

Бонь Е.И., Зиматкин С.М.

**РАЗВИТИЕ ОРГАНЕЛЛ В ПИРАМИДНЫХ НЕЙРОНАХ
ФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ МОЗГА КРЫСЫ В ПОСТНАТАЛЬНОМ
ОНТОГЕНЕЗЕ**

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Республика Беларусь*

Цель исследования - количественная ультраструктурная и гистохимическая оценка постнатального органеллогенеза во внутренних пирамидных нейронах фронтальной коры головного мозга крысы. Полученные ультраструктурные и гистохимические данные характеризуют формирование и дифференцировку органелл, развитие энергетической, белоксинтезирующей систем, и аппарата внутриклеточного переваривания и защиты внутренних пирамидных нейронов коры мозга в постнатальном онтогенезе.

Ключевые слова: органеллогенез, пирамидные нейроны, фронтальная кора.

Bon E.I., Zimatkin S.M.

**DEVELOPMENT FRONTAL CORTEX PYRAMIDAL NEURONS
ORGANELLS OF RATS IN POSTNATAL ONTOGENESIS**

Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

The purpose of research - quantitative ultrastructural and histochemical assessment of postnatal organellogenesis in internal pyramidal neurons in rat brain frontal cortex. These ultrastructural and histochemical data indicate the formation and differentiation of the organelle, the development of energy, protein-synthesizing systems, and apparatus intracellular digestion and protect the internal pyramidal neurons of the cerebral cortex during the postnatal ontogenesis.

Key words: organellogenesis, pyramidal neurons, frontal cortex.

Введение. Известно, что возрастная перестройка коры больших полушарий головного мозга происходит в течение всей жизни человека и животных. Причем в период роста организма преобладают процессы пролиферации и дифференцировки нейронов с усложнением их структуры, а в период старения – инволюционные изменения. В наших предыдущих исследованиях на светооптическом уровне было показано, что в коре мозга крысы происходит прогрессивное увеличение толщины коры, размеров пирамидных нейронов и уменьшение плотности их расположения за счет ускоренного роста нейропиля [1]. Задачей настоящей работы была

количественная ультраструктурная и гистохимическая характеристика постнатального органеллогенеза во внутренних пирамидных нейронах фронтальной коры головного мозга крысы.

Методы исследования. Исследования выполнены на самках беспородных белых крыс с начальной массой 230 ± 20 г и их потомстве. Все опыты проведены с учетом «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». Забой крысят осуществлялся на 5-е, 20-е и 45-е сутки после рождения. После декапитации извлекали головной мозг, кусочки переднего отдела коры больших полушарий замораживали в жидком азоте для определения активности ферментов: сукцинатдегидрогеназы (СДГ), НАДН-дегидрогеназы (НАДН-ДГ) и кислой фосфатазы (КФ). Изучение гистологических препаратов, их микрофотографирование, морфометрию и денситометрию осадка хромогена в гистологических препаратах проводили с помощью микроскопа Axioscop 2 plus (Zeiss, Германия), цифровой видеокамеры (Leica DFC 320, Германия) и программы анализа изображения ImageWarp (Bitflow, США). Для электронно-микроскопического исследования нужные участки коры и помещали их в 1% осмиевый фиксатор на буфере Миллонига. Далее их промывали в смеси буфера Миллонига и сахарозы, обезвоживали, проводили через смесь смол и ацетона и заключали в эту заливочную смесь смол. Срезы изготавливали на ультрамикротоме MT-7000 (RMC, США) и контрастировали ацетатом урана и цитратом свинца. Полученные препараты изучали в электронном микроскопе JEM-1011 (JEOL, Япония) и фотографировали цифровой камерой Olympus Mega View III (Olympus Soft Imaging Solutions, Германия). Ультраструктурную морфометрию проводили с помощью программы анализа изображения ImageWarp (Bitflow, США), обводя курсором на мониторе компьютера митохондрии, лизосомы, гранулярную эндоплазматическую сеть, комплекс Гольджи и рибосомы, оценивая их количество, размеры и форму. Полученные средние цифровые данные по каждому животному анализировали методами непараметрической статистики с помощью программы Statistica 6.0 для Windows (StatSoft, Inc.,

США). Достоверными считали различия между сроками постнатального развития при значениях $p < 0,05$ (Mann-Whitney U-test).

Результаты исследования. Установлено, что у крысы в постнатальном онтогенезе во внутренних пирамидных нейронах коры мозга происходит прогрессивное нарастание относительного количества митохондрий на единицу площади цитоплазмы. Их площадь с 5-х по 20-е сутки после рождения увеличивается в 5 раз, а затем в 2 раза снижается. При этом они становятся менее сферичными и более вытянутыми. В митохондриях прогрессивно нарастает количество и длина крист. При пересчете на площадь митохондрии количество крист на 20-е сутки несколько снижается, но на 45-е сутки резко возрастает (таблица 1). Соответственно, в цитоплазме этих нейронов в постнатальном онтогенезе повышается активность маркерных ферментов митохондрий СДГ и НАДН-ДГ.

Общее количество рибосом в цитоплазме нейронов в постнатальном онтогенезе практически не меняется, что соответствует и неизменному содержанию в ней РНП. На 5-е сутки после рождения в цитоплазме нейронов преобладают свободные рибосомы. Затем их количество постепенно снижается и происходит прогрессивное возрастание количества связанных рибосом. При этом на 45-е сутки постнатального развития связанные рибосомы уже преобладают. При этом протяженность цистерн гранулярной эндоплазматической сети (ГрЭС) на единицу площади цитоплазмы прогрессивно возрастает (с 5-х по 45-е сутки в 5 раз) (таблица 1).

На 5-е сутки после рождения цистерны комплекса Гольджи еще не сформированы и представлены вакуолями. Затем вакуоли преобразуются в плоские цистерны, ширина которых постепенно уменьшается (таблица 1). Относительное количество лизосом на единицу площади цитоплазмы и их размеры значительно увеличиваются к 20-м суткам постнатального развития (в 3-4 раза), а затем несколько снижаются; при этом электронно-микроскопически лизосомы становятся более вытянутыми (таблица 1). Сходным образом изменяется и активность в цитоплазме маркерного фермента лизосом КФ. На 5

сутки после рождения ее активность крайне мала (ниже уровня чувствительности метода), а на 20-е сутки достигает максимума.

Таблица 1

Показатели ультрамикроскопической морфометрии органелл нейронов 5 слоя фронтальной коры мозга крыс (Me (LQ; UQ))

	Показатель	5 сутки	20 сутки	45 сутки
Митохондрии	количество на мкм^2	0,8(0,6;0,8)	1,4(1,4;1,6)*	1,9(1,6;2,2)*
	площадь, мкм^2	0,075(0,073;0,08)	0,345(0,34;0,35)*	0,16(0,15;0,2)*+
	форм-фактор, ед.	0,88(0,87;0,89)	0,64(0,6;0,66)*	0,62(0,6;0,64)*
	фактор элонгации, ед.	1,37(1,26;1,5)	4(3;4,5)*	2,8(2,76;2,82)*+
	количество крист в митохондрии	4(3;4)	13,5(12;14)*	24,5(24;25)*+
	общая длина крист на митохондрию, мкм	0,6(0,45;0,64)	3,3(2,9;3,6)*	4,4(3,8;5)*+
Рибосомы	связанные на 1мкм^2	1,6(1,4;1,8)*	6,8 (6;7)*	9 (8;9,2)*+
	свободные на 1мкм^2	13,8(13,2;14)	8,5(8;10)*	7(6;7,4)*+
	общее количество на 1мкм^2	15,6(14,6;15,8)	15,3(14;17)	16(14;16,6)
ГрЭС	протяженность цистерн, мкм	0,39(0,38;0,4)	1,1(1;1,1)*	2,2 (2;2,2)*+
Комплексе Гольджи	ширина цистерн	0,15(0,13;0,16)	0,1(0,08;0,11)*	0,07(0,06;0,08)*
Лизосомы	количество на 1мкм^2	0,2(0,2;0,2)	0,8(0,6;0,8)*	0,5(0,4;0,6)*
	площадь, мкм^2	0,039(0,037;0,04)	0,1(0,08;0,12)*	0,1(0,1;0,11)*
	Ф-р элонгации, ед.	1,41(1,4;1,43)	1,8(1,7;1,9)*	1,75(1,7;1,8)*

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с 5 сутками, + - $p < 0,05$ по сравнению с 20 сутками.

Таким образом, в постнатальном онтогенезе мозга крысы происходят закономерные качественные и количественные изменения органелл внутренних пирамидных нейронов фронтальной коры. Так, происходит прогрессивное нарастание количества митохондрий, их площадь к 20-м суткам резко увеличивается, а затем несколько снижается. При этом митохондрии становятся менее сферичными и более вытянутыми, в них прогрессивно нарастает количество и длина крист. Это сопровождается повышением в цитоплазме нейронов активности маркерных ферментов митохондрий СДГ и НАДН-ДГ,

что свидетельствует о повышении функциональной активности митохондрий и энергетического обеспечения нейронов. На 5-е сутки после рождения в цитоплазме нейронов преобладают свободные рибосомы, а затем они постепенно связываются с мембранами ГрЭС. Преобладание свободных рибосом на раннем этапе постнатального развития свидетельствует о преобладании биосинтеза белка для собственных нужд бурно растущих нейронов. Происходящее в более поздние сроки повышение протяженности цистерн ГрЭС и числа связанных рибосом свидетельствует о нарастании биосинтеза белка на экспорт, в формирующиеся терминали. Относительное количество лизосом на единицу площади цитоплазмы и их размеры в постнатальном онтогенезе увеличиваются, а затем несколько снижаются. Сходным образом меняется и активность маркерного фермента лизосом КФ. Все это отражает нарастание процессов аутофагии в этих нейронах.

Выводы. Полученные в настоящей работе ультраструктурные и гистохимические данные характеризуют формирование и дифференцировку органелл, развитие энергетической, белоксинтезирующей систем, и аппарата внутриклеточного переваривания и защиты внутренних пирамидных нейронов фронтальной коры мозга крысы в постнатальном онтогенезе.

Литература

1. Зиматкин С.М. Динамика гистологических изменений во фронтальной коре мозга крыс, подвергавшихся антенатальному воздействию алкоголя / С.М. Зиматкин, Е.И. Бонь // Морфология. - 2016. –№ 2. – С. 11-15.
2. Батин Н.В. Компьютерный статистический анализ данных: учеб.-метод. пособие. Мн.: Ин-т подгот. науч. кадров Нац. Акад. Наук Беларуси, 2008, 235 с.
3. Бонь Е.И. и Зиматкин С.М. Динамика гистологических изменений в париетальной коре мозга крыс, подвергавшихся антенатальному воздействию алкоголя. Новости медико-биологических наук, 2015, № 2, с.146-151.
4. Бонь Е.И. и Зиматкин С.М. Динамика цитохимических изменений в цингулятной коре мозга крыс, подвергавшихся антенатальному воздействию алкоголя. Новости медико-биологических наук, 2016, т. 13, № 1, с.17- 22.
5. Каркищенко Н.Н. и Грачева С.В. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях. М.: Профиль-2С, 2010, 241 с.
6. Корочкин Л.И. Дифференцировка и старение вегетативного нейрона. // «Наука», Москва-Ленинград.– 1965.– 188с.
7. Микеладзе А.Л. Электронномикроскопическая дифференциация нервных клеток коры головного мозга. Сообщ. АН Грузинской ССР, 1971, т. 61, с. 709 - 712.

8. Попова З.А. О возрастных изменениях строения коры больших полушарий белой мыши в постэмбриональной жизни. В кн.: Вопросы нейроморфологии. Ярославль, 1959, с. 47 – 51.
9. Попова Э.Н., Лапин С.К., Кривицкая Г.Н. Морфология приспособительных изменений нервных структур: монография. Москва. Изд. Медицина, 1976. С. 62 – 82.
10. Смирнова Г.В. Ультраструктура вегетативных ганглиев белых крыс в онтогенезе: автореф. диссертации канд. биологических наук. Саранск: Мордовский ГИИ имени Н.П. Огарева, 1999, 20 с.
11. Parnavelas J.G., Lieberman A.R. An ultrastructural study of the maturation of neuronal somata in the visual cortex of the rat. *Anat. Embriol*, 1979, v. 157, p. 311 – 328.
12. Paxinos G., Watson C. *The Rat Brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press, Australia, 1998, 242 p.
13. Sato I., Konishi K., Mikami A. Developmental changes in enzyme activities and in morphology of rat cortex mitochondria. *Okajimas Folia Anat Jpn*, 2000, v. 76, p. 353-361.