

# ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Г. А. Пьявченко, Л. И. Шмаркова, В. И. Ноздрин, 2015  
УДК 611.813.1.018:599.323.4

Г. А. Пьявченко<sup>1,2</sup>, Л. И. Шмаркова<sup>3</sup>, В. И. Ноздрин<sup>1,2</sup>

## ИЗМЕНЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА НЕЙРОНОВ В МОТОРНОЙ КОРЕ КРЫС И ИХ ДВИГАТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ

<sup>1</sup> Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (зав. — проф. В. И. Ноздрин), Медицинский институт, Орловский государственный университет; <sup>2</sup> научный отдел (руков. — канд. биол. наук О. И. Лаврик), Фармацевтическое научно-производственное предприятие «Ретиноиды», Москва; <sup>3</sup> кафедра математики, информатики и информационных технологий (зав. — проф. Л. И. Малявкина), Орловский государственный институт экономики и торговли

С помощью аппаратно-программного комплекса Laboras, представляющего собой систему автоматической регистрации поведенческих реакций, проводили запись двигательной активности 1-, 8- и 16-месячных крыс-самцов по 12 в каждой группе с последующим подсчетом количества тел нейронов в слое V моторной коры в препаратах, окрашенных по Нисслю. Установлено, что количество нейронов в моторной коре неодинаково в разных возрастных группах. Максимальное их содержание наблюдается у 8-месячных животных. Двигательная активность коррелирует с количеством нейронов.

**Ключевые слова:** моторная кора, количество нейронов, локомоции, Laboras, гистофизиология

Исследования, в которых физиологические методы анализа активности моторной коры мозга сочетаются с изучением ее цитоархитектоники, немногочисленны. J. P. Donoghue и S. P. Wise [10] выделили зоны моторной коры, которые можно идентифицировать как при помощи метода интракортикальной микростимуляции, так и по цитоархитектонике, хотя подробного описания строения этих зон авторы не дали. Д. А. Ивлиев [4] выявил связь между воздействием атропина на моторную кору мозга крыс и выработкой у них двигательного навыка. В работе Н. М. Ипекчян и С. А. Бадалян [6] морфологически показано, что первичная моторная и первичная сенсорная кора представляют собой два самостоятельных корковых центра с различной морфофункциональной организацией. В последние годы в публикациях преобладают физиологически ориентированные работы [12, 15, 17], в то время как гистофизиологические исследования ЦНС немногочисленны [1].

Цель настоящего исследования — выявить наличие связи между количеством нейронов в моторной коре мозга лабораторных крыс и их двигательной активностью.

Материал и методы. Опыт был поставлен на аутбредных крысах-самцах 1-, 8- и 16-месячного возраста

(по 12 животных в каждой группе) в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных (приказ № 755 от 12.02.1977 г. МЗ СССР). Животные были получены из питомника филиала Научного центра биомедицинских технологий РАМН «Андреевка» и содержались в стандартных условиях вивария [7]. Регистрацию двигательной активности проводили на аппаратно-программном комплексе Laboras (Metris, Нидерланды) [8]. Записывали локомоции каждого животного отдельно в период от 20 до 24 ч с последующим определением средней продолжительности движений в группе. На следующий после эксперимента день животных умерщвляли углекислым газом. Головной мозг фиксировали в жидкости Карнуа, парафиновые срезы окрашивали 1% водным раствором крезилового фиолетового на ацетатном буфере по Нисслю. Двигательную кору идентифицировали по атласу G. Paxinos и C. Watson [14], после чего подсчитывали количество нейронов в V слое коры (микроскоп AxioScop 2, Carl Zeiss, Германия). Подсчеты проводили на снимках 6 полей зрения (об. 40, ок. 20), полученных с помощью системы формирования изображений AxioVision (Carl Zeiss, Германия). Вычисляли среднее количество нейронов в поле зрения микроскопа, изучали корреляционную зависимость локомоторной активности от количества нейронов моторной коры. Проводили анализ содержания нейронов в моторной коре и двигательной активности у каждого животного отдельно. Выявляли наличие трендов в виде линейных и полиномиальных моделей второго порядка с анализом коэффициентов корреляции ( $r$ ) и детерминации ( $R^2$ ). Эти модели выражаются уровнями: I степени — линейные, II степени и больших степеней — полиномиальные. Модели применяются для харак-

### Сведения об авторах:

Пьявченко Геннадий Александрович (e-mail: gjvis1992@mail.ru), Ноздрин Владимир Иванович (e-mail: science@retinoids.ru), кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии, Медицинский институт, Орловский государственный университет, 302028, г. Орел, ул. Октябрьская, 25;

Шмаркова Лариса Ивановна (e-mail: shmarkova\_lara@mail.ru), кафедра математики, информатики и информационных технологий, Орловский государственный институт экономики и торговли, 302028, г. Орел, ул. Октябрьская, 12

теристики общего направления изменений изучаемых величин. Математическую обработку экспериментальных данных проводили средствами статистического анализа, используя пакет программ Excel [2].

**Результаты исследования.** Слой V моторной коры состоит из нейронов (в основном пирамидных) разного размера и глии. В препаратах по тинкториальным признакам можно различить 2 типа нейронов: первый тип представлен клетками, с хорошо окрашенной цитоплазмой, а второй тип — со слабо окрашенной цитоплазмой. На срезах слоя V моторной коры у крыс 1-го месяца жизни нейронов мало, тела большинства из них выглядят округлыми, их цитоплазма слабо окрашивается и вокруг ядра образует узкий ободок, отростки не контурируются (рис. 1, а). У 8-месячных особей нейронов намного больше, чаще встречаются нейроны пирамидной формы, в том числе с интенсивно окрашенной цитоплазмой, содержащей гранулы хроматофильного вещества (см. рис. 1, б). К 16 мес в моторной коре происходит снижение числа нейронов как первого, так и второго типа, однако их количество превышает наблюдаемое у животных 1-го месяца жизни (см. рис. 1, в).

Исследование показало, что максимальной подвижностью в определенный (фиксированный) период времени (4 ч) обладали самцы 8-месячного возраста, а минимальной — старые 16-месячные животные. Та же направленность была выявлена при определении среднего количества тел нейронов в различных возрастных группах. Наименьшее значение этого показателя наблюдалось у 1-месячных крыс, а максимальное — у 8-месячных крыс; в дальнейшем к 16-месячному возрасту оно снижалось, но не достигало такого

у 1-месячных особей (таблица). Таким образом, сопоставление возрастной динамики средних (по возрастным группам) функциональных и морфометрических показателей позволило выявить линейную связь между плотностью расположения нейронов в моторной коре и подвижностью животных: большее число нейронов коррелировало с большей двигательной активностью.

Графический анализ содержания нейронов в моторной коре и двигательной активности каждого животного отдельно показал, что группа крыс 1-го месяца жизни, в отличие от других возрастных групп, характеризуется значительной неоднородностью. В ней присутствуют особи, отличающиеся друг от друга. Так, 1-я подгруппа животных проявляла слабую двигательную активность на фоне низкого содержания нейронов, 2-я — имела большую плотность расположения нейронов и больше двигалась, а 3-я — при максимальном представительстве нейронов отличалась меньшей продолжительностью совершаемых движений (рис. 2). По мере взросления крыс (8 и 16 мес) их двигательная активность линейно коррелировала с количеством нейронов в моторной коре.

**Обсуждение полученных данных.** В настоящей работе проводили определение содержания нейронов в моторной коре крыс в сопоставлении с их двигательной активностью, которую оценивали с помощью аппаратно-программного комплекса Laboras, использование которого позволяет избежать субъективности, свойственной тесту «открытого поля» [3]. Результаты проведенных исследований согласуются с данными ряда авторов. Так, J.A.Kleim и соавт. [11] показали, что обучение животных двигательным навы-

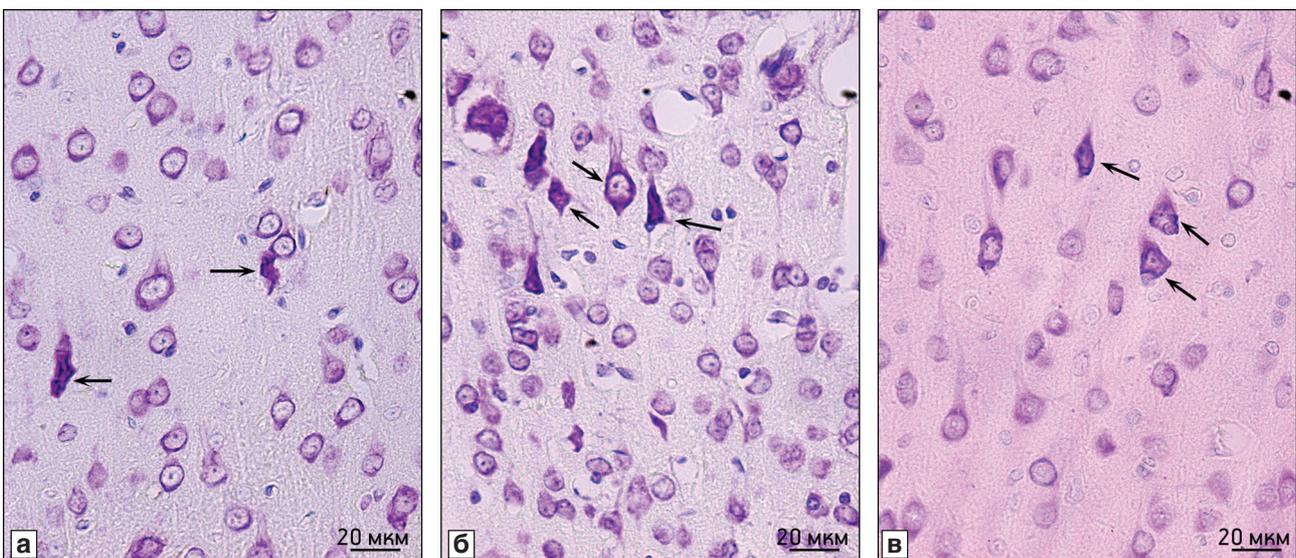


Рис. 1. V слой моторной коры мозга крыс-самцов в возрасте 1 мес (а), 8 мес (б) и 16 мес (в).

Стрелками указаны структурно дифференцированные нейроны первого типа. Окраска кризильным фиолетовым

**Продолжительность движений и количество тел нейронов в слое V моторной коры мозга крыс-самцов разных возрастных групп ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ , в поле зрения при об.40, ок.20)**

Исследованные показатели	Возраст животных, мес		
	1	8	16
Продолжительность движений за 4 ч, с	185±16	291±5*	161,4±2,2*. **
Количество тел нейронов в слое V моторной коры	46,1±0,6	80,9±1,1*	53,2±0,6*. **
Коэффициент корреляции	0,25	0,89	0,87
Коэффициент детерминации	0,91	0,79	0,75

\* Различия значимы по сравнению с показателями у 1-месячных крыс при  $P \leq 0,05$ .

\*\* Различия значимы по сравнению с показателями у 8-месячных крыс при  $P \leq 0,05$ .

кам связано с функциональной реорганизацией соответствующих представительств в моторной коре. В подробном обзоре М.Е.Иоффе [5] сделано заключение, что моторная кора, ответственная за выполнение двигательных актов, обладает пластичностью и в процессе обучения может функционально перестраиваться. А.Л.Терней и С.А.Нельсон III [16] в работе, посвященной развитию мозга в первые годы жизни человека, приводят данные, что возрастание количества межнейронных контактов в разных структурах мозга связано с формированием соответствующих этим структурам навыков. В обзоре К.Н.Ярыгина и В.Н.Ярыгина [9] по морфогенезу ЦНС обобщены доказательства, что нейроны имеют свои делящиеся предшественники, которые фактически обладают свойствами стволовых клеток. Исходя из этого, можно считать, что пластичность моторной коры обусловлена, в частности, не только количеством синаптических связей, но и числом нейронов.

Результаты наших исследований подтвердили это предположение. Установлено, что с возрастом у крыс-самцов количество нейронов в моторной коре и продолжительность двигательной активности нарастают и убывают параллельно, и являют-

ся взаимосвязанными. Это обусловлено пластичностью структур мозга, в основе которой лежит изменение как количества нейронов, так и числа их связей друг с другом [11–13].

Графические данные, представляющие индивидуальные показатели у животных, позволили выявить некоторые особенности взаимозависимости исследованных параметров. Их неоднородность и разнонаправленность, выявленные у самых молодых крыс, обусловлены, вероятно, неодинаковыми темпами дифференцировки моторной коры у разных особей. Количество нейронов во 2-й подгруппе 1-месячных крыс является, по-видимому, достаточным для совершения движений в необходимом объеме. Животные из 3-й подгруппы, вероятно, несколько раньше начали освоение двигательных навыков и обрели опыт достижения цели за счет меньшего количества движений, отличающихся при этом большей целенаправленностью. Подтверждением такого объяснения может служить тот факт, что у самцов этой подгруппы начинает прослеживаться как и у 8-, и 16-месячных крыс, тенденция к прямой зависимости между продолжительностью движений и количеством нейронов.

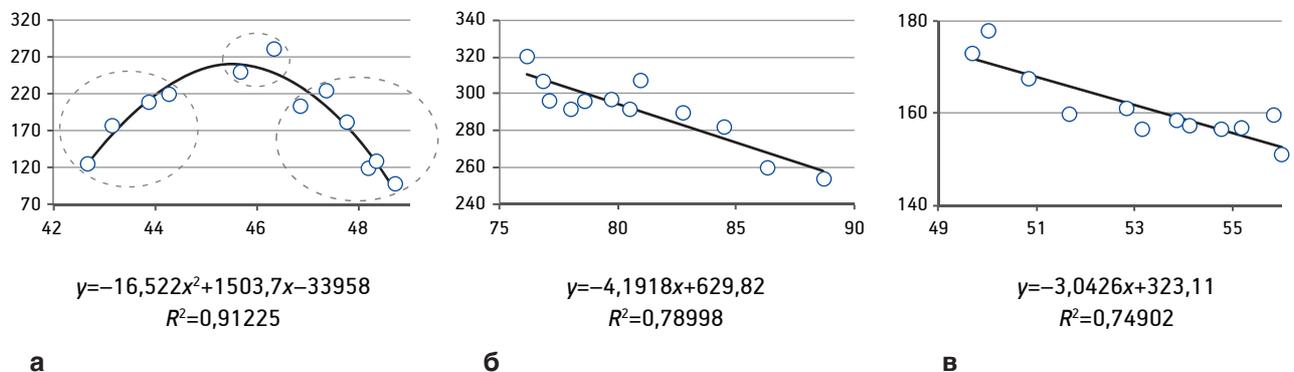


Рис. 2. Продолжительность локомоторных реакций и количество нейронов в моторной коре (слой V) у 1-месячных (а) (в оваллах выделены 3 подгруппы животных), 8-месячных (б) и 16-месячных (в) крыс самцов.

По оси абсцисс — количество нейронов (в поле зрения); по оси ординат — продолжительность реакции (с);  $y = ax^2 + bx + c$  — уравнение модели, описывающей зависимость продолжительности локомоторных реакций от количества нейронов моторной коры, а  $R^2$  — коэффициент детерминации, свидетельствующий о достаточной адекватности построенных моделей

Выявленную вариабельность индивидуальных показателей в группе самых молодых животных мы склонны объяснить генетически обусловленной неодинаковостью темпов развития моторной коры и становления двигательных функций. Нелинейный характер взаимозависимости между количеством нейронов в моторной коре и двигательной активностью у крыс 1-месячного возраста весьма достоверно описывается полиномиальной моделью второго порядка. Эта отличительная особенность крыс-самцов 1-го месяца жизни в сравнении с животными других групп свидетельствует о развитии в этом возрасте в моторной коре интенсивных и важных процессов реорганизации.

Итак, плотность расположения нейронов в моторной коре мозга у крыс-самцов неодинакова в разных возрастных группах: она минимальна у 1-месячных особей, возрастает к 8 мес жизни и у старых животных снижается. Подвижность животных разных возрастных групп линейно коррелирует с числом нейронов в двигательной коре мозга. Двигательная активность крыс 8- и 16-месячного возраста внутри соответствующих групп линейно коррелирует с числом нейронов; у самцов 1-месячного возраста аналогичная зависимость имеет нелинейный характер и описывается полиномиальной моделью второго порядка.

*Благодарим ведущего научного сотрудника канд. мед. наук доц. Т.А.Белюсову за помощь в научном редактировании статьи.*

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Боголепова И.Н., Малофеева Л.И. Возрастные изменения цитоархитектоники речедвигательных полей лобной области коры мозга мужчин // Журн. анат. гистопатол. 2013. Т. 2, № 1. С. 25–30.
2. Борздова Т.В. Основы статического анализа и обработка данных с применением Microsoft Excel. Минск: изд. ИУСТ БГУ, 2011.
3. Воронина Т.А., Середенин С.Б., Яркова М.А., Воронин М.В. Методические рекомендации по доклиническому изучению транквилизирующего (анксиолитического) действия лекарственных средств // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К, 2012. С. 264–275.
4. Ивлиев Д.А. Влияние микроинъекции атропина в моторную кору крысы на выработку двигательного навыка // Журн. высш. нервн. деят. 1998. № 3. С. 478–484.
5. Иоффе М.Е. Мозговые механизмы формирования новых движений при обучении: эволюция классических представлений // Журн. высш. нервн. деят. 2003. Т. 53, № 1. С. 5–21.
6. Ипекчян Н.М., Бадалян С.А. Первичная моторная и первичная сенсорная кора — два локальных корковых центра сенсомоторного представительства тела // Морфология. 2013. Т. 142, вып. 2, С. 7–12.

7. Ноздрин В.И., Пьявченко Г.А. Опыт проведения доклинических исследований лекарственных препаратов дерматотропного действия // Технологии живых систем. 2013. Т. 10, № 8. С. 31–37.
8. Пьявченко Г.А. Способ оценки поведенческих реакций у грызунов // Ретиноиды. М.: изд. ЗАО «Ретиноиды», 2014. Вып. 33. С. 83–90.
9. Ярыгин К.Н., Ярыгин В.Н. Нейрогенез в центральной нервной системе и перспективы регенеративной неврологии // Журн. неврол. и психиатр. 2012. № 1. С. 4–13.
10. Donoghue J.P., Wise S. P. The motor cortex of the rat: cytoarchitecture and microstimulation mapping // J. Comp. Neurol. 1982. Vol. 212. P. 76–88.
11. Kleim J.A., Barbay S., Nudo R.J. Functional reorganization of the rat motor cortex following motor skill learning // J. Neurophysiol. 1998. Vol. 80. № 6. P. 3321–3325.
12. Leisman G., Koch P. Network of conscious experience: computational neuroscience in understanding life, death, and consciousness // Rev. neurosci. 2009, Vol. 20, № 3–4. P. 154–176.
13. Markham J.A., Greenough W.T. Experience-driven brain plasticity: beyond the synapse // Neuron Glia Biol. 2004. Vol. 1, № 4. P. 351–363.
14. Paxinos G., Watson C. The Rat Brain Atlas in Stereotaxic Coordinates 4<sup>th</sup> ed. New York: Acad. Press, 1998.
15. Smith J.B., Mowery T.M., Alloway K.D. Thalamic P/Om projections to the dorsolateral striatum of rats: potential pathway of mediating stimulus-response associations for sensorimotor habits. J. Neurophysiol. 2012. Vol. 108, № 1. P. 160–174.
16. Tierney A.L., Nelson C.A.III Brain development and the role of experience in the early years // Zero Three. 2009. № 30, № 2. P. 9–13.
17. Viaro R., Bundri M., Parmiani P., Franchi G. Adaptive changes in the motor cortex during and after longterm forelimb immobilization in adult rats // J. Physiol. 2014. Vol. 592, № 10. P. 2137–2152.

Поступила в редакцию 20.09.2014

#### CHANGES IN THE NUMBER OF NEURONS IN THE MOTOR CORTEX OF RATS AND THEIR LOCOMOTOR ACTIVITY IN THE AGE ASPECT

*G.A.Piavchenko<sup>1, 2</sup>, L.I.Shmarkova<sup>3</sup>, V.I.Nozdin<sup>1, 2</sup>*

Using Laboras hardware-software complex, which is a system of automatic registration of behavioral reactions, the locomotor activity 1-, 8- and 16-month-old male rats (12 animals in each group) was recorded followed by counting the number of neuron cell bodies of in the layer V of the motor cortex in Nissl stained slides. It was found that the number of neurons in the motor cortex varied in different age groups. Maximal number of neurons was observed in 8-month-old animals. Motor activity was found to correlate with the number of neurons.

**Key words:** motor cortex, number of neurons, locomotions, Laboras, histophysiology

<sup>1</sup> Department of Histology, Cytology and Embryology, Medical Institute, Oryol State University; <sup>2</sup> Scientific Department, «Retinoids» Pharmaceutical Joint-Stock Company, Moscow; <sup>3</sup> Department of Mathematics, Informatics and Information Technologies, Oryol State Institute of Economy and Trade