

Г. Н. МОСКОВИЦ, Э. Х. ПРИЙМАК

## ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НЕЙРОНОВ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ГИПОТИРЕОЗЕ

(Представлено академиком Б. Л. Астауровым 6 III 1969)

Экспериментальными исследованиями, а также клиническими наблюдениями установлено, что недостаток в тиреоидном гормоне на ранних стадиях постнатального онтогенеза у живородящих проявляется в характерном отставании морфологической, биохимической и функциональной дифференцировки нейронов коры головного мозга (1-5). Наряду с этим получены данные о том, что при гипотиреозе имеют место изменения в ультраструктуре эндоплазматического ретикулума эпидимальной глии у головастиков *Rana temporaria* (6). Было также показано, что в результате заместительной терапии тироксином наблюдается восстановление нормальной структуры эндоплазматического ретикулума в этих клетках.

В связи с изложенным представляло интерес изучение ультраструктуры нейронов коры мозга, развивающейся в условиях недостатка тиреоидного гормона, которое позволило бы получить дополнительные данные об изменениях, обуславливающих нарушение метаболизма и функции нервной ткани у гипотиреоидных животных.

Исследование проводилось на белых крысах, содержащихся в обычных условиях вивария. Изучались нейроны ганглиозного слоя  $FP^m$  области коры головного мозга (по классификации Светухиной (7)) животных в возрасте 16 и 24—25 дней. Гипотиреоз у новорожденных крысят вызывали введением кормящим самкам интраперитонеально метилтиоурацила ежедневно по 100 мг в течение первой недели после родов и далее по 70 мг до конца опыта. Показателями гипотиреоидного состояния у подопытных животных служили также характерные признаки, как отставание в весе тела, задержка в развитии шерстного покрова, запаздывание в прорезывании резцов и открытии глаз, а также наличие зубной реакции с типичными изменениями микроструктуры щитовидной железы.

Головной мозг фиксировали перфузией забуференного 4% формалина (рН 7,0—7,2), для чего животному под нембуталовым наркозом быстро вскрывали грудную полость, через левый желудочек сердца в аорту вставляли канюлю, вскрывали правое предсердие и шприцем проводили перфузию 20—30 мл теплого физиологического раствора и тотчас вслед за этим соединяли канюлю с сосудом, содержащим охлажденный фиксатор. Введение первых порций фиксатора, проникающих в головной мозг, сопровождается судорожными подергиваниями животного, что являлось одним из критериев успешной перфузии. Продолжительность перфузии не превышала 45 мин. По окончании ее головной мозг извлекали и по плотности его консистенции и цвету судили об успешной перфузии. Бритвой вырезали нужную область мозга и фиксацию продолжали в том же растворе на холоду в течение 1 часа. Затем кусочки мозга промывали в течение 1 часа в холодном фосфатном буфере (рН 7,0—7,2) и проводили осмирование по Паладе. Далее кусочки переносили последовательно в 50 и 70° спирты; в последнем кусочки оставляли на ночь на холоду. Обезвоживание проводили в 96% спирте (30 мин.) и в трех порциях 100° спирта по 30 мин. в каждой, проводили через смесь 100° спирт — аралдит (1:1) в течение 30 мин. при 37°, аралдит при 37° 16—18 час., смесь аралдит — акселератор при 37° 6—8 час. и, наконец, заливали

в свежие порции аралдита с акселератором в желатиновые капсулы. Полимеризацию проводили при 60° в течение 2 суток. Кусочки ориентировали при их заливке. «Толстые» срезы окрашивали метиленовым синим, просматривали под микроскопом, что позволяло затачивать блок точно из нужного слоя коры. Ультратонкие срезы готовили на микротоме KB и обрабатывали по Райнолду (8). Микрофотографии получали на микроскопах Tesla-413 и УЭМВО-100 при увеличениях от 9050 до 16900 X и последующем фотографическом увеличении 3 X.

В более ранних работах (9) указывается на значение возраста как фактора, определяющего степень и обратимость изменений в развитии коры головного мозга при гипотиреозе. 16-й день развития крысы является в определенном смысле критическим в развитии коры головного мозга крысы (10). Это тот срок, когда структура и метаболизм коры мозга достигают практически уровня взрослого животного. Заместительная терапия гипотиреоидных животных, начатая с этого возраста, уже не в состоянии нормализовать структуры и функцию коры головного мозга.

В связи с этим важно было не только установить определенные изменения в ультраструктуре нейронов и нейропиля, но и проследить, в какой мере эти изменения являются персистирующими.

16-дневные животные. Выше отмечалось, что в норме дифференцировка коры мозга крыс в 16-дневном возрасте достигает уровня взрослого животного. Это находит отражение и в ультраструктуре нейронов и нейропиля коры мозга (11, 12).

Электронномикроскопическое исследование коры мозга подопытных животных в этом возрасте обнаружило ряд отклонений от нормы. Ядра нейронов у гипотиреоидных животных характеризуются более гомогенным распределением осмиофильного ядерного вещества по сравнению с контролем, что указывает на меньшую степень дифференцировки нейрона. На гомогенном фоне ядерного материала нейронов гипотиреоидных животных можно изредка видеть и глыбки ядерного вещества, в особенности в районах, прилежащих к внутренней ядерной мембране. Однако для нейронов контрольных животных расположение ядерного вещества в виде глыбок на более светлом фоне является типичным.

Развитие эргастоплазмы нейронов мозга гипотиреоидных животных заметно отстает от развития мембран эндоплазматического ретикулума нейронов в контроле. В то же время в нейронах гипотиреоидных животных, в отличие от контроля, преобладают мембраны, лишенные рибосом. В литературе есть указания (13) на то, что формирование мембран эндоплазматического ретикулума, связанных с рибосомами, служит важным признаком дифференцировки нейронов.

Для оценки морфологического созревания коры мозга наряду с другими характеристиками важен анализ ультраструктуры так называемого нейропиля, системы отростков и синаптических связей. Как показало исследование, аксо-соматические синапсы в коре головного мозга 16-дневных гипотиреоидных крыс встречаются реже, чем в контроле. Не многочисленны также аксо-дендритические синапсы (рис. 1). Наряду с этим у гипотиреоидных животных не обнаружены миелинизированные волокна, тогда как в коре мозга контрольных животных есть миелинизированные аксоны.

Эти данные хорошо согласуются с исследованиями функционального состояния коры гипотиреоидных животных (14, 15), у которых при изучении э.э.г. найдено снижение амплитуды вызванных потенциалов, увеличение латентного периода и продолжительности фаз воли, отсутствие медленного ритма. Считается, что гипоплазия нейропиля приводит к уменьшению способности постсинаптических потенциалов к суммации. Именно уменьшение плотности дендритического поля и числа аксонов, способных образовывать синаптические связи, и проявляется в подобном характере э.э.г. коры мозга гипотиреоидных животных.

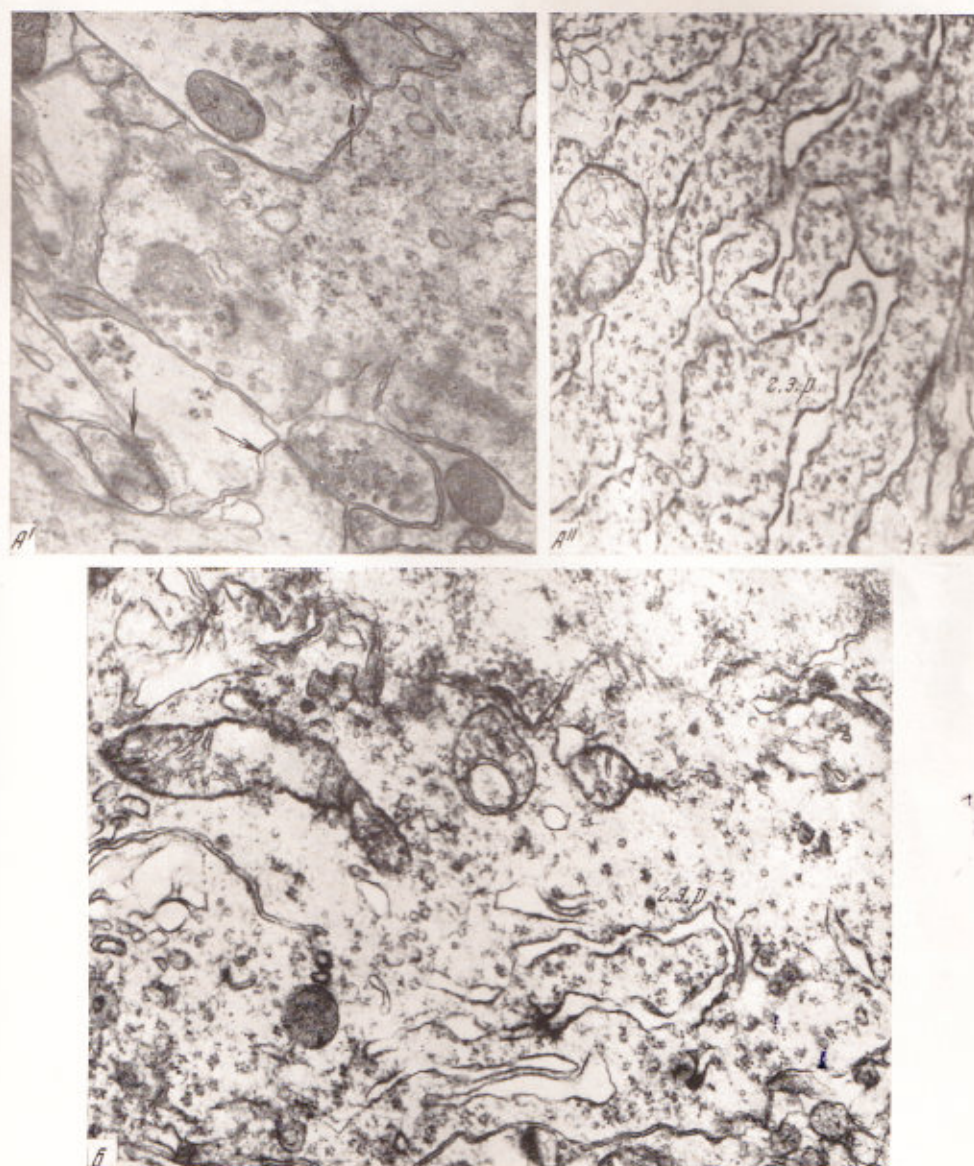


Рис. 1. Нейроны коры мозга 16-дневных intactных (A) и гипотиреоидных (B) животных. A' — аксо-дендритические синапсы вблизи тела нервной клетки; A'' — хорошо развитый гранулярный эндоплазматический ретикулум (г.э.р.); B — эндоплазматический ретикулум развит слабо, его мембраны почти полностью лишены рибосом.  
 A — 9050 × 3; B — 9050 ×

24—25-дневные животные. В тонкой структуре ядра, ядрышка и эндоплазматического ретикулула нейронов гипотиреоидных и контрольных животных этого возраста на исследованном материале не удалось выявить существенных различий. В коре головного мозга гипотиреоидных животных встречаются единичные миелинизированные волокна с небольшим количеством миелиновых слоев, тогда как у контрольных животных в коре мозга обнаруживается большое количество миелинизированных аксонов с хорошо развитой периодичностью миелина. Аксо-соматические синапсы в коре гипотиреоидных животных по сравнению с контролем встречаются реже.

Кроме описанных выше структур, в обоих изученных возрастах прослеживалось состояние комплекса Гольджи, который был хорошо развит и представлен всеми структурными компонентами как в контроле, так и в опыте. Следует отметить, что недавно (6) аналогичное наблюдение было сделано и при исследовании жемчужной глины амфибий. Представлялось также интересным установить возможные изменения в ультраструктуре митохондрий нейронов коры мозга, поскольку в литературе имеются сообщения о значительном снижении активности митохондриальных ферментов при гипотиреозе (7) и структурных изменениях митохондрий нейронов в процессе нормального онтогенеза крыс. Однако на имеющемся материале не удалось выявить какие-либо различия между подопытными и контрольными животными ни в одном из возрастов.

Таким образом, электронномикроскопическое изучение нейронов коры мозга гипотиреоидных животных выявило ряд определенных признаков задержки дифференцировки тех структур нейронов и нейрофила, которые ответственны за снижение в последних уровня синтетических процессов, а также функционального состояния. Эти признаки отставания дифференцировки более отчетливо выражены у 16-дневных животных.

Институт морфологии человека  
Академии медицинских наук СССР

Поступило  
26 I 1969

Институт биологии развития  
Академии наук СССР  
Москва

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> R. J. Barnett, *Some Aspects of the Experimental Cretin-like Animal*. Thesis Yale Univ. School of Medicine, 1948. <sup>2</sup> J. T. Eayrs, *Nature*, **173**, 403 (1953). <sup>3</sup> M. Hamburgh, L. B. Flexner, *J. Neurochem.*, **1**, 279 (1957). <sup>4</sup> Г. В. Елякова, *ДАН*, **125**, № 1, 229 (1959). <sup>5</sup> J. T. Eayrs, *Brit. Med. Bull.*, **16**, 122<sup>1</sup> (1960). <sup>6</sup> I. Psetsky, *Матер. симпозиума. Гормоны и развитие*, Ноттингем, 1968. <sup>7</sup> В. М. Светухина, *Арх. анат., гистол., эмбриол.*, **42**, № 2, 31 (1962). <sup>8</sup> E. S. Reynolds, *J. Cell. Biol.*, **17**, 208 (1963). <sup>9</sup> J. T. Eayrs, *J. Endocrinol.*, **22**, 409 (1961). <sup>10</sup> W. Himwich, *Intern. Rev. of Neurobiol.*, **4**, 107 (1962). <sup>11</sup> H. Ramsei, *Anat. Record*, **139**, 333 (1961). <sup>12</sup> Н. Н. Богаревская, Э. Н. Попова, *Журн. невропатол. и психиатр.*, **67**, № 3, 374 (1967). <sup>13</sup> L. Vessler, G. D. Pappas, D. P. Purpura, *Exp. Neurol.*, **7**, 107 (1963). <sup>14</sup> P. H. Bradley, J. T. Eayrs, K. Schalbach, *Electroencephal. Clin. Neurophysiol.*, **12**, 467 (1960). <sup>15</sup> J. T. Eayrs, A. Glass, P. L. Broadhurst, *J. Endocrinol.*, **20**, 7 (1962).