

Зиматкин С. М., Бонь Е. И.

**ДИНАМИКА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ВО
ФРОНТАЛЬНОЙ КОРЕ МОЗГА КРЫС, ПОДВЕРГАВШИХСЯ
АНТЕНАТАЛЬНОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ АЛКОГОЛЯ**

Гродненский государственный медицинский университет, Республика Беларусь

Потребление алкоголя во время беременности 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) [1]. В наших предыдущих исследованиях потребление алкоголя крысами во время беременности вызывало остановку роста, сморщивание, увеличение числа гиперхромных и гипохромных пирамидных нейронов коры головного мозга их потомства, выявляемые при ги-

стологическом исследовании на светооптическом уровне, начиная с 20-х суток постнатального развития [2, 3]. Вместе с тем, динамика морфофункциональных изменений в постнатальном онтогенезе у этих животных изучена недостаточно.

Целью настоящей работы было сравнительное изучение влияния пренатальной алкоголизации на морфофункциональные характеристики нейронов фронтальной коры головного мозга крыс различного возраста.

Материал и методы. Опыты выполнены на 25 самках беспородных белых крыс с начальной массой 230 ± 20 г и их потомстве (175 крысят). На данное исследование получено разрешение комитета по биомедицинской этике Гродненского государственного медицинского университета (протокол № 1, 11.03.2014). Крысы опытной группы на протяжении всей беременности получали 15 % раствор этанола в качестве единственного источника питья, а животные контрольной группы — эквивалентное количество воды. Среднее потребление алкоголя беременными самками составляло 4 ± 2 г/кг/сутки. Забой крысят осуществлялся на 2, 5, 10, 20, 45, 90-е сутки после рождения. После декапитации кусочки переднего отдела коры больших полушарий фиксировали в жидкости Карнуа для окрашивания 0,1 % толуидиновым синим по методу Ниссля и на выявление рибонуклеопротеинов (РНП) по Эйнарсону или в цинк-формалине для выявления экспрессии даблкортина и белка NeuN и заключали в парафин или замораживали в жидком азоте для определения активности ферментов: сукцинатдегидрогеназы (СДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), НАДН-дегидрогеназы (НАДН-ДГ), глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (Г-6-Ф-ДГ), НАДФН-дегидрогеназы (НАДФН-ДГ) и кислот 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 вырезали нужные участки коры и помещали их в 1 % осмиевый фиксатор на буфере Миллонига (pH = 7,4), промывали в смеси буфера Миллонига (20 мл) и сахарозы (900 мг), обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации, смеси спирта и ацетона и ацетоне, проводили через смесь смол и ацетона и заключали в эту заливочную смесь смол. Ультратонкие срезы изготавливали на ультрамикротоме MT-7000 (RMC, США), собирали на опорные сеточки и контрастировали ацетатом урана и цитратом свинца. Полученные препараты изучали в электронном микроскопе JEM-1011 (JEOL, Япония) и фотографировали цифровой камерой Olympus MegaView III (Olympus Soft Imaging Solutions, Германия). Полученные средние цифровые данные анализировали методами непараметрической статистики с помощью программы Statistica 6.0 для Windows (StatSoft, Inc., США).

Результаты и обсуждение. Установлено, что у крысят, подвергавшихся антенатальной алкоголизации, на 2-е и 5-е сутки после рождения фронтальная кора достоверно толще по сравнению с контролем, что, возможно, связано с постинтоксикационным ее отеком. На 10 сутки происходит статистически достоверное снижение толщины коры в опытной группе, на 20-е и 45-е сутки эти различия исчезают, но на 90-е сутки происходит повторное снижение толщины коры, по сравнению с контролем. В 5-м слое коры мозга у алкоголизированных

крысят было обнаружено достоверное снижение относительного количества нейронов на единицу площади среза во все изучаемые сроки (на 10–25 %). Возможно, это связано с гибелью части нейронов под действием алкоголя еще в период эмбриогенеза. У контрольных животных на препаратах, окрашенных по Нисслию, всегда преобладали нормохромные клетки (60–70 % от числа всех нейронов). У опытных животных во все сроки было выявлено уменьшение числа нормохромных нейронов и повышение количества патологических форм нейронов (гипер-, гипохромных нейронов и клеток-теней). Наибольшие изменения во фронтальной коре были выявлены на 20–90 сутки постнатального развития. При исследовании размеров и формы тел нейронов выявлено статистически достоверное временное увеличение площади перикарионов нейронов 5-го слоя опытной группы на 2 сутки. Однако на 20–90 сутки постнатального развития размеры нейронов становились достоверно меньше по сравнению с контролем. Причем во времени эти различия нарастали в связи с прекращением роста этих нейронов. Начиная с 20 суток постнатального развития, установлено снижение активности СДГ, Г-6-Ф-ДГ, НАДН-ДГ, НАДФН-ДГ и увеличение активности маркерного фермента лизосом КФ и ЛДГ, что свидетельствует о нарушении энергетического метаболизма и усилении аутофагии нейронов. Кроме того, антенатальная алкоголизация приводит к замедлению развития нейронов, что проявляется в повышенной экспрессии маркера незрелости нейронов, даблкортина и сниженной экспрессии маркера зрелости нейронов, NeuN [4]. При электронно-микроскопическом исследовании в нейронах коры антенатально алкоголизированных крыс наблюдается дезорганизация органелл. Гиперхроматофилия нейронов может характеризовать увеличение в цитоплазме плотности расположения свободных рибосом, а в гиперхромных сморщенных нейронах встречаются гиперосмиофильные участки гиалоплазмы, что, возможно, происходит в связи с нарушением водно-солевого обмена нейронов. Набухание митохондрий и разрушение их крист в цитоплазме нейронов соответствуют полученным нами ранее гистохимическим данным об угнетении в них активности маркерных окислительных ферментов (СДГ и НАДН-ДГ), что свидетельствует о снижении энергообеспечения клеток. Уменьшение количества связанных с ГрЭС рибосом и увеличение числа свободных рибосом свидетельствует о переключении биосинтеза белка для собственных нужд нейронов, необходимого для их выживания в неблагоприятных условиях. Остановка роста и сморщивание нейронов может быть связано с последствиями антенатальной алкоголизации: окислительным стрессом, активацией процессов перекисного окисления липидов и окисления белков. При этом свободные радикалы, взаимодействуя с ДНК, структурно модифицируют ее. Кроме того, свободные радикалы повреждают клеточные мембраны, а также мембраны органелл клетки. Также алкоголь нарушает процессы транскрипции и трансляции в мозге, экспрессии генов [1], возможно, нарушая программу постнатального развития нейронов.

Выводы. Антенатальная алкоголизация вызывает глубокие и разнообразные морфофункциональные изменения в пирамидных нейронах фронтальной коры мозга крыс, которые в постнатальном онтогенезе носят долгосрочный, необратимый, а иногда и прогрессирующий характер.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Зиматкин, С. М.* Алкогольный синдром плода : монография / С. М. Зиматкин, Е. И. Бонь. Минск : Новое знание, 2014. 240 с.
2. *Зиматкин, С. М.* Динамика гистологических изменений в париетальной коре мозга крыс, подвергавшихся антенатальному воздействию алкоголя / С. М. Зиматкин, Е. И. Бонь // Новости медико-биологических наук. 2015. № 2. С. 146–151.
3. *Зиматкин, С. М.* Инволюция нейронов коры головного мозга крыс, потреблявших алкоголь во время беременности / С. М. Зиматкин, Е. И. Бонь // Весці НАН Беларусі. 2016. № 1. С. 59–64.
4. *Зиматкин, С. М.* Нарушение развития нейронов фронтальной коры мозга крыс после воздействия алкоголя в антенатальном периоде / С. М. Зиматкин, Е. И. Бонь // Весці НАН Беларусі. 2015. № 3. С. 125–128.

Zimatkin S. M., Bon E. I.

Dynamics of histological changes in the frontal cortex of rats, exposed antenatal alcohol exposure

Grodno State Medical University, Belarus

Various destructive histological, histochemical and ultrastructural changes in frontal cortex following antenatal alcoholization were found.

Key words: antenatal alcoholization, frontal cortex.