием нейронов: их размерных характеристиках, концентрацией РНК [6] и обусловило повышение активности ферментов, связанных с биологическим окислением в нейронах.

Мы полагаем, что полученные данные, дополняя информацию о последствиях применения задерживающей рост диеты, могут послужить для последующего изучения обратимости выявленных отклонений от нормы, возможности воздействовать на них.

Литература

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. – М.: Медицина, 1990.
2. Анисимов В.Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения. – Т. 1. – СПб.: Наука, 2008.
3. Байбаков С.Е. Морфометрические эквиваленты половой изменчивости головного мозга человека в первом периоде детства // Морфология. – 2018. – Т. 133. – № 2. – С. 14.
4. Забуга О.Г., Ахаладзе Н.Г., Вайсерман А.М. Метаболическое программирование: теоретические концепции и экспериментальные доказательства // Успехи геронтологии. – 2013. – Т. 26, № 2. – С. 212.
5. Попова Н.В. Селекция мышей на вес мозга // Генетика. – 1997. – Т. 33. – С. 413-416.
6. Рыжавский Б.Я. Развитие головного мозга: отдаленные последствия влияния некомфортных условий. – 3-е изд., доп.: Хабаровск: Изд-во ДВГМУ, 2009.
7. Рыжавский Б.Я., Лазинская О.В. Особенности головного мозга при экспериментальной акселерации // Морфология. – 2017. – Т. 151, № 3. – С. 99-100.
8. Стайер Л. Биохимия. – М.: Мир, 1984. – Т. 2. – 310 с.
9. Трубицын А.Г. Объединенная теория старения // Успехи геронтологии. – 2012. – Т. 25, № 4. – С. 563-581.
10. Hofman M.A. Evolution of the human brain: when bigger is better // Front Neuroanat. – 2014. – Vol. 27, № 8. – P. 15.

11. Pfefferbaum A., Rohlfing T., Rosenbloom M.J., et al. Variation in longitudinal trajectories of regional brain volumes of healthy men and women (ages 10 to 85 years) measured with atlas-based parcellation of MRI // *Neuroimage*. – 2013. – Vol. 15. – № 65. – P. 176-193.

12. Taki Y., Kinomura S., Sato K., et al. Relationship between body mass index and gray matter volume in 1428 healthy individuals. *Obesity* (Silver Spring). – 2008. – Vol. 16 (1). – P. 119-124.

Literature

1. Avtandilov G.G. *Medical Morphometry*. – M.: Medicine. – 1990.

2. Anisimov V.N. *Molecular and Physiological mechanisms of aging*. – SPb.: «Nauka», 2008. – Vol. 1.

3. Baibakov S.E. Morphometric equivalents of gender changeability in the human brain in the first childhood period // *Morphology*. – 2018. – Vol. 133. – № 2. – P. 14.

4. Zabuga O.G., Akhaladze N.G., Vaiserman A.M. Metabolic programming: Theoretical concepts and experimental evidence. – *Advances in Gerontology*. – 2013. – Vol. 26. – № 2. – P. 212.

5. Popova N.V. Selection of mice by the weight of their brain // *Genetics*. – 1997. – Vol. 33. – P. 413-416.

6. Ryzhavsky B.Ya. *Development of the brain: remote consequences of exposure to uncomfortable conditions*. 3rd edition, updated. – Khabarovsk: Publishing House of the Far Eastern State Medical University, 2009.

7. Ryzhavsky B.Ya., Lazinskaya O.V. Brain during experimental acceleration // *Morphology*. – 2017. – Vol. 151. – № 3. – P. 99-100.

8. Staier L. *Biochemistry*. – M.: Mir, 1984. – Vol. 2. – 310 p.

9. Trubitsyn A.G. United theory of aging // *Advances in Gerontology*. – 2012. – Vol. 25, № 4. – P. 563-581.

10. Hofman M.A. Evolution of the human brain: when bigger is better // *Front Neuroanat*. – 2014. – Vol. 27, № 8. – P. 15.

11. Pfefferbaum A., Rohlfing T., Rosenbloom M.J., et al. Variation in longitudinal trajectories of regional brain volumes of healthy men and women (ages 10 to 85 years) measured with atlas-based parcellation of MRI // *Neuroimage*. – 2013. – Vol. 15. – № 65. – P. 176-193.

12. Taki Y., Kinomura S., Sato K., et al. Relationship between body mass index and gray matter volume in 1428 healthy individuals. *Obesity* (Silver Spring). – 2008. – Vol. 16 (1). – P. 119-124.

Координаты для связи с авторами: Рыжавский Борис Яковлевич – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии ДВГМУ; Лазинская Ольга Владимировна – канд. биол. наук, доцент кафедры биологии и генетики ДВГМУ.