

# ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В КОРЕ МОЗГА 5-СУТОЧНЫХ КРЫСЯТ, ПОДВЕРГАВШИХСЯ АНТЕНАТАЛЬНОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ

Е.И. Бонь

*Гродненский государственный медицинский университет*

Пренатальная алкоголизация приводит к развитию ряда специфических нарушений в организме плода, объединяемых в понятие фетальный алкогольный синдром (ФАС), входящий в «спектр нарушений плода, вызванных алкоголем» (*fetal alcohol spectrum disorders*, FASD). Пагубные последствия пренатального воздействия алкоголя на развивающийся мозг включают структурные аномалии различных отделов коры головного мозга, а также когнитивные и поведенческие дефекты. В литературе имеются сведения о разнообразных морфологических нарушениях в коре больших полушарий мозга людей и животных, перенесших антенатальное воздействие алкоголя: от анатомических до клеточных и молекулярных [2, 5].

**Цель работы** — сравнительное изучение влияния антенатальной алкоголизации на морфофункциональные характеристики нейронов цингулятной, фронтальной и париетальной коры головного мозга 5-суточных крысят.

**Материал и методы.** Опыты выполнены на самках беспородных белых крыс с начальной массой  $230 \pm 20$  г и их 5-суточном потомстве. Все опыты проведены с учетом «правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». На данное исследование получено разрешение этического комитета Гродненского государственного медицинского университета. Животные на протяжении всей беременности (от дня обнаружения сперматозоидов во влагалищных мазках до родов) находились на жидкой диете, составленной на основе сухой молочной смеси для кормления детей возраста 10–36 мес., и яичного порошка. Пищевая ценность диеты на 100 мл — 4 г белка, 16 г углеводов, 6 г жира, калорийность — 120 ккал. Крысы

опытной группы получали диету, содержащую 5%-й раствор этанола, а животные группы сравнения — диету, содержащую эквивалорийное количество сахарозы [3]. Среднее потребление алкоголя беременными самками составляло 10 г/кг/сут. Забой крысят осуществлялся на 5-е сут после рождения. После декапитации быстро извлекали головной мозг, кусочки коры больших полушарий для дальнейшего исследования фиксировали в жидкости Карнуа. Серийные парафиновые срезы окрашивали 0,1%-м толуидиновым синим по методу Ниссля и на выявление рибонуклеопротеинов (РНП) — по Эйнарсону. 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 Image Warp (Bit flow, США). Расположение цингулятной, фронтальной и париетальной коры в гистологических препаратах мозга крыс определяли с помощью стереотаксических атласов [4]. В каждой экспериментальной группе оценивали не менее 120–150 нейронов, что обеспечивало достаточный объем выборки для последующего анализа.

Полученные средние цифровые данные по каждому животному анализировали методами непараметрической статистики с помощью программы Statistica 6.0 для Windows (StatSoft, Inc., США). В описательной статистике для каждого показателя определяли значения медианы, границы процентилей (от 25 до 75) и интерквартильного диапазона. Количественные результаты представлены в виде Me (LQ; UQ) (Me — медиана, (LQ; UQ) — интерквартильный интервал: верхняя граница нижнего квартиля (LQ) и нижняя граница верхнего квартиля (UQ)). Достоверными считали различия между группами при значениях  $p < 0,05$  (Mann–Whitney U-test) [1]

**Результаты и их обсуждение.** Проведенные исследования показали, что пренатальное воздействие алкоголя ведет к гистологическим нарушениям в коре больших полушарий головного мозга 5-суточных крысят. Установлено, что у опытных крысят цингулятная кора достоверно толще на 29%, в то время как фронтальная и париетальная кора имеют лишь тенденцию к утолщению в опытной группе (на 9 и 2% соответственно) (таблица 1). Возможно, это связано с отеком коры в результате нарушения водно-солевого обмена как следствие длительной антенатальной алкоголизации.

Таблица 1

Толщина коры 5-суточных крысят (Me (LQ; UQ), мкм)

Тип коры	Группа сравнения	Опыт	Z	p
Цингулятная	351,05 (322,23; 440,15)	493,74 (399,6; 550,3)	2,56	0,0086
Фронтальная	774,91 (571,51; 779,15)	850,5 (767,18; 901,72)	0,109	0,13
Париетальная	748,49 (745,81; 748,49)	750,64 (665,60; 903,15)	0,64	0,58

В опытной группе в 5-м слое коры мозга было обнаружено статистически достоверное снижение количества нейронов в поле зрения во всех отделах коры: в цингулятной коре — на 13%, во фронтальной коре — на 20%, в париетальной коре — на 25% (таблица 2). Возможно, это связано с гибелью части нейронов под действием алкоголя, особенно в филогенетически новой, фронтальной и париетальной коре.

Таблица 2

Количество нейронов в поле зрения в отделах коры 5-суточных крысят (Me (LQ; UQ), площадь 7432 мкм<sup>2</sup>)

Тип коры	Контроль	Опыт	Z	p
Цингулятная	158 (152,175)	138 (90, 146)	-2,0016	0,04
Фронтальная	125 (112,140)	100 (88,112)	-2,0016	0,04
Париетальная	130(112, 140)	98 (78,100)	-2,64	0,004

На препаратах, окрашенных по Ниссля, было выявлено повышение количества патологических форм нейронов (гипер-, гипохромных нейронов и клеток-теней) в 5-м слое коры крысят опытной группы. Так, в цингулятной коре увеличено количество гиперхромных клеток и гипохромных нейронов более чем в 4 раза. Клеток-теней в коре животных группы сравнения не обнаружено, в коре опытных животных они составляют 0,7% от общего количества нейронов. Во фронтальной коре гиперхромных и гипохромных нейронов в 5 раз больше, чем в контроле. Клеток-теней в коре животных группы сравнения не обнаружено, в коре опытных животных они составляют 1,5% от общего количества нейронов. В париетальной коре опытных животных гиперхромных нейронов больше в 2,5 раза, а гипохромных в 3,5 раза, чем в контроле. Клеток-теней в коре кон-

трольных животных не обнаружено, в коре опытных животных они составляют 2% от общего количества нейронов (таблица 3). По-видимому, это связано с последствиями повреждающего действия этанола на развивающийся мозг.

Таблица 3

Процентное соотношение патологических форм нейронов, %

Тип нейронов	Цингулятная кора		Фронтальная кора		Париетальная кора	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Нормохромные	96,6*	83,8*	96**	78,5**	94,8**	84**
Гиперхромные	2,8**	13 **	3,2**	16 **	4**	10 **
Гипохромные	0,6*	2,5*	0,8**	4 **	1,15**	4**
Клетки-тени	0*	0,7*	0**	1,5 **	0**	2**

Примечание — \* $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ , по сравнению с контролем.

При исследовании размеров и формы нейронов было установлено, что в цингулятной коре крысят опытной группы происходит статистически достоверное увеличение периметра на 19% ( $Z=2,72$ ;  $p=0,004$ ), большого и малого диаметров — на 18% ( $Z=2,4$ ;  $p=0,015$ ) и 23% ( $Z=2,56$ ;  $p=0,008$ ), площади перикарионов нейронов 5-го слоя — на 36% ( $Z=2,56$ ;  $p=0,008$ ). Форм-фактор и фактор элонгации существенно не меняются. Во фронтальной коре в опытной группе статистически достоверно увеличены периметр перикарионов на 44% ( $Z=2,081$ ;  $p=0,04$ ) и большой радиус на 30% ( $Z=2,081$ ;  $p=0,04$ ), имеется тенденция к увеличению площади и малого радиуса, форм-фактора и к уменьшению фактора элонгации. В парietальной коре в опытной группе имеются лишь тенденции к увеличению площади, периметра, большого, малого радиуса и форм-фактора и к уменьшению фактора элонгации, но без статистической достоверности. Это может быть связано как с токсическим набуханием нейронов под действием алкоголя, так и с компенсаторной гипертрофией сохранившихся после антенатальной алкоголизации клеток. Установлено значительное повышение содержания рибонуклеопротеинов (РНП) в нейронах 5-го слоя всех исследуемых отделов коры у животных опытной группы (таблица 4). Возможно, это связано с повышенным содержанием рибосом в цитоплазме нейронов, необходимых для компенсаторного усиления биосинтеза белка в этих нейронах.

Таблица 4

Содержание рибонуклеопротеинов в нейронах 5-го слоя коры 5-суточных крысят (Me (LQ; UQ), ед. опт. плотности)

Тип коры	Контроль	Опыт	Z	p
Цингулятная	0,2357 (0,234190, 245100)	0,301898 (0,283190, 313895)	2,241794	0,025974
Фронтальная	0,218350 (0,215815, 227615)	0,279103 (0,274635, 284770)	2,882307	0,002165
Париетальная	0,213690 (0,213690, 238865)	0,274040 (0,266885, 281420)	2,882307	0,002165

Таким образом, антенатальная алкоголизация вызывает увеличение толщины изучаемых отделов коры головного мозга, особенно цингулятной, снижение количества нейронов 5-го слоя коры (особенно в парietальной коре), увеличение содержания гиперхромных, гипохромных нейронов и клеток-теней во всех изучаемых отделах коры, а также увеличение размеров нейронов 5-го слоя, особенно в цингулятной коре, и статистически значимое повышение содержания рибонуклеопротеинов в нейронах 5-го слоя всех исследуемых отделов коры.

**HISTOLOGICAL CHANGES IN THE CORTEX OF THE BRAIN 5-DAY OLD RAT EXPOSED ANTENATAL OF ALCOHOLISM**

*E.I. Bon'*

Antenatal alcoholism causes an increase in the thickness of the studied departments of the cerebral cortex, especially cingulate, reducing the number of neurons 5 cortex layer (especially in the parietal cortex), increased content hyperchromic, hypochromic of neurons and cells-shadows in all investigated departments of a cortex, and also increase of the size of neuronal 5-layer, particularly incingulate cortex, and a statistically significant increase in the content of ribonucleoproteins in neurons 5-layer all studied departments of a cortex.

**Keywords:** fetal alcohol syndrome, cerebral cortex.

### **Литература**

1. Батин, Н.В. Компьютерный статистический анализ данных: учеб.-метод. пособие / Н.В. Батин. — Минск: Ин-т подготовки науч. кадров НАНаук Беларуси, 2008. — 160 с.
2. Зиматкин, С.М. Алкогольный синдром плода / С.М. Зиматкин, Е.И. Бонь. — Минск, 2014. — 207 с.
3. Зиматкин, С.М. Моделирование алкогольного синдрома плода / С.М. Зиматкин, Е.И. Бонь // Новости мед.-биол. наук. — 2014. — Т. 9, № 1. — С. 54–57.
4. Paxinos, G. The Rat brain in stereotaxic coordinates / G. Paxinos, C. Watson. — Sydney: Acad. Press, 1986. — 264 p.
5. Riley, E.P. Fetal alcohol spectrum disorders: an overview / E.P. Riley, M.A. Infante, K.R. Warren // Neuropsychol. Rev. — 2011. — Vol. 21. — P. 73–78.