



Электронный научный журнал

Современные проблемы науки и образования

ISSN 2070-7428

"Перечень" ВАК

ИФ РИНЦ = 1,028

Главная Выпуски журнала Выпуск журнала № 5 за 2016 год

ЛИЧНЫЙ ПОРТФЕЛЬ

МОРФОЦИТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙРОН-ГЛИАЛЬНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ СРЕДНЕГО МОЗГА ОЗЕРНОЙ ЛЯГУШКИ (PELOPHYLAX RIDIBUNDUS PALL.) УРБАНИЗИРОВАННЫХ ТЕРРИТОРИЙ КРАСНОЯРСКОГО КРАЯ

Афанаскина Л.Н. 1 Медведева Н.Н. 1 Вершинин В.Л. 2

1 ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ»

2 Институт экологии растений и животных УРО РАН

Природные популяции земноводных являются чувствительными индикаторами комплексного загрязнения окружающей среды, влияющей на репродуктивную систему, выживаемость, стабильность развития, генетическую структуру, ценотические связи и коэволюционные взаимоотношения [6]. Исследование функционально-физиологических перестроек в организме амфибий дает возможность получать информацию о механизмах поддержания устойчивости в условиях урбанизации, адаптивном потенциале популяций и возможности оценить перспективы их жизнедеятельности в конкретных биотопах Красноярского края. Целью настоящего исследования явилось изучение специфики морфоцитохимических показателей клеточных популяций VI слоя крыши среднего мозга озерной лягушки (*Pelophylax ridibundus Pall.*) в зависимости от уровня антропогенной трансформации местообитаний.

Материалы и методы

Исследования проведены на озерных лягушках (*Pelophylax ridibundus Pall.*), отловленных в июне 2008–2009 гг. в популяциях с территории Шарыповского района Красноярского края, который характеризуется значительным уровнем загрязнения [3]. В соответствии с типизацией В.Л. Вершинина [6], комплексно отражающей степень урбанизации, пруд п. Шарыпово относится к зоне малоэтажной застройки, а фоновая территория (где собрана контрольная выборка) выбрана в 23 км от п. Шарыпово, пойма р. Берешь Шарыповского района. Объем материала – 10 особей из зоны малоэтажной застройки (группа 1) и 7 – из загородной популяции (группа 2).

Забор образцов головного мозга животных осуществлялся в соответствии с приказом Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 23.08.2010 № 708н г. Москва «Об утверждении правил лабораторной практики». Изъятый мозг фиксировали по стандартной гистологической методике для нервной ткани с последующим изготовлением серийных срезов на санном микротоме «Slide 2002». Готовые срезы, толщиной 5–7 мкм, окрашивали на выявление рибонуклеопротеидных комплексов тионином по Нисслю в модификации И.В. Викторова [2] и на содержание общего белка амидочерным (АЧ 10Б) [4]. Крыша среднего мозга земноводных, *tectum opticum*, состоит из поверхностного, центрального и перивентрикулярного слоев. Последние два слоя (центральный и перивентрикулярный) объединяются в так

называемое центральное серое вещество. В перивентрикулярный слой входят 1–6 слои крыши среднего мозга [7]. В данной работе изучены эфферентные нейроны VI наружного зернистого слоя крыши среднего мозга земноводных, идентичные IV слою среднего мозга костных рыб. Средний мозг является высшим интегрирующим центром и обеспечивает регуляцию и координацию движений амфибий. Дифференцировку структур проводили по атласам мозга земноводных [10]. Изучены характеристики клеток – площадь сечения: тела – St, цитоплазмы – S_ц, ядра – S_я и структурный ядерно-цитоплазматический коэффициент (сЯЦК), отношение S_я / S_ц. Проанализированы плотность распределения нейронов и глиоцитов на единицу фиксированной площади (1 мм²). Подсчитано число нейронов с разной степенью хроматофилии цитоплазмы: нормохромные, гипохромные и гиперхромные [5]. На препаратах, окрашенных амидочерным 10Б, с помощью микроскопа Zeiss Axioskop со встроенной видеокамерой и прилагаемым программным обеспечением, в нейронах VI слоя крыши среднего мозга количественными методами определено суммарное содержание и концентрация общих водонерастворимых белков, составляющих основу сухого веса клеточных структур [8]. Полученные результаты обработаны непараметрическим критерием Манна – Уитни. Значимыми принимали значения при $p < 0,05$. Статистические данные представлены в виде $M\bar{e}$ [25; 75].

Результаты исследования

Озерная лягушка на территории Красноярского края является инвазивным видом, появившимся в результате случайного заноса, вероятно, с молодью карпа из Европейской части страны [9]. Как полуводный вид *P. ridibundus* заселяет проточные и стоячие водоемы (от мелких луж, речек до крупных рек и водохранилищ). Она предпочитает открытые, хорошо прогреваемые водоемы с густой травяной растительностью [1]. *P. ridibundus* характеризуется высоким окрасочным и пигментным полиморфизмом. Она толерантна к повышенным концентрациям растворенных в воде солей (0,9–8,3 %) и способна обитать в водоемах, загрязненных бытовыми отходами и удобрениями, в окрестностях крупных metallургических и химических предприятий, в условиях, к которым аборигенные виды амфибий не способны адаптироваться [6].

Популяции эфферентных нейронов VI слоя крыши среднего мозга озерной лягушки группы 2 характеризуются наибольшей площадью профильного поля тела клетки в сравнении с лягушками 1 группы. В кариохромных клетках данного слоя преобладают значения площади ядра в 1,7 раза у особей группы 1 и 1,5 раза у группы 2 над показателями площади цитоплазмы. Варьирование показателей S_я связано с реактивностью нейронов, обеспечивающих поддержание относительного постоянства внутренней среды организма, необходимой для выполнения конкретных функций, требующих оптимального пластического и энергетического баланса в клетках. В изученных биотопах в нейронах VI слоя площадь профильного поля ядра превышала значения цитоплазмы, поэтому с ЯЦК имел значения больше единицы, но у особей обеих групп значения ядерно-цитоплазматического коэффициента находятся примерно на одном уровне (таблица).

Сравнительные морфоцитохимические характеристики нейрон-глиальных популяций VI слоя крыши среднего мозга озерной лягушки (*P. ridibundus*), Me [25; 75]

Показатель	1 - группа <i>P. ridibundus</i>	2 - группа <i>P. ridibundus</i>	Значения р
	n = 10, m = 45,1 ± 5,0 г	n = 7, m = 38,4 ± 4,2 г	
Параметры нейронов, мкм ²			
Площадь профильного поля тела нейрона, S _т	14,9 [12,9; 16,5]	21,8 [18,8; 25,3]	p < 0,001
Площадь профильного поля ядра, S _я	9,3 [7,6; 10,6]	13,0 [11,3; 15,2]	p < 0,001
Площадь профильного поля цитоплазмы, S _ц	5,5 [5,0; 6,0]	8,8 [7,8; 10,1]	p < 0,001
Структурный ядерно-цитоплазматический коэффициент, сЯЦК	1,6 [1,5; 1,8]	1,5 [1,3; 1,7]	p < 0,001
Показатели системы «нейрон-глия» (1 мм ²), абс. число			
Плотность нейронов	6650,1 [5818,9; 8312,6]	6580,8 [5911,2; 7758,5]	p = 0,35
Плотность глиисвоб.	3463,6 [2770,9; 4433,4]	3048,0 [2632,3; 3602,1]	p < 0,001
Плотность глиисат.	2216,7 [1847,3; 2493,8]	2147,4 [1773,4; 2493,8]	p = 0,53
Глио-нейрональный индекс свободная глия, ГНИ своб.	0,5 [0,4; 0,7]	0,5 [0,4; 0,5]	p < 0,001
Глио-нейрональный индекс сателлитная глия, ГНИ сат.	0,3 [0,3; 0,4]	0,3 [0,3; 0,4]	p = 0,89

Оценка хроматофилии нейронов, перерасчет на 100 клеток, абс. число

Нормохромные нейроны	65,0 [57,1; 72,2]	70,6 [59,4; 76,2]	p = 0,004
Гиперхромные нейроны	23,3 [16,7; 30,0]	17,0 [12,8; 22,2]	p < 0,001
Гипохромные нейроны	12,5 [8,7; 14,3]	12,0 [10,3; 14,0]	p = 0,39

Состояние фонда общих водонерастворимых белков, пкг/мкм²

Концентрация белков в цитоплазме, Сц	0,5 [0,5; 0,5]	0,5 [0,4; 0,5]	p < 0,001
Концентрация белков в ядре, Ся	0,2 [0,2; 0,3]	0,3 [0,2; 0,4]	p < 0,001
Регуляторный ЯЦК (Ся/Сц), рЯЦК	0,5 [0,3; 0,6]	0,7 [0,5; 0,8]	p < 0,001
Содержание белков в цитоплазме, Мц	2,8 [2,3; 3,2]	4,0 [3,5; 4,7]	p < 0,001
Содержание белков в ядре, Мя	2,0 [1,5; 2,5]	3,9 [2,9; 5,0]	p < 0,001
Функциональный ЯЦК (Мя/Мц), фЯЦК	0,8 [0,6; 1,0]	1,0 [0,7; 1,2]	p < 0,001

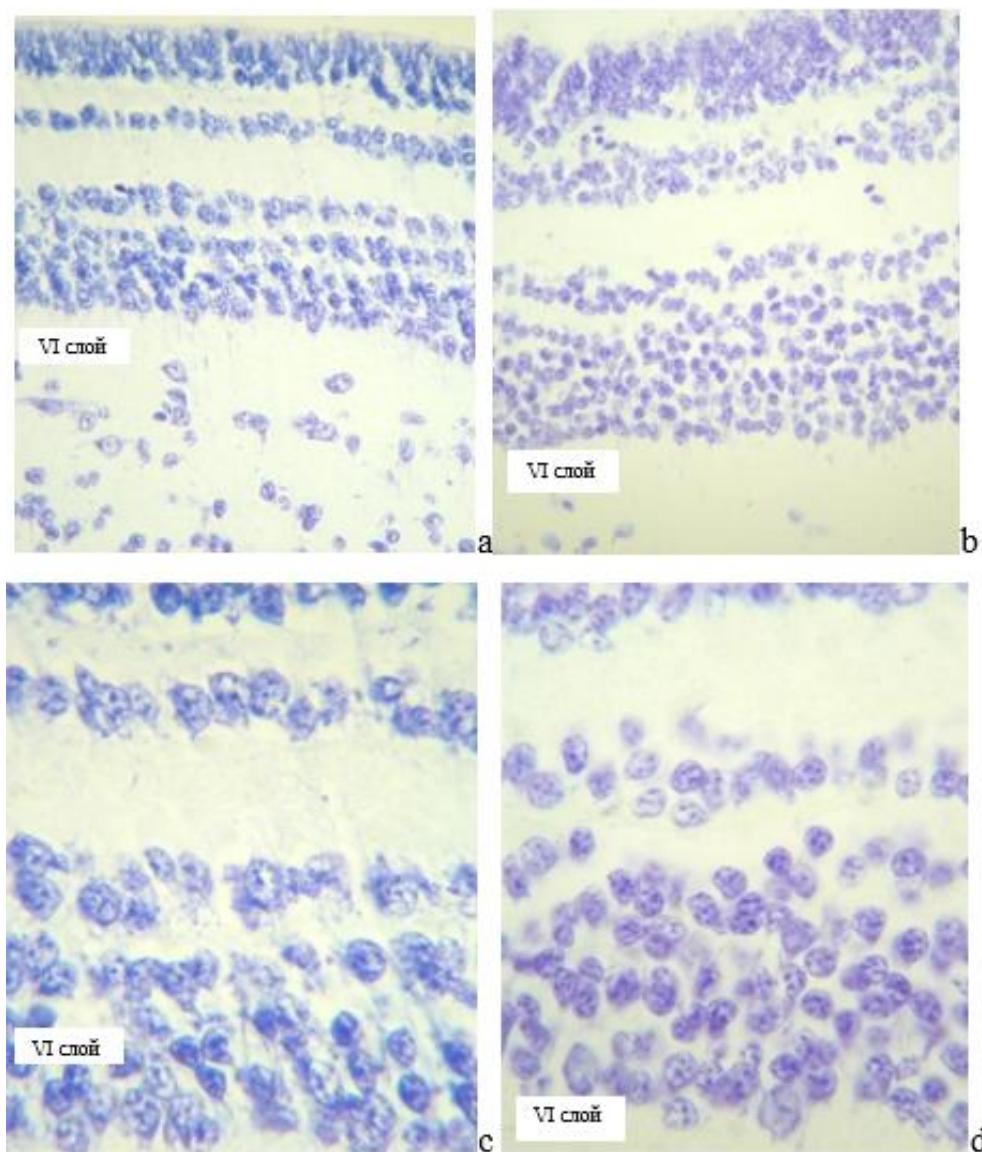
Примечание: достоверность различий по сравнению с показателями особей пруда п. Шарыпово (критерий Манна – Уитни, p < 0,05).

Варьирование показателей профильного поля тел клеток, ядер и цитоплазмы нейронов VI слоя крыши среднего мозга у *P. ridibundus*, следует связать с активным распространением данного вида земноводных по территории южной части Красноярского края, и существованием в среде с комплексом разнообразных по действию экологических факторов, требующих для выживания переадаптации интегративной системы на всех уровнях организации, включая популяционно-клеточный. Выявленную вариабельность линейных параметров клеток можно рассматривать как вариант реактивности нейронов VI слоя крыши среднего мозга *P. ridibundus*, приспособливающегося к водно- наземным условиям существования в биотопах с разным уровнем воздействия антропогенных факторов.

Плотность распределения нейронов в исследуемом слое у озерных лягушек различных биотопов имеет практически идентичные показатели. Значения плотности сателлитных глиоцитов VI слоя крыши среднего мозга у амфибий обеих групп также имеют близкие незначимые различия. Полученные данные плотности свободных глиоцитов выше плотности

сателлитных глиоцитов у *P. ridibundus* обеих групп, что указывает на оптимизацию пролиферативных процессов и миграцию глиоцитов. Увеличение числа свободных глиоцитов у *P. ridibundus* группы 1 свидетельствует о включении компенсаторных механизмов, направленных на стабилизацию функционирования нейронов VI слоя крыши среднего мозга земноводных. Показатели ГНИ своб. преобладают над ГНИ сат. и значимо выше у лягушек 1 группы (таблица).

В популяциях нейронов VI слоя крыши среднего мозга по оценке хроматофильной субстанции у озерных лягушек 1 и 2 групп доминировал нормохромный тип клеток с небольшим содержанием гиперхромных нейроцитов и минимальным количеством гипохромных активно работающих клеток (таблица, рисунок).



Крыша среднего мозга озерной лягушки, I – VI слои. Окраска по Нисслю

a, c – *P. ridibundus* пруд п. Шарыпово, b, d – *P. ridibundus* пойма р. Берешь Шарыповский район, ув. 10x40; c, d – нейроны VI слоя, ув. 10x100

У *P. ridibundus* группы 1 в нейрональной популяции VI слоя наблюдается сдвиг числа нейронов в сторону уменьшения нормохромных клеток и увеличения гиперхромных нейронов,

накапливающих тигроид, что свидетельствует о подключении компенсаторных механизмов.

Темные гиперхромные нейроны накапливают и не выводят за пределы клеток рибонуклеопротеидные комплексы, что указывает на интенсификацию адаптационных механизмов и создание запасающего фонда в клетках, как приспособление земноводных к обитанию в пруде п. Шарыпово.

В пределах популяций VI слоя крыши среднего мозга у амфибий изученного вида показатели белкового фонда (содержание и концентрация белков) в цитоплазме нейронов выше, чем в ядре. Данные внутриклеточные перестройки обеспечивают нормализацию метаболических процессов и адаптацию к воздействию факторов среды, и также рассматриваются как компенсаторные проявления на уровне клеточных популяций головного мозга.

Оценка состояния белкового фонда нейронов VI слоя крыши среднего мозга показала, что средние значения концентрации белков в цитоплазме клеток (Сц) в изученных биотопах имеют близкие значения показателей и превышают значения концентрации белков в ядре (Ся) в 2,5 и 1,7 раза у *P. ridibundus* 1 и 2 биотопов соответственно. Значения рЯЦК у особей обоих биотопов варьируют в пределах от 0,5 до 0,7, что обусловлено преобладанием концентрации плотных веществ в цитоплазме над таковыми в ядре, при более высоких линейных параметрах последних. При этом значения рЯЦК выше у особей группы 2 в 1,4 раза. Полученные данные также свидетельствуют о снижении интенсивности биосинтеза белка в ядрах клеток и пластического обмена в нейроцитах в целом.

Высокие показатели содержания белков в цитоплазме и ядрах клеток свидетельствуют о повышенной функциональной активности нейронов VI слоя у *P. ridibundus* обеих групп и преобладанием процессов биосинтеза белков над их использованием, что свидетельствует о компенсаторных процессах, направленных на восстановление запаса белков, необходимых для функционирования нейронов и передачи нервных импульсов. У *P. ridibundus* группы 1 содержание белков в цитоплазме нейронов (Мц) в 1,4 раза превышает их содержание в ядре (Мя). У лягушек группы 2 показатели Мц и Мя клеток имеют аналогично высокие и практически идентичные показатели, что свидетельствует о повышении пластического обмена и функциональной активности клеток изученного слоя. Высокие значения фЯЦК (0,8–1,0) у особей обоих биотопов также связаны с превышением содержания белков в цитоплазме нейронов по сравнению с ядром (таблица).

У амфибий группы 1 (с повышенным уровнем загрязнения) концентрация белков в цитоплазме высокая, в ядре низкая, при среднем содержании белков в цитоплазме и низком – в ядре. Данное сочетание связано с высокой функциональной нагрузкой нейронов у особей, испытывающих воздействие негативных факторов среды.

Заключение

Выполненный анализ морфоцитохимического состояния клеток VI слоя крыши среднего мозга *P. ridibundus*, обитающих на территории с повышенным уровнем загрязнения, выявил ряд односторонних компенсаторно-приспособительных изменений: наблюдается уменьшение

линейных параметров нейронов, увеличение плотности распределения нервных клеток и глиоцитов, уменьшение числа нормохромных клеток и увеличение гиперхромных нейронов, снижение содержания в цитоплазме и ядрах нейронов общих водонерастворимых белков. Выявленные адаптивные перестройки нейрон-глиальных клеточных популяций более выражены у амфибий (группа 1) из популяции зоны малоэтажной застройки (п. Шарыпово), они направлены на поддержание гомеостаза в организме амфибий, в условиях, сочетающих урбанизацию и загрязнение.

Морфоцитохимические перестройки нейрон-глиальных популяций VI слоя крыши среднего мозга указывают на наличие в среде обитания *P. ridibundus* факторов, ведущих к включению компенсаторных механизмов, находящихся на границе нормы, и нарастанием в изученной клеточной популяции деструктивных процессов. Некоторая пластичность нейроморфологических характеристик нейронов головного мозга позволяет земноводным адаптироваться к антропогенным воздействиям среды, поддерживать жизнеспособность в трансформированных биотопах и распространяться на новые территории Красноярского края.

Библиографическая ссылка

Афанаскина Л.Н., Медведева Н.Н., Вершинин В.Л. МОРФОЦИТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙРОН-ГЛИАЛЬНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ СРЕДНЕГО МОЗГА ОЗЕРНОЙ ЛЯГУШКИ (*PELOPHYLAX RIDIBUNDUS PALL.*) УРБАНИЗИРОВАННЫХ ТЕРРИТОРИЙ КРАСНОЯРСКОГО КРАЯ // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 5.;

URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=25096> (дата обращения: 06.01.2017).

Предлагаем вашему вниманию журналы, издающиеся в издательстве «Академия Естествознания»

(Высокий импакт-фактор РИНЦ, тематика журналов охватывает все научные направления)

[«Современные проблемы науки и образования»](#) список ВАК ИФ РИНЦ = 0.941

[«Фундаментальные исследования»](#) список ВАК ИФ РИНЦ = 1.061

[«Современные научноемкие технологии»](#) список ВАК ИФ РИНЦ = 0.705

[«Успехи современного естествознания»](#) список ВАК ИФ РИНЦ = 0.829



1. Баранов А.А., Городилова С.Н. Земноводные лесостепи Средней Сибири. – Красноярск: Краснояр. гос. пед. ун-т им. В. П. Астафьева, 2015. – 193 с.
2. Викторов И.В. Окраска нервной ткани забуференным раствором крезилового фиолетового прочного // Современные методы морфологических исследований мозга. – М.: Изд. Ин-та мозга, 1969. – С. 5–7.
3. Государственный доклад «О состоянии и охране окружающей среды в Красноярском крае за 2007 год» / М-во природ. ресурсов и лесн. комплекса адм. Краснояр. края, Енисейс. упр. Федерал. службы по экол., технол. и атом. надзору, Упр. Федерал. службы по надзору в сфере природопользования по Краснояр. краю. – Красноярск, 2008. – 266 с.
4. Луппа Х. Основы гистохимии. Пер. с нем. – М.: Мир, 1980. – 343 с.
5. Лютикова Т.М., Яценко А.Д. Морфометрические и цитохимические особенности мотонейронов медиальных ядер спинного мозга диких грызунов // Материалы III межрегиональной заочной науч.-практ. конф. Фундаментальные науки – практика. – Ижевск, 2011. – С. 44-47.
6. Неустроева Н.С., Вершинин В.Л. Скелетные отклонения сеголеток бесхвостых амфибий в условиях урбанизации // Вестник ОГУ. – 2011. – № 4. – С.85-90.
7. Ноздрачев А.Д., Поляков Е.Л., Анатомия лягушки: практ. пособие для биол., медиц. и с.-х. спец. вузов. – М.: Высшая школа, 1994. – 320 с.
8. Савоненко А.В. Экспериментальное изучение психического влечения к алкоголю у крыс линии Вистар и некоторые цитохимические корреляты этого состояния: дис. ... канд. биол. наук : 03.00.13. – М.: МГУ, 1994. – 155 с.
9. Чупров С.М. Атлас земноводных и пресмыкающихся Красноярского края. –Красноярск: СФУ, 2013. – 52 с.
10. Kemali M., Breitenberg V. Atlas of the frog brain. Berlin: Springer Verl., 1969. – 284 p.