



Фундаментальная медицина

Оригинальное исследование

УДК 611.81.013:612.825:599.323.4 – 092.9

<http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2022-4-7>

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕОКОРТЕКСА СОБСТВЕННО ТЕМЕННОЙ ДОЛИ В РАННИЕ ПЕРИОДЫ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА И ИХ ВЛИЯНИЕ НА СТРУКТУРУ КОЛОНОК В МОЗГЕ КРЫС, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ТЕМПАМИ ЕГО РАЗВИТИЯ

Борис Яковлевич Рыжавский^{1✉}, Елена Васильевна Васильева², Инна Рамазановна Еременко³,
Дмитрий Игоревич Жильников⁴, Ольга Владимировна Лазинская⁵

¹⁻⁵ Дальневосточный государственный медицинский университет, Хабаровск, Россия

^{1✉} 19151943@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4320-8341>

² dvgmu57@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2218-327X>

³ lusa_erenko@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5849-5806>

⁴ aesius@zhilnikov.com, <https://orcid.org/0000-0002-8376-9813>

⁵ tkach-olga@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2695-9722>

Аннотация. Исследовали кору головного мозга (ГМ) 5- и 14-суточных крыс линии Вистар. Изучали показатели, характеризующие корковые колонки: толщину коры, отражающую «высоту» колонок, число нейронов, расположенных в одном ряду клеток в срезе колонки, число нейронов в стандартной площади среза в ее слоях II и V. Изучались также масса тела животных, их ГМ и полушарий. Животные представляли 2 группы: 1) родившиеся и содержащиеся в пометах средней численности (n=9-12, контрольная группа) и 2) крысы-акселераты, родившиеся в пометах средней численности, уменьшенных через сутки после родов до 4-6. У 14-суточных крыс контрольной группы кора ГМ имеет морфометрические отличия, отражающиеся на структуре колонок от коры ГМ 5-суточных крыс: их большую высоту, меньшее число нейронов в ряду клеток, расположенных по высоте колонки, меньшую численную плотность нейронов, большие их размеры. У 5-суточных животных-акселератов эти показатели имеют аналогичные отличия от показателей 5-суточных контрольных животных. У 14-суточных крыс-акселератов выявлены достоверно большие высота колонок, размеры нейронов, меньшая численная плотность этих клеток по сравнению с таковыми у 5-суточных крыс-акселератов. При этом число нейронов в ряду клеток в срезе колонок не имело достоверных возрастных отличий.

Ключевые слова: корковые колонки, мозг, развитие, морфометрия

Для цитирования: Морфометрические изменения неокортекса собственно теменной доли в ранние периоды постнатального онтогенеза и их влияние на структуру колонок в мозге крыс, различающихся темпами его развития / Б.Я. Рыжавский, Е.В. Васильева, И.Р. Еременко и др. // Дальневосточный медицинский журнал. – 2022. – № 4. – С. 41-46. <http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2022-4-7>.

MORPHOMETRIC CHANGES IN THE NEOCORTEX OF THE PARIETAL LOBE PROPER IN THE EARLY PERIODS OF POSTNATAL ONTOGENESIS AND THEIR INFLUENCE ON THE STRUCTURE OF COLUMNS IN THE BRAIN OF RATS THAT DIFFER IN THE RATE OF ITS DEVELOPMENT

Boris Ya. Ryzhavskii^{1✉}, Elena V. Vasileva², Inna R. Eremenko³, Dmitriy I. Zhilnikov⁴, Olga V. Lazinskaia⁵

¹⁻⁵ Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russia

^{1✉} 19151943@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4320-8341>

² dvgmu57@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2218-327X>



³lusa_erenko@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5849-5806>

⁴aesius@zhilnikov.com, <https://orcid.org/0000-0002-8376-9813>

⁵tkach-olga@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2695-9722>

Abstract. The brain (Br) of 5- and 14-day-old Wistar rats was studied. We studied indicators characterizing cortical columns: the thickness of the cortex, that reflects the «height» of the columns, the number of neurons located in one row of cells in the column section, the number of neurons in the standard section area in its layers II and V. We also studied the body weight of animals, their Br and hemispheres. Animals were divided into 2 groups: 1) born and kept in litters of medium size (n=9-12, control group) and 2) accelerating rats born in litters of medium size, reduced to 4-6 one day after birth. In 14-day-old rats in the control group, the Br cortex has morphometric differences that are reflected in the structure of the columns from the Br cortex of 5-day-old rats: their greater height, fewer neurons in a row of cells located along the height of the column, a lower number density of neurons, and their larger sizes. In 5-day-old accelerator animals, these indicators have similar differences from those of 5-day-old control animals. In 14-day-old accelerating rats, significantly higher column heights, neuron sizes, and a lower numerical density of these cells were found compared to those in 5-day-old accelerating rats. At the same time, the number of neurons in a row of cells in a section of columns did not have significant age-related differences.

Keywords: cortical columns, brain, development, morphometry

For citation: Morphometric changes in the neocortex of the parietal lobe proper in the early periods of postnatal ontogenesis and their influence on the structure of columns in the brain of rats that differ in the rate of its development / B.Ya. Ryzhavskii, E.V. Vasileva, I.R. Erenenko, et al. // Far Eastern medical journal. – 2022. – № 4. – P. 41-46. <http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2022-4-7>.

Корковые колонки (модули) рассматриваются как морфофункциональные единицы ассоциативной коры полушарий млекопитающих [2, 3, 5, 11, 13]. Их образование происходит в пренатальном периоде онтогенеза. Количество колонок в коре ГМ человека – около 600 миллионов, а каждая из них состоит из 3-10 тысяч различных по строению и функциям нейронов, связанных между собой синаптическими связями [3].

Кора ГМ в постнатальном периоде претерпевает значительные изменения: она утолщается, нейроны увеличиваются в размерах, их численная плотность уменьшается, а численная плотность глиоцитов возрастает [1, 6, 8, 10]. В связи с этим возникает вопрос о том, как это влияет на структурные характеристики колонок, какова динамика данных изменений в разные периоды постнатального онтогенеза. Особого внимания заслуживают эти изменения, происходящие в неонатальном и молочном периоде, в течение которых как у человека, так и у других млекопитающих, ГМ претерпевает особенно масштабные изменения чис-

ленной плотности нейронов и глиоцитов, объема нейрорафии, толщины коры, морфометрических и гистохимических характеристик нейронов [6, 8-10]. В связи с этим встает вопрос о том, каким образом они отражаются на показателях, являющихся важными в определении свойств корковых колонок. При этом следует учитывать тот факт, что темпы развития ГМ в течение этих периодов могут быть как замедленными, так и ускоренными [6-8, 12]. Последнее было показано при экспериментальной акселерации, в частности, обусловленной уменьшением численности пометов до 4 или 6 крысят, через 1 сутки после родов [1, 6, 8].

В связи с изложенным, целью работы явился анализ изменений морфометрических показателей в ассоциативной зоне коры, в собственно теменной доле (СТД), происходящих в возрасте от 5 до 14 суток (в неонатальном и раннем молочном периодах онтогенеза), непосредственно связанных со структурой ее колонок, у крыс, отличавшихся темпами развития ГМ.

Материалы и методы

Изучался ГМ крыс линии Вистар, составивших 2 группы. Первая состояла из 5- и 14-суточных животных, родившихся и содержавшихся в пометах средней численности (n=9-12). Исследован ГМ 12 5-суточных крысят из 2 пометов, 12 крысят 14-суточных из 4 пометов. Вторая группа (акселераты) состояла из крысят, также родившихся в пометах средней численности, уменьшенных через 1 сутки после родов до 4 (5-суточные) или до 6 крысят (14-суточные). Исследован ГМ 12 5-суточных крысят из 3 пометов, и 12 14-суточных из 4 пометов. Животные из контрольных и уменьшенных пометов содержались одновременно, в условиях одного вивария, получали в свободном доступе воду и корм ad libitum, с соблюдением доку-

мента ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными». Эвтаназия крыс проводилась декапитацией. Определялись масса тела, ГМ, полушария (правого). Левое полушарие фиксировали в жидкости Карнуа, заливали в парафин. Срезы полушария толщиной 7 мкм, изготовленные на микротоме Leica, в области СТД [14], окрашивали для обзорного изучения метиленовым синим и галлоцианином для проведения морфометрического изучения неокортекса СТД. Измеряли толщину коры, размеры перикарионов нейронов слоя II и V, а также – численную плотность нейронов в этих слоях, как подробно описано в [1, 6, 8]. Кроме того, определяли число нейронов в срезе коры, проходящем по всей высоте



колонки, то есть от поверхности полушария до границы коры с белым веществом. Для этого коронарные срезы коры фотографировали цифровой камерой, импортировали снимки в компьютер, проводили визуальное изучение неокортекса СТД. Затем изготавливали микрофотографии размером А4 (рис. 1-4). На каждой микрофотографии проводили по 6 линий, идущих по высоте колонок (перпендикулярно поверхности полушария), после чего считали количество

нейронов, с которыми эти линии контактировали, и определяли их среднее число в срезе СТД каждого животного. Морфометрическое изучение неокортекса СТД проведено в ГМ 48 крыс (по 12 в каждой группе). Статистическая обработка результатов проведена с помощью программы Statistica10, StatSoft, Inc.2011, с применением опции «дескриптивная статистика». Межгрупповые различия считали статистически значимыми при $P < 0,05$.

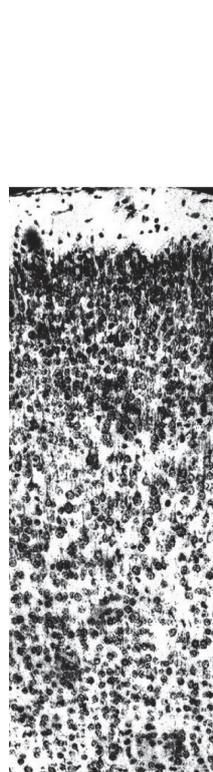


Рис. 1.

Кора СТД 5-дневной (рис. 1) и 14-дневной (рис. 2) крыс контрольной группы. Окраска галлоксианином. Увеличение 10×15

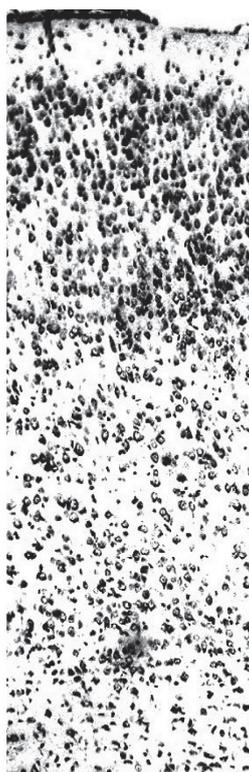


Рис. 2.

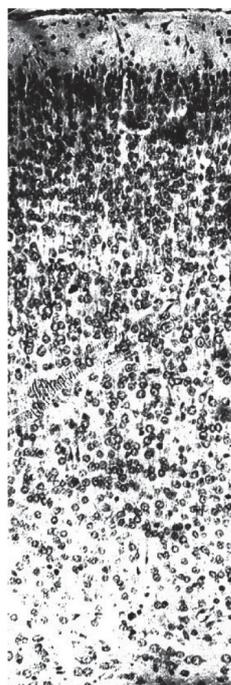


Рис. 3.

Кора СТД 5-дневной (рис. 3) и 14-дневной (рис. 4) крыс-акселератов. Окраска галлоксианином. Увеличение 10×15



Рис. 4.

Результаты и обсуждение

Изучение коры ГМ 5- и 14-суточных крыс контрольной группы показало, что ее толщина у 14-суточных превышает ее у 5-суточных на 376 мкм (таблица), то есть на 43,5 %. Поскольку корковые колонки проходят через все слои коры, их высота также значительно возрастала в течение исследованного возрастного интервала. В определенной степени это может обуславливаться изменениями размеров нейронов, как в слое II, так и в слое V. У 14-суточных крыс площадь их сечения превышала ее у 5-суточных более, чем в 2 раза (таблица). Вторым фактором увеличения толщины коры в постнатальном онтогенезе является увеличение объемной плотности нейропилы [9, 10]. Эти изменения обуславливают уменьшение численной плотности нейронов коры в слое II и, особенно, в слое V (таблица), что свидетельствует об увеличении расстояния в корковых колонках между нейронами, что

меняет условия их взаимодействия.

Изучение числа нейронов, расположенных в срезе, идущем по колонкам по всей толщине коры, от 1-го до 6-го слоя, показало, что у 14-суточных крыс контрольной группы оно на 23,9 % меньше, чем у 5-суточных (таблица). Таким образом, толщина коры и число нейронов в срезе, расположенном по высоте колонки, в возрастном интервале от 5 до 14 суток меняются разнонаправленно. В связи с этим возникает вопрос о том, чем обусловлено выявленное уменьшение числа нейронов. Одним из механизмов, который мог бы вызывать данный эффект, является гибель клеток. Однако микроскопическое изучение препаратов не выявило в неокортексе клеток с признаками апоптозов, данных литературы о гибели нейронов в коре мозга интактных крыс исследованных возрастных групп нами также не обнаружено. В то же время известно,



что в постнатальном периоде онтогенеза происходят значительные изменения конфигурации нейронных группировок, композиционное и пространственное оформление нейронных ансамблей, разрежение нейронов в группировках, нарастание расстояния между ними [9, 10]. Уменьшение численной плотности нейронов у 14-суточных крыс по сравнению с таковой у 5-суточных, выявленное нами (таблица), согласуется с этими данными. Это дает основания предполагать, что увеличение размеров нейронов, объема, приходящегося на нейропил, определяющие расширение колонок, способствуют изменениям локализации нейронов, приводящим к уменьшению их числа в ряду клеток, расположенных по высоте колонок и возрастанию ширины последних. В связи с этим, нам

представляется логичным предположение о том, что в исследованном возрастном интервале происходит разделение рядов нейронов, перемещение части их по направлению от центра колонок на периферию. Если данное предположение является правильным, то в процессе постнатального развития ГМ колонки становятся не только более высокими, но и более широкими, состоящими из большего числа рядов клеток, ориентированных по высоте колонок. При этом число нейронов, составляющих один ряд в высоте среза колонок, уменьшается. Увеличение ширины и высоты колонок происходит параллельно с увеличением объема и массы полушарий, которая у 14-суточных крыс превышает ее у 5-суточных в 2,77 раза (таблица).

Таблица – Возрастные особенности морфометрических показателей коры СТД у крыс в неонатальном и молочном периодах онтогенеза

Показатели	5-суточные		14-суточные	
	опыт	контроль	опыт	контроль
Масса тела, г	10,6±0,7**	8,9±0,6	23,9±1,26**	20,5±0,59*
Масса ГМ абс., мг	478±12,3**	424±22,7	1168±15,1**	1089±15,5*
Масса полушария, мг	180±6,6**	150±9,4	453±11,9**	416±5,9*
Толщина коры, мкм	1014±18,2**	865±21,7	1382±23,3**	1241±49,3*
Численная плотность нейронов в слое II в слое V	42,8±1,4**	54±3,6	26,5±0,44**	30,7±0,92*
	16,7±0,35**	23±0,97	7,4±0,06	7,7±0,13*
Число нейронов в срезе одного столбца корковой колонки	27±0,9**	34,7±1,2	26,8±0,6	28±0,8*
Размеры нейронов, мкм ² в слое II в слое V	54,2±1,8**	48,1±1,17	113±3,0**	98,3±2,5*
	106±3,5**	80,1±3,75	189±7,2*	170,7±6,8*

Примечание. * – различия статистически достоверны (P<0,05) по сравнению с показателем контроля в 5-суточном возрасте, ** – с контролем своей возрастной группы.

Крысы из уменьшенных пометов как в 5-, так и в 14-суточном возрасте, отличались достоверно большей массой тела. Они имели большую массу ГМ, полушария, толщину коры, меньшую численную плотность нейронов, чем у контрольных животных, то есть совокупность признаков опережающего развития органа (таблица). Большая толщина коры свидетельствует о том, что высота корковых колонок у них превышает ее у крыс контрольной группы. При этом у 14-суточных крыс-акселератов толщина коры была больше, чем у 5-суточных на 368 мкм, то есть примерно настолько, насколько у крыс контрольной группы (таблица). Таким образом, в возрастном интервале между 5-м и 14-м днем жизни темпы увеличения этого показателя, а, стало быть, и высоты корковых колонок, были одинаковыми у крыс контрольной группы и крыс-акселератов, и превышение толщины коры у 14-суточных крыс-акселератов по сравнению с ее толщиной у 14-суточных крыс контрольной группы является следствием различий, сформировавшихся уже к 5-суточному возрасту.

В 5-суточном возрасте среднее число нейронов, расположенных в срезе по высоте колонок, у крыс-акселератов было достоверно меньше, чем в контроле и к 14 суткам оставалось на том же уровне, тогда как у контрольных животных за этот же про-

межуток времени происходило значительное снижение данного показателя (таблица). У 14-суточных крыс-акселератов число нейронов в срезе ряда клеток колонки не отличалось от такового у контрольных 14-суточных животных. Эти данные могут рассматриваться как свидетельство того, что у животных данной группы процессы ускоренного развития коры ГМ обусловили более раннее уменьшение числа нейронов, расположенных по высоте колонок уже к возрасту 5 суток. Об этом же свидетельствует и тот факт, что этот показатель у 14-суточных крыс-акселератов был достоверно меньше, чем у 5-суточных крыс из группы контроля (таблица).

Изложенные результаты говорят о том, что в неонатальном и молочном периодах коры СТД претерпевает ряд изменений, сходных у крыс контрольной группы и крыс из пометов уменьшенной численности. Кроме описанных выше, к ним относится изменение по мере взросления животных соотношения численной плотности нейронов в слое II и V с 2,35 до 3,98 у крыс контрольной группы и с 2,56 до 3,58 – у крыс-акселератов (таблица, рис. 1-4). Это свидетельствуют об изменениях соотношения количества нейронов неокортекса, относящихся к ассоциативным, расположенных в слое II, и эфферентных, локализованных в слое V [5], и может рассматриваться как фактор, способный оказы-



вать влияние на функциональные свойства корковых колонок.

Полученные данные свидетельствуют о том, что показатели, отражающие важные стороны структуры корковых колонок, в ранние периоды постнатального онтогенеза, подвергаются существенным изменениям. При этом их возрастная динамика может зависеть от темпов развития ГМ. Выявленные возрастные

изменения корковых колонок у крыс в неонатальном и молочном периодах могут представлять интерес в связи с тем, что они рассматриваются не только как структурные, но и как функциональные единицы коры ГМ. Они могут учитываться при оценке функциональных изменений ГМ, поведения, происходящих в ранние периоды постнатального онтогенеза.

Список источников

1. Жильников Д.И., Рыжавский Б.Я. Некоторые особенности головного мозга крыс линии Вистар, развивавшихся в пометах разной численности // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2022. – № 1. – С. 79-84.
2. Кириченко Е.Ю., Логвинов А.К., Повилатите П.Е., Гранкина А.О. Распределение нейрональных и глиальных антигенов в колонках соматосенсорной коры мозга крысы (иммуногистохимическое исследование) // Морфология. – Т. 145, № 2. – С. 7-11.
3. Максимова Е.В. Онтогенез коры больших полушарий. – М.: Наука, 1990. – 184 с.
4. Мотавкин П.А. Введение в нейробиологию. – Владивосток: Медицина ДВ, 2003.
5. Руководство по гистологии. Т.1. – СПб.: СпецЛит, 2011. – 832 с.
6. Рыжавский Б.Я., Жильников Д.И. Влияние экспериментального сокращения численности пометов у крыс в неонатальном и молочном периодах онтогенеза на некоторые показатели развития их головного мозга в 30-дневном возрасте // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2021. – Т. 172, № 10. – С. 509-514.
7. Рыжавский Б.Я., Лебедько О.А., Лазинская О.В. Влияние эмоционального стресса в период, предшествующий беременности, на показатели развития головного мозга их потомства // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2002. – Т. 134, № 8. – С. 146-150.
8. 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.
9. 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.
10. Цехмистренко Т.А., Козлов В.И. Гистофизиологический подход к изучению структурной организации коры мозга человека в онтогенезе // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2016. – № 2. – С. 103-108.
11. De Felipe J., Matkram H., Rockland K. The neocortical column // Frontiers in neuroanatomy. – 2012. – Vol. 6. – P. 4-5.
12. Ryzhavskaia B.Ya., Lebedko O.A., D.S. Belolyubskaya, Baranova S.N. Long-term consequences of prenatal exposure to lead on brain development in rats // Neurosci Behav Physiol. – 2008. – Vol. 38 (2). – P. 145-149.
13. Sowell E.R., Thompson P.M., Leonard C.M. Longitudinal mapping of cortical thickness and brain growth in normal children // Neuroscience. – 2004. – Vol. 24, № 38. – P. 8223-8231.
14. Watson C., Paxinos G. The Rat Brain in stereotaxis coordinates. London, San Diego: Academic Press, 2007.

References

1. Zhilnikov D.I., Ryzhavskaia B.Ya. Some features of the brain of Wistar rats that developed in litters of various numbers // Pacific Medical Journal. – 2022. – № 1. – P. 79-84.
2. Kirichenko E.Yu., Logvinov A.K., Povilatite P.E., Grankina A.O. Distribution of neuronal and glial antigens in the columns of the somatosensory cortex of the rat brain (immunohistochemical study) // Morphology. – Vol. 145, № 2. – P. 7-11.
3. Maksimova E.V. Ontogeny of the cerebral cortex. – M.: Nauka, 1990. – 184 p.
4. Motavkin P.A. Introduction into neurobiology. – Vladivostok: Medicine DV, 2003.
5. Guide to histology. – St. Petersburg: SpetsLit, 2011. – Vol. 1. – 832 p.
6. Ryzhavskaia B.Ya., Zhilnikov D.I. Influence of experimental reduction in the number of litters in rats in the neonatal and milk periods of ontogenesis on some indicators of their brain development at 30 days of age // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2021. – Vol. 172, № 10. – P. 509-514.
7. Ryzhavskaia B.Ya., Lebedko O.A., Lazinskaya O.V. 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.
8. Ryzhavskaia B.Ya., Tkach O.V. Morphological features of the rats' brain during acceleration in the neonatal and milk periods of ontogenesis // Pacific Medical Journal. – 2016. – № 2. – P. 93-96.



9. Tsekhmistrenko T.A., Vasilyeva V.A. Structural transformation of the associative 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.
10. Tsekhmistrenko T.A., Kozlov V.I. Histophysiological approach to the study of the structural organization of the human cerebral cortex in ontogeny // Pacific Medical Journal. – 2016. – № 2. – P. 103-108.
11. De Felipe J., Matkram H., Rockland K. The neocortical column // Frontiers in neuroanatomy. – 2012. – Vol. 6. – P. 4-5.
12. Ryzhavsii B.Ya., Lebedko O.A., D.S. Belolyubskaya, Baranova S.N. Long-term consequences of prenatal exposure to lead on brain development in rats // Neurosci Behav Physiol. – 2008. – Vol. 38 (2). – P. 145-149.
13. Sowell E.R., Thompson P.M., Leonard C.M. Longitudinal mapping of cortical thickness and brain growth in normal children // Neuroscience. – 2004. – Vol. 24, № 38. – P. 8223-8231.
14. Watson C., Paxinos G. The Rat Brain in stereotaxis coordinates. London, San Diego: Academic Press, 2007.

Авторы указывают на отсутствие конфликта интересов.

Вклад авторов:

Рыжавский Б.Я. – идея работы, постановка экспериментов, дизайн исследования, написание статьи;
Васильева Е.В. – морфометрический анализ;
Еременко И.Р. – морфометрический анализ;
Жильников Д.И. – постановка экспериментов, обработка материала;
Лазинская О.В. – постановка экспериментов, обработка материала.

The authors indicate no conflict of interest.

Authors' contribution:

Ryzhavsky B.Ya. – the idea of the work, the setting of experiments, the design of the study, the writing of the article;
Vasilyeva E.V. – morphometric analysis;
Eremenko I.R. – morphometric analysis;
Zhilnikov D.I. – setting up experiments, processing the material;
Lazinskaya O.V. – setting up experiments, processing the material.

Статья принята к публикации 10.10.2022.

The article was accepted for publication 10.10.2022.

