

На правах рукописи

Лазинская Ольга Владимировна

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ КОРЫ
ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
АКСЕЛЕРАЦИИ**

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Хабаровск – 2016

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Дальневосточный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор **Рыжавский Борис Яковлевич**

Официальные оппоненты:

Краснощекова Елена Ивановна, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», профессор кафедры цитологии и гистологии

Черток Виктор Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой анатомии человека

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится « 28 » февраля 2017 г. в 13 часов на заседании диссертационного совета Д 005.008.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Национальный научный центр морской биологии» Дальневосточного отделения Российской академии наук по адресу:

690001, Владивосток, ул. Пальчевского д. 17.

Факс: (423)2310-900, e-mail: inmarbio@mail.primorye.ru

Отзывы просим присылать на e-mail: mvaschenko@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Национальный научный центр морской биологии» Дальневосточного отделения Российской академии наук:

<http://www.imb.dvo.ru/misc/dissertations/index.php/sovet-d-005-008-01/28-lazinskaya-olga-vladimirovna>

Автореферат разослан « ____ » _____ 2016 г.

Ученый секретарь диссертационного совета, кандидат биологических наук

Ващенко

Ващенко Марина Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Развитие головного мозга зависит как от генетических (Guestry, 1998; Susanne, Bodzsar, 1998; Wolanski, 1999; Kesler et al., 2008; Chauhan, Grissom, 2013), так и от средовых факторов (Гребнева, Загайнова, 2000; Алтухов, 2003; Westwood et al., 2013; Nicolas et al., 2015). Показано, что целый ряд факторов может влиять на данный процесс, вызывать нарушения структуры органа, а также замедлять темпы его развития (Casper, 2004; Laplante, 2004; Нетребенко, 2007; Исенгулова и др., 2009; Buss et al., 2010). С другой стороны, известно, что ряд воздействий, оказанных в период интенсивного развития головного мозга, обуславливает ускорение его темпов. При этом головной мозг «опережает» свой календарный возраст по морфологическим показателям органогенеза (Рыжавский, 2009).

В связи с этим заслуживает внимания изучение развития мозга при акселерации, наиболее яркими и характерными признаками которой считаются опережающие темпы роста массы тела и полового развития (Сауткин, Стунева, 2005; Нетребенко, 2007; Красильников и др., 2008; Kurokawa et al., 2008; Година, 2009; Hadzihalilovic et al., 2009). Данный процесс наблюдался в течение многих десятилетий в разных странах, включая СССР и Россию (Величковский и др., 2004; Давыденко, 2004; Година, 2009; Kryst et al., 2012; Милушкина, 2013; Божченко и др., 2014; Valter, 2015). При этом особенности развития мозга детей не исследовались. В то же время, известно, что 1) масса тела на ранних стадиях постнатального онтогенеза, как у человека, так и у таких животных как крысы, имеет положительную связь с массой головного мозга (Автандилов, 1990) и 2) между темпами роста массы мозга и гистологическим строением его различных отделов имеются определенные зависимости (Матвеева и др., 2005; Литвинцева, 2010; Рыжавский, Литвинцева, 2012). В связи с этим встает вопрос о том, каково влияние ускоренного соматического развития организма на массу органа, морфологию коры, ее нейроны. Ответ на него, представляющий как теоретический, так и практический интерес, может быть получен при исследовании мозга животных, имеющих признаки акселерации.

Степень разработанности. Ранее в лаборатории кафедры гистологии ДВГМУ исследовались морфологические особенности головного мозга крыс, выращенных в искусственно уменьшенных пометах (5-7 в помете) и имевших характерные признаки акселерации (Матвеева, 2007; Рыжавский, 2009;

Литвинцева, 2010). Постановка этих экспериментов базировалась на данных о большей скорости роста массы тела у крысят из пометов малой численности.

Настоящая работа является продолжением этих исследований. В ней расширен возрастной диапазон онтогенеза исследованных животных, также поставлен вопрос о том, будет ли еще более интенсивно увеличиваться темп роста мозга при более значительном уменьшении численности пометов и большей степени увеличении массы тела животных, а также – о том, какими будут в этих условиях взаимоотношения между массой тела (одного из признаков, отражающих наличие акселерации) и массой мозга с морфометрическими и гистохимическими особенностями его коры у крыс в период онтогенеза, характеризующийся высокими темпами роста органа. Кроме того, в работе изучался вопрос о возможном влиянии стероидного стимулятора анаболизма, ретаболила, на процессы постнатального развития коры мозга животных при акселерации.

Цели и задачи исследования. В связи с вышеизложенным, целью исследования явилось изучение особенностей динамики морфологических показателей развития головного мозга крыс при экспериментальной акселерации

Задачи исследования

1. Изучить влияние экспериментальной акселерации крыс на динамику гравиметрических показателей развития головного мозга в возрасте от 5 до 60 суток.
2. Изучить влияние экспериментальной акселерации крыс на динамику морфометрических и гистохимических показателей развития головного мозга в возрасте от 5 до 60 суток, а также на свободнорадикальное окисление (СРО) в органе и поведение крыс.
3. Изучить влияние введения стероидного препарата с выраженными анаболическими свойствами (ретаболила) на морфометрические, гистохимические показатели развития коры головного мозга и СРО в коре головного мозга крыс-акселератов.

Научная новизна исследования. Впервые дана характеристика гравиметрических, морфометрических, гистохимических показателей, отражающих особенности развития головного мозга крыс в возрастном интервале от 5- до 60-суточного возраста при экспериментальной акселерации, вызванной значительным уменьшением численности пометов. Совокупность выявленных отличий мозга при акселерации свидетельствует об опережающем развитии мозга.

Они проявляются увеличением абсолютной и уменьшением относительной массы мозга, увеличением массы полушарий, толщины коры в собственно теменной (СТД) и переднетеменной (ПТД) долях, уменьшением численной плотности нейронов слоя II и V СТД и ПТД, увеличением размеров ядрышек, ядер и цитоплазмы нейронов неокортекса и гиппокампа, а также – увеличенной концентрацией РНК и повышенной активностью НАДН- и НАДФН-дегидрогеназы в цитоплазме нейронов неокортекса и гиппокампа.

Впервые дана морфометрическая и гистохимическая характеристика показателей развития головного мозга 14-, 30- и 60-суточных крыс-акселератов при введении стероидного препарата с выраженным анаболическим эффектом (ретаболила). Установлено, что введение ретаболила обуславливает увеличение толщины коры, слоя I СТД, уменьшение численной плотности нейронов, увеличение размерных характеристик нейронов неокортекса и гиппокампа, снижение интенсивности СРО липидов в неокортексе 14-, 30- и 60-суточных животных. Введение препарата приводит к повышению концентрации РНК, активности НАДН-д, НАДФН-д и 3β -гидроксистероиддегидрогеназы (ГСДГ) в цитоплазме корковых нейронов, причем эти изменения выявляются не во всех возрастных группах, зависят от гендерной принадлежности животных.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные данные о морфологических особенностях мозга при акселерации расширяют представления о факторах, регулирующих развитие этого органа. Они устанавливают связи между общесоматическим развитием, с одной стороны, и развитием мозга, с другой, а также – между темпами роста массы мозга и формированием его неокортекса и гиппокампа. Результаты диссертации также вносят вклад в изучение широко распространенного явления - акселерации. Они могут представлять интерес для нейроморфологов, нейрофизиологов, а также - для педиатров, психологов, педагогов, занимающихся лечением, обучением и воспитанием детей, отличающихся темпами онтогенетического развития.

Методология и методы диссертационного исследования. В данной работе были применены общегистологические, гистохимические, в том числе гистоэнзимологические методы исследования, результаты которых регистрировались при помощи компьютерной морфометрии, компьютерной цитоспектрофотометрии. Методы постановки экспериментов осуществлялись на крысах, с соблюдением правил содержания лабораторных животных. Гравиметрическое исследование подопытных крыс, включало в себя определение

массы тела животных, гонад, надпочечников, головного мозга, полушария. Исследование толщины коры головного мозга, численной плотности нейронов в неокортексе, площади сечения цитоплазмы, ядер и ядрышек нейронов разных локализаций неокортекса и гиппокампа осуществлялось с помощью цитоспектрофотометрического аппарата «Мекос» (Медицинские компьютерные системы). Гистохимическое исследование включало в себя определение концентрации РНК в цитоплазме пирамидных нейронов слоев II и V неокортекса передней и собственно теменной доли, поля СА I гиппокампа, активности НАДН-дегидрогеназы, отражающей активность внутримитохондриальных окислительных процессов и НАДФН-дегидрогеназы, отражающей активность внемитохондриальных окислительных процессов, активности 3β -гидроксистероиддегидрогеназы, как маркера клеток, синтезирующих нейростероиды. Активность НАДН-д, НАДФН-д и ГСДГ проводили на криостатных срезах полушария в цитоплазме нейронов слоев II и V разных зон неокортекса и поля СА I гиппокампа. Для выявления концентрации липидов в слое I и белом веществе головного мозга исследовали криостатные срезы из собственно теменной доли полушария, окрашенных суданом черным. Интенсивность всех гистохимических реакций определяли цитоспектрофотометрически на аппарате Мекос (медицинские компьютерные системы) при длине волны, 550 и 600 нм. Биохимическое исследование включало в себя исследование методом хемилюминесценции показателей свободнорадикального окисления в коре лобной доли.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Акселерация крыс, обусловленная значительным уменьшением численности пометов, является фактором, приводящим к ускоренному развитию их головного мозга. Это проявляется увеличением массы мозга, его полушарий, морфометрическими и гистохимическими признаками ускоренного развития нейронов неокортекса и гиппокампа.

2. Выраженность отличий мозга при акселерации в возрасте от 5 до 60 суток зависит от периода онтогенеза: наибольшие отличия мозга крыс с акселерацией от контроля наблюдаются в неонатальном и молочном периодах; в препубертатном и пубертатном периодах они уменьшаются.

3. Введение ретаболила не влияет на темпы роста массы головного мозга 14-, 30-, 60-суточных крыс из уменьшенных пометов, но отражается на морфометрических и гистохимических показателях развития нейронов

неокортекса и гиппокампа, проявляясь увеличением толщины коры и слоя I, площади сечения цитоплазмы, ядер и ядрышек нейронов, увеличением концентрации РНК, активности НАДН-д, НАДФН-д, ГСДГ в цитоплазме нейронов неокортекса и гиппокампа, концентрации липидов в белом веществе и слое I коры мозга. Введение препарата приводит также к снижению интенсивности СРО в головном мозге.

Степень достоверности результатов. О достоверности результатов проведенных экспериментов свидетельствует их воспроизводимость, использование объективных современных методов компьютерной морфометрии и цитоспектрофотометрии, корректный анализ полученных данных, публикации результатов работы в рецензируемых журналах. Фактические материалы, представленные в диссертации, полностью соответствуют первичной документации – протоколам исследований.

Апробация диссертации. Материалы исследования представлены на XVII (январь 2015 г., г. Хабаровск) и XVIII (январь 2016 г., г. Хабаровск) Краевых конкурсах молодых ученых и аспирантов, на III научной конференции с международным участием «Актуальные вопросы экспериментальной биологии и медицины» посвященной памяти профессора С.С. Тимошина (ноябрь 2015 г., г. Хабаровск).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 8 работ в журналах, рекомендованных ВАК для публикации диссертационных материалов.

Личный вклад соискателя. Автором в полном объеме выполнена экспериментальная часть исследования. Соискатель непосредственно участвовала в анализе и интерпретации данных, в представлении результатов на конференциях и подготовке публикаций по результатам исследования.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 205 страницах и содержит 16 таблиц, 18 рисунков. Список литературы включает 308 источников, в том числе 144 отечественных и 169 иностранных. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 2 глав собственных данных, обсуждения, выводов и списка литературы.

Благодарности. Автор выражает благодарность своему научному руководителю Борису Яковлевичу Рыжавскому за ясно поставленные цели и руководство, всем сотрудникам кафедры биологии и гистологии ДВГМУ за постоянную помощь на всех этапах выполнения работы и обсуждение полученных результатов. Автор искренне благодарит ведущего научного

сотрудника ЦНИЛ, д.м.н. Ольгу Антоновну Лебедевко за помощь в проведении биохимических исследований коры головного мозга.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В работе исследованы 212 крыс линии Вистар из 32 пометов в возрасте 5, 14, 30 и 60 суток, потомство 4-5-месячных самцов и самок. Животные всех сравниваемых групп содержались одновременно в условиях одного вивария, корм и воду получали *ad libitum*. Исследования были проведены согласно принципам, изложенным в Европейской конвенции по защите позвоночных животных, применяемых для экспериментов или в других научных целях.

В первом разделе работы изучали влияние уменьшенной численности пометов на показатели развития головного мозга крыс. Исследовались 5-, 14-, 30-, 60-суточные крысы из искусственно уменьшенных (через сутки после рождения) пометов. В каждой возрастной группе было 3 помета, оставленное число крысят в каждом помете – 4. Контролем служили 5-, 14-, 30- и 60-суточные крысята из «больших» интактных пометов (2 помета каждой возрастной группы, число крысят в каждом помете 10-13).

Во втором разделе исследовали головной мозг, гонады и надпочечники 14-, 30- и 60-суточных белых крыс из искусственно уменьшенных через сутки после рождения пометов (число крысят в помете – 6). В каждом помете 3 крысятам однократно введен ретаболил, 3 – введено эквивалентное количество растворителя (персиковое масло). Препарат вводили 7-дневным животным (25 мг/кг); их забой осуществлялся декапитацией в утренние часы в возрасте 14 суток. 14-дневным и 30-дневным ретаболил вводился в дозе 15 мг/кг, их забой осуществлялся соответственно в 30- и 60-суточном возрасте.

Забой животных контрольных и экспериментальных групп производили одновременно, декапитацией. Взвешиванием на электронных весах определяли гравиметрические показатели: массу тела, головного мозга, правого полушария, гонад и надпочечников. Левое полушарие фиксировали в жидкости Карнуа. Далее разрезали в ПТД и СТД строго перпендикулярно длиннику и верхней поверхности по схемам В.М. Светухиной (1962), заливали в парафин. Срезы готовили на микротоме фирмы Reichert, толщиной 7 мкм, окрашивали 1% метиленовым синим и галлоцианином по Эйнарсону (Бухвалов, 1996) на

нуклеиновые кислоты. На препаратах, окрашенных метиленовым синим, проводили их обзорное и морфометрическое изучение.

Морфометрическое исследование включало:

1. Определение толщины коры головного мозга. Измерение проводили в 3 участках, при помощи окуляр-микрометра МОВ-15, при увеличении объектива $\times 3,7$ (Автандилов, 1990). Аналогичным способом измеряли толщину слоя I коры головного мозга.

2. Определение плотности расположения нейронов производили в слоях II и V ПТД и СТД неокортекса. Для этого на цитоспектрофотометрическом аппарате «Мекос» в 5 стандартных полях зрения определяли количество клеток в каждом слое и производили расчет на единицу площади.

3. Измерение площади сечения цитоплазмы, ядер и ядрышек нейронов слоев II и V ПТД и СТД неокортекса и поля СА I гиппокампа осуществляли с помощью цитоспектрофотометрического аппарата «Мекос». В каждой зоне измеряли по 25 клеток в 5 полях зрения.

Гистохимические и биохимические исследования включали:

1. Определение концентрации РНК в цитоплазме пирамидных нейронов слоев II и V неокортекса ПТД и СТД, поля СА I гиппокампа, на препаратах, окрашенных галлоцианином, на аппарате «Мекос», при $\lambda=550$ нм. Исследовали по 25 клеток каждого слоя. Учитывалось, что нуклеиновые кислоты в цитоплазме представлены большей частью рибосомной РНК (Ченцов, 1988).

2. Определение активности НАДН-д, НАДФН-д, и ГСДГ, проводили тетразоливым методом по З. Лойда (1982) в цитоплазме нейронов слоев II и V СТД неокортекса и поля СА I гиппокампа. Из СТД правого полушария готовили криостатные срезы толщиной 30 мкм, которые монтировались на покровные стекла. Затем на них наносился инкубационный раствор, содержащий 1,5 мл фосфатного буфера (рН=7,4), 4 мг нитросинего тетразолия и 2 мг НАДН-д и НАДФН-д для выявления активности данных ферментов по З. Лойда (1982). Для определения активности ГСДГ по З. Лойда (1982) использовали фосфатный буфер – 1,5 мл, дегидроэпиандростерон – 50мкг, НАД – 2 мг и нитросиний тетразолий – 4 мг (все реактивы - производства Sigma, США). Реакцию проводили в термостате при температуре 37°C в течение 30 минут. Препараты заключали в глицерин-желатину. Результат оценивали измерением оптической плотности продуктов реакции в цитоплазме на аппарате «Мекос» при $\lambda=550$ нм. Исследовали по 25 нейронов в каждой из областей.

3. Для определения концентрации липидов в слое I и белом веществе головного мозга готовили криостатные срезы из СТД правого полушария толщиной 30 мкм, затем монтировали на предметные стекла, окрашивали суданом черным В и заключали в глицерин-желатин. Интенсивность окраски суданом измерялась на аппарате «Мекос» при длине волны $\lambda=600$ нм.

4. Для проведения биохимического исследования брали навески влажной ткани коры лобной доли правого полушария. Свободнорадикальное окисление (СРО) изучали методом хемилюминесценции (ХМЛ). Регистрацию ХМЛ в гомогенатах коры осуществляли на люминесцентном спектрометре LS 50B «PERKIN ELMER». Эти исследования проведены в ЦНИЛе ДВГМУ при консультациях д.м.н. О.А. Лебедько.

Для изучения высшей нервной деятельности (ВНД) животных в 25-суточном возрасте подвергли исследованию в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ). Оценку проводили, как описано в (Сапожников и др., 2002). Статистический анализ данных проводился с помощью программы Statistica 6.0. Полученные цифровые данные были обработаны стандартными параметрическими методами с использованием t-критерия Стьюдента. Вычисляли среднее значение (M), ошибку среднего ($\pm m$) и медиану. Различия считались достоверными при $P < 0,05$. Расчеты были проведены: 1) «суммарно» у самцов и самок, учитывая, что большинство исследованных параметров были близки и имели однонаправленный характер изменений; 2) «раздельно», с учетом гендерной принадлежности животных.

Результаты собственных исследований и их обсуждение

Особенности развития коры головного мозга при экспериментальной акселерации у крыс. Масса тела крыс из уменьшенных пометов в 5-суточном возрасте превосходила таковую у контрольных на 19,1%, в 14-суточном – на 82,3%, в 30-суточном – на 30,1%, в 60-суточном – на 13,8 %; абсолютная масса мозга – на 12,7 %, 12% и 8,3 %, 1,7 % соответственно (табл.1). Полученные данные свидетельствуют о том, что степень превышения темпов роста мозга, а также полушария были значительно меньшей, чем степень увеличения темпов роста массы тела. Вследствие этого относительная масса мозга у животных экспериментальной группы была намного меньшей, чем контрольных (табл.1).

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что максимальное количество достоверных морфометрических и гистохимических межгрупповых

различий наблюдалось у крыс самой младшей исследованной группы – 5-суточных (табл.1). Животные из малочисленных помётов характеризовались увеличенными массой мозга ($478 \pm 12,3$ мг против $424 \pm 22,7$ мг, $P < 0,05$) и полушария, толщиной коры в ПТД ($1091 \pm 21,8$ мкм против $985 \pm 14,1$ мкм, $P < 0,05$) и СТД, уменьшенной численной плотностью нейронов в СТД и ПТД, увеличенными размерами ядрышек, ядер и цитоплазмы нейронов всех изученных локализаций, концентрации в ней РНК (табл. 1).

Слой I и белое вещество полушария при этом имели большую степень суданофилии, по сравнению с контролем. Гистохимический анализ активности ферментов показал, что в 5-суточном возрасте нейроны гиппокампа, отличались большей активностью НАДН-д и НАДФН-д (табл.1). Активность НАДФН-д была увеличена в цитоплазме нейронов слоя II ($0,507 \pm 0,02$ усл. ед. и $0,412 \pm 0,017$ усл. ед., $P < 0,05$), и гиппокампе ($0,502 \pm 0,015$ усл. ед. и $0,450 \pm 0,012$ усл. ед., $P < 0,05$) Эти отличия можно расценивать как свидетельство интенсификации процессов внутримитохондриального и внемитохондриального биологического окисления. При этом последнее тесно связано с такими важными для роста и созревания мозга процессами, как синтез нуклеиновых кислот и других биомолекул (Стайер, 1984). Анализ представленных данных выявил следующую закономерность: хотя исследованные зоны коры мозга, ее слои функционально различны (Максимова, 1990; Мотавкин, 2003), характер межгрупповых отличий исследованных показателей был в них однотипным.

Масса головного мозга у 14-суточных животных, как и масса тела, у крыс из малочисленных помётов достоверно превышают их в контрольных помётах ($1174 \pm 16,2$ мг и $1048 \pm 16,3$ мг, $P < 0,05$). Морфометрический анализ показал, что мозг 14-суточных подопытных крыс имеет ряд признаков ускоренного развития неокортекса, включающих в себя большую толщину коры СТД ($1248 \pm 18,5$ мкм и $1185 \pm 25,8$ мкм, $P < 0,05$), ПТД ($P < 0,05$), слоя I СТД ($160 \pm 2,3$ мкм и $142 \pm 4,7$ мкм, $P < 0,05$) и ПТД ($P < 0,05$), а также – меньшую численную плотность нейронов в слоях II и V СТД (табл. 1, $P < 0,05$), слое II ПТД. Площадь сечения цитоплазмы в мозге подопытных животных была достоверно увеличена в нейронах слоя II СТД, слоя II и V ПТД, гиппокампа. Поскольку концентрация РНК в цитоплазме данных клеток была у животных сравниваемых групп близкой (табл.1), можно полагать, что суммарное количество РНК в цитоплазме перикарионов этих нейронов у животных из экспериментально уменьшенных помётов было большим, чем у контрольных. Перечисленные межгрупповые морфометрические и гистохимические отличия корковых нейронов сочетались с гистохимическими

признаками ускоренной миелинизации слоя I неокортекса ($0,395 \pm 0,028$ усл. ед. и $0,327 \pm 0,014$ усл. ед., $P < 0,05$), а также – белого вещества ($0,378 \pm 0,014$ усл. ед. и $0,276 \pm 0,015$ усл. ед., $P < 0,05$), расположенного под корой, что проявлялось большей интенсивностью их суданофилии: в слое I концентрация суданофильных липидов у животных подопытной группы была больше, чем у контрольных на 20,8%, в белом веществе полушария – почти на 37% (табл. 1). Активность НАДН-д и НАДФН-д в исследованных нейронах не имела достоверных межгрупповых различий. Таким образом, у 14-суточных подопытных животных, как и у 5-суточных, имеются признаки ускоренного созревания коры мозга.

В 30-суточном возрасте (окончание молочного периода) крысы с акселерацией имели большую, чем контрольные, абсолютную массу мозга ($1486 \pm 17,8$ мг против $1371 \pm 23,6$ мг, $P < 0,05$) и полушария, значительно уменьшенную относительную массу органа ($18,8 \pm 0,55$ мг/г и $22,6 \pm 0,62$ мг/г, $P < 0,05$), увеличенную толщину коры ПТД ($1714 \pm 18,9$ мкм и $1581 \pm 30,5$ мкм, $P < 0,05$), слоя I ПТД и СТД, уменьшенную численную плотность нейронов в неокортексе, а также – увеличенную концентрацию липидов в слое I и белом веществе коры. В то же время, практически все размерные характеристики нейронов, а также – концентрация РНК, активность НАДН-д и НАДФН-д в их цитоплазме не имели достоверных различий с соответствующими показателями в контроле (табл. 1).

В 60-суточном возрасте у подопытных животных обнаружилось меньшее число отличий от контроля по показателям, отражающим темпы развития головного мозга, по сравнению с таковыми в 30-суточном возрасте. Тем не менее 60-суточные животные из уменьшенных пометов имели ряд таких же морфометрических, гистохимических отличий, которые наблюдались и в 30-дневном возрасте (достоверное увеличение размеров цитоплазмы нейронов слоя II ($59,9 \pm 1,6$ мкм² и $52,6 \pm 1,2$ мкм², $P < 0,05$) и V ($107,4 \pm 4,6$ мкм² и $82,2 \pm 2,6$ мкм², $P < 0,05$) ПТД и гиппокампа ($60,1 \pm 1,6$ мкм² и $53,6 \pm 1,2$ мкм², $P < 0,05$), ядрышек нейронов слоя V ПТД ($7 \pm 0,2$ мкм² и $6,1 \pm 0,2$ мкм², $P < 0,05$)). При учете гендерной принадлежности животных было установлено, что у самок экспериментальной группы в данном возрасте имелось большее число отличий от контроля, чем у самцов.

Нейроны в СТД коры мозга 60-суточных животных опытной группы имели достоверно большую, чем в контроле площадь сечения цитоплазмы слоя V ($93,3 \pm 2,8$ мкм² и $83,5 \pm 3,6$ мкм², $P < 0,05$) и ядрышек слоя II ($4,7 \pm 0,1$ мкм² и $4,3 \pm 0,1$ мкм², $P < 0,05$). При разделении по полу животных, было выявлено, что у

подопытных самок имеется достоверное увеличение цитоплазмы ($94,4 \pm 4,3$ мкм² и $76,4 \pm 5,05$ мкм²) и ядрышек слоя V ($6,5 \pm 0,3$ мкм² и $5,7 \pm 0,1$ мкм²), а у самцов обнаружались только увеличенные размеры ядрышек нейронов слоя II ($4,6 \pm 0,09$ мкм² и $4,2 \pm 0,1$ мкм², $P < 0,05$).

При исследовании активности ферментов у 60-суточных животных опытной группы было выявлено достоверное увеличение активности ГСДГ в цитоплазме нейронов слоя V (табл.1). Экспериментальные самки характеризовались также достоверно большей, чем в контроле активностью ГСДГ в цитоплазме нейронов слоя II ($0,240 \pm 0,019$ усл. ед. против $0,190 \pm 0,009$ усл. ед., $P < 0,05$) и V ($0,244 \pm 0,019$ усл. ед. против $0,191 \pm 0,007$ усл. ед., $P < 0,05$), что может свидетельствовать об усилении стероидогенеза в клетках мозга данных локализаций. В гиппокампе мозга крыс сравниваемых групп наблюдалась тенденция к увеличению активности НАДН-д и ГСДГ в цитоплазме клеток (табл.1). При учете гендерной принадлежности, как у самцов подопытной группы ($0,424 \pm 0,036$ усл. ед. против $0,329 \pm 0,017$ усл. ед., $P < 0,05$), так и у самок ($0,459 \pm 0,006$ усл. ед. против $0,382 \pm 0,024$ усл. ед., $P < 0,05$), достоверно большие от контроля показатели наблюдались в активности НАДН-д в цитоплазме нейронов гиппокампа.

Таким образом, по мере взросления животных с акселерацией, часть имевшихся в более ранние периоды различий, отражающих как уровень онтогенетического развития мозга, так и функциональное состояние нейронов, в большей или меньшей степени нивелируется, что можно расценивать как отражение принципа эквивиальности. В то же время, целый ряд важных морфологических и гистохимических показателей развития мозга, его коры, у животных с акселерацией имеют отличия от таковых в контроле до наступления половой зрелости, когда структура коры мозга соответствует таковой у взрослых животных. Выявленные морфологические отличия мозга крыс с акселерацией сочетались с рядом особенностей их ВНД. При исследовании ВНД в ПКЛ у подопытных крыс в 25-суточном возрасте было выявлено увеличение медианы времени стоек ($18,4$ сек. против $11,9$ сек.), времени ($29,2$ сек. против 22 сек.) и частоты пребывания (на 33%) в открытых рукавах, уменьшение медианы времени заходов в закрытые рукава (149 сек. против 156 сек.). Интегральный показатель, исследовательская активность, отличался от контроля более высокой медианой по времени (на 26%). Эти результаты свидетельствуют, что 25-суточные животные из уменьшенных пометов имели более высокий, чем в контроле, уровень исследовательской активности (Pellow et al., 1985; Сапожников и др., 2002).

Таблица 1

Возрастная динамика гравиметрических, морфометрических и гистохимических показателей у крыс при экспериментальной акселерации

Группа Показатели	5-суточные		14-суточные		30-суточные		60-суточные	
	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
Масса тела, г	8,9±0,56	10,6±0,66*	18,1±0,35	33,0±1,11*	61,4±2,21	79,9±3,03*	224±7,1	255±12,3*
Масса мозга абс., мг	424±22,7	478±12,3*	1048±16,3	1174±16,2*	1371±23,6	1486±17,8*	1694±17,2	1724±36,3
Масса мозга отн., мг/г	48,1±0,91	46,2±1,96	58,3±0,76	35,9±0,93*	22,6±0,62	18,8±0,55*	7,6±0,2	6,9±0,2
Масса полушария, мг	150±9,4	180±6,58*	397±6,39	431±14,52*	514±11,8	550±10,5*	592±16,1	662±20,5*
Масса надпочечников, мг			3±0,17	4±0,3*	7±0,3	15±1,2*	30±1,0	29,6±1,4
СТД, толщина, мкм, кора	865±21,7	1014±18,2*	1185±25,8	1248±18,5*	1318±27,8	1261±25,98	1218±45,3	1176±32,9
слой I	73±2,04	94±2,7*	142±4,7	160±2,3*	134±4,5	155±4,4*	127±5,5	134±2,7
Число нейронов в поле зрения, слой II	54±3,6	43±1,39*	27±0,58	26±0,57	20±0,48	17±0,39*	16±0,4	15±0,5
слой V	23±0,97	17±0,35*	12±0,38	10±0,31*	11±0,36	10±0,28*	7±0,2	7±0,3
ПТД, толщина, мкм, кора	985±14,1	1091±21,8*	1550±13,1	1615±7,7*	1581±30,5	1714±18,9*	1708±43,3	1665±45,3
слой I	87±2,3	99±3,1*	153±4,3	166±4,3*	158±4,2	167±4,75*	156±7,2	132±7,5
Число нейронов в поле зрения, слой II	49±2,85	36±0,59*	24±0,79	23±0,63*	19±0,47	15±0,33*	15±0,4	14±0,7
слой V	23±1,01	16±0,25*	11±0,42	10±0,29	13±0,42	9±0,31*	7±0,1	7±0,14
Концентрация липидов, усл. ед. слой I	0,360±0,017	0,461±0,03*	0,327±0,014	0,395±0,028*	0,553±0,039	0,635±0,031*	0,432±0,028	0,512±0,021*
белое вещество	0,264±0,012	0,303±0,018	0,276±0,015	0,378±0,014*	0,382±0,023	0,579±0,041*	0,339±0,015	0,416±0,018*

Продолжение таблицы 1

Группа Показатели	5-суточные		14-суточные		30-суточные		60-суточные	
	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
Концентрация РНК в цитоплазме, усл. ед:								
слой II STD	0,276±0,012	0,328±0,016*	0,402±0,014	0,413±0,022	0,288±0,011	0,314±0,014	0,346±0,007	0,360±0,007
слой V STD	0,255±0,014	0,310±0,02*	0,416±0,023	0,435±0,025	0,339±0,011	0,367±0,01	0,334±0,012	0,368±0,013
слой II ПТД	0,286±0,021	0,308±0,023*	0,394±0,014	0,401±0,012	0,308±0,013	0,306±0,014	0,359±0,010	0,354±0,013
слой V ПТД	0,275±0,017	0,287±0,022	0,411±0,025	0,413±0,016	0,341±0,018	0,366±0,019*	0,359±0,009	0,372±0,02
гиппокамп	0,315±0,011	0,349±0,018	0,386±0,013	0,422±0,026	0,347±0,014	0,381±0,02	0,352±0,011	0,382±0,01*
Активность ферментов, усл. ед.:								
НАДН-д, слой II	0,446±0,016	0,460±0,031	0,368±0,018	0,380±0,024	0,392±0,020	0,348±0,017	0,307±0,01	0,320±0,011
НАДН-д, слой V	0,367±0,021	0,402±0,019	0,328±0,021	0,371±0,031	0,313±0,013	0,315±0,011	0,309±0,01	0,313±0,011
НАДФН-д, слой II	0,412±0,017	0,507±0,02*	0,416±0,013	0,417±0,020	0,462±0,022	0,445±0,015	0,398±0,023	0,391±0,023
НАДФН-д, слой V	0,362±0,013	0,390±0,016	0,382±0,018	0,376±0,021	0,448±0,019	0,405±0,017	0,403±0,023	0,400±0,027
ГСДГ, слой II	0,293±0,011	0,260±0,013	0,211±0,011	0,179±0,008*	0,251±0,007	0,229±0,01	0,224±0,011	0,233±0,011
ГСДГ, слой V	0,243±0,01	0,250±0,01	0,197±0,012	0,167±0,011	0,229±0,007	0,209±0,007	0,203±0,006	0,232±0,013*
Гиппокамп:								
НАДН-д, гиппокамп	0,496±0,024	0,557±0,017*	0,375±0,019	0,390±0,022	0,465±0,020	0,468±0,028	0,358±0,023	0,399±0,02
НАДФН-д, гиппокамп	0,450±0,012	0,502±0,015*	0,412±0,026	0,426±0,021	0,664±0,031	0,597±0,027	0,494±0,023	0,491±0,035
ГСДГ, гиппокамп	0,278±0,014	0,265±0,009	0,219±0,015	0,212±0,014	0,279±0,01	0,257±0,009*	0,237±0,014	0,274±0,016

* различия достоверны ($P < 0,05$) по сравнению с контролем

Влияние ретаболила на показатели развития крыс при экспериментальной акселерации. Введение ретаболила в 7-, 14- и 30- суточном возрасте не отразилось на темпах увеличения массы тела растущих крыс. Масса мозга также не имела статистически значимых различий у крыс подопытных и контрольных групп. Таким образом, препарат не оказал стимулирующего действия на данные показатели у животных из экспериментально уменьшенных пометов, рост тела и мозга которых превосходит их у крыс из пометов средней численности, хотя вводился в разные сроки дорепродуктивного периода онтогенеза, характеризующиеся высокой скоростью изменений этих показателей. Можно предположить, что отсутствие ускоряющего темпы роста эффекта ретаболила зависело в условиях поставленного эксперимента от достижения максимума в темпах роста массы тела и мозга у контрольных крысят. В связи с этим введение препарата уже не могло существенно стимулировать данные процессы. Изучение концентрации РНК в цитоплазме нейронов неокортекса не выявило их достоверных межгрупповых различий, что также подтверждает отсутствие стимуляции синтеза белка в нейронах мозга подопытных крыс.

В то же время, введение препарата, обладающего и андрогенным эффектом, оказало влияние на половую систему крыс: у подопытных 30- и 60-суточных самцов имелось почти двукратное уменьшение массы семенников (152 ± 18 мг против 295 ± 25 мг и 757 ± 100 мг против 1365 ± 75 мг соответственно).

Хотя ретаболил не оказал влияния на такие показатели, как масса мозга и полушария, его введение 7-, 14- и 30-суточным крысам отразилось на морфометрических показателях, закономерно меняющихся в ходе онтогенетического развития коры и ее нейронов. Так, число нейронов в стандартном поле зрения коры СТД было у крыс всех возрастных групп обоего пола было достоверно меньше, чем в контроле, в ПТД это наблюдалось у 30-суточных самцов и самок и у 60-суточных самцов (табл. 2.). Уменьшение численной плотности нейронов закономерно происходит по мере развития мозга. Оно является следствием различных процессов: увеличения объема нейропиля, числа глиоцитов, а также – апоптотической гибели нейронов, наблюдающейся в развивающемся мозге (Tugyan et al., 2013; Novaes et al., 2014; Turillazzi et al., 2016). Выявленное у подопытных крыс уменьшение этого показателя могло быть следствием ускорения каждого из этих процессов или – их сочетания.

Кроме снижения численной плотности нейронов, у подопытных животных имелось увеличение концентрации липидов, которая у 30- и 60-суточных крыс

экспериментальной группы превышала ее у контрольных в слое I коры и белом веществе полушария. Эти отличия (табл. 2), отражающие ускоренные темпы миелинизации, можно расценивать, наряду с уменьшением численной плотности нейронов, как свидетельство ускорения созревания коры мозга у подопытных животных.

Об этом же свидетельствовала морфометрия коры, показавшая, что у 14-суточных крыс (у самцов и самок) имелось статистически значимое увеличение толщины коры СТД, а у 30-суточных животных обоего пола наблюдалось увеличение толщины слоя I коры, состоящего преимущественно из отростков нейронов глубже лежащих слоев (табл.2.).

Изучение размерных характеристик различных компонентов корковых нейронов, отражающих как степень их онтогенетического развития, так и уровень функциональной активности, выявило, что разные отделы коры отличались по реакции на введение ретаболила. Наибольшее число отклонений от контроля имели нейроны гиппокампа. Так, площадь сечения их цитоплазмы у 14-, 30- и 60-суточных подопытных крыс обоего пола была достоверно большей, чем у контрольных. Размеры ядрышек также достоверно превышали таковые в контроле, или имелась тенденция к этому (табл.3). У 14-суточных подопытных самок в цитоплазме нейронов имелось, кроме того, достоверное увеличение концентрации РНК ($0,432 \pm 0,035$ усл. ед. против $0,350 \pm 0,018$ усл. ед., $P < 0,05$). Эти морфометрические и цитохимические отличия свидетельствуют о повышении синтетической активности нейронов гиппокампа у подопытных крыс и могут трактоваться как следствие 1) изменений темпов онтогенетического созревания этого отдела коры, или 2) изменений функциональной активности нейронов гиппокампа при действии ретаболила. Изложенные результаты о значительных изменениях нейронов гиппокампа под влиянием ретаболила согласуются с данными литературы (Tugyan et al., 2013; Novaes et al., 2014).

Изменения морфометрических показателей неокортекса ПТД и СТД были менее выраженными, чем в гиппокампе. В СТД мозга 14-суточных животных обоего пола имелось увеличение размеров цитоплазмы, ядер и ядрышек в нейронах слоя V, ядрышек – в слое II у самцов. В ПТД мозга самцов также имелось увеличение размеров ядрышек ($4,3 \pm 0,1 \text{ мкм}^2$ и $3,9 \pm 0,13 \text{ мкм}^2$, $P < 0,05$) и цитоплазмы нейронов слоя V ($95 \pm 3,3 \text{ мкм}^2$ и $82 \pm 2,4 \text{ мкм}^2$, $P < 0,05$). У самок достоверные межгрупповые различия нейронов ПТД отсутствовали (табл.3). У 30-суточных крыс обоего пола нейроны СТД не имели достоверных межгрупповых

различий. В ПТД у подопытных самок наблюдалось увеличение размеров цитоплазмы нейронов слоя II ($55 \pm 2,1 \text{ мкм}^2$ против $49 \pm 1 \text{ мкм}^2$, $P < 0,05$). Таким образом, введение 14-суточным крысам ретаболила имело значительно меньшее влияние на неокортекс, чем введение препарата в 7-суточном возрасте. У 60-суточных крыс, которым ретаболил был введен в 30-суточном возрасте, наблюдались выраженные гендерные различия последствий введения препарата. В мозге самок регистрировалось увеличение размеров цитоплазмы, ядер и ядрышек нейронов большинства исследованных локализаций (табл. 3). У самцов отмечено только увеличение размеров цитоплазмы нейронов в слое V СТД ($96 \pm 5,4 \text{ мкм}^2$ и $82 \pm 2 \text{ мкм}^2$, $P < 0,05$) и ПТД ($104 \pm 5 \text{ мкм}^2$ против $92 \pm 3,7 \text{ мкм}^2$, $P < 0,05$).

Исследование СРО в ткани полушария 14-, 30- и 60-суточных крыс, показало, что у животных обоего пола, всех возрастных групп, получавших ретаболил, имелось угнетение интенсивности перекисного окисления липидов (табл.4). На это указывало достоверное снижение содержания гидроперекисей липидов (h), перекисной резистентности тканей (H) и замедление образования и накопления перекисных радикалов (S_{ind-1}) по сравнению с контрольными показателями.

Таким образом, введение ретаболила не оказало влияния на темпы роста мозга крыс, содержащихся в экспериментально уменьшенных пометах. Влияние препарата на кору мозга включало изменения, которые можно трактовать как ускоряющие темпы ее созревания. При этом выявленные изменения затрагивали нейроны, расположенные в функционально разных зонах коры мозга, что дает основания предполагать, что они могут обуславливать развитие многочисленных и разнообразных функциональных отклонений. Представленные данные свидетельствуют также о том, что последствия введения ретаболила зависят от 1) возраста животных при введении препарата 2) зоны коры, обуславливающей ее функциональную специализацию (соматосенсорная – ПТД, ассоциативная – СТД, старая кора - гиппокамп) 3) слоя неокортекса (содержащий ассоциативные или эфферентные корковые нейроны) 4) гендерной принадлежности животного. Эти результаты, по нашему мнению, расширяют представления о закономерностях регуляции развития головного мозга соединениями стероидной природы, а также – о последствиях введения анаболических стероидов в дорепродуктивном периоде онтогенеза на разные отделы коры мозга животных.

Влияние ретаболила на морфометрические и гистохимические показатели развития коры

Группа Показатели	14-суточные				30-суточные				60-суточные			
	самцы		самки		самцы		самки		самцы		самки	
	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
СТД , толщина, мкм, кора	1167±38	1352±42*	1173±25	1308±61*	1327±55,8	1386±80,2	1238±69,2	1360±101	1251±35,6	1253±54,5	1217±41,1	1343±44*
слой I	127±11	118±6,2	141±19,7	126±12	129±9,4	154±9,7*	130±8	152±3*	131±5,8	140±8,5	147±13,4	135±6
Число нейронов в поле зрения, слой II	25±0,4	22±0,7*	26±1,4	21±0,8*	19±0,6	16±0,5*	19±1	17±0,7	16±0,4	14±0,3*	17±0,4	14±0,3*
слой V	13±0,3	11±0,7*	14±0,4	11±0,3*	9±0,3	8±0,1*	9±0,5	8±0,3	7±0,3	6±0,2*	7±0,4	6±0,3
ПТД , толщина, мкм, кора	1515±53	1477±38	1319±42	1430±57	1640±46	1770±75	1675±27	1674±50	1667±40	1727±50	1617±52	1693±29
слой I	114±6,8	118±4,8	127±14	95±4,4	146±11	134±6,8	130±12,3	124±8,7	146±4,7	151±11	153±9	140±8,5
Число нейронов в поле зрения, слой II	21±0,5	21±0,7	22±1,5	21±0,6	17±0,7	15±0,3*	17±0,7	15±0,4*	14±0,3	13±0,3*	14±0,5	14±0,3
слой V	11±0,5	11±0,9	12±0,3	11±0,8	9±0,3	8±0,3*	9±0,3	8±0,5	6±0,2	6±0,3	6±0,4	6±0,2
Конц. липидов, усл. ед.												
слой I	0,408±0,054	0,423±0,056	0,394±0,032	0,367±0,075	0,375±0,043	0,521±0,052*	0,334±0,044	0,449±0,019*	0,340±0,016	0,509±0,059*	0,464±0,055	0,534±0,049
белое вещество	0,321±0,022	0,360±0,039	0,263±0,013	0,289±0,011	0,291±0,022	0,397±0,032*	0,260±0,034	0,417±0,036*	0,228±0,014	0,274±0,012*	0,270±0,018	0,327±0,015*

* различия достоверны (P<0,05) по сравнению с контролем

Таблица 3

Влияние ретаболила на морфометрические (мкм²) и гистохимические (усл. ед.) характеристики нейронов коры

Группа	14-суточные				30-суточные				60-суточные			
	самцы		самки		самцы		самки		самцы		самки	
	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
Показатели												
Площадь сечения, СТД												
цитоплазма, слой II	50±3,2	46,2±1,9	43±2,5	50±3,4	48±2,5	47±2,7	47±3,9	52±2,5	49±1,9	50±1,7	45±0,8	50±1,4*
ядра, слой II	55±4,4	59±3,1	52±3,3	57±2,6	51±2,4	49±3	54±2,7	54±4,4	47±2,5	44±2	44±2,6	48±2
ядрышки, слой II	3,8±0,1	4,1±0,1*	3,7±0,1	3,8±0,3	3,8±0,2	3,9±0,2	4±0,3	4,3±0,4	4,5±0,1	4,6±0,2	4,3±0,1	4,6±0,1*
цитоплазма, слой V	81±1,7	90±1,6*	81±2,7	92±3*	90±3,6	96±7,5	95±5	94±3,4	82±2	96±5,4*	85±5,9	97±4,3
ядра, слой V	99±3,2	112±3,6*	90±9,2	120±3,1*	78±6,2	79±6,3	79±5	79±2,6	68±3,1	69±4,6	70±5,2	72±2,7
ядрышки, слой V	6±0,1	6,6±0,3	5,7±0,4	7,4±0,4*	5,7±0,3	6,4±0,5	6,2±0,4	6,9±0,3	6,3±0,1	6,4±0,3	6,3±0,3	6,5±0,2
ПТД, цитоплазма, слой II	48±1,9	50,4±3,2	42±1,8	45±1,3	49±1,7	51±2,2	49±1	55±2,1*	53±1,7	54±1,6	52±2,4	54±1,2
ядра, слой II	59±2,9	59±3	54,5±0,3	55±0,9	52±1,9	55±3,1	54±2,7	54±2	48±1,9	48±3	46±2,2	56±1,8*
ядрышки, слой II	3,9±0,13	4,3±0,1*	4,1±0,1	3,8±0,3	4±0,1	4,2±0,3	4±0,2	4,2±0,4	4,7±0,1	4,8±0,1	4,7±0,1	5±0,1*
цитоплазма, слой V	82±2,4	95±3,3*	91±7,6	86,3±2,1	87±2,2	96±3,8	92±2,9	92±3,9	92±3,7	104±5*	85±4	96±3,7*
ядра, слой V	99±3,1	100±3,7	95±6,9	104±4,9	82±4,3	86±3,5	80±2,7	80±4	69±6,3	76±6	69±3,1	87±4,6*
ядрышки, слой V	6±0,2	6,6±0,2*	6±0,1	6,1±0,4	6,2±0,3	6,5±0,3	6±0,2	6,8±0,7	6,5±0,2	7±0,3	6,5±0,2	7±0,1*
Гиппокамп, цитоплазма	47±2,2	56±2,7*	48±2,7	58±2,1*	58±3,4	66±1,6*	49±0,8	63±4,8*	55±2	61±1,4*	52±0,9	63±2,2*
ядра	78±2,7	85±5,9	68±4,5	87±6,2	62±4	64±4,4	60±4,2	63±5,6	48±3,3	45±2	45±1	52±3,2*
ядрышки	4±0,1	5±0,5	4,1±0,1	5±0,6	4,4±0,2	5±0,3	4,2±0,2	5,3±0,4*	4,8±0,1	5±0,2	4,6±0,1	5,4±0,2*

Продолжение таблицы 3

Группа Показатели	14-суточные				30-суточные				60-суточные			
	самцы		самки		самцы		самки		самцы		самки	
	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
слой V STD	0,347±0,02	0,342±0,0 14	0,350±0,0 16	0,409±0,0 32	0,308±0,01 2	0,330±0,0 23	0,364±0,03	0,342±0,0 3	0,355±0,01 3	0,379± 0,022	0,318±0,0 17	0,380±0, 013*
слой II ПТД	0,331±0,017	0,341±0,0 26	0,296±0,0 16	0,406±0,0 16*	0,293±0,02	0,315±0,0 16	0,338±0,01 9	0,367±0,0 25	0,321±0,00 9	0,336± 0,01	0,308±0,0 11	0,320±0, 017
слой V ПТД	0,352±0,01	0,350±0,0 2	0,316±0,0 1	0,389±0,0 44	0,317±0,01	0,341±0,0 1*	0,392±0,02 1	0,352±0,0 15	0,349±0,01 6	0,364± 0,011	0,323±0,0 23	0,354±0, 022
Гиппокамп	0,341±0,02	0,349±0,0 23	0,350±0,0 18	0,432±0,0 35*	0,301±0,01 6	0,350±0,0 3	0,382±0,02 7	0,374±0,0 24	0,330±0,01 9	0,406± 0,037	0,359±0,0 29	0,403±0, 015

* различия достоверны (P<0,05) по сравнению с контролем

Таблица 4

**ХМЛ-показатели (отн. ед.) свободнорадикального статуса гомогенатов полушария головного мозга
14-, 30-, 60-суточных крыс**

Показатели	Группа										
	14-суточные		30-суточные				60-суточные				
	контроль	опыт	Самцы		Самки		Самцы		Самки		
		контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
S sp	0,077±0,004	0,070±0,004	0,09±0,00 8	0,063±0,00 5*	0,081±0,0 07	0,059±0,006*	0,110±0,00 5	0,097±0,00 6	0,081±0,0 04	0,084±0,00 5	
h	0,450±0,025	0,324±0,016 *	0,65±0,04	0,5±0,04*	0,68±0,05	0,53±0,04*	0,69±0,03	0,51±0,02*	0,64±0,04	0,46±0,0*	
Sind1	0,610±0,030	0,482±0,020 *	0,85±0,05	0,67±0,04*	0,79±0,05	0,65±0,03*	0,93±0,05	0,60±0,04*	0,77±0,03	0,55±0,03*	
H	1,02±0,03	0,86±0,04*	1,6±0,01	1,13±0,05*	1,43±0,08	1,07±0,06*	1,62±0,06	1,28±0,05*	1,45±0,05	1,15±0,06*	
Sind 2	1,90±0,06	1,85±0,07	3,05±0,12	2,57±0,06*	2,77±0,1	2,04±0,07*	2,91±0,08	2,73±0,07	2,60±0,07	2,55±0,09	

Примечание: *- различия с контролем статистически достоверны (P<0,05)

Полученные в нашей работе результаты свидетельствуют о том, что головной мозг крыс при экспериментальной акселерации, обусловленной значительным уменьшением численности пометов, имеет ряд отличий развития в неонатальном, молочном, препубертатном периодах, а также - у молодых половозрелых животных. Они проявляются отличиями массы мозга и полушария, размерными характеристиками нейронов коры, концентрацией РНК, активностью ферментов, поведения. Совокупность этих особенностей свидетельствует о том, что мозг животных при акселерации имеет комплекс признаков опережающего развития, выраженность которых неодинакова в разные периоды онтогенеза.

ВЫВОДЫ

1. Головной мозг крыс (самцов и самок) с экспериментальной акселерацией, обусловленной уменьшенной численностью пометов (4 крысенок в помете), характеризуется увеличением темпов роста абсолютной массы, уменьшением относительной массы, увеличением абсолютной массы полушария, толщины неокортекса и слоя I (у 5-, 14-, 30-суточных), уменьшением численной плотности нейронов в коре ПТД и СТД. Выраженность этих особенностей зависит от возраста животных.

2. У животных с экспериментальной акселерацией имеются морфометрические признаки ускоренного развития коры головного мозга: увеличение размеров цитоплазмы, ядер и ядрышек нейронов слоя II (у 5-, 14-, 60-суточных крыс) и V СТД (у 5-, 30-, 60-суточных крыс), слоя II и слоя V неокортекса ПТД (у 5-, 14-, 30-, 60-суточных крыс) и гиппокампа (у 5-, 14-, 60-суточных крыс).

3. У крыс с акселерацией головной мозг имеет гистохимические признаки ускоренного развития: увеличение темпов миелинизации слоя I (у 5-, 14-, 30-, 60-суточных крыс) и белого вещества полушария (у 14-, 30-, 60-суточных крыс), повышение концентрации РНК и активности НАДН-д, НАДФН-д, ГСДГ в корковых нейронах некоторых локализаций. Тестирование в ПКЛ показывает у крыс-акселераторов в 25-суточном более высокий уровень исследовательской активности и меньший уровень тревожности, чем у контрольных.

4. Введение стероидного препарата, обладающего выраженным анаболическим эффектом (ретаболила), 7-, 14- и 30-суточным крысам из уменьшенных пометов (6 крысят в помете), не оказывает влияния на величину

массы их мозга, но сказывается на морфометрических, гистохимических и биохимических показателях развития коры.

5. Введение ретаболила приводит к увеличению толщины коры (у 14-суточных крыс) и слоя I СТД (у 30-суточных крыс), уменьшению численной плотности нейронов слоя II и V СТД (у 14-, 30-, 60-суточных крыс) и ПТД (у 30-, 60-суточных крыс), увеличению размеров цитоплазмы, ядер и ядрышек нейронов слоя II и V СТД (у 14-, 60-суточных крыс) и ПТД (у 60-суточных крыс) неокортекса и гиппокампа (у 14-, 30-, 60-суточных крыс).

6. Ведение ретаболила обуславливает повышение концентрации липидов в слое I и белом веществе мозга (у 30-, 60-суточных крыс), снижает интенсивность СРО в ткани полушария 14-, 30- и 60-суточных крыс, повышает концентрацию РНК, активность НАДН-д, НАДФН-д и ГСДГ в цитоплазме нейронов некоторых локализаций.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах из списка, рекомендованного ВАК:

1. **Ткач О.В.**, Рыжавский Б.Я. Влияние акселерации на показатели развития головного мозга крыс // Дальневосточный медицинский журнал. 2014. № 3. С. 83–86.

2. **Ткач О.В.**, Рыжавский Б.Я. Изменения активности некоторых ферментов в клетках мозга крыс при акселерации // Дальневосточный медицинский журнал. 2014. № 3. С. 86–89.

3. Рыжавский Б.Я., Литвинцева Е.М., **Ткач О.В.**, Рудман Ю.Ю. Возрастная динамика морфометрических и гистохимических показателей развития коры головного мозга крыс // Дальневосточный медицинский журнал. 2014. № 4. С. 82–85.

4. **Ткач О.В.**, Рыжавский Б.Я. Морфологические особенности головного мозга крыс при акселерации в неонатальном периоде онтогенеза // Дальневосточный медицинский журнал. 2015. № 1. С. 51–54.

5. Рыжавский Б.Я., Лебедько О.А., **Ткач О.В.** Влияние ретаболила на показатели развития коры и свободнорадикальное окисление в мозге крыс // Дальневосточный медицинский журнал. 2015. № 2. С. 88–92.

6. **Ткач О.В.**, Рыжавский Б.Я. Влияние введения ретаболила неполовозрелым крысам разного возраста на морфометрические показатели развития коры головного мозга // Дальневосточный медицинский журнал. 2015. № 3. С. 90–94.

7. **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.

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. 94–97.

Лазинская Ольга Владимировна

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ КОРЫ ГОЛОВНОГО
МОЗГА КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ АКСЕЛЕРАЦИИ

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук