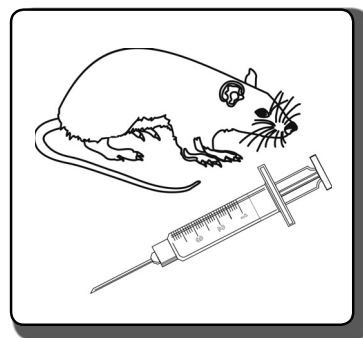


Теоретическая и экспериментальная медицина



УДК 611.313.1/612.825:611.813.3/612.826.5:577.15.02]-018.1:599.323.4

Б.Я. Рыжавский, И.Р. Еременко, Д.И. Жильников, О.В. Лазинская

ОСОБЕННОСТИ НЕЙРОНОВ ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ МОЗГА 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

Исследовалась префронтальная кора мозга 14-, 30- и 60-суточных крыс с экспериментальной акселерацией. Морфометрический анализ показал, что толщина слоя I дорсальной зоны, концентрация РНК в цитоплазме нейронов слоев II и V была во всех исследованных возрастных группах близкой и не имела достоверных межгрупповых различий. Морфометрическое изучение нейронов выявило статистически достоверное увеличение размеров ядер в нейронах слоя V у 30-суточных и 60-суточных крыс. У 14-суточных животных-акселераторов имелось достоверное увеличение размеров цитоплазмы в нейронах слоя II, у 30-суточных – в слое V. У 30-суточных – были достоверно увеличены также размеры ядрышек.

Ключевые слова: мозг, развитие, акселерация, префронтальная кора.

B.Ya. Rizhavskii, I.R. Eremenko, D.I. Zhilnikov, O.V. Lazinskaya

PECULIARITIES OF PRE-FRONTAL CORTEX OF THE BRAIN IN RATS EXPOSED TO EXPERIMENTAL ACCELERATION

Far Eastern state medical university, Khabarovsk

Summary

The authors studied pre-frontal cortex of the brain in 14-, 30- and 60-days rats exposed to experimental acceleration. Morphometric analysis showed that the thickness of I layer of dorsal zone, RNA concentration in neurons cytoplasm in layer II and V age groups were similar in all examined age groups and did not demonstrate a reliable difference between groups. Morphometric study of neurons revealed statistically reliable increase of nuclei in the neuron layer V in 30- and 60-days old rats. 14-days animals accelerators demonstrated a reliable increase of cytoplasm size in layer V. 30-days old animals showed also significantly increased sizes of nucleoli.

Key words: brain, development, acceleration, pre-frontal cortex development.

В работах, ранее выполненных в нашей лаборатории, было показано, что при экспериментальной акселерации, обусловленной уменьшением численности пометов крыс в однодневном возрасте, в последующем – в возрасте 5, 14, 30 суток, животные отличаются от контрольных большей массой и длиной тела, увеличенной массой гонад, гистологическими, гистохимическими признаками их опережающего развития по сравнению с контролем. В возрасте 40 и 60 суток выраженность отличий от контроля уменьшается, но они сохраняются [4, 5, 7]. При этом у подопытных крыс-акселераторов были выявлены гравиметрические, морфометрические, гистохимические признаки опережающего развития головного мозга (ГМ). Они были найдены при изучении коры ГМ в переднетеменной и

собственно теменной доле неокортекса, а также в гиппокампе.

В настоящей работе исследовалась префронтальная кора (ПрФК) животных-акселераторов. Она представляет собой переднюю часть лобных долей, в мозге человека включает в себя 9, 10, 11, 12, 46 и 47 поля, связана с другими кортикальными образованиями, субкортикальными и стволовыми нейронами. Интерес к этой зоне коры в значительной степени определяется тем, что дорсальная префронтальная кора тесно взаимосвязана с регионами мозга, обеспечивающими внимание, когнитивную деятельность и моторику, в то время как вентральная зона взаимосвязана с областями мозга, отвечающими за эмоции. Медиальная префронтальная кора участвует в генерации фазы «глубокого сна», и ее

атрофия связывается с сокращением его доли, ведет к ухудшению консолидации памяти. Важной особенностью префронтального отдела коры является то, что она формируется лишь на поздних этапах филогенеза, развита у приматов и наиболее выражена у человека [3, 10-12]. При этом в настоящее время продолжается дис-

куссия о природе префронтальной коры у видов, не относящихся к приматам. Получены данные, о том, что у крыс есть функционально разделенная префронтальная кора, имеющая свойства медиальной и орбитальной областей и некоторые особенности дорсолатеральной префронтальной коры у приматов [10-12].

Материалы и методы

В работе исследовался ГМ крыс линии Вистар в возрасте 14, 30 и 60 суток, потомство 4-5-месячных самцов и самок. Все животные содержались одновременно в условиях одного вивария, корм и воду получали *ad libitum*. Экспериментальную акселерацию моделировали путем уменьшения численности пометов через сутки после родов. Исследовались 14-, 30-, 60-суточные крысы из искусственно уменьшенных (через сутки после рождения) пометов. В каждой экспериментальной возрастной группе было 3 помета, оставленное число крысят в каждом помете – 4. Контролем служили 14-, 30- и 60-суточные крысята из интактных пометов (по 2 помета каждой возрастной группы, число крысят в каждом помете – 10-13).

Забой животных контрольных и экспериментальных групп производили одновременно, декапитацией. Определяли гравиметрические показатели: массу тела, головного мозга, правого полушария. Левое по-

лушарие фиксировали в жидкости Карнуа, заливали в парафин. Срезы толщиной 7 мкм, ориентированные перпендикулярно длиннику и поверхности полушария в зоне префронтальной коры (ПрК), на основании [13], готовили на микротоме фирмы Reichert, окрашивали 1% метиленовым синим и галлоцианином по Эйнар-сону на нуклеиновые кислоты [1]. Морфометрическое исследование проводили на препаратах ПрФК, окрашенных галлоцианином по Эйнар-сону. Были произведены измерения площади сечения цитоплазмы, ядер и ядрышек нейронов. При помощи окуляр-микрометра МОВ-15 измеряли толщину слоя I дорсальной зоны ПрФК. В каждой зоне в каждом случае измеряли по 25 клеток в 5 полях зрения. На этих же препаратах на аппарате «Мекос» измеряли концентрацию РНК в цитоплазме данных клеток. Статистический анализ данных проводился с помощью программы Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение

Масса ГМ и полушария у подопытных животных изученных возрастных групп превышала ее у контрольных (таблица). Изучение гистологических препаратов 14-, 30- и 60-суточных крыс показало, что в ПрФК как контрольных, так и подопытных, отсутствует разделение на серое и белое вещество. Это определяется тем, что в самой передней части полушария, где локализована ПрФК, серое вещество дорсолатеральной, медиальной и вентральной зон ПрФК «сходятся» в его центральной части, обуславливая отсутствие отграниченного от него белого вещества (рис. 1). Эти наши данные согласуются с микрофотографиями препаратов ПрФК в атласах ГМ крысы [13]. Деление на слои в связи с этим представляется затруднительным. Хорошо отграниченным при этом является слой I, образованный преимущественно нервными волокнами, содержащий небольшое число нейронов. Под ним располагается

слой, соответствующий по топографии слою II, нейроны которого имеют небольшие размеры, располагаются на небольшом расстоянии друг от друга (рис. 1, 2). Остальные слои не имеют четких границ. В то же время, в глубине дорсальной ПрФК, находится слой, имеющий признаки слоя V (ганглиозного) – меньшую плотность расположения нейронов, более крупные размеры их перикарионов, большую базофильную цитоплазму, светлую кариоплазму, крупные ядрышки (рис. 1, 3). Однако, в связи с отсутствием четкой стратификации коры, по-видимому, этот слой ПрФК в мозге крысы более обоснованным будет называть внутренней зоной, а слой, расположенный под слоем I – наружной зоной. В соответствии с этими данными, морфометрическое изучение нейронов было проведено в слое II, четко отграниченном от слоя I, и во внутреннем слое коры, имевшем признаки, характерные для слоя V.

Таблица

Морфометрические особенности префронтальной коры крыс при экспериментальной акселерации

Возраст	14-суток		30-суток		60 суток	
Показатель	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль
Масса полушария	431±14,5*	397±6,4	550±10,5*	514±11,8	662±20,5*	592±36,3
Толщина слоя I, мкм	165±8,5	157±11	158±6,0	152±8,3	211±5,0	206±15
Цитоплазма, площадь, слой II, мкм ²	55±1,6*	49,0±2,5	72±3,6	68,4±3,3	51±1,8	49±1,4
Ядра, площадь, слой II, мкм ²	83±3,2	73±4,3	104±3,8	100±4,0	75±4,0	70±3,4
Ядрышки, площадь, слой II, мкм ²	4,9±0,18	4,6±0,23	6,3±0,36	5,7±0,22	4,6±0,2	4,8±0,33
Концентрация РНК в цитоплазме, слой II, усл. ед.	0,262±0,015	0,241±0,024	0,193±0,015	0,23±0,010	0,216±0,019	0,222±0,023
Цитоплазма, площадь, слой V, мкм ²	65±2,9	66±3,6	91±6,0*	75±3,0	61±4	54±1,4
Ядра, площадь, слой V	100±4,8	96±4,6	126±7,4*	109±4,6	81±5,0*	68±1,8
Ядрышки, площадь, слой V, мкм ²	5,5±0,26	5,4±0,2	8,0±0,51*	6,6±0,2	5,9±0,4	5,3±0,24
Концентрация РНК в цитоплазме, слой V, усл. ед.	0,255±0,05	0,310±0,011	0,254±0,02	0,222±0,015	0,24±0,021	0,268±0,022
Размеры нейронов, мкм ² , слой II	137±3,7*	101±3,6	176±5,9	169±7,2	125±5,6	119±2,6
слой V	165±5,8	151±5,7	216±12,9*	184±7,8	143±9,3*	121±2,1



Рис. 1. Префронтальная кора 14-суточной крысы. Вверху – дорсальная зона, внизу – вентральная. Окраска галлоксианином. Увеличение 4×10

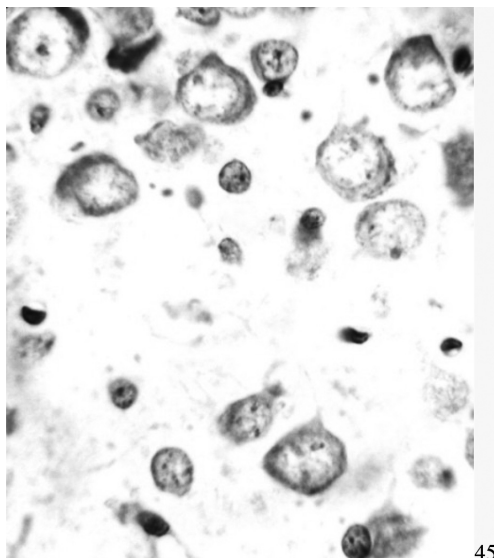
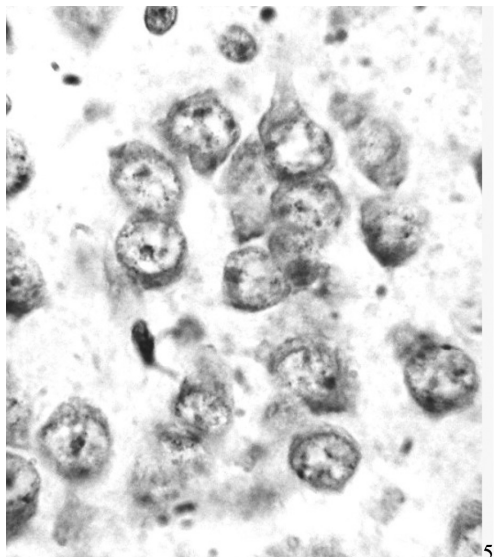


Рис. 2, 3. Префронтальная кора 14-суточной крысы. Слой II (рис. 2), слой V (рис. 3). Окраска галлоксианином. Увеличение 100×10

Морфометрический анализ показал, что толщина слоя I дорсальной зоны ПрФК была во всех исследованных возрастных группах близкой и не имела достоверных межгрупповых различий (таблица). Морфометрическое изучение нейронов выявило статистически достоверное увеличение ядер в нейронах слоя V у 30-суточных и 60-суточных крыс. У 14-суточных животных-акселератов имелось достоверное увеличение площади сечения цитоплазмы в нейронах слоя II, у 30-суточных – в слое V. У последних были достоверно увеличены также размеры ядрышек. В результате увеличения площади сечения как ядер, так и цитоплазмы нейронов, размеры их перикарионов в ПрФК у подопытных крыс были больше, чем у контрольных (статистически достоверно в слое II у 14-суточных, в слое V – у 30- и 60-суточных животных (таблица).

Концентрация РНК в цитоплазме нейронов слоя II и V ПрФК не имела статистически значимых различий в мозге животных всех возрастных групп (таблица). Оценивая это, следует учитывать большие размеры перикарионов в коре у подопытных крыс и, по-видимому, большие размеры их отростков (в связи с большей массой/размерами мозга и полушарий. В связи с этим можно высказать предположение, что содержание РНК в «пересчете на нейрон» у подопытных животных большее, чем в контроле. Однако, данное предположение требует проверки.

Описанные морфометрические особенности нейронов, согласно данным литературы, можно, по-видимому, расценивать как свидетельство их большей, чем у контрольных крыс, функциональной активности [2, 9]. При этом заслуживает внимания тот факт, что выявленные при изучении ПрФК отличия нейронов по направленности однотипны с описанными ранее в неокортексе переднетеменной и собственно теменной доли а также в гиппокампе у крыс-акселератов [4-6]. Эта однонаправленность изменений нейронов коры разных отделов мозга, в сочетании с другими морфофункциональными особенностями, отмеченными ранее, подтверждает положение о том, что развитие мозга при экспериментальной акселерации происходит опережающими темпами [4-7].

Изложенные данные об особенностях ПрФК согласуются также с ранее полученными материалами о том, что исследованные в настоящей работе крысы-акселераты в 25-суточном возрасте отличались от контрольных (по медиане) в 1,5 раза большим временем стояк и в 1,4 раза их количеством, а также большим временем пребывания в открытых рукавах лабиринта и большим числом выходов в них. Эти отличия расцениваются как свидетельство большей исследовательской активности 25-суточных крыс с экспериментальной акселерацией [8].

Таким образом, ПрФК ГМ крыс-акселератов, как и кора переднетеменной и собственно теменной долей гиппокампа, имеет ряд морфометрических отличий от контрольной. Эти отличия могут, с одной стороны, рассматриваться как один из факторов, определяющих выявленные ранее особенности поведения подопытных животных, а с другой – как способные влиять на функциональные свойства ГМ в последующем.

Литература

1. Бухвалов И.Б. Руководство. Микроскопическая техника. – М.: Медицина, 1996. – 545 с.
2. Герштейн Л.М., Сергутина А.В. Некоторые морфохимические особенности гиппокампа крыс, различающихся по двигательной активности в «открытом поле» // *Нейрохимия*. – 2003. – Т. 20, № 2. – С. 116-119.
3. Лурья А.Р. Основы нейропсихологии. – 6-е изд. – Academia, 2008. – 384 с.
4. Рыжавский Б.Я., Лазинская О.В. Особенности головного мозга крыс при экспериментальной акселерации // *Морфология*. – 2017, № 3. – С. 99-100.
5. Рыжавский Б.Я., Литвинцева Е.М., Учакина Р.В. Влияние численности помётов крыс на показатели развития мозга, гонад и надпочечников // *Дальневосточный медицинский журнал*. – 2009. – № 1. – С. 85-87.
6. Рыжавский Б.Я., Литвинцева Е.М., Учакина Р.В. Сопоставление величины массы мозга с морфометрическими и гистохимическими характеристиками нейронов коры, показателями высшей нервной деятельности у крыс в препубертатном периоде онтогенеза // *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. – 2009. – Т. 148, № 8. – С. 236-240.
7. Рыжавский Б.Я., Ткач О.В. Морфологические особенности головного мозга крыс при акселерации в неонатальном и молочном периодах онтогенеза // *Тихоокеанский медицинский журнал*. – 2016. – № 2. – С. 93-96.
8. Ткач О.В., Демидова О.В., Рыжавский Б.Я. Особенности поведения одномесячных и двухмесячных крыс при акселерации // *Дальневосточный медицинский журнал*. – 2015. – № 3. – С. 86-89.
9. Ченцов Ю.С. Общая цитология. – М.: Изд-во МГУ, 2005. – 384 с.
10. Goldman-Rakic P.S., Porrino L.J. The primate mediodorsal (MD) nucleus and its projection to the frontal lobe // *J Comp Neurol*. – 1985. – Vol. 242 (4). – P. 535-560.
11. Preuss T.M. Do rats have prefrontal cortex? The rose-woolsey-akert program reconsidered // *J. Cogn. Neurosci*. 1995. – Vol. 7 (1). – P. 1-24.
12. Uylings H.B., Groenewegen H.J., Kolb B. Do rats have a prefrontal cortex? // *Behav Brain Res*. – 2003. – Vol. 146 (1-2). – P. 3-17.
13. Watson C., Paxinos G. The Rat Brain in stereotaxis coordinates. – London, San Diego: Academic Press, 2007. – 456 p.

Literature

1. Bukhvalov I.B. A guide. Microscopic equipment. – M.: Medicine. – 1996. – 545 p.
2. Gershtein L.M., Sergutina A.V. Some morphochemical features of the hippocampus of rats that differ in motor activity in the 'open field' // *Neurochemistry*. – 2003. – Vol. 20, № 2. – P. 116-119.
3. Luriya A.R. Fundamentals of neuropsychology. – 6th Edition. Academia, 2008. – 384 p.
4. Ryzhavsky B.Ya., Lazinskaya O.V. Peculiarities of rat' brain in experimental acceleration // *Morphology*. – 2017. – № 3. – P. 99-100.
5. Ryzhavsky B.Ya., Litvintseva E.M., Uchakina R.V. Effect of litter size on indices of brain, gonads and adrenal development of rats // *Far Eastern Medical Journal*. – 2009. – № 1. – P. 85-87.
6. Ryzhavsky B.Ya., Litvintseva E.M., Uchakina R.V. Comparing the value of brain mass with morphometric and histochemical characteristics of neurons, indices of higher nervous activity in rats in prepubertal ontogenesis // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2009. – Vol. 148, № 8. – P. 236-240.
7. Ryzhavsky B.Ya., Tkach O.V. Morphological peculiarities of rats' brain in acceleration during neonatal ontogenesis // *Pacific Medical Journal*. – 2016. – № 2. – P. 93-96.
8. Tkach O.V., Demidova O.V., Ryzhavsky B.Ya. Behavioral peculiarities of one and two-month old rats in acceleration. // *Far Eastern Medical Journal*. – 2015. – № 3. – P. 86-89.
9. Chentsov Yu.S. Fundamentals of Cytology. – M.: Publishing House of MSU. – 2005. – 384 p.
10. Goldman-Rakic P.S., Porrino L.J. The primate mediodorsal (MD) nucleus and its projection to the frontal lobe // *J Comp Neurol*. – 1985. – Vol. 242 (4). – P. 535-560.
11. Preuss T.M. Do rats have prefrontal cortex? The rose-woolsey-akert program reconsidered // *J. Cogn. Neurosci*. 1995. – Vol. 7 (1). – P. 1-24.
12. Uylings H.B., Groenewegen H.J., Kolb B. Do rats have a prefrontal cortex? // *Behav Brain Res*. – 2003. – Vol. 146 (1-2). – P. 3-17.
13. Watson C., Paxinos G. The Rat Brain in stereotaxis coordinates. – London, San Diego: Academic Press, 2007. – 456 p.

Координаты для связи с авторами: Рыжавский Борис Яковлевич – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии ДВГМУ, тел. 8-(4212)-76-13-96; Еременко Инна Рамазановна – канд. мед. наук, доцент кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии ДВГМУ; Жильников Дмитрий Игоревич – аспирант кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии ДВГМУ; Лазинская Ольга Владимировна – доцент кафедры биологии ДВГМУ.

