

ЕГОРОВА Марина Владимировна, аспирант кафедры биологии, географии и методик обучения Мордовского государственного педагогического института имени М.Е. Евсевьева (г. Саранск). Автор 5 научных публикаций

ШУБИНА Ольга Сергеевна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой биологии, географии и методик обучения Мордовского государственного педагогического института имени М.Е. Евсевьева (г. Саранск). Автор 180 научных публикаций, в т. ч. 4 монографий и 9 учебных пособий

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ НЕЙРОНОВ КОРЫ ПОЛУШАРИЙ МОЗЖЕЧКА ГОЛОВНОГО МОЗГА БЕЛЫХ КРЫС¹

В данной статье представлены морфометрические особенности нейронов коры полушарий мозжечка головного мозга белых крыс. Исследования проводились на 10 половозрелых белых беспородных крысах-самцах массой 200-250 г. Материалом для исследования служили участки коры полушарий мозжечка головного мозга. С помощью гистологических и морфометрических методов исследования изучены особенности организации нейронов молекулярного слоя, слоя клеток грушевидных нейроцитов и зернистого слоя коры полушарий мозжечка головного мозга. Исследования проводили с помощью цифрового микроскопа «Axio Imager.M2» с программным обеспечением для анализа изображений «AxioVision SE64 Rel. 4.8.3» и «ZEN 2011». Статистическая обработка производилась с применением методик при помощи приложения «Excel» из программного пакета «Office XP» и «Statistica 7.0», включая определение средней арифметической ($\bar{x}$) и стандартной ошибки (s_x). Установлено, что толщина молекулярного слоя составляет $320,3 \pm 7,17$ мкм, толщина слоя клеток грушевидных нейроцитов – $47,1 \pm 0,60$ мкм, а толщина зернистого слоя – $620,2 \pm 29,66$ мкм. Результаты показали, что нейроны коры полушарий мозжечка головного мозга отличаются друг от друга и по морфометрическим характеристикам. Так, средняя площадь перикарионов корзинчатых нейронов составляет $199,9 \pm 2,34$ мкм², средний объем клеток равен $1115,2 \pm 0,10$ мкм³. Средняя площадь клетки звездчатых нейронов составляет $69,9 \pm 0,89$ мкм², средний объем – $493,9 \pm 0,09$ мкм³. Площадь и объем грушевидных клеток Пуркинье равен $732,9 \pm 12,95$ мкм² и $8190,1 \pm 11,89$ мкм³. Клетки-зерна овальной формы – с площадью $73,7 \pm 0,71$ мкм² и объемом $483,7 \pm 0,06$ мкм³. Таким образом, проведенные исследования позволили изучить особенности нейронов коры полушарий мозжечка головного мозга белой крысы, показать на микроскопическом уровне универсальность морфологии молекулярного слоя, слоя клеток грушевидных нейроцитов и зернистого слоя коры полушарий мозжечка головного мозга белых крыс-самцов в период постнатального онтогенеза.

Ключевые слова: молекулярный слой, слой клеток грушевидных нейроцитов, зернистый слой, корзинчатые нейроны, звездчатые нейроны, клетки Пуркинье, клетки-зерна.

¹Исследование выполнено в рамках программы «Участник молодежного научно-инновационного конкурса» («УМНИК») при финансовой поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере на 2015–2017 годы (проект «Исследование структурных преобразований мозжечка головного мозга белой крысы в постнатальном онтогенезе при воздействии ацетата свинца»).

Мозжечок на протяжении многих десятилетий остается привлекательным объектом исследований для морфологов, физиологов и других ученых, т. к. является главным центром сенсомоторного управления жизнедеятельности всего организма. В современной научной литературе подробно изучено микроскопическое строение коры мозжечка головного мозга млекопитающих [1], однако данных о морфометрии нейронов коры мозжечка млекопитающих недостаточно, единичны работы по морфометрии нейронов мозжечка лабораторных животных (белых крыс) [2–6].

Целью исследования явилось изучение морфометрических особенностей нейронов молекулярного слоя, слоя клеток грушевидных нейроцитов и зернистого слоя коры полушарий мозжечка головного мозга белых крыс-самцов в период постнатального онтогенеза.

Материалы и методы. В работе использовали половозрелых белых беспородных крыс-самцов массой 200–250 г. Эксперимент произведен на 10 животных, содержащихся на общем режиме вивария. Животные забивались путем декапитации под наркозом эфира с хлороформом с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, и в соответствии с требованиями правил проведения работ с использованием экспериментальных животных.

Материалом для исследования служили участки коры полушарий мозжечка головного мозга белых крыс. Для получения материала с полости черепа ножницами срезали кожно-мышечные покровы, обнажая костную ткань. Из черепной коробки мозжечок доставали путем отделения щипцами височной, теменной, лобной, затылочной, носовой, слезной, клиновидной и других костей рассечением твердой мозговой оболочки, серповидной складки и перепончатого мозжечкового намета, удаления паутинной и мягкой мозговых оболочек анатомическими ножницами [7].

Для гистологического исследования мозжечок фиксировали в 10-процентном растворе

нейтрального формалина, затем его подвергали промывке в проточной воде, обезвоживанию путем помещения исследуемого материала в спирты возрастающей концентрации и заливали в парафин по общепринятой методике. Изготавливали серийные фронтальные срезы толщиной 5–7 мкм. Срезы помещали на предметные стекла и окрашивали гематоксилином и эозином.

Изучали 20 срезов коры полушарий мозжечка головного мозга белых крыс. На каждом срезе была проведена citoархитектоническая дифференцировка коры полушарий мозжечка в соответствии с его характеристикой. С помощью цифрового микроскопа «Axio Imager.M2» («ZEISS», Япония) с программным обеспечением для анализа изображений «AxioVision SE64 Rel. 4.8.3» и «ZEN 2011» проводилось измерение толщины слоев полушарий коры мозжечка ($n = 60$, об. $40 \times \text{ок. } 10$). В этих же слоях, в трех полях зрения, измерялись следующие морфометрические параметры клеток: площадь клетки, минимальный и максимальный диаметры клетки, площадь ядра, минимальный и максимальный диаметры ядра с видимым ядрышком ($n = 180$, об. $100 \times \text{ок. } 10$). Был вычислен индекс удлиненности ядер клеток (E) – частное от деления максимального диаметра ядра на минимальный диаметр ядра. Фотосъемка препаратов производилась при помощи цифровой камеры «AxioCam MRc5» («ZEISS», Япония) [8]. Статистическая обработка полученного материала проводилась с применением общепринятых методик при помощи приложения «Excel» из программного пакета «Office XP» и «Statistica 7.0», включая определение средней арифметической ($\bar{x}$) и стандартной ошибки (s_x) [9].

Результаты и обсуждение. При гистологическом исследовании коры полушарий мозжечка головного мозга обнаружено 3 слоя нервных клеток, располагающихся в следующем порядке: 1. Наружный – молекулярный слой; 2. Средний – слой клеток грушевидных нейроцитов; 3. Внутренний – зернистый слой (см. *рис. 1*).

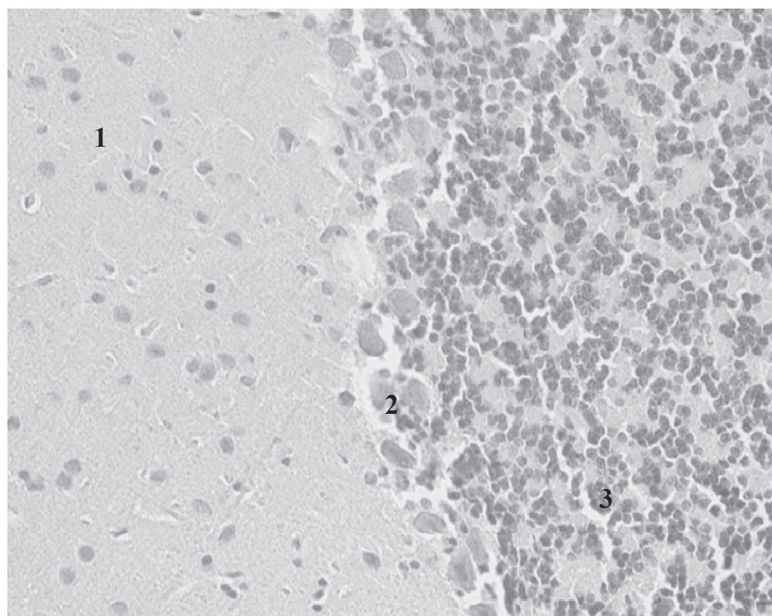


Рис. 1. Кора полушарий мозжечка головного мозга белых крыс: 1 – молекулярный слой; 2 – слой клеток грушевидных нейроцитов; 3 – зернистый слой. Окраска – гематоксилин-эозин. Об. 40 × ок. 10

Молекулярный слой представлен корзинчатыми и звездчатыми нейронами. Основной объем этого слоя составляют параллельно идущие волокна и разветвления дендритов, аксоны нейронов нижележащих слоев. Толщина слоя составляет $320,3 \pm 7,17$ мкм. Перикарионы корзинчатых нейронов округлой или полигональной формы, минимальный диаметр клетки составляет $12,1 \pm 0,10$ мкм, а максимальный – $14,5 \pm 0,10$ мкм. Средняя площадь клеток составляет $199,9 \pm 2,34$ мкм², средний объем клеток равен $1115,2 \pm 0,10$ мкм³. Нейроны содержат округлые ядра с минимальным диаметром $9,1 \pm 0,04$ мкм и максимальным – $10,8 \pm 0,09$ мкм. Коэффициент удлиненности ядра (E) равен 1,19. Площадь составляет $64,3 \pm 0,97$ мкм² – с расположенным по центру хорошо заметным ядрышком объемом $469,3 \pm 0,15$ мкм³. Цитоплазма клетки имеет мелкозернистую структуру за счет наличия в ее составе белка. Звездчатые нейроны, в большинстве своем расположенные у поверхности коры, по размеру меньше корзинчатых нейронов. Они овальной формы

с минимальным диаметром $8,5 \pm 0,08$ мкм и максимальным – $10,8 \pm 0,11$ мкм. Средняя площадь и средний объем клетки составляют $69,9 \pm 0,89$ мкм² и $493,9 \pm 0,09$ мкм³ соответственно. Нейроны содержат округлые ядра, плохо просматривающиеся при окраске гематоксилин-эозином. Минимальный диаметр ядра составляет $5,9 \pm 0,07$ мкм, максимальный – $8,3 \pm 0,08$ мкм. Коэффициент удлиненности ядра (E) равен 1,41. Средняя площадь и средний объем ядра – $50,6 \pm 0,41$ мкм² и $152,7 \pm 0,30$ мкм³ (см. рис. 2, таблицу).

Слой клеток грушевидных нейроцитов образован клетками Пуркинье, расположенными в один ряд над молекулярным слоем. Это крупные клетки грушевидной формы с минимальным диаметром $21,9 \pm 0,39$ мкм и максимальным диаметром $32,7 \pm 0,32$ мкм, площадью $732,9 \pm 12,95$ мкм² и объемом $8190,1 \pm 11,89$ мкм³. Нейроны содержат ядро с минимальным диаметром $14,6 \pm 0,43$ мкм и максимальным $22,4 \pm 0,35$ мкм. Коэффициент удлиненности ядра (E) равен 1,53. Площадь – $337,9 \pm 7,63$ мкм², объем – $2493,2 \pm 8,89$ мкм³.

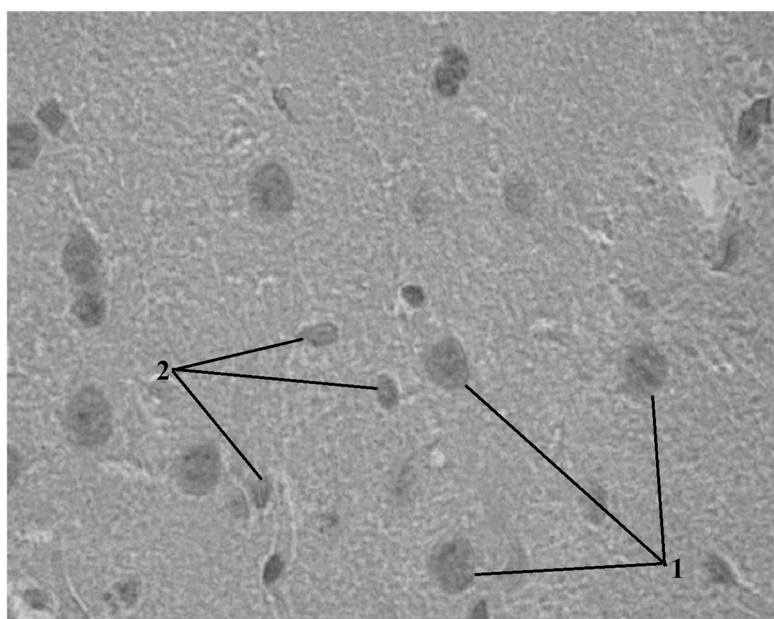


Рис. 2. Нейроны молекулярного слоя коры полушарий мозжечка головного мозга белых крыс: 1 – корзинчатые клетки; 2 – звездчатые клетки. Окраска – гематоксилин-эозин. Об. 100 × ок. 10

МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙРОНОВ КОРЫ ПОЛУШАРИЙ МОЗЖЕЧКА ГОЛОВНОГО МОЗГА БЕЛЫХ КРЫС ($M \pm m$)

Слой коры мозжечка	Диаметр ядра, мкм, $x \pm s_x$		Площадь ядра, мкм^2 , $x \pm s_x$	Объем ядра, мкм^3 , $x \pm s_x$	Диаметр клетки, мкм, $x \pm s_x$		Площадь клетки, мкм^2 , $x \pm s_x$	Объем клетки, мкм^3 , $x \pm s_x$
	минимальный	максимальный			минимальный	максимальный		
Молекулярный слой (корзинчатые клетки)	9,1 $\pm$ 0,04	10,8 $\pm$ 0,09	64,3 $\pm$ 0,97	469,3 $\pm$ 0,15	12,1 $\pm$ 0,10	14,5 $\pm$ 0,10	199,9 $\pm$ 2,34	1115,2 $\pm$ 0,10
Молекулярный слой (звездчатые клетки)	5,9 $\pm$ 0,07	8,3 $\pm$ 0,08	50,6 $\pm$ 0,41	152,7 $\pm$ 0,30	8,5 $\pm$ 0,08	10,8 $\pm$ 0,11	69,9 $\pm$ 0,89	493,9 $\pm$ 0,09
Слой клеток грушевидных нейроцитов	14,6 $\pm$ 0,43	22,4 $\pm$ 0,35	337,9 $\pm$ 7,63	2493,2 $\pm$ 8,89	21,9 $\pm$ 0,39	32,7 $\pm$ 0,32	732,9 $\pm$ 12,95	8190,1 $\pm$ 11,89
Зернистый слой (клетки-зерна)	7,6 $\pm$ 0,08	8,2 $\pm$ 0,08	43,9 $\pm$ 0,60	247,4 $\pm$ 0,70	9,2 $\pm$ 0,07	10,9 $\pm$ 0,05	73,7 $\pm$ 0,71	483,7 $\pm$ 0,06

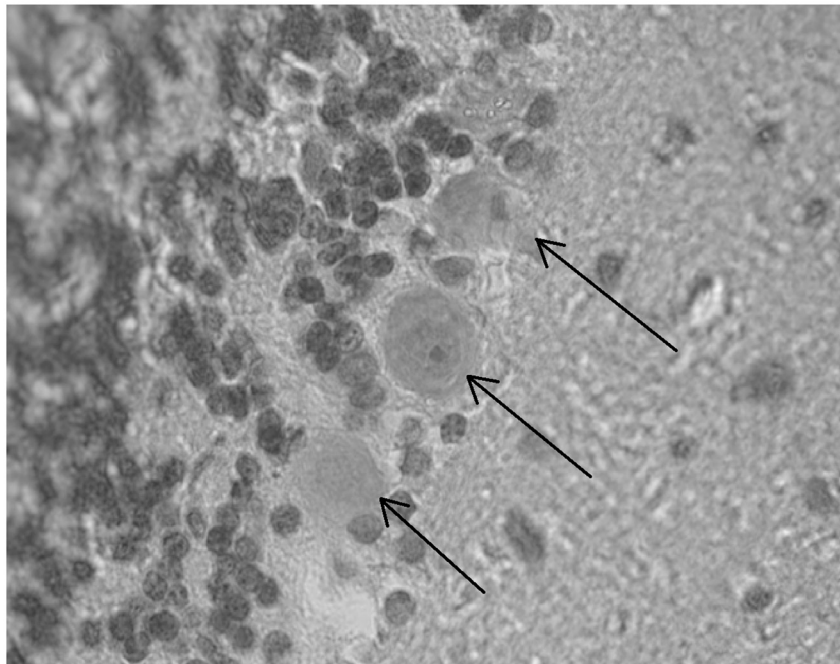


Рис. 3. Клетки Пуркинье слоя клеток грушевидных нейроцитов коры полушарий мозжечка головного мозга белых крыс. Окраска – гематоксилин-эозин. Об. 100 × ок. 10

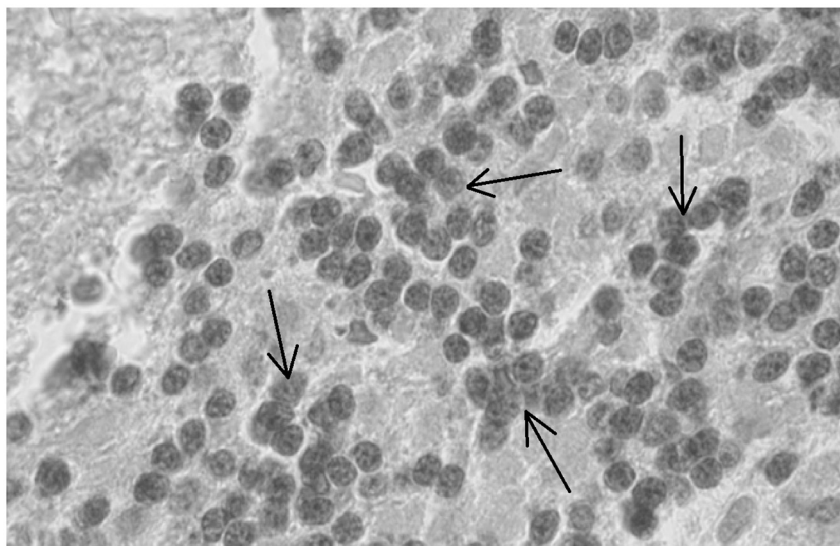


Рис. 4. Клетки-зерна зернистого слоя коры полушарий мозжечка головного мозга белых крыс. Окраска – гематоксилин-эозин. Об. 100 × ок. 10

В центре локализовано хорошо видимое ядрышко. Цитоплазма клетки имеет круп-нозернистую структуру. Нейроны отдалены друг от друга на одинаковое расстояние, ориентированы вертикально по отношению к поверхности коры мозжечка. Толщина слоя составляет $47,1 \pm 0,60$ мкм (см. рис. 3, таблицу).

В зернистом слое рассмотрены мелкие нейроны – клетки-зерна овальной формы, с минимальным и максимальным диаметром $9,2 \pm 0,07$ мкм и $10,9 \pm 0,05$ мкм соответственно, площадью $73,7 \pm 0,71$ мкм² и объемом $483,7 \pm 0,06$ мкм³. Нейроны содержат крупные ядра минимальным диаметром $7,6 \pm 0,08$ мкм и максимальным – $8,2 \pm 0,08$ мкм. Коэффициент удлиненности ядра (Е) составляет 1,09. Площадь ядра, окруженная узким ободком цитоплазмы, занимает большую часть клетки и составляет $43,9 \pm 0,60$ мкм², объем равен $247,4 \pm 0,70$ мкм³ (рис. 4, таблица). Толщина слоя составляет $620,2 \pm 29,66$ мкм.

Выводы:

1. Толщина молекулярного слоя составляет $320,3 \pm 7,17$ мкм. Слой представлен корзинчатыми и звездчатыми нейронами. Перикарионы корзинчатых нейронов округлой или полигональной формы – с минимальным диаметром $12,1 \pm 0,10$ мкм и максимальным диаметром $14,5 \pm 0,10$ мкм. Средняя площадь клеток составляет $199,9 \pm 2,34$ мкм², средний объем клеток равен $1115,2 \pm 0,10$ мкм³. Нейроны содержат округлые ядра с минимальным диаметром $9,1 \pm 0,04$ мкм и максимальным диаметром $10,8 \pm 0,09$ мкм. Коэффициент удлиненности ядра (Е) равен 1,19. Площадь ядра составляет $64,3 \pm 0,97$ мкм², с расположенным по центру хорошо заметным ядрышком объемом $469,3 \pm 0,15$ мкм³.

Звездчатые нейроны овальной формы с минимальным диаметром $8,5 \pm 0,08$ мкм и максимальным $10,8 \pm 0,11$ мкм. Средняя площадь и средний объем клетки составляют $69,9 \pm 0,89$ мкм² и, соответственно, $493,9 \pm 0,09$ мкм³. Нейроны содержат округлые ядра с минимальным диаметром $5,9 \pm 0,07$ мкм и максимальным диаметром $8,3 \pm 0,08$ мкм. Коэффициент удлиненности ядра (Е) составляет 1,41. Средняя площадь и средний объем ядра составляют $50,6 \pm 0,41$ мкм² и $152,3 \pm 0,3$ мкм³.

2. Толщина слоя клеток грушевидных нейроцитов составляет $47,1 \pm 0,60$ мкм, слой образован клетками Пуркинье, расположенными в один ряд над молекулярным слоем. Это крупные клетки грушевидной формы с минимальным диаметром $21,9 \pm 0,39$ мкм и максимальным $32,7 \pm 0,32$ мкм, площадью $732,9 \pm 12,95$ мкм² и объемом $8190,1 \pm 11,89$ мкм³. Нейроны содержат ядро с минимальным диаметром $14,6 \pm 0,43$ мкм и максимальным $22,4 \pm 0,35$ мкм. Коэффициент удлиненности ядра (Е) равен 1,53. Площадью $337,9 \pm 7,63$ мкм² и объемом $2493,2 \pm 8,89$ мкм³. В центре ядра локализовано хорошо видимое ядрышко.

3. Толщина зернистого слоя составляет $620,2 \pm 29,66$ мкм. При рассмотрении мелких нейронов – клеток-зерен – установлено, что они овальной формы с минимальным и максимальным диаметром $9,2 \pm 0,07$ мкм и $10,9 \pm 0,05$ мкм соответственно, площадью $73,7 \pm 0,71$ мкм² и объемом $483,7 \pm 0,06$ мкм³. Нейроны содержат крупные ядра минимальным диаметром $7,6 \pm 0,08$ мкм и максимальным $8,2 \pm 0,08$ мкм. Коэффициент удлиненности ядра (Е) равен 1,09, площадь ядра составляет $43,9 \pm 0,60$ мкм², объем ядра равен $247,4 \pm 0,70$ мкм³.

Список литературы

1. Калиниченко С.Г. Самоорганизация нейронных систем и модульная архитектура головного мозга // Тихоокеан. мед. журн. 2010. № 4. С. 8–11.
2. Ипастова И.Д. Макро- и микроморфология головного мозга и мозжечка белой крысы // Вестн. Башк. гос. аграр. ун-та. 2014. № 4(32). С. 30–35.

3. Ипастова И.Д., Перфильева Н.П. О влиянии димефосфона на морфологию мозжечка белой крысы // Вестн. Брян. гос. ун-та. 2014. № 4. С. 83–88.
4. Рыжавский Б.Я., Васильева Е.В., Соколова Т.В. Морфологические особенности мозжечка потомства крыс-самок, подвергнутых перед беременностью длительному эмоциональному стрессу // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2003. Т. 136, № 2. С. 235–238.
5. Орлянская Т.Я., Устинова Т.И., Чижова С.В., Говорина Ю.Б. Оценка перестройки структур ЦНС молодых животных после воздействия слабыми алкогольными напитками // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2011. № 6. С. 695–698.
6. Калюзка В.Ю., Маркевич В.Ю. Сравнительно-анатомическое исследование морфометрических параметров головного мозга и мозжечка у беспородных крыс. Хабаровск, 2013.
7. Ноздрачев А.Д., Поляков Е.Л. Анатомия крысы. СПб., 2001. 464 с.
8. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия: рук. М., 1990. 384 с.
9. Углов Б.А., Котельников Г.П., Углова М.В. Статистический анализ и математическое моделирование в медико-биологических исследованиях. Самара, 1994. 67 с.

References

1. Kalinichenko S.G. Samoorganizatsiya neyronnykh sistem i modul'naya arkhitektonika golovnogogo mozga [Self-Organisation of Neuronal Systems and Modular Architectonics of the Brain]. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal*, 2010, no. 4, pp. 8–11.
2. Ipastova I.D. Makro- i mikromorfologiya golovnogogo mozga i mozzhechka beloy krysy [Macro- and Micromorphology of White Rat Brain and Cerebellum]. *Vestnik Bashkirskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 2014, no. 4(32), pp. 30–35.
3. Ipastova I.D., Perfil'eva N.P. O vliyaniy dimefosfona na morfologiyu mozzhechka beloy krysy [The Effect of Dimephosphone on the Morphology of White Rat Cerebellum]. *Vestnik Bryanskogo gosudarstvennogo universiteta*, 2014, no. 4, pp. 83–88.
4. Ryzhavskiy B.Ya., Vasil'eva E.V., Sokolova T.V. Morfologicheskie osobennosti mozzhechka potomstva kryssamok, podvergnutykh pered beremennost'yu dlitel'nomu emotsional'nomu stressu [Morphological Features of the Cerebellum of Offsprings of Female Rats Exposed to Prolonged Emotional Stress Before Pregnancy]. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*, 2003, vol. 136, no. 2, pp. 235–238.
5. Orlyanskaya T.Ya., Ustinova T.I., Chizhova S.V., Govorina Yu.B. Effect of Low-Alcohol Drinks on CNS Structures in Young Animals. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 2011, vol. 151, no. 6, pp. 747–750.
6. Kalyuzhka V.Yu., Markevich V.Yu. *Sravnitel'no-anatomicheskoe issledovanie morfometricheskikh parametrov golovnogogo mozga i mozzhechka u besporodnykh kryss* [Comparative Anatomical Study of Morphometric Parameters of the Brain and Cerebellum in Outbred Rats]. Khabarovsk, 2013.
7. Nozdrachev A.D., Polyakov E.L. *Anatomiya krysy* [Rat Anatomy]. St. Petersburg, 2001. 464 p.
8. Avtandilov G.G. *Meditsinskaya morfometriya* [Medical Morphometry]. Moscow, 1990. 384 p.
9. Uglov B.A., Kotel'nikov G.P., Uglova M.V. *Statisticheskiy analiz i matematicheskoe modelirovanie v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh* [Statistical Analysis and Mathematical Modelling in Medical and Biological Research]. Samara, 1994. 67 p.

doi: 10.17238/issn2308-3174.2016.2.82

Marina V. Egorova

Mordovian State Pedagogical Institute named after M.E. Evseviev
11a Studencheskaya St., Saransk, 430007, Russian Federation;
e-mail: egorowa.marina@mail.ru

Olga S. Shubina

Mordovian State Pedagogical Institute named after M.E. Evseviev
11a Studencheskaya St., Saransk, 430007, Russian Federation;
e-mail: o.shubina@mail.ru

MORPHOMETRIC FEATURES OF NEURONS IN THE WHITE RAT CEREBELLAR CORTEX

The research was conducted on 10 outbred white adult male rats weighing 200–250 g, areas of their cerebellar cortex being the material. We utilized histological and morphometric research methods to study the organization of neurons in the molecular, Purkinje, and granular layers of the cerebellar cortex. The investigations were carried out using Axio Imager.M2 digital microscope with AxioVision SE64 Rel. 4.8.3 and ZEN 2011 image analysing software. Statistical processing was performed using Microsoft Excel (Office XP) and Statistica 7.0, including the determination of the arithmetic mean ($\bar{x}$) and standard error (s_x). We found that the molecular layer is $320.3 \pm 7.17 \mu\text{m}$, Purkinje layer $47.1 \pm 0.60 \mu\text{m}$, and the granular layer $620.2 \pm 29.66 \mu\text{m}$ thick. The results showed that neurons in the cerebellar cortex differ from each other in terms of morphometric characteristics. Thus, for example, the mean area of basket neuron somas is $199.9 \pm 2.34 \mu\text{m}^2$, and the mean cell volume is $1115.2 \pm 0.10 \mu\text{m}^3$. The mean cell area of stellate neurons is $69.9 \pm 0.89 \mu\text{m}^2$, and the mean volume is $493.9 \pm 0.09 \mu\text{m}^3$. The area and volume of Purkinje cells is $732.9 \pm 12.95 \mu\text{m}^2$ and $8190.1 \pm 11.89 \mu\text{m}^3$, respectively. Granule cells have an area of $73.7 \pm 0.71 \mu\text{m}^2$ and a volume of $483.7 \pm 0.06 \mu\text{m}^3$. Thus, the research has allowed us to study the characteristics of neurons in the white rat cerebellar cortex and show at the microscopic level the morphological universality of the molecular, Purkinje, and granular layers of the cerebellar cortex in white male rats during postnatal ontogenesis.

Keywords: *molecular layer, Purkinje layer, granular layer, basket neurons, stellate neurons, Purkinje cells, granule cells.*

Контактная информация:

Егорова Марина Владимировна
адрес: 430007, г. Саранск, ул. Студенческая, д. 11а;
e-mail: egorowa.marina@mail.ru

Шубина Ольга Сергеевна
адрес: 430007, г. Саранск, ул. Студенческая, д. 11а;
e-mail: o.shubina@mail.ru