

УДК 612.014.1:621.825.262:591.481.1

ЦИТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВОЗРАСТНОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ КОРКОВЫХ НЕЙРОНОВ В УСЛОВИЯХ РАННЕЙ СВЕТОВОЙ ДЕПРИВАЦИИ

ПИГАРЕВА З. Д., БУСНЮК М. М., ГЕРШТЕЙН Л. М.

С помощью количественных цитохимических методов показано, что отсутствие специфической зрительной импульсации в течение 2—2,5 месяца с момента рождения жипотных вызывает морфохимическое недоразвитие нейронов отдельных слоев (III, IV, V) зрительной и теменной областей коры мозга, тогда как нейроны (слои III и V) двигательной области коры мозга этих животных проявляют черты компенсаторной активации. Делается общее заключение о том, что определяющим в реакции нейронов на деафферентацию является функциональная характеристика нейронов, их специфичность в отношении нарушенной импульсации и что наблюдаемые морфохимические изменения обратимы при условии возобновления специфической импульсации.

Проблема взаимоотношений генетических и приобретенных (средовых) факторов в возрастной морфохимической дифференцировке мозга, в частности его основных клеточных компонентов—нейронов, недостаточно исследована в функциональной нейрохимии. Перспективным подходом к решению этого вопроса является изучение влияния выключения зрительной функции на формирование обмена веществ в нейронах мозга в онтогенезе, поскольку известно, что значительная часть общего фонда внешних импульсов поступает именно через зрительный анализатор.

Согласно немногочисленным литературным данным, ранняя световая деафферентация (воспитание животных в темноте, двусторонняя энуклеация, наложение непрозрачной линзы) вызывает изменения в состоянии обменных процессов в мозгу, тонкие структурные перестройки нейронов зрительной системы, а также нарушения нейрофизиологических и поведенческих реакций на световые стимулы [1—5]. Следует отметить, что основная информация, касающаяся химизма мозга животных, подвергавшихся ранней световой депривации, получена на тканевом уровне, что не дает возможности оценить реакцию отдельных типов нейронов в указанных условиях.

Задачей настоящей работы явилось изучение влияния дефицита зрительной импульсации на возрастную морфохимическую дифференцировку нейронов коры больших полушарий мозга.

Материалы и методы

Работа проведена на нейронах зрительной, теменной и двигательной областей коры мозга intactных и подвергнутых ранней световой депривации (содержание с момента рождения 2—2,5 месяца в темных камерах) кроликов (породы шиншилла) и крыс (линия ВД-111). Часть подопытных животных после депривации переводили в обычные условия светового режима сроком на 10—14 дней (восстановление зрительной функции).

Объектом исследования служили типичные пирамидные нейроны слоев III и V зрительной, теменной и двигательной областей коры, а также нейроны слоя IV зрительной и теменной областей (120—150 клеток каждого слоя от 3—5 животных).

В качестве цитохимических показателей были избраны содержание белков и активность одного из ферментов энергетического обмена — глутаматдегидрогеназы (ГДГ). Содержание белков определяли в коре мозга кроликов, активность ГДГ — в коре мозга крыс. Выявляемая форма ГДГ участвует в процессах превращения глутаминовой кислоты как энергетического субстрата, чем осуществляется связь между обменом углеводов, с одной стороны, и азота аминокислот и белков — с другой.

О содержании белков судили по сухому весу веществ, который определяли на интерференционном микроскопе МБИН-3 в монохроматическом свете ($\lambda = 550$ нм) компенсатором Сенармона.

Для количественного определения активности ГДГ использовали метод непрямой цитофотометрии [6]. Подлежащие цитофотометрии микроструктуры фотографировали в монохроматическом свете ($\lambda = 590$ нм), и полученные негативы фотометрировали на регистрирующем микроденситометре ИФО-451 (СССР). Каждую клетку сканировали по двум линиям, параллельным наибольшей поперечной оси, — над и под ядром. Оптическую плотность определяли по формуле $E = \frac{S_0 - S}{\gamma}$, где S_0 — величина почернения негатива, определяющая уровень неспецифических помех, S — величина почернения изучавшейся структуры, γ — коэффициент контрастности фотоэмульсии.

Площадь нейронов коры мозга кроликов и крыс рассчитывали на основании измерения профильных полей с помощью окулярмикрометра МОВ-1-15. Для подсчета сухого веса вещества полученные значения сдвига фазы, толщины среза и площади сечения клеточных структур вводили в соответствующие формулы.

Статистическую обработку полученного материала проводили на ЭВМ «МИР-2».

Результаты исследований

Послойное изучение нейронов зрительной, теменной и двигательной областей коры мозга intactных животных показало, что постоянно средние величины содержания белков, активности ГДГ и размеров пирамидных нейронов слоя V выше, чем нейронов других слоев. Вме-

Таблица 3

Влияние световой депривации на цитохимические показатели
нейронов двигательной коры ($M \pm m$)

Слон	Условия опыта	Содержание белка (пг)	% к контролю	Концентра- ция белка (пг/мкм ³)	% к контролю	Площадь (мкм ²)	% к контролю	ГДГ актив- ность (усл. ед.)	% к контролю
III	Контроль	173,6 $\pm$ 5,4		1,830 $\pm$ 0,008		95,1 $\pm$ 2,8		28,20 $\pm$ 0,47	
	Депривация Восстановление	207,3 $\pm$ 5,9	112	2,000 $\pm$ 0,032	109	101,8 $\pm$ 2,7	107	33,20 $\pm$ 0,68 26,60 $\pm$ 0,55	118 94
V	Контроль	441,9 $\pm$ 30,2		1,890 $\pm$ 0,025		232,2 $\pm$ 6,1		38,20 $\pm$ 0,78	
	Депривация Восстановление	569,0 $\pm$ 14,9	113	2,100 $\pm$ 0,038	111	274,0 $\pm$ 8,0	118	50,1 $\pm$ 12,8 44,2 $\pm$ 1,0	129 115

ете с тем и каждой из областей коры мозга морфологически однотипные нейроны обнаруживают цитохимические отличия от соответствующих нейронов других областей. Они проявляются не только в средних величинах цитохимических показателей, но и в своеобразии сочетания отдельных групп клеток в пределах каждого их типа. Это следует из сравнения соответствующих таблиц (табл. 1—3). Так, например, в теменной области нейроны III и V слоев отличаются наибольшими размерами и содержанием белков, а нейроны IV слоя, напротив, наименьшими размерами и содержанием белков.

Во всех случаях отмечается прямая зависимость между размерами клеток и содержанием белков в них.

У депривированных животных нейроны всех слоев отличаются от контроля по исследованным показателям. При этом обнаружены характерные особенности для каждой из изучавшихся областей коры мозга. Так, в зрительной коре площадь нейронов и содержание в них белков во всех слоях достоверно снижены. Выявленные у подопытных животных сдвиги обусловлены изменениями не всей популяции корковых нейронов в пределах каждого слоя, а только их определенными группами, о чем свидетельствуют гистограммы распределения нейронов.

Таблица 2

Влияние световой депривации на цитохимические показатели нейронов теменной коры ($M \pm m$)

Слой	Условия опыта	Содержание белка (нг)	% к контролю	Концентрация белка (нг/мкм ²)	% к контролю	Площадь (мкм ²)	% к контролю
III	Контроль	197,5 ± 4,7	77	1,850 ± 0,024	97	105,7 ± 2,0	77
	Депривация	151,9 ± 3,3		1,79 ± 0,02		81,4 ± 1,3	
IV	Контроль	66,7 ± 2,4	77	1,83 ± 0,03	98	35,3 ± 0,9	77
	Депривация	51,6 ± 1,0		1,80 ± 0,03		27,7 ± 0,5	
V	Контроль	471,7 ± 9,6	98	1,90 ± 0,03	99,5	248,0 ± 3,8	91
	Депривация	462,2 ± 3,2		1,89 ± 0,03		225,6 ± 3,7	

По показателю активности ГДГ (рис. 2, 3) реакция основной массы нейронов IV и V слоев зрительной области коры мозга на депривацию характеризуется определенными отличиями, несмотря на сходство конечных результатов, в обоих слоях средняя активность ГДГ в нейронах по сравнению с нормой повышена. В слое IV резко сокращается число нейронов с относительно невысоким уровнем активности ГДГ, которые в коре у нитактных животных составляют большинство. Одновременно увеличивается количество нейронов с высокими показателями ферментной активности. В результате средняя активность ГДГ в нейронах слоя IV коры мозга подопытных животных превышает таковую в контроле на 37% (табл. 1). В большинстве клеток повышение активности ГДГ сочетается с уменьшением их размеров.

В нейронах слоя V сдвиг среднего уровня активности ГДГ выражен в значительно меньшей степени, чем в слое IV,— всего на 8%. Он

Таблица 1

Влияние световой депривации на цитохимические показатели
нейронов зрительной коры ($M \pm m$)

Слои	Условия опыта	Содержание белка (пг)	% к контролю	Концентра- ция белка (пг/мм ²)	% к контролю	Площадь (мм ²)	% к контролю	Активность ГДГ (усл. ед.)	% к контролю
III	Контроль	184,0 ± 7,9	77 84	2,06 ± 0,03	89 89	95,3 ± 4,3	77 87	19,50 ± 0,82	104 95
	Депривация	137,8 ± 3,0		1,85 ± 0,04		74,50 ± 0,93		20,47 ± 0,8	
	Восстановление	155,9 ± 3,2		1,84 ± 0,03		84,5 ± 1,2		18,8 ± 0,8	
IV	Контроль	81,2 ± 4,5	55 67	1,84 ± 0,03	102 87	44,0 ± 4,0	58 73	21,3 ± 0,5	137 112
	Депривация	45,2 ± 1,6		1,89 ± 0,03		25,6 ± 0,5		29,2 ± 0,5	
	Восстановление	54,9 ± 1,5		1,61 ± 0,02		32,4 ± 0,7		23,9 ± 0,5	
V	Контроль	393,3 ± 11,4	82 101	1,84 ± 0,03	103 109	212,7 ± 7,8	86 92	54,0 ± 0,5	108 97
	Депривация	326,0 ± 7,9		1,90 ± 0,03		183,6 ± 2,2		58,4 ± 0,7	
	Восстановление	398,5 ± 8,9		2,01 ± 0,03		197,7 ± 3,8		47,1 ± 0,7	

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3 каждая величина—среднее из 120—150 нейронов

обусловлен нарастанием количества нейронов с высоким уровнем активности ГДГ, которые в отличие от нейронов слоя IV имеют крупные размеры (иногда выше нормы).

Изменения нейронов теменной области коры мозга сходны с таковыми в зрительной области и проявляются в уменьшении содержания белков и размеров клеток. Вместе с тем сравнение гистограмм (рис. 1—3) показывает, что соотношение нейронов этой области по содержанию белков, особенно в слое V, меняется в меньшей степени, чем в зрительной.

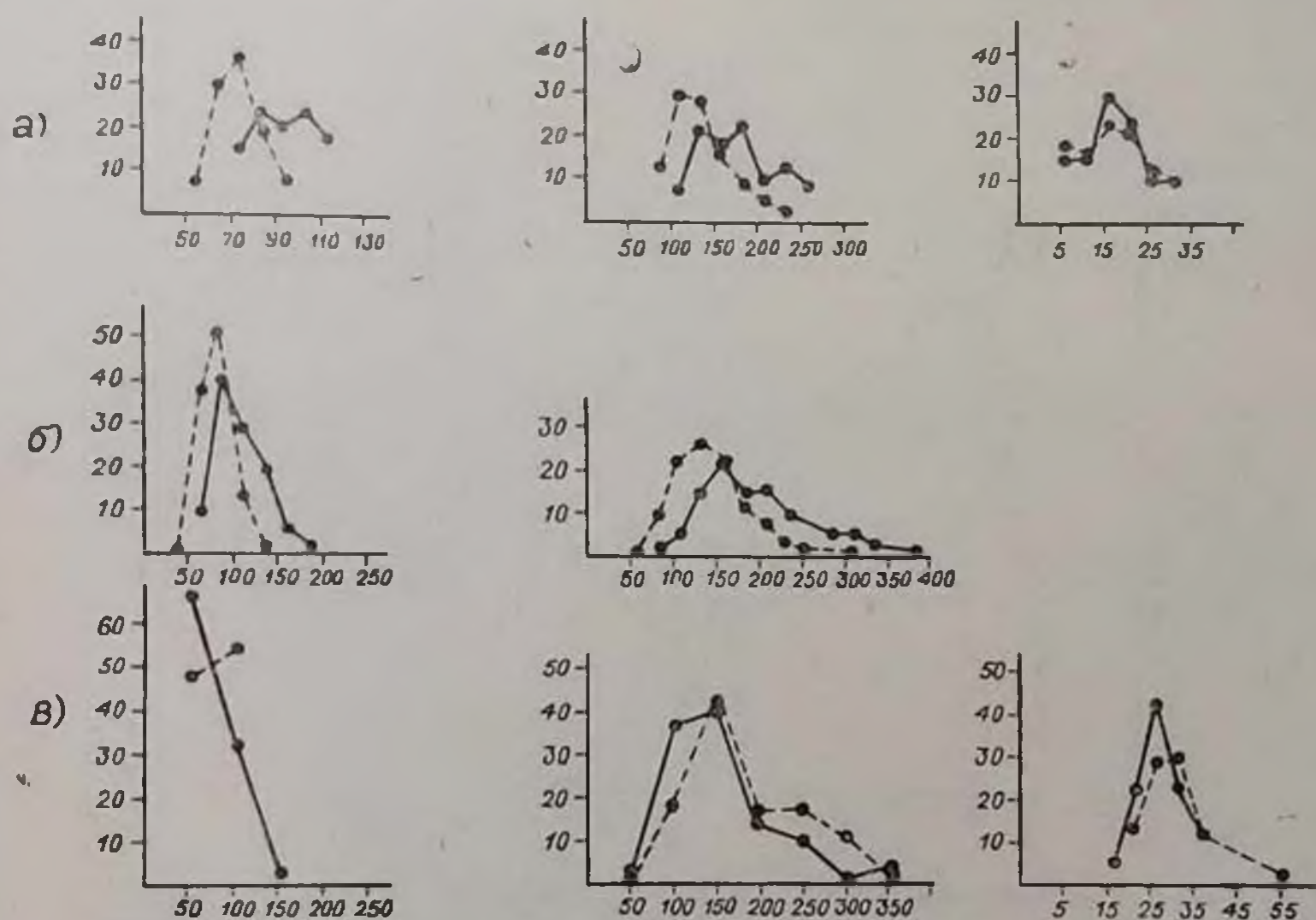


Рис. 1. Распределение нейронов в слое III различных областей коры мозга по содержанию белков и активности глутаматдегидрогеназы: а—зрительная кора, б—теменная, в—двигательная. Абсцисса: левые графики—площадь нейронов ($\mu\text{м}^2$), средние—содержание белков ($\mu\text{г}$), правые—глутаматдегидрогеназная активность (усл. ед. оптической плотности); ордината—количество нейронов в процентах от числа измеренных.

Сплошная линия—контроль, пунктирная—депривация

Реакция нейронов двигательной области коры мозга на зрительную депривацию однонаправленна. В обоих изученных слоях (III и V) нарастает количество нейронов с большим по сравнению с нормой содержанием белков и более высокой активностью ГДГ. Указанные изменения сопровождаются достоверным увеличением размеров нейронов. Степень изменения нейронов слоя V заметно больше, чем нейронов слоя III.

Перевод животных в условия обычного освещения сроком на 10—14 дней приводит к увеличению размеров нейронов зрительной коры, возрастанию содержания в них белков и нормализации уровня актив-

ности ГДГ, то есть все изучавшиеся показатели приближаются к контрольному уровню, но еще не достигают его (табл. 1).

Обращают на себя внимание различия в темпах восстановления нейронов разных слоев коры: они наиболее высоки у нейронов слоя IV. Однако, несмотря на более высокие темпы восстановления, через две недели пребывания животных на свету нейроны слоя IV больше других нейронов коры отстают от контрольного уровня. Сравнение всех полученных данных позволяет отметить, что нормализация активности ГДГ происходит полнее, чем восстановление размеров нейронов и содержания в них белков.

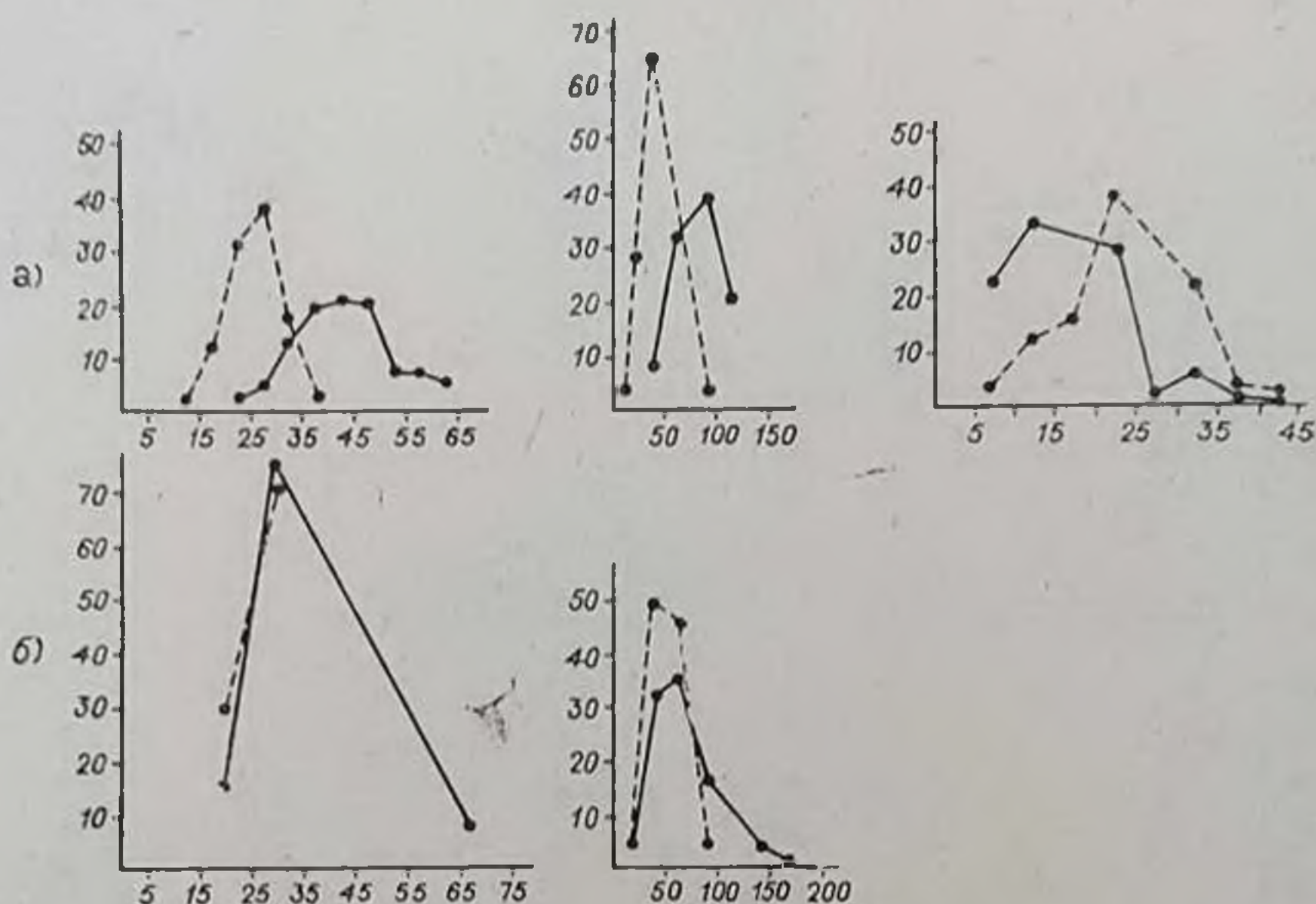


Рис. 2. Распределение нейронов в слое IV различных областей коры мозга по содержанию белков и активности глутаматдегидрогеназы: а—зрительная кора, б—теменная кора; обозначения те же, что и на рис. 1

Такая же закономерность отмечается и в нейронах двигательной коры. При этом нейроны слоя III, которые в условиях депривации изменялись меньше, в течение двух недель пребывания животных в условиях обычного освещения достигают контрольных показателей, тогда как активность ГДГ в нейронах V слоя по сравнению с нормой все еще остается повышенной (табл. 3).

Обсуждение результатов

Данные, характеризующие морфохимические особенности корковых нейронов интактных животных (кроликов и крыс) по их размерам, содержанию белков и активности ГДГ, позволяют отметить, что для всех изучавшихся областей коры—зрительной, теменной и двигательной—характерна общая закономерность: большие размеры, большее содержание белков и более высокая активность ГДГ свойственны пирамид-

ным нейронам слоя V по сравнению с ассоциативными нейронами слоя III и высокоспециализированными нейронами слоя IV. Такие различия правомерно рассматривать как отражение цитохимической специализации указанных нейронов в соответствии с их функциональной специализацией. По-видимому, эфферентная функция пирамидных нейронов слоя V, связанная с работой широко развитой сети аксодендрических коммуникаций, определяет и большой фонд белков и более высокую активность энергетических ферментов, в частности ГДГ, по сравнению с пирамидными нейронами слоя III, выполняющими в основном ассоциативные функции, а также по сравнению со специализированными на восприятие специфических импульсов нейронами слоя IV. В морфологических и цитохимических работах показано, что повышение функциональной нагрузки на нейроны приводит к увеличению их размеров, а подавление активности или перенапряжение вызывает их уменьшение [7, 8]. Исходя из этих данных, правомерно полагать, что и в норме размер тела клетки в пределах одного и того же морфологиче-

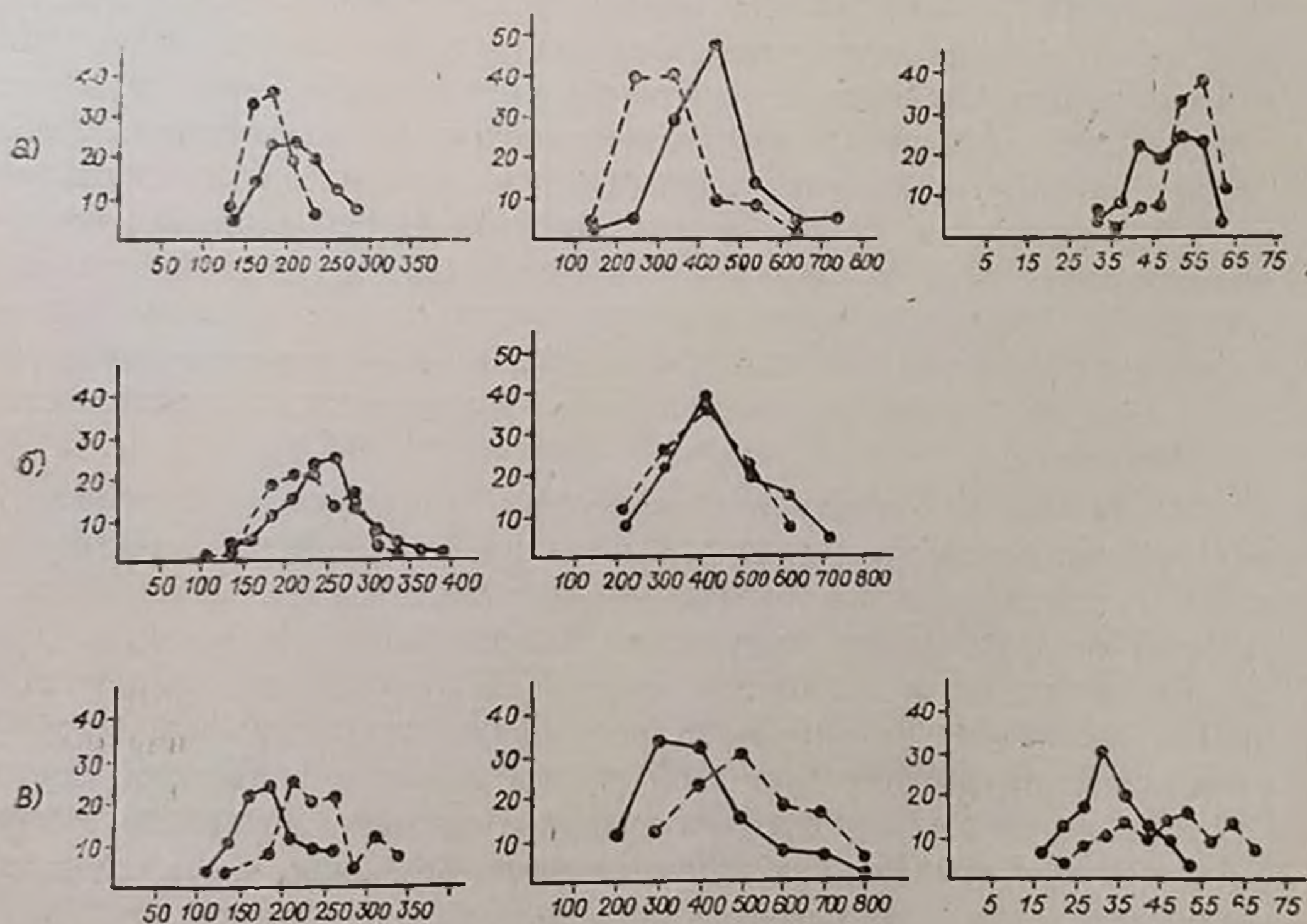


Рис. 3. Распределение нейронов в слое V различных областей коры мозга по содержанию белков и активности глутаматдегидрогеназы; обозначения те же, что и на рис. 1

ского типа, в частности пирамидного, тесно связан со степенью функциональной нагрузки. Известно, что около половины нейронов зрительной коры, являющейся типично проекционной зоной, мономодальны, в то время как в двигательной зоне коры преобладают полимодальные нейроны, способные реагировать на различные, в том числе и зрительные, стимулы [9]. Возможно, что большие показатели размеров и содержа-

ния белков в пирамидных нейронах слоя V теменной и двигательной областей коры обусловлены восприятием более обширной корково-подкорковой импульсации по сравнению с аналогичными клетками слоя V зрительной области. С другой стороны, нейроны слоя V зрительной области по активности ГДГ проявляют наибольшую степень гетерогенности, что, по-видимому, является специфичным для этой области.

Анализ полученных данных позволяет сформулировать концепцию о функционально обусловленной биохимической гетерогенности нейронов отдельных морфологических типов и групп клеток в пределах каждого из этих типов.

Эта концепция находит подтверждение и обоснование в результатах исследования мозга зрительно депривированных животных. Полученные данные свидетельствуют о том, что исключение зрительной импульсации с момента рождения оказывает влияние на морфохимическое развитие нейронов не только зрительной, но и других (теменная и двигательная) областей коры больших полушарий. При этом удалось выявить определенные отличия в реакциях нейронов указанных областей на зрительную депривацию. Основная масса нейронов зрительной области коры после этого воздействия имеет меньше, чем в норме, размеры, меньшее содержание белков и повышенную активность ГДГ. Другая категория нейронов зрительной коры, в первую очередь нейроны слоя V, напротив, демонстрируют признаки компенсаторной активации, что проявляется в более высоком уровне ГДГ и увеличении размеров клетки. Число нейроглиальных сателлитов возле таких нейронов также увеличено [10]. Можно предположить, что указанные признаки характеризуют состояние повышенной функциональной активности этих нейронов.

Увеличение при депривации количества мелких нейронов, вероятно, обусловлено возрастным недоразвитием мономодальных и некоторой части полимодальных клеток, которые в большей мере, чем другие, связаны со зрительными импульсами. По-видимому, своевременное (в период прозревания) включение зрительной функции, обеспечивающее приток специфических импульсов, необходимо для завершения морфохимической дифференцировки этой группы нейронов зрительной коры.

В то же время нейроны, проявляющие признаки активации, могут быть идентифицированы как полимодальные. Возможно, что в условиях зрительной депривации развитие указанных нейронов стимулирует другие виды импульсации, которые в значительной степени компенсируют дефицит импульсного притока по зрительному афферентному каналу.

Предположение о функционально обусловленных отличиях в реакции моно- и полимодальных нейронов зрительной области коры на специфическую деафферентацию подтверждается полученными нами данными о реакции на это воздействие нейронов двигательной области.

Как уже говорилось выше, в двигательной зоне коры мозга преобладают полимодальные нейроны, способные воспринимать различную

импульсацию, в том числе и зрительную. В условиях исключения последней и двигательную область коры поступает мощный поток импульсов от слухового, кожного и других анализаторов, что способствует осуществлению сложных компенсаторно-приспособительных процессов, обеспечивающих замещение зрительной функции функциями оставшихся анализаторов. Выявленные при этом морфохимические сдвиги в нейронах двигательной области коры мозга (увеличение размеров, повышение содержания белков и активности ГДГ) являются отражением их повышенной функциональной активности. Вероятно, клетки двигательной коры, как и других областей, своими компенсаторными реакциями обеспечивают адаптацию мозга и всего организма к изменившимся условиям среды.

Тесная функциональная связь зрительной и теменной коры мозга у грызунов находит отражение в сходстве реакции нейронов этих областей на зрительную депривацию. Однако сдвиги изучавшихся показателей в теменной области, особенно в слое IV, выражены в меньшей степени, что, по-видимому, обусловлено особенностями участия этих нейронов в зрительной функции.

Специфичность отмеченных выше изменений нейронов в условиях световой депривации подтверждается результатами, полученными на животных с «восстановленной» зрительной функцией. 10—14-дневное пребывание подопытных животных на свету сопровождается приближением всех изучавшихся показателей морфохимического развития нейронов зрительной области к контрольному уровню. При этом активность ГДГ нормализуется раньше, чем содержание белков и размеры нейронов. Это согласуется с данными биохимических исследований, в которых показано, что активность окислительных ферментов, в частности цитохромоксидазы, восстанавливается быстрее, чем активность ферментов других циклов обмена [11, 12].

Совокупность полученных данных свидетельствует, что своевременное поступление в мозг зрительных импульсов является необходимым условием для нормального развития нейронов зрительной, теменной и двигательной областей коры мозга. Отсутствие таковых в раннем онтогенезе приводит к нарушению морфохимической дифференцировки нейронов. При этом отклонения от нормального хода развития в зависимости от их функциональной специализации могут идти как по типу недоразвития (большинство нейронов зрительной и теменной областей), так и по типу компенсаторной активации (нейроны двигательной области коры, часть полимодальных нейронов зрительной коры).

CYTOCHEMICAL PECULIARITIES OF AGE-RELATED DIFFERENTIATION OF CORTEX NEURONS UNDER EARLY LIGHT DEPRIVATION

PIGAREVA Z. D., BUSNUK M. M., GERSTEIN L. M.

Brain Institute of the USSR Academy of Medical Sciences, Moscow

By means of quantitative cytochemical methods it has been demonstrated that the lack of specific visual impulsion during first 2—2,5 months after animal's birth results in morpho-chemical underdevelopment of neurons of individual lamina (III, IV, V) of visual and parietal areas of brain cortex, while in the neurons (lamina III and V) of the same animal's brain motor area compensatory activity is detected. A general conclusion is drawn that the response of neurons to deafferentation is determined by their functional characteristics and their specificity towards the interrupted impulsion and that the observed morpho-chemical changes are reversible provided the specific impulsion is resumed.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. *Blakemore C., Hillman P.* Exp. Brain Res. 30, 187—202, 1977.
2. *Blakemore C., Van Senyters R. C. J.* Physiol. (London), 237, 195—216, 1974.
3. *Leventhal A. Y., Hirsch H. V. B.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 74, 1271—1276, 1977.
4. *Пигарева З. Д.* Успехи совр. биол., 79, 48—63, 1975.
5. *Волохов А. А., Пигарева З. Д.* Ж. высш. нерв. деят., 25, 799—807, 1975.
6. *Rubinstein L. J., Klatso J., Miguel J. J.* Neuropath. Exp. Neurol., 21, 116—136, 1962.
7. *Казакова П. Б., Незлина Н. Н.* Нейрофизиология, 4, 41—46, 1972.
8. *Хайдарлиу С. Х.* Цитология, 9, 644—651, 1967.
9. *Рабинович М. Я., Боронин Л. Л., Скребицкий В. Г.*—В кн.: Интегративная деятельность нервной системы в норме и патологии (под ред. П. К. Анохина), М., Медицина, с. 234—245, 1968.
10. *Буснюк М. М.*—В сб.: Функционально-структурные основы системной деятельности и механизмы пластичности мозга. М., с. 381—385, 1974.
11. *Доведова Е. Л.* Укр. биохим. ж., 49, 17—22, 1977.
12. *Пигарева З. Д., Буснюк М. М., Герштейн Л. М., Доведова Е. Л., Узбеков М. Г.*—В кн.: Развивающийся мозг и среда (под ред. Э. А. Асратяна), М., Наука, с. 142—192, 1980.

Институт мозга АМН СССР, Москва

Поступила 2. X 1981