



Дальневосточный медицинский журнал. 2022. № 3.
Far Eastern Medical Journal. 2022. № 3.

Оригинальное исследование
УДК 612.821:599.324.4-092.9
<http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2022-3-6>

ВЛИЯНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ АКСЕЛЕРАЦИИ КРЫС НА ПОКАЗАТЕЛИ РАЗВИТИЯ НЕЙРОНОВ ЗРИТЕЛЬНОЙ И СЛУХОВОЙ КОРЫ

Екатерина Марковна Литвинцева^{1✉}, Дмитрий Игоревич Жильников², Борис Яковлевич Рыжавский³

¹⁻³Дальневосточный государственный медицинский университет, Хабаровск, Россия

^{1✉}em_litvintseva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1741-0500>

²aesius@zhilnikov.com, <https://orcid.org/0000-0002-8376-9813>

³19151943@Rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4320-8341>

Аннотация. Изучался головной мозг (ГМ) 30-суточных крыс 2 групп. Опытная группа состояла из крыс, родившихся в пометах численностью 9-13 крысят. Через одни сутки после рождения численность каждого помета была сокращена до 6 животных (опытная группа). Контрольную группу составили животные из пометов средней численности. В возрасте 30 суток подопытные животные имели большую массу тела, ГМ и полушария. Исследование корковых центров зрительного и слухового анализаторов ГМ выявило, что у крыс экспериментальной группы толщина слуховой коры была больше, а численная плотность нейронов в ее слое V – меньшей, чем у крыс контрольной группы. В нейронах слоев II и V зрительной и слуховой коры ГМ крыс опытной группы размеры цитоплазмы, ядер и ядрышек были достоверно больше, чем у крыс контрольной группы. При этом концентрация нуклеиновых кислот в цитоплазме, ядрах и ядрышках нейронов всех изученных локализаций не имела достоверных межгрупповых статистических различий. Это свидетельствует о том, что зрительная и слуховая кора ГМ животных из уменьшенных пометов имеет признаки опережающего развития по сравнению с таковыми у крыс контрольной группы. Выявленные отличия являются однотипными с описанными ранее в переднетеменной, собственно теменной доле ГМ и префронтальной области неокортекса крыс-акселератов.

Ключевые слова: акселерация, головной мозг, развитие, морфология, зрительная и слуховая кора

Для цитирования: Литвинцева Е.М. Влияние экспериментальной акселерации крыс на показатели развития нейронов зрительной и слуховой коры / Е.М. Литвинцева, Д.И. Жильников, Б.Я. Рыжавский // Дальневосточный медицинский журнал. – 2022. – № 3. – С. 35-39. <http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2022-3-6>.

INFLUENCE OF EXPERIMENTAL ACCELERATION OF RATS ON THE INDICATORS OF DEVELOPMENT OF VISUAL AND AUDIO CORTEX NEURONS

Ekaterina M. Litvintseva^{1✉}, Dmitriy I. Zhilnikov², Boris Ya. Rizhavskii³

¹⁻³Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russia

^{1✉}em_litvintseva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1741-0500>

²aesius@zhilnikov.com, <https://orcid.org/0000-0002-8376-9813>

³19151943@Rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4320-8341>

Abstract. The brain of 30-day-old rats of 2 groups was studied. The experimental group consisted of rats born in litters of 9-13 pups. One day after birth, the number of each litter was reduced to 6 pups (experimental group). The control group consisted of animals from litters of medium size. At the age of 30 days, the experimental animals had a large body weight, brain and hemispheres. The study of the cortical centers of the visual and auditory brain analyzers revealed that in the rats of the experimental group the thickness of the auditory cortex was greater, and the numerical density of neurons in its layer V was lower than in the rats of the control group. In the neurons of layers II and V of the visual and auditory cortex of the brain rats of the experimental group, the sizes of the cytoplasm, nuclei, and nucleoli were significantly larger than in the rats of the control group. At the same time, the concentration of nucleic acids in the cytoplasm, nuclei and nucleoli of neurons of all studied localizations did not have significant intergroup statistical differences. This indicates that the visual and auditory cortex of the brain animals from reduced litters has signs of advanced development compared to those in the control group rats. The revealed differences are similar to those described earlier in the anteroparietal, proper parietal lobe of the brain and the prefrontal region of the neocortex of accelerated rats.



Keywords: acceleration, brain, development, morphology, visual and auditory cortex

For citation: Litvintseva E.M. Influence of experimental acceleration of rats on the indicators of development of visual and audio cortex neurons / E.M. Litvintseva, D.I. Zhilnikov, B.Ya. Rizhavskii // Far Eastern medical journal. – 2022. – № 3. – P. 35-39. <http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2022-3-6>.

В работах нашей лаборатории, была предложена модель, позволяющая получить животных с признаками акселерации [4-7]. Это достигалось уменьшением численности помётов как крыс линии Вистар, так и беспородных крыс. Акселерация проявлялась большей массой и длиной тела, массой гонад в возрасте 5, 14, 30, 40 суток. Установлено, что экспериментальные животные отличались от контрольных увеличенной массой головного мозга (ГМ) и полушария. Изучение коры ГМ в области переднетеменной и собственно теменной долях неокортекса и гиппокампа, а также префронтальной коры подопытных животных выявило у них морфометрические и гистохимические признаки ее опережающего развития [4-7].

Отличия от контроля, выявленные при изучении ГМ животных-акселератов, были однонаправленными и свидетельствующими о том, что при экспериментальной акселерации развитие ГМ, разных изученных отделов неокортекса и в гиппокампе происходит опережающими темпами [7]. В то же время, известно, что кора ГМ, как и другие структуры органа обладают значительными морфологическими особенностями, имеют разные функции. В связи с этим в настоящей

работе проведено исследование влияния экспериментально вызванной акселерации крыс на морфометрические характеристики корковых центров слухового и зрительного анализаторов ГМ крыс-акселератов в возрасте 30 суток. Информация по этому вопросу отсутствует.

Данные литературы свидетельствуют о том, что центральный отдел зрительного анализатора, локализованный в затылочной области, имеет признаки гранулярной коры. Коровый центр слухового анализатора, расположенный в неокортексе височной доли, отличается менее четким разделением на слои, размеры нейронов в которых менее переменны [8].

Изучая особенности корковых центров слухового и зрительного анализаторов ГМ крыс-акселератов, мы учитывали, что крысы являются незрелорождающими животными. Их ГМ по уровню развития значительно менее зрелый, чем у новорожденных детей. При этом следует также учитывать, что крысята рождаются слепыми, с закрытыми слуховыми ходами. Открытие слуховых ходов у них происходит течение 1-й недели, а прорезывание глаз – к концу 2-й недели постнатального периода онтогенеза [3].

Материалы и методы

В работе изучался ГМ 30-суточных крыс линии Вистар. Опытную группу составили животные из 5 помётов средней численности (9-13), уменьшенных через одни сутки после рождения до 6 крысят в помёте. Контрольную группу составили крысята из 6 помётов средней численности (57 животных). Крысы содержались в стандартных условиях вивария, получали полноценный корм и воду в свободном доступе, *ad libitum*. Содержание животных осуществлялось согласно Руководству по содержанию и уходу за лабораторными животными. Эвтаназию (декапитация) проводили в возрасте 30 суток. Определяли массу тела животных, ГМ и полушария. Левое полушарие фиксировали в жидкости Карнуа, заливали в парафин, готовили срезы толщиной 7 мкм, проходящие через корковый центр слухового и зрительного анализаторов [9], окрашивали галлоцианином (для выявления нуклеиновых кислот) и метиленовым синим (для обзорного

изучения препаратов). Для последующих измерений, методом случайной выборки нами был отобран ГМ животных из всех помётов (15 – из опытной группы, 12 – из контрольной). Методом компьютерной морфометрии, на комплексе «Мекос» определяли морфометрические показатели нейронов: размеры их ядер, ядрышек и цитоплазмы нейронов в слое II и V зрительной и слуховой коры. В ГМ каждого животного проводили измерения 25 нейронов указанных локализаций. В этих структурах методом цитоспектрофотометрии измеряли концентрацию нуклеиновых кислот (НК). Окуляр-микрометром МОВ-15 определяли толщину коры и слоя I изучаемых зон. Результаты измерений обрабатывали в программе Statistica, используя опцию «Дескриптивная статистика». Определяли среднюю арифметическую и ошибку средней ($M \pm m$). Межгрупповые различия считали статистически значимыми при $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Исследованные экспериментальные животные имели большую массу тела ($82,1 \pm 2,1$ г против $66 \pm 1,2$ г), ГМ ($1523 \pm 12,4$ мг против 1453 ± 12 мг) и полушария ($555 \pm 7,2$ мг против $534 \pm 5,1$ мг), достоверно превышавшую их у контрольных животных.

Морфометрическое изучение толщины слуховой коры ГМ показало, что она была достоверно больше у животных экспериментальной группы (1280 ± 16 мкм

против 1156 ± 53 мкм). Толщина зрительной коры (1337 ± 20 мкм у подопытных животных против 1345 ± 64 мкм у животных контрольной группы) практически не различалась в ГМ крыс контрольной и опытной групп. Толщина слоя I в зрительной коре животных опытной группы составляла 147 ± 7 мкм против 136 ± 10 мкм в контрольной, в слуховой коре – 120 ± 5 мкм против 133 ± 10 мкм соответственно. Таким



образом, толщина молекулярного слоя у крыс опытной и контрольной групп не имела статистически достоверных различий в корковых центрах зрительного и слухового анализаторов. Как указано выше, масса полушария у крыс подопытной группы было большей, чем у крыс контрольной группы. В связи с этим можно предполагать, что суммарный объём коры у них был больше, чем у контрольных животных как в зрительной, так и в слуховой коре.

Важным показателем темпов онтогенетического развития неокортекса является уменьшение численной плотности нейронов [4, 5]. Изучение этого показателя выявило, число нейронов в поле зрения в слое V зрительной коры у крысят опытной группы было достоверно меньше, чем у крысят контрольной группы ($7,8 \pm 0,3$ в поле зрения против $9,3 \pm 0,4$, то есть было уменьшено на 19,2%). В слое II зрительной коры ($21,02 \pm 0,72$ в поле зрения у подопытных животных против $20,5 \pm 1,01$ у животных контрольной группы), а также в слое II и V слуховой коры достоверных межгрупповых различий этого показателя не выявлено. В слое II слуховой коры число нейронов в поле зрения у подопытных крыс составило $20,45 \pm 1,01$ против $21 \pm 0,7$ у животных контрольной группы, в слое V – $8 \pm 0,45$ у животных опытной группы против $9,2 \pm 0,5$ у контрольных крыс.

Размеры нейронов, их ядер и ядрышек закономерно увеличиваются в постнатальном онтогенезе крыс [4-6]. В то же время, они могут увеличиваться и уменьшаться и в зависимости от их функционального состояния и отражать его, вне связи с онтогенетическим развитием. Нами установлено, что размеры нейронов слоя II и V зрительной и слуховой коры у подопытных животных превышали таковые у животных контрольной группы. В нейронах слоя II зрительной коры при этом наблюдалось увеличение размеров ядрышек ($2,03 \pm 0,06$ мкм² против $1,6 \pm 0,04$ мкм²), ядер ($56,9 \pm 1,8$ мкм² против $49,5 \pm 1,6$ мкм²) и цитоплазмы ($40,6 \pm 0,7$ мкм² против $33,3 \pm 1,3$ мкм²), эти различия были статистически значимы ($P < 0,05$). Кроме того, нейроны слоя V этой же зоны имели также большие, чем контрольные, размеры ядрышек ($5,0 \pm 0,13$ мкм² против $3,8 \pm 0,17$ мкм²), ядер ($98,6 \pm 4,2$ мкм² против $81,7 \pm 3,2$ мкм²) и цитоплазмы ($97,6 \pm 3,9$ мкм² против $74,5 \pm 4$ мкм², рис. 1а, 1б).

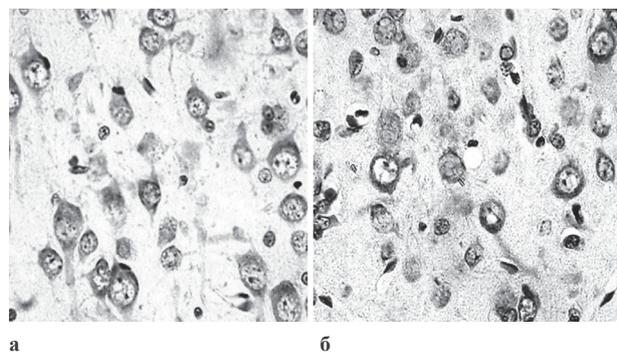


Рис. 1. а. – слой V зрительной коры крысы опытной группы; б. – слой V зрительной коры крысы контрольной группы. Окраска галлоцианином. Увеличение 15×40

В слуховой коре наблюдался аналогичный характер межгрупповых различий исследованных морфометрических характеристик нейронов (рис. 2а, 2б). У животных опытной группы они отличались от таковых в контроле достоверно большими размерами ядрышек, ядер и цитоплазмы нейронов слоя II и V (таблица).

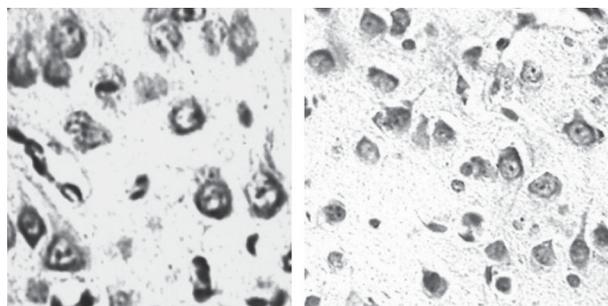


Рис. 2. а – слой V слуховой коры крысы опытной группы; б. – слой V слуховой коры крысы контрольной группы. Окраска галлоцианином. Увеличение 15×40

Таблица – Морфометрические особенности нейронов зрительной и слуховой коры крыс при экспериментальной акселерации

Показатели	Группа	
	Опытная группа	Контрольная группа
Показатели нейронов зрительной коры		
Число нейронов в поле зрения, слой II	$21,02 \pm 0,72$	$20,5 \pm 1,01$
слой V	$7,8 \pm 0,3^*$	$9,3 \pm 0,4$
Площадь сечения, мкм²		
ядрышек нейронов слоя II	$2,03 \pm 0,06^*$	$1,6 \pm 0,04$
ядер нейронов слоя II	$56,9 \pm 1,8^*$	$49,5 \pm 1,6$
цитоплазмы нейронов слоя II	$40,6 \pm 0,7^*$	$33,3 \pm 1,3$
ядрышек нейронов слоя V	$5,0 \pm 0,13^*$	$3,8 \pm 0,2$
ядер нейронов слоя V	$98,6 \pm 4,2^*$	$81,7 \pm 3,2$
цитоплазмы нейронов слоя V	$97,6 \pm 3,9^*$	$74,5 \pm 4$
Концентрация нуклеиновых кислот, усл. ед., слой II		
- в ядрышках нейронов	$0,463 \pm 0,019$	$0,497 \pm 0,018$
- в ядрах нейронов	$0,264 \pm 0,018$	$0,293 \pm 0,02$
- в цитоплазме нейронов	$0,277 \pm 0,019$	$0,309 \pm 0,02$
слой V		
- в ядрышках нейронов	$0,467 \pm 0,017$	$0,485 \pm 0,02$
- в ядрах нейронов	$0,275 \pm 0,01$	$0,297 \pm 0,014$
- в цитоплазме нейронов	$0,314 \pm 0,017$	$0,335 \pm 0,018$
Показатели нейронов слуховой коры		
Число нейронов в поле зрения, слой II	$20,45 \pm 1,01$	$21 \pm 0,7$
слой V	$8 \pm 0,45$	$9,2 \pm 0,5$
Площадь сечения, мкм²		
ядрышек нейронов слоя II	$2,16 \pm 0,13^*$	$1,6 \pm 0,07$
ядер нейронов слоя II	$58,7 \pm 2^*$	51 ± 2
цитоплазмы нейронов слоя II	$43,9 \pm 1,5^*$	$32,7 \pm 1$
ядрышек нейронов слоя V	$4,6 \pm 0,1^*$	$3,7 \pm 0,15$
ядер нейронов слоя V	$92 \pm 3,6^*$	$79,2 \pm 3,2$
цитоплазмы нейронов слоя V	$92 \pm 3^*$	$70 \pm 4,1$
Концентрация нуклеиновых кислот, усл. ед., слой II		
- в ядрышках нейронов	$0,499 \pm 0,017$	$0,452 \pm 0,026$
- в ядрах нейронов	$0,292 \pm 0,014$	$0,280 \pm 0,016$
- в цитоплазме нейронов	$0,319 \pm 0,019$	$0,307 \pm 0,021$
слой V		
- в ядрышках нейронов	$0,468 \pm 0,013$	$0,486 \pm 0,019$
- в ядрах нейронов	$0,286 \pm 0,007$	$0,283 \pm 0,016$
- в цитоплазме нейронов	$0,329 \pm 0,011$	$0,352 \pm 0,016$



В отличие от размерных характеристик, имевших межгрупповые различия, концентрация нуклеиновых кислот в ядрышках, ядрах и цитоплазме нейронов слоя II и V зрительной и слуховой коры не имела статистически достоверных межгрупповых различий (таблица). При оценке этих результатов следует учитывать, что нейроны в коре у подопытных крыс отличались большими размерами цитоплазмы, ядер и ядрышек. Это дает основание полагать, что содержание нуклеиновых кислот в «пересчете на нейрон», их цитоплазму, ядро и ядрышко у животных опытной группы было большим, чем в контроле. Кроме того, вследствие большей массы ГМ и полушария у подопытных животных можно предполагать, что исследованные нейроны у подопытных животных имели большие размеры отростков, в том числе дендритов, содержащих НК. С другой стороны, необходимо принимать во внимание, что нуклеиновые кислоты, выявляемые галлоцианином, в цитоплазме представлены практически полностью РНК, тогда как в ядрышках и ядрах (вне ядрышек) – как РНК, так и ДНК.

Таким образом, выявленные отличия нейронов зрительной и слуховой коры ГМ крыс по направленности однотипны с описанными ранее изменениями нейронов неокортекса переднетеменной и собственно теменной доли, гиппокампа и префронтальной коры крыс-акселератов [4-7]. Это подтверждает, что развитие ГМ крыс с экспериментальной акселерацией характеризуется опережающими темпами. Наличие однотипных особенностей коры, её нейронов в функционально различных зонах (переднетеменной и собственно теменной доле, префронтальной, слуховой и зрительной коре) свидетельствует о том, что действие факторов, влияющих при экспериментальной акселерации на развитие ГМ, не ограничивается какой-то одной зоной, а распространяется на многие, функционально разные, отделы органа. Однотипность отличий разных отделов коры ГМ крыс-акселератов от коры ГМ контрольных животных позволяет также предположить, что имеющиеся отличия обусловлены действием на развивающийся ГМ одного и того же фактора или одних и тех же факторов.

Список источников

1. Величковский Б.Т., Баранов А.А., Кучма В.Р. Рост и развитие детей и подростков в России // Вестник Российской Академии наук. – 2004. – № 1. – С. 43-45.
2. Котеров А.Н., Ушенкова Л.Н., Зубенкова Э.С., Вайнсон А.А., Андрианова И.Е., Лукьянова С.Н., Лягинская В.Н., Мальцев Л.А., Ильин А.С., Самойлов В.В., Уйба А.М. Акселерация лабораторных крыс: синтетическое исследование данных за столетие в аспекте возможной связи с радиочувствительностью // Медицинская радиология и радиационная безопасность. Радиационная биология. – 2018. – Т. 63, № 6. – С. 5-20.
3. Никулина Н.Б. Декоративные грызуны и зайцеобразные: учебное пособие / Министерство сельского хозяйства РФ, ФГБОУ ВП «Пермский государственный аграрно-технологический университет имени академика Д.Н. Прянишникова». – Пермь: ИПЦ «Прокрость», 2019. – 118 с.
4. Рыжавский Б.Я. Развитие головного мозга: отдаленные последствия влияния некомфортных условий. Изд. 3-е. – Хабаровск: Изд-во ГОУ ВПО ДВГМУ, 2009. – 278 с.
5. Рыжавский Б.Я., Лазинская О.В. Особенности головного мозга крыс при экспериментальной акселерации // Морфология. – 2017, № 3. – С. 99-100.
6. Рыжавский Б.Я., Литвинцева Е.М. Морфометрические и гистохимические особенности неокортекса и гиппокампа экспериментально увеличенного мозга в молочном периоде онтогенеза // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – Т. 154, № 7. – С. 108-111.
7. 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.
8. Светухина В.М. Цитоархитектоника новой коры мозга в отряде грызунов (белая крыса) // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1962. – Т. XLII, № 2. – С. 31-45.
9. Paxinos G., Watson C. The rat brain in Stereotaxic Coordinates. Academic Press. – 2013. – 472 p.

References

1. Velichkovskiy B.T., Baranov A.A., Kuchma V.R. Children and teenagers growth and development in Russia // Bulletin of RAMS. – 2004. – № 1. – P. 43-45.
2. Koterov A.N., Ushenkova L.N., Zubenkova E.S., Wainson A.A., Andrianova I.E., Lukyanova S.N., Lyaginskaya V.N., Maltsev L.A., Ilyin A.S., Samoylov V.V., Uiba A.M. Acceleration of laboratory rats: synthetic study of data for the century in the aspect of possible relationship with radiosensitivity // Medical Radiology and Radiation Safety. Radiation Biology. – 2018. – Vol. 63, № 6. – P. 5-20.
3. Nikulina N.B. Decorative rodents and lagomorphs: a study guide / Ministry of Agriculture of the Russian Federation, Perm State Agro-Technological University named after Academician D.N. Pryanishnikov. – Perm, 2019. – 118 p.
4. Ryzhavsky B.Ya. Brain development: long-term consequences of the influence of uncomfortable conditions. 3rd ed. – Khabarovsk: Publishing House of the SEI HPE FESMU, 2009. – 278 p.



5. Ryzhavskii B.Ya., Lazinskaya O.V. Peculiarities of rats' brain during experimental acceleration // Morphology. – 2017. – № 3. – P. 99-100.
6. Ryzhavskii 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.
7. Ryzhavskii B.Ya., Eremenko I.P., Zhilnikov D.I., Lazinskaya O.V. Peculiarities of pre-frontal cortex of the brain in rats exposed to experimental acceleration // Far Eastern Medical Journal. – 2019. – № 1. – P. 64-67.
8. Svetukhina V.M. Cytoarchitectonics of the neocortex in rodents (white rats) // Archives of Anatomy, Histology and Embryology. – 1962. – Vol. XLII, № 2. – P. 31-45.
9. Paxinos G., Watson C. The rat brain in Stereotaxic Coordinates // Academic Press. – 2013. – 472 p.

Вклад авторов:

Рыжавский Б.Я. – идея исследования, план и постановка эксперимента, морфометрия;
Жильников Д.И. – постановка эксперимента, подготовка материала, морфометрия;
Литвинцева Е.М. – морфометрия, статистическая обработка материала, написание статьи.
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution of the authors:

Ryzhavsky B.Ya. – the idea of the study, the plan and setting of the experiment, morphometry;
Zhilnikov D.I. – setting up the experiment, preparing the material, morphometry;
Litvintseva E.M. – morphometry, statistical processing of the material, writing the article.
The authors declare no conflicts of interests.

Статья принята к публикации 31.07.2022.

The article was accepted for publication 31.07.2022.

