



Фундаментальная медицина

<http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2021-2-37-40>

УДК 612.823-037.12:591.134.5]:599.323.4-053.1:001.8

Б.Я. Рыжавский, Д.И. Жильников

АНАЛИЗ ЗАВИСИМОСТИ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ РАЗВИТИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС В МЕСЯЧНОМ ВОЗРАСТЕ ОТ ДИНАМИКИ МАССЫ ТЕЛА В НЕОНАТАЛЬНОМ И МОЛОЧНОМ ПЕРИОДАХ ОНТОГЕНЕЗА

*Дальневосточный государственный медицинский университет,
680000, ул. Муравьева-Амурского, 35, тел. 8-(4212)-30-53-11, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru, г. Хабаровск*

Резюме

На интактных крысах линии Вистар установлено, что между массой тела в возрасте 1, 7, 14, 21 и 30 суток и массой их мозга и полушарий в возрасте 30 суток имеется положительная корреляционная зависимость. Показано, что крысята, относящиеся к кластеру, характеризовавшемуся в возрасте 1 суток большей массой тела, отличались большей ее величиной и в возрасте 7, 14, 21 и 30 суток. При этом в возрасте 30 суток масса их мозга и полушарий достоверно превышала таковые у животных из кластера, крысята которых в суточном возрасте имели меньшую массу тела. Нейроны неокортекса и гиппокампа крыс разных кластеров имели ряд отличий морфометрических показателей.

Ключевые слова: головной мозг, развитие, морфология, молочный период.

B.Ya. Rizhavskii, D.I. Zhilnikov

ANALYSIS OF THE DEPENDENCE OF THE MORPHOLOGICAL PARAMETERS OF THE BRAIN DEVELOPMENT OF RATS AT ONE MONTH OF AGE ON THE DYNAMICS OF BODY WEIGHT IN THE NEONATAL AND MILK PERIODS OF ONTOGENESIS

Far Eastern State Medical University, Khabarovsk

Abstract

Based on the experiments with intact rats of the Vistar line, it has been revealed that there is a positive correlation between the body weight at the age of 1, 7, 14, 21 and 30 days and the mass of their brain and hemispheres at the age of 30 days. The authors found out that the rats belonging to a cluster with a higher body weight at the age of 1 day also had a bigger body mass at the ages of 7, 14, 21 and 30 days. At the age of 30 days, the mass of their brains and hemispheres significantly exceeded those of the animals from the cluster where the rats had a lower body weight at 1-day age. Neocortex and hippocampus neurons of rats of different clusters had a number of morphometric differences.

Key words: brain, development, morphology, dairy period.

Характер развития головного мозга (ГМ) в пренатальном периоде и на ранних этапах постнатального онтогенеза оказывает значительное влияние на морфологические и функциональные свойства органа в последующем. Это показано как при исследованиях ГМ человека, так и экспериментальных животных. Установлено, что важными факторами риска развития дефектов речи и вербального мышления являются недоношенность, профессиональные вредности матери, прием лекарственных препаратов во время

беременности [3, 13]. Показано, что дети, родившиеся с низкой массой тела (1,6-2,5 кг), на протяжении 8 лет обучения в школе имели более низкую успеваемость, чем дети, рожденные с нормальной массой тела [10].

Экспериментальными исследованиями установлено, что эмоциональный стресс самок крыс перед беременностью и во время беременности, изменения гормонального статуса самок отражаются на величине массы ГМ у их потомства. Введение беременным самкам токсикантов может приводить к длительно

сохраняющимся дистрофическим изменениям нейронов ГМ, а также уменьшению массы органа, полушария, влиять на морфометрические и гистохимические характеристики нейронов у их потомства [6, 9, 15]. Вместе с тем, известны экспериментальные способы получения животных с опережающими темпами развития ГМ [2, 6, 7, 12, 13, 16].

Изучение развития ГМ у крыс неонатального, молочного и препубертатного возраста показало, что в каждом из этих периодов имеется положительная корреляционная связь между массой тела и ГМ. В частности, у новорожденных крыс выявлена сильная

положительная корреляционная зависимость между массой тела и ГМ [6]. В то же время наличие такой связи между массой тела в неонатальном периоде с массой ГМ в последующем, в частности, в возрасте одного месяца, в котором масса ГМ увеличивается по сравнению с таковой при рождении в несколько раз, а строение ГМ, морфометрические характеристики коры близки к характерным для взрослых животных [4, 6], не исследовалось. Мы полагаем, что изучение этого вопроса представляет интерес при выяснении роли величины массы тела и ГМ в неонатальном периоде в дальнейшем развитии этого органа.

Материалы и методы

Изучался ГМ 30-суточных интактных крыс (число крысят=61, число пометов=6) линии Вистар из пометов средней численности, являвшихся потомством 3-5-месячных самцов и самок. Крысы содержались в стандартных условиях вивария, получали полноценный корм и воду в свободном доступе, *ad libitum*. «Содержание животных» осуществлялось согласно действующему документу ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами». Определялись масса тела каждого крысёнка в возрасте 1, 7, 14, 21, 30 суток. Эвтаназию (декапитация) проводили в возрасте 30 суток, определяли массу ГМ и полушария. Из левого полушария, фиксированного в жидкости Карнуа, после заливки в парафин, готовили срезы толщиной 7 мкм, окрашивали их галлоцианином для выявления

нуклеиновых кислот, а также метиленовым синим. Методом компьютерной морфометрии, на комплексе «Мекос» определяли размеры нейронов, их ядер, ядрышек и цитоплазмы в слое II и V коры собственно теменной доли и в поле 1 гиппокампа по результатам измерений 25 нейронов указанных локализаций в ГМ каждого животного. В цитоплазме указанных нейронов методом цитоспектрофотометрии измеряли концентрацию РНК. Определение изучавшихся зон ГМ проводили согласно [14]. Указанные морфометрические исследования проведены в ГМ 38 животных из всех 6 пометов. Результаты измерений обрабатывали в программе Statistica, применяя опции дескриптивной статистики, а также корреляционного и кластерного анализа. Различия считались статистически значимыми при $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Полученные данные свидетельствуют о том, что масса тела крыс в течение месяца увеличилась более чем в 10 раз (табл. 1). Масса ГМ крыс в возрасте 30 суток составляла при этом $1454 \pm 11,6$ мг. Данный показатель близок к результатам, полученным при изучении ГМ беспородных белых крыс этого возраста, свидетельствующим также о более, чем пятикратном, увеличении массы органа в течение первого месяца постнатального онтогенеза [6]. Статистический анализ выявил при этом, что верхний квартиль массы ГМ у 30-суточных животных равнялся 1509 мг, нижний – 1400 мг, полушарий – 562 и 507 мг соответственно (табл. 1). Таким образом, у интактных животных имеются довольно значительные внутригрупповые различия темпов роста данных показателей.

Корреляционный анализ выявил, что между массой тела крыс в возрасте 1, 7, 14, 21 и 30 суток, с одной стороны, и массой ГМ и полушария в возрасте 30 суток имеется достоверная положительная корреляционная зависимость (табл. 2). Она свидетельствует о том, что динамика увеличения массы тела в исследованном отрезке онтогенеза обуславливает темпы роста массы ГМ и полушарий. Поскольку величина массы тела у односуточных крысят определяется темпами ее роста в эмбриогенезе, можно считать, что этот период также оказывает влияние на величину массы ГМ в неонатальном и молочном периодах онтогенеза. Обращает на себя внимание тот факт, что наиболее высокие

коэффициенты корреляции массы ГМ и полушарий 30-суточных крыс наблюдались с массой тела крыс в 14-суточном возрасте (табл. 2), то есть в том возрасте, до которого у крыс масса ГМ и полушарий возрастает наиболее интенсивно [6].

Кластерный анализ показал взаимоотношения гравиметрических показателей развития ГМ и полушарий мозга 30-суточных крыс с динамикой массы тела этих животных в течение неонатального и молочного периодов онтогенеза (табл. 1). Животные 1-го кластера, имевшие в возрасте 1 суток массу тела $6,7 \pm 0,1$ г, отличались до 30-суточного возраста более высокими темпами роста массы тела от животных 2-го кластера, имевших в возрасте 1 суток массу тела, равную $6,0 \pm 0,1$ г. При этом крысы 1-го кластера имели также достоверно большую массу ГМ и полушарий, то есть более высокие темпы роста массы тела крыс в пренатальном, неонатальном и молочном периодах обуславливали большие гравиметрические показатели их ГМ, его полушарий.

Морфометрическое изучение нейронов неокортекса и гиппокампа также выявило ряд статистически достоверных различий между кластерами. Так, у животных 1-го кластера нейроны слоя II неокортекса имели большие, чем у животных 2-го кластера, размеры перикарионов, ядрышек, цитоплазмы и меньшую концентрацию РНК в ней. В нейронах слоя V и гиппокампа у животных 1-го кластера размеры ядры-



шек были меньшими, чем у животных 2-го кластера. В гиппокампе меньшие размеры у крыс 1-го кластера имели и перикарионы нейронов. Таким образом, животные разных кластеров имели отличия по гравиметрическим показателям ГМ и полушария, а также по морфометрическим показателям, отражающим как процессы развития органа, так и уровень

функциональной активности клеток его коры [1, 11]. При этом характер описанных различий был разным в слое II, где расположены ассоциативные корковые нейроны и слое V, в котором локализуются корковые эфферентные нейроны, а также в гиппокампе, относящемся к лимбической системе ГМ [4].

Таблица 1

Динамика массы тела крыс в неонатальном и молочном периодах онтогенеза, гравиметрические и морфометрические показатели их головного мозга в возрасте 30 суток

Показатели	M±m для всей группы	1-й кластер	2-й кластер
Масса тела 1-суточных крысят, г	6,3±0,07	6,7±0,1*	6,0±0,1
Масса тела 7-суточных крысят, г	12,5±0,23	13,3±0,41*	11,5±0,33
Масса тела 14-суточных крысят, г	22,5±0,38	24,2±0,62*	20,5±0,32
Масса тела 21-суточных крысят, г	37,1±0,60	38,2±1,08*	34±0,99
Масса тела 30-суточных крысят, г	66,3±1,24	69±1,6	65,2±2,5
Масса ГМ, мг	1454±11,6	1533±16*	1413±10,2
Масса полушария, мг	534±5	567±5,3*	511±5,62
Размер ядрышка нейронов слоя II, мкм ²	3,7±0,08	3,9±0,11*	3,5±0,09
Размер ядер нейронов слоя II, мкм ²	61,3±0,8	63±1,3	60±1,6
Размер цитоплазмы нейронов слоя II, мкм ²	41,3±0,7	43±0,86*	40±0,87
Размер нейронов слоя II, мкм ²	102,6±1,4	106±2,0*	99±1,6
Концентрация РНК в цитоплазме нейронов слоя II, усл. ед.	0,408±0,002	0,403±0,003*	0,412±0,002
Размер ядрышек нейронов слоя V, мкм ²	5,7±0,09	5,5±0,13*	5,9±0,11
Размер ядер нейронов слоя V, мкм ²	98,3±1,9	96±3,5	101±1,6
Размер цитоплазмы нейрона слоя V, мкм ²	75,5±1,9	76±2,46	75±2,62
Размер нейронов слоя V, мкм ²	173,8±2,6	172±3,9	176±3,7
Концентрация РНК в цитоплазме нейронов слоя V, усл. ед.	0,437±0,005	0,431±0,004	0,442±0,005
Размер ядрышек нейронов гиппокампа, мкм ²	4,239±0,1	4,0±0,09*	4,5±0,12
Размер ядер нейронов гиппокампа, мкм ²	66,5±1,46	62±2,0	62±1,76
Размер цитоплазмы нейронов гиппокампа, мкм ²	48,2±0,8	47±1,4	49±1,8
Размер нейронов гиппокампа, мкм ²	114,6±1,8	110±2,4*	119±2,3
Концентрация РНК в цитоплазме нейронов гиппокампа, усл. ед.	0,448±0,005	0,455±0,008	0,443±0,006

Примечание. * – различия показателей 1-го и 2-го кластеров статистически достоверны.

Таким образом, в работе установлены корреляционные связи динамики показателей соматического развития крыс от неонатального периода до окончания молочного периода с гравиметрическими показателями ГМ 30-суточных животных. Эти результаты, представляющие, по нашему мнению, теоретический интерес, в то же время, позволяют предполагать, что, воздействуя на темпы роста массы тела в пренатальном, неонатальном и молочном периодах, можно влиять на величину массы ГМ и полушария, а также связанные с ними показатели развития коры, ее нейронов [6] в последующие периоды онтогенеза. Изложенные результаты работы заслуживают внимания в связи с тем, что в последующих периодах онтогенеза влияние увеличения массы тела на рост массы ГМ уменьшается или прекращается. Свидетельством этого служат данные о том, что крысы, которых содержали в возрасте 1-1,5 месяца на сдерживающей рост диете, имели

уменьшенную массу тела и ГМ, а 15-суточный переход в возрасте 1,5-2 месяцев на полноценную диету, ускоривший темпы роста их массы тела, не нормализовал показатели массы ГМ и полушарий [8].

Таблица 2

Коэффициенты корреляции массы тела крыс в неонатальном и молочном периодах онтогенеза с массой их мозга и полушария в возрасте 30 суток*

Показатели	Масса тела крыс в разном возрасте				
	1 сут.	7 сут.	14 сут.	21 сут.	30 сут.
Коэффициенты корреляции с массой ГМ в 30 сут.	0,63	0,60	0,82	0,62	0,29
Коэффициенты корреляции с массой полушарий в 30 сут.	0,40	0,42	0,71	0,61	0,42

Примечание. * – все корреляционные зависимости статистически достоверны.

Литература

1. Герштейн Л.М., Сергутина А.В. Некоторые морфохимические особенности гиппокампа крыс, различающихся по двигательной активности в «открытом поле» Л // Нейрохимия. – 2003. – Т. 20, № 2. – С. 116-119.
2. Дмитриева Н.И., Кассиль В.Г. Влияние некоторых факторов среды на развивающийся мозг // Архив

анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1982. – Т. 83, № 9. – С. 84-90

3. Казакова Е.В., Соколова Л.В. Медико-биологические факторы риска в раннем развитии и особенности формирования речевой сферы первоклассников // Физиология человека. – 2029. – Т. 46, № 3. – С. 56-63.

4. Максимова Е.В. Онтогенез коры больших полушарий. – М.: Наука, 1990. – 183 с.
5. Мотавкин П.А. Введение в нейробиологию. – Владивосток: Медицина ДВ, 2003. – 251 с.
6. Рыжавский Б.Я. Развитие головного мозга: отдаленные последствия влияния некомфортных условий. – Хабаровск. – 2009. – 278 с.
7. Рыжавский Б.Я. Развитие головного мозга в ранние периоды онтогенеза: последствия некоторых воздействий // Соросовский образовательный журнал. – 2000. – Т. 6, № 1. – С. 37-43.
8. Рыжавский Б.Я., Лебедько О.А., Лазинская О.В. Влияние сдерживающей рост диеты на некоторые показатели развития головного мозга крыс (ближайшие и отсроченные последствия) // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2019. – Т. 167, № 1. – С. 113-119.
9. Рыжавский Б.Я., Соколова Т.В., Учакина Р.В., Фельдшеров Ю.И., Сапожников Ю.А., Васильева Е.В., Еременко И.Р. Влияние эмоционального стресса самок-крыс в период, предшествующей беременности, на показатели развития головного мозга их потомства // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2002. – Т. 134, № 8. – С. 146-150.
10. Трухина С.И., Циркин В.И., Хлыбова С.В., Трухин А.Н. Успешность обучения детей в 1-8-х классах общеобразовательной школы, имевших при рождении низкую массу тела // Педиатрия. – 2010. – № 4 (13). – С. 219-225.
11. Цехмистренко Т.А., Васильева В.А. Структурные преобразования ассоциативных зон коры больших полушарий как морфологическая основа формирования когнитивных функций мозга человека от рождения до 20 лет // Физиология человека. – 2001. – Т. 27, № 5. – С. 41-48.
12. Шишелова А.Ю. Выращивание крыс в социально-обогащенной среде изменяет их исследовательскую активность и способность к обучению // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 2000. – Т. 50, № 4. – С. 667-675.
13. Narberhaus A., Segarra D., Giménez M., Junqué C., Pueyo R., Botet F. Memory performance in a sample of very low birth weight adolescents // Dev Neuropsychol. – 2007. – Vol. 31 (1). – P. 129-135.
14. Paxinos G., Watson C. The rat brain in Stereotaxic Coordinates. Academic Press. – 2013. – 472 p.
15. Ryzhavskii B.Ya., Lebed'ko O.A., Belolyubskaya D.S., Baranova S.N Long-term consequences of prenatal exposure to lead on brain development in rats // Neuroscience and Behavioral Physiology. – 2008. – T. 38, № 2. – С. 145-149.
16. Van Praag H., Kempermann G., Gage F.H. Neural consequences of environmental enrichment // Nat. Rev. Neurosci. – 2000. – Vol. 1, № 3. – P. 191-198.

Literature

1. Gershtein L.M., Sergutina A.V. Some morphochemical features of the hippocampus of rats differing in motor activity in the «open field» L // Neurochemistry. – 2003. – Vol. 20, № 2. – P. 116-119.
2. Dmitrieva N.I., Kassil V.G. The influence of some environmental factors on the developing brain // Archives of Anatomy, Histology and Embryology. – 1982. – Vol. 83, № 9. – P. 84-90.
3. Kazakova E.V., Sokolova L.V. Biomedical risk factors in early development and features of the formation of the speech sphere of first-graders // Human Physiology. – 2029. – Vol. 46, № 3. – P. 56-63.
4. Maksimova E.V. Ontogenesis of the cerebral cortex. – М.: Nauka, 1990. – 183 p.
5. Motavkin P.A. Introduction to neuroscience. – Vladivostok: Medicine DV, 2003. – 251 p.
6. Ryzhavskii B.Ya. Development of the brain: remote consequences of exposure to uncomfortable conditions. – Khabarovsk, 2009. – 278 p.
7. Ryzhavskii B.Ya. Development of the brain in the early periods of ontogenesis: the consequences of some influences // Soros Educational Journal. – 2000. – Vol. 6, № 1. – P. 37-43.
8. Ryzhavskii B.Ya., Lebedko O.A., Lazinskaya O.V. The effect of a growth-inhibiting diet on some indicators of rat brain development // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2019. – Vol. 167, № 1. – P. 113-119.
9. Ryzhavskii B.Ya., Sokolova T.V., Uchakina R.V., Feldsherov Yu.I., Sapozhnikov Yu.A., Vasilyeva E.V., Eremenko I.R. Effect of emotional stress experienced by female rats before pregnancy on brain development in their offspring // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2002. – Vol. 134, № 8. – P. 146-150.
10. Trukhina S.I., Tsirkin V.I., Khlybova S.V., Trukhin A.N. The success of teaching children who had a low birth weight in grades 1-8 of a comprehensive school // Pediatrics. – 2010. – № 4 (13). – P. 219-225.
11. Tsekhmistenko T.A., Vasilyeva V.A. Structural transformations of the associative zones of the cerebral cortex as a morphological basis for the formation of cognitive functions of the human brain from birth to 20 years of age // Human Physiology. – 2001. – Vol. 27, № 5. – P. 41-48.
12. Shishelova A.Yu. Raising rats in a socially enriched environment changes their research activity and learning ability // I.P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity. – 2000. – Vol. 50, № 4. – P. 667-675.
13. Narberhaus A., Segarra D., Giménez M., Junqué C., Pueyo R., Botet F. Memory performance in a sample of very low birth weight adolescents // Dev. Neuropsychol. – 2007. – Vol. 31 (1). – P. 129-135.
14. Paxinos G., Watson C. The rat brain in Stereotaxic Coordinates. Academic Press. – 2013. – 472 p.
15. Ryzhavskii B.Ya., Lebed'ko O.A., Belolyubskaya D.S., Baranova S.N Long-term consequences of prenatal exposure to lead on brain development in rats // Neuroscience and Behavioral Physiology. – 2008. – Vol. 38, № 2. – P. 145-149.
16. Van Praag H., Kempermann G., Gage F.H. Neural consequences of environmental enrichment // Nat. Rev. Neurosci. – 2000. – Vol. 1, № 3. – P. 191-198.

Координаты для связи с авторами: Рыжавский Борис Яковлевич – д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии ДВГМУ; Жильников Дмитрий Игоревич – аспирант кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии ДВГМУ.