

УДК 611.313.1/612.825:611.826.5:577.15.02]-018.1:599.323.4

Б.Я. Рыжавский, О.В. Лазинская, Е.А. Камальдинова, Е.Б. Мухоморова, Я.В. Сашенко

ОСОБЕННОСТИ НЕЙРОНОВ МОТОРНОЙ, СОМАТОСЕНСОРНОЙ И ПОЯСНОЙ ОБЛАСТЕЙ ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ 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

Изучали морфометрические характеристики нейронов нескольких зон префронтальной коры мозга у месячных крыс с экспериментальной акселерацией. У крыс экспериментальной группы в коре исследованных зон, как во внутренних, так и в наружных, слоях имеется увеличение размеров цитоплазмы и ядер нейронов. Размеры ядрышек были увеличены в нейронах наружного ($P<0,05$) и внутреннего слоев моторной ($P>0,05$), наружных слоев соматосенсорной ($P<0,05$) и внутренних слоев поясной коры ($P>0,05$). Это расценивается как показатель опережения этими кортикальными нейронами темпов развития по сравнению с нейронами коры контрольных животных. Концентрация нуклеиновых кислот в исследованных нейронах у крыс с экспериментальной акселерацией была достоверно меньшей, чем в контроле, в ядрах нейронов наружного слоя моторной и внутреннего слоя поясной коры; в ядрышках нейронов наружного и внутреннего слоев поясной коры.

Ключевые слова: головной мозг, префронтальная кора, акселерация, морфометрия.

B.Ya. Rizhavskii, O.V. Lazinskaya, E.A. Kamaldinova, E.B. Mukhomorova, Ya.V. Sashchenko

PECULIARITIES OF NEURONS OF MOTOR, SOMATOSENSORY AND CINGULATE AREAS OF PREFRONTAL CORTEX IN RATS UNDER EXPERIMENTAL ACCELERATION

Far Eastern State Medical University, Khabarovsk

Summary

The morphometric characteristics of the neurons of several zones of the prefrontal cortex were studied in monthly rats under experimental acceleration. In rats of the experimental group in the cortex of the studied zones, both in the inner and outer layers, there is an increase in the size of the cytoplasm and nuclei of neurons. The size of the nucleoli was increased in the neurons of the outer ($P<0,05$) and inner layers of the motor ($P>0,05$), outer layers of the somatosensory ($P<0,05$) and inner layers of the cingulate cortex ($P>0,05$). This is regarded as an indicator of the pace of development of these cortical neurons in comparison with the neurons of the cortex of control animals. The concentration of nucleic acids in the studied neurons in rats under experimental acceleration was significantly lower than in the control, in the nuclei of neurons in the outer layer of the motor and inner layer of the cingulate cortex; in the nucleoli of neurons of the outer and inner layers of the cortex.

Key words: brain, prefrontal cortex, acceleration, morphometry.

В наших исследованиях [8-11] было показано, что крысы с экспериментальной акселерацией (ЭА) в дорепродуктивном периоде онтогенеза имеют ряд признаков опережающего развития головного мозга (ГМ). Они проявлялись большей абсолютной массой ГМ, полушария, меньшей численной плотностью нейронов в коре переднетеменной (соматосенсорной) и собственно теменной (ассоциативной) зон [8, 10, 11], увеличенными морфометрическими характеристиками нейронов в дорсальной зоне префронтальной [9] коры. В настоящей работе исследовалась префронтальная кора животных-акселераторов. Она является передней частью коры лобных долей. Ее дорсальная часть тесно взаимосвязана с регионами мозга, обеспечивающими когнитивную деятельность и моторику, вентральная зона связана с областями мозга, отвечающими за эмоции, медиальная – участвует в генерации фазы «глубокого сна», консолидации памяти. Префронтальная кора формируются лишь на поздних этапах филогенеза, она развита у приматов и наиболее выражена у человека [5, 16-17]. В то же время установлено, что у крыс есть префронтальная кора, имеющая свойства сходные с ней у приматов [16-17]. При этом в ней выделяются

зоны, обладающие различными функциональными свойствами, в частности, моторная, соматосенсорная и поясная кора [15].

Поясная кора – это ключевой элемент лимбической системы. Она участвует в регуляции вегетативных и эндокринных функций, локомоции, обработке поступающей информации, оценке эмоций, играет важнейшую роль в социальных взаимоотношениях и подвергается изменениям при психопатологических состояниях, в первую очередь, при депрессии и шизофрении [3]. У крыс медиальная префронтальная кора участвует в формировании оборонительного поведения, разрушение ее медиальных отделов приводит к расстройствам полового поведения, отсутствию мимических и голосовых эмоциональных реакций [6]. У грызунов поясная кора представлена преимущественно глутаматэргическими нейронами, связана со структурами поля СА1 гиппокампа, моноаминоэргическими стволовыми центрами [12]. В поясной, а также в первичной моторной коре, фронтальной области, дорсальной премоторной области были обнаружены зеркальные нейроны, активирующиеся как при выполнении каких-то действий, так и при наблюдении за этим

[1, 4]. Вышеизложенное определило цель настоящего исследования – изучить морфометрические характеристики некоторых зон префронтальной коры, сопоста-

вить их с результатами их изучения в других областях неокортекса и в гиппокампе.

Материалы и методы

Изучался ГМ крыс в возрасте 1 месяца 2 групп: контрольной и с ЭА. Крысы обеих групп являлись потомством интактных 4-5-месячных самцов и самок, содержались одновременно в одинаковых условиях вивария, корм и воду получали *ad libitum*. Содержание животных и эвтаназия проводились согласно «Правилам проведения работ с экспериментальными животными» (Приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.09. 1977 г.). ЭА вызывалась уменьшением численности пометов (3 помета) в результате удаления через сутки после родов части крысят и оставления в них по 4 крысенка (2 самца, 2 самки). В контрольной группе (2 помета) число крысят в помете составляло 10 и 12.

У животных определяли показатели, считающиеся признаками акселерации: массу и длину тела, массу надпочечников, гонад. При изучении ГМ определяли его абсолютную и относительную массу, массу правого полушария. Левое полушарие фиксировали в жидкости Карнуа, заливали в парафин. Срезы толщиной 7 мкм префронтальной коры, ориентированные перпендикулярно длиннику и поверхности полушария, окрашивали 1 % метиленовым синим и галлоци-

анином по Эйнарсону на нуклеиновые кислоты (НК). На основании [15] определяли локализацию в них первичной моторной коры (M1), соматосенсорной коры (S1J) и поясной коры (Cg1). При помощи окуляр-микрометра МОВ-15 измеряли толщину слоя I моторной, соматосенсорной и опоясывающей коры. На аппарате «Мекос» (медицинские компьютерные системы) измеряли площадь сечения цитоплазмы, ядер и ядрышек нейронов, а также концентрацию НК в них в каждой зоне. В каждом случае, в каждой зоне коры, измеряли по 20-25 клеток в 3 полях зрения наружного и 20-25 клеток внутреннего слоя. Гравиметрические показатели были изучены у 22 животных контрольной группы и 12 – экспериментальной; морфометрические и гистохимические – у 8 крыс контрольной и 8 – экспериментальной группы.

Статистический анализ данных проводился с помощью программы Statistica 6.0. Проводился подсчет средних арифметических величин и их стандартных ошибок. Достоверность отличий между группами оценивалась с применением t-критерия Стьюдента с поправкой для малых групп. Межгрупповые различия считали статистически достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Животные экспериментальной группы имели следующие признаки акселерации: большую длину ($16 \pm 0,4$ см против $13 \pm 0,5$ см), массу тела ($80 \pm 3,0$ г против $61 \pm 2,2$ г), надпочечников ($22,5 \pm 1,0$ против $17 \pm 0,3$ мг), семенников (537 ± 95 мг против 83 ± 6 мг), яичников ($29 \pm 3,4$ мг против $15 \pm 1,2$ мг). Все перечисленные межгрупповые различия были статистически достоверными. Они сочетались с различиями гравиметрических показателей ГМ. Его абсолютная масса составляла 1486 ± 18 мг (в контроле – 1371 ± 24 мг), относительная – $18,8 \pm 0,55$ мг/г (в контроле – $22,6 \pm 0,62$ мг/г), масса полушария – 550 ± 10 мг и 514 ± 12 мг соответственно.

В исследованной части префронтальной коры (Bregma 4,20 мм) разные ее зоны «соединяются» своими внутренними слоями в центре, в связи с чем в ней нет четко отграниченного от коры белого вещества полушария. Шестислойное строение, присущее неокортексу, здесь не выявляется [7, 9, 15]. В связи с этим морфометрию нейронов проводили в наружных и во внутренних слоях каждой из зон. Последние отличались уже при визуальном изучении препаратов меньшей плотностью расположения нейронов и большими их размерами (рисунок). Измерение толщины слоя I во всех исследованных зонах не выявило достоверных межгрупповых различий (таблица). Изучение размерных характеристик нейронов в коре интактных животных показало, что они достоверно различаются в ее моторной, соматосенсорной и поясной зонах (таблица). У крыс с ЭА в коре всех исследованных зон, как во внутренних, так и в наружных, слоях было выявлено увеличение площади сечения цитоплазмы и ядер нейронов. Размеры ядрышек были увеличены

в нейронах наружного ($P < 0,05$) и внутреннего слоев моторной ($P > 0,05$), наружных слоев соматосенсорной ($P < 0,05$) и внутренних слоев поясной коры ($P > 0,05$) (таблица). Известно, что увеличение размеров нейронов является одним из процессов, закономерно происходящих на ранних этапах постнатального органогенеза ГМ [11]. В связи с этим, большие, чем в контроле, размеры ядер и цитоплазмы нейронов исследованных зон у крыс с ЭА являются показателем опережения этими кортикальными нейронами темпов развития, характерных для нейронов контрольных животных.

Концентрация НК в нейронах у крыс с ЭА была достоверно меньшей, чем в контроле в ядрах нейронов наружного слоя моторной и внутреннего слоя поясной коры. В ядрышках это регистрировалось в нейронах наружного и внутреннего слоев поясной коры (таблица). Оценивая эти результаты, следует учитывать, что при окраске галлоцианином выявляются как РНК, так и ДНК. Кроме того, поскольку нейроны неокортекса являются диплоидными клетками, содержание в ДНК в их ядрах является одинаковым. Выявленные различия концентрации НК могут обуславливаться увеличением объема ядер и ядрышек, содержащих ДНК, а также разной концентрацией в них РНК [14]. В связи с этим снижение концентрации НК не свидетельствовало об уменьшении их содержания в ядре, ядрышке или во всем перикарионе. Результаты изучения концентрации НК в нейронах, полученные нами, согласуются с данными об уменьшении концентрации НК в ГМ животных по мере их роста, которое происходило более выражено у крыс, выращенных в условиях обогащенной среды и отличавшихся опережающими темпами развития ГМ [2].

Полученные в настоящей работе данные свидетельствуют, что у месячных крыс с ЭА нейроны префронтальной коры в ее первичной моторной (M1), соматосенсорной (S1J) и поясной (Cg1) областях [15] имеют отличия от соответствующих нейронов контрольных животных. Эти межгрупповые отличия являются однонаправленными с обнаруженными ранее при изучении коры переднетеменной, собственно теменной, дорсальной префронтальной зон неокортекса, а также гиппокампа [8-11]. Это

дает основания говорить о том, что животные с ЭА характеризуются опережающим развитием разных зон коры, сочетающимся с увеличением массы ГМ, полушария. С другой стороны, поскольку исследованные в настоящей работе области коры определяют важные стороны высшей нервной деятельности [1, 3, 5, 6, 12, 16, 17], можно предполагать, что выявленные морфометрические и гистохимические отличия их нейронов обуславливали особенности поведения, отмеченные у крыс с ЭА [11, 13].

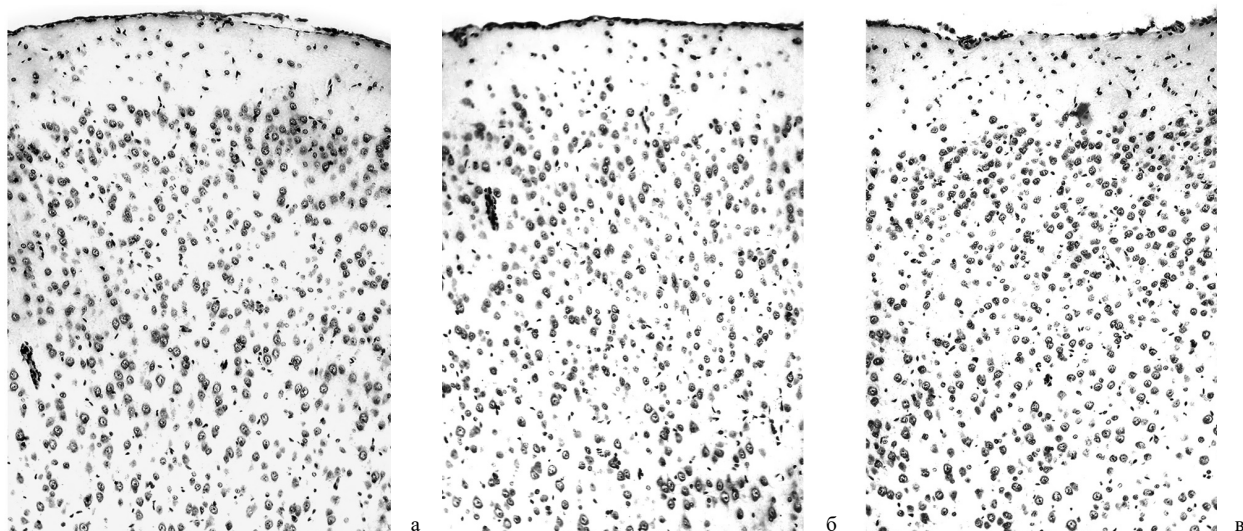


Рис. Префронтальная кора: поясная кора (а), моторная кора (б), соматосенсорная кора (в). Окраска галлоцианином. Увеличение 20*15

Таблица

Морфометрические особенности нейронов разных зон префронтальной коры при экспериментальной акселерации*

Показатели	Моторная кора		Соматосенсорная кора		Поясная кора	
	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль
Толщина слоя I, мкм	70±3,4	73±5,5	69±6,4	65±5,0	77±3,7	68±4,4
Наружный слой коры, площадь ядрышка, мкм ²	4,3±0,18*	3,8±0,16 ³	4,7±0,29*	3,9±0,24 ³	4,9±0,15	4,9±0,28
площадь ядра, мкм ²	68±1,9*	56±2,6 ³	62±2,4*	55±2,5 ³	87±2,4*	71±0,31, ^{1,2}
Площадь цитоплазмы, мкм ²	61±2,2*	54±2,2 ²	73±2,7*	65±2,0 ^{1,3}	64±4,0*	55±1,4 ²
Концентрация НК, усл. ед. ядрышки	0,68±0,021*	0,792±0,029	0,621±0,047*	0,746±0,016	0,659±0,2	0,732±0,037
Концентрация НК, усл. ед. ядра	0,435±0,017*	0,530±0,024	0,388±0,052	0,489±0,014	0,446±0,14	0,492±0,032
Концентрация НК, усл. ед. цитоплазма	0,484±0,016	0,516±0,013 ²	0,420±0,042	0,464±0,010 ¹	0,399±0,012	0,417±0,029
Внутренние слои коры, площадь ядрышка, мкм ²	5,9±0,39	5,0±0,32	5,3±0,32	5,2±0,51	6,3±0,3	5,7±0,29
площадь ядра, мкм ²	81±3,8*	69±2,6 ³	75±5,7	65±3,8 ³	100±4,0*	84±2,2 ^{1,2}
Площадь цитоплазмы, мкм ²	80±4,5*	68±4,3 ²	99±2,5*	85±4,5 ^{1,3}	81±3,8	74±2,6 ²
Концентрация НК, усл. ед. ядрышки	0,716±0,032	0,721±0,010 ²	0,73±0,019	0,65±0,021 ^{1,3}	0,68±0,02*	0,756±0,016 ²
Концентрация НК, усл. ед. ядра	0,429±0,018	0,455±0,09	0,405±0,017	0,460±0,011 ³	0,439±0,022*	0,499±0,013 ²
Концентрация НК, усл. ед. цитоплазма	0,515±0,018	0,502±0,08	0,472±0,016	0,490±0,016	0,43±0,02	0,477±0,023

Примечание. * – межгрупповые различия статистически достоверны, ^{1,2,3} – различия достоверны с показателями в моторной (¹), соматосенсорной (²), поясной (³) коре контрольных животных.

Литература

- Базян А.С. Зеркальные нейроны, физиологическая роль, особенности функционирования и эмоционально насыщенная когнитивная карта мозга // Успехи физиологических наук. – 2019. – Т. 50, № 2. – С. 42-62.
- Витвицкая Л.В., Бикбулатова Л.С., Витвицкий В.Н. Изменения содержания нуклеиновых кислот и белков в различных отделах мозга крыс, выращенных в условиях обогащенной и обедненной среды // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 1982. – Т. 32, № 3. – С. 455-463.
- Коржевский Д.Э., Григорьев И.П., Новикова А.Д., Ковальчук В.А., Кирик О.В. Холинергические структуры поясной коры головного мозга крысы // Медицинский академический журнал. – 2013. – Т. 13, № 3. – С. 49-53.
- Лебедева Н.Н., Zufman A.I., Мальцев В.Ю. Система зеркальных нейронов мозга: ключ к обучению, формированию личности и пониманию чужого сознания // Успехи физиологических наук. – 2017. – Т. 48, № 4. – С. 16-28.

5. Лурия А.Р. Основы нейропсихологии. – 6-е изд. – Academia, 2008. – 384 с.
6. Мещеряков А.Ф., Судаков К.В. Участие поясной коры в формировании оборонительного поведения крыс // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2010. – Т. 149, № 6. – С. 604-607.
7. Мусеридзе Д.П., Гегенава Л.Г. Влияние этанола на плотность расположения нейронов в лимбической коре головного мозга и коррекция вызванных изменений антиоксидантом доливином // Морфология. – 2009. – Т. 135, № 3. – С. 20-23.
8. Рыжавский Б.Я., Лазинская О.В. Особенности головного мозга крыс при экспериментальной акселерации // Морфология. – 2017. – № 3. – С. 99-100.
9. Рыжавский Б.Я., Еременко И.Р., Жильников Д.И., Лазинская О.В. Особенности нейронов префронтальной коры мозга крыс при экспериментальной акселерации // Дальневосточный медицинский журнал. – 2019. – № 1. – С. 64-67.
10. Рыжавский Б.Я., Литвинцева Е.М., Учаскина Р.В. Сопоставление величины массы мозга с морфометрическими и гистохимическими характеристиками нейронов коры, показателями высшей нервной деятельности у крыс в препубертатном периоде онтогенеза // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2009. – Т. 148, № 8. – С. 236-240.
11. 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.
12. Саульская Н.Б. Генерализация страха в моделях на животных: нейрофизиологические механизмы и возможные мишени коррекции // Успехи физиологических наук. – 2018. – Т. 49, № 4. – С. 12-29.
13. 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.
14. Ченцов Ю.С. Общая цитология. – М.: Изд-во МГУ, 2005. – 384 с.
15. Paxinos G., Watson C. The rat brain in Stereotaxic Coordinates. – Academic press, 2014. – 456 p.
16. Preuss T.M. Do rats have prefrontal cortex? The rose-woolsey-akert program reconsidered // J. Cogn. Neurosci. – 1995. – Vol. 7 (1). – P. 1-24.
17. 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.

Literature

1. Bazyan A.S. Mirror neurons, physiological role, features of functioning and emotionally saturated cognitive map of the brain // Advances in Physiology. – 2019. – Vol. 50, № 2. – P. 42-62.
2. Vitvitskaya L.V., Bikbulatova L.S., Vitvitsky V.N. Changes in nucleic acid and protein content in different regions of the brain in rats reared enriched and impoverished environments // I.P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity. – 1982. – Vol. 32, № 3. – P. 455-463.
3. Korzhavsky D.E., Grigoryev I.P., Novikova A.D., Kovalchuk V.A., Kirik O.V. Cholinergic structures of the rat cortex // Academic Medical Journal. – 2013. – Vol. 13, № 3. – P. 49-53.
4. Lebedeva N.N., Zufman A.I., Maltzev V.Yu. The system of mirror neurons of the brain: the key to learning, personality formation and understanding of other people's consciousness. Advances in Physiological Sciences. – 2017. – Vol. 48, № 4. – P. 16-28.
5. Luriya A.R. Fundamentals of Neuropsychology. – 6th Edition. – Academia, 2008. – 384 p.
6. Meshcheryakov A.F., Sudakov K.V. The participation of the cingulate cortex in the formation of the defensive behavior of rats // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2010. – Vol. 149, № 6. – P. 604-607.
7. Museridze D.P., Gegenava L.G. The effect of ethanol on the density of neurons in the limbic cortex and the correction of the changes caused by the antioxidant dolivin // Morphology. – 2009. – Vol. 135, № 3. – P. 20-23.
8. Ryzhavsky B.Ya., Lazinskaya O.V. Peculiarities of rats' brain in experimental acceleration // Morphology. – 2017. – № 3. – P. 99-100.
9. Ryzhavsky B.Ya., Eremenko I.R., Zhilnikov D.I., Lazinskaya O.V. Peculiarities of prefrontal cortex of the brain in rats exposed to experimental acceleration // Far Eastern Medical Journal. – 2019. – № 1. – P. 64-67.
10. Ryzhavsky B.Ya., Litvintseva E.M., Uchasкина 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.
11. Ryzhavsky B.Ya., Tkach O.V. Morphological peculiarities of rats' brain in acceleration during neonatal ontogenesis // Pacific Medical Journal. – 2016. – № 2. – P. 93-96.
12. Saulskaya N.B. Generalization of fear in animal models: neurophysiological mechanisms and possible correction targets // Advances in Physiological Sciences. – 2018. – Vol. 49, № 4. – P. 12-29.
13. 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.
14. Chentsov Yu.S. General Cytology. – M.: Publishing House of Moscow State University. – 2005. – 384 p.
15. Paxinos G., Watson C. The rat brain in Stereotaxic Coordinates. – 2014. – Academic press. – 456 p.
16. Preuss T.M. Do rats have prefrontal cortex? The rose-woolsey-akert program reconsidered // J. Cogn. Neurosci. – 1995. – Vol. 7 (1). – P. 1-24.
17. 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.

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; Лазинская Ольга Владимировна – канд. биол. наук, доцент кафедры биологии ДВГМУ; Камальдинова Елена Александровна, Мухоморова Екатерина Борисовна, Сащенко Яна Витальевна – студенты 6-го курса отделения медицинской биохимии, дипломники кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии ДВГМУ.