

Doi: 10.31116/tsitol.2018.05.09

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СЕНСОМОТОРНОЙ КОРЕ ПРИ ОТСТАВАНИИ РАЗВИТИЯ ДВИГАТЕЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ КРЫС, ПЕРЕНЕСШИХ ПРЕНАТАЛЬНУЮ ГИПОКСИЮ

© Н. Л. Туманова,¹ Д. С. Васильев,^{1,2,*} Н. М. Дубровская,^{1,2} И. А. Журавин^{1,2}

¹ Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, 194223, и

² С.-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, 194100;

* электронный адрес: dvasilyev@bk.ru

Проведено сравнительное изучение особенностей морфогенеза и синаптогенеза сенсомоторной коры и изменений двигательного поведения в раннем онтогенезе (P5 и P14) крыс с нормальным развитием и перенесших пренатальную гипоксию на E14 (7 % O₂, 3 ч). У крыс после пренатальной гипоксии обнаружена задержка в созревании элементов нервной ткани сенсомоторной коры в первые 2 нед постнатального онтогенеза. В нейропиле сенсомоторной коры были выявлены следующие признаки незрелости нервной ткани — большой объем межклеточного пространства, многочисленные конусы роста, недостаточно дифференцированные нейроны, отсутствие зрелых синапсов, единичные шипики без шипикового аппарата и контакты между отростками в виде десмосом. У 14-суточных крысят, перенесших пренатальную гипоксию, помимо отставания формирования элементов нервной ткани обнаружены признаки деструкции нервных клеток — гиперхроматоз и хроматолиз с лизисом органоидов и разрушением наружной мембраны. Показано, что пренатальная гипоксия, являясь тяжелым стрессовым фактором, может вызывать отставание в развитии двигательной активности у крысят в раннем онтогенезе. В частности, такое отставание проявлялось в формировании реакции постановки конечности на опору — плейсинга — и в снижении общей спонтанной двигательной активности. Сопоставление полученных результатов с данными об аналогичных изменениях в дорсолатеральном стриатуме, описанными ранее, позволяет сделать вывод о том, что действие неблагоприятного фактора в период эмбриогенеза вызывает морфофункциональное отставание формирования элементов кортикостриарной системы, что приводит к нарушению развития двигательного поведения и координированных реакций животных.

Ключевые слова: онтогенез, нейрогенез, синаптогенез, сенсомоторная кора, пренатальная гипоксия, двигательное поведение, крыса, электронная микроскопия.

Снижение содержания кислорода может являться тяжелым стрессорным фактором и вызывать гипоксическое состояние у матери, сопровождающееся гипоксией плода, что в свою очередь может приводить к нарушению нормального процесса созревания организма (Nyakas et al., 1996; Соколова и др., 2016). В первые 2 нед после рождения у крыс, перенесших пренатальную гипоксию на E14, наблюдали нарушения физиологического развития (набор массы, время открытия глаз и отделения ушной раковины) (Дубровская, Журавин, 2008). Это может быть связано с тем, что кортикальные отделы мозга еще не полностью сформировались и не могут полноценно принимать участие в анализе сенсорной информации, организации и координации двигательной активности животного. В период E11—E15 у крыс происходит формирование клеточных популяций базальных ганглиев (Reid, Walsh, 2002) и сенсомоторной коры (Rakic, 1995), которые в ходе дальнейшего развития определяют функционирование как пирамидной, так и экстрапирамидной систем организации движения животного. При действии ги-

поксии на самок на 14-е сут беременности у их потомства наблюдали нарушение пролиферации и миграции нейробластов, поступающих в кортикальную пластинку и образующих проекционные нейроны (Vasilev et al., 2016). Тем не менее причины последующего отставания формирования отделов конечного мозга в раннем постнатальном онтогенезе таких животных нельзя считать достаточно изученными. Основным методом настоящего исследования была выбрана электронная микроскопия, позволяющая в полном объеме оценить протекание нейрогенеза и самое главное синаптогенеза. Исследование синаптогенеза крайне важно для изучения формирования межклеточных связей, обеспечивающих пластичность нервной системы. Подобных ультраструктурных исследований нарушения формирования коры головного мозга у потомства самок, перенесших действие неблагоприятного фактора в период беременности, ранее не проводилось, что определяет новизну настоящей работы.

Целью данного исследования являлось сравнительное изучение особенностей дифференцировки нейронов,

формирования их отростков и дендритных шипиков, образования и созревания синаптических терминалей в ткани сенсомоторной коры, а также развития некоторых двигательных реакций в раннем онтогенезе (P5 и P14) у крысят из потомства самок, перенесших гипоксию на 14-е сут беременности.

Материал и методика

Животные. Исследование проводили на самцах крыс линии Вистар контрольной и экспериментальной (пренатальная гипоксия) групп в возрасте 5 (P5) и 14 (P14) сут после рождения. Все эксперименты проводили в соответствии с протоколом обращения с лабораторными животными Института эволюционной физиологии и биохимии РАН, основанном на директиве Европейского сообщества по гуманному обращению с экспериментальными животными (European Communities Council Directive #86 / 609 for the Care of Laboratory Animals). На 14-е сут беременности самок экспериментальной группы подвергали действию нормобарической гипоксии в специальной камере емкостью 100 л, содержащей системы терморегуляции, вентиляции, газового анализа и адсорбции выдыхаемого CO₂. В ходе эксперимента содержание кислорода в камере снижали с 20.7 до 7.0 % и поддерживали на этом уровне в течение 3 ч. Концентрация CO₂ в камере не превышала 0.2 %, а температура поддерживалась на уровне 22 °С. В камеру одновременно сажали не более 10 крыс. Исследование проводили на потомстве этих самок. На 20-е сут беременности (за 1 сут до родов) самок рассаживали по отдельным клеткам, в каждом выводке оставляли по 8 крысят. Контролем служили животные из потомства самок, не подвергавшихся действию гипоксии.

Световая микроскопия. Светооптическое исследование проводили на контрольных животных (n = 10 в каждой возрастной группе) и крысах, подвергшихся пренатальной гипоксии на E14 (n = 9). Ткань мозга фиксировали методом транскардиальной перфузии 10%-ным нейтральным формалином на фосфатном буфере (PBS, 4 °С, pH 7.4), замороженные фронтальные срезы толщиной 20 мкм изготавливали на криостате Leica CM 1510S (Leica Microsystems, Германия). Для исследования отбирали срезы сенсомоторной коры мозга (Bregma = 3.30 mm по Paxinos and Watson 2006), окрашенные по Нисслю. С помощью микроскопа ImagerA (Zeiss, Германия) оценивали состояние нейронов.

Электронная микроскопия. На P5 (контроль n = 5, гипоксия n = 4) и P14 (n = 4 в каждой группе) проводили электронно-микроскопическое исследование. Ткань фиксировали методом транскардиальной перфузии смесью 1%-ного глутаральдегида и 1%-ного формальдегида на 0.1 М PBS, pH 7.4, дофиксировали 1%-ным OsO₄, контрастировали уранил-ацетатом, обезвоживали и заливали в Арадит по стандартному протоколу (Журавин и др., 2005). На ультратоме LKB-III (LKB, Швеция) изготавливали ультратонкие срезы толщиной 500 А, которые затем исследовали на электронном микроскопе FEI Tecnai V2 (FEI, США).

Исследование развития двигательной активности в раннем постнатальном онтогенезе проводили на крысах контрольной (n = 56) и гипоксической (n = 65) групп.

Реакция постановки передней конечности на опору или плейсинг (chin tactile placing;

см.: Allam, Abo-Eleneen, 2012). Крысенка брали за кожу на холке и дотрагивались его подбородком до горизонтально натянутой тонкой проволоки. Реакцию постановки передней конечности на опору — горизонтальную проволоку — оценивали в течение 1 мин по 4 балльной системе: 0 — нет реакции, 1 — слабый хаотический подъем конечностей без контакта с проволокой, 2 — подъем конечности до опоры с заминкой, 3 — точный и быстрый подъем обеих конечностей с постановкой на опору.

Спонтанная двигательная активность. В течение 1 мин проводили регистрацию суммарной продолжительности разнообразных движений — спонтанных хаотических движений конечностей, головы, туловища и периодических координированных ритмических сгибаний и разгибаний (за исключением дыхательных движений).

Статистическая обработка данных. Для оценки достоверности выявляемых между группами различий использовали непараметрический критерий Манна—Уитни.

Результаты

Динамика развития нервной ткани сенсомоторной коры мозга в онтогенезе крыс. Электронно-микроскопическое исследование показало, что на P5 у контрольных крыс нервная ткань сенсомоторной коры незрелая, с большим объемом межклеточного пространства, где выявляются тонкие нейрональные отростки с большим количеством дендритных трубочек (рис. 1, а, б). В нейропиле коры обнаружено большое количество конусов роста с крупными светлыми округлыми ростовыми везикулами и вакуолями различного размера и формы. В некоторых конусах роста заметны мелкие пузырьки, похожие на синаптические, которые скапливаются на одном из их полюсов. В таких местах заметны уплотнения синаптической мембраны. Клетки образуют однородную популяцию незрелых малодифференцированных нейронов с маленьким ободком бедной органеллами цитоплазмы вокруг овального ядра (рис. 1, а). В цитоплазме таких нейронов наблюдается большое количество свободных рибосом. Преобладают клеточные контакты в виде десмосом (рис. 1, в). Незрелые синаптические контакты и шипики встречаются редко.

На P5 после пренатальной гипоксии выявлено заметное отставание в скорости созревания нервной ткани сенсомоторной коры мозга. Конусы роста встречались редко, причем только вблизи нейронов. Молодые малодифференцированные нейроны располагались группами (рис. 1, з). Овальные ядра молодых нейронов содержали диспергированный хроматин. В нейропиле преобладали контакты в виде десмосом (рис. 1, е). На рис. 1, д продемонстрированы многочисленные синаптические окончания на поверхности крупного нейрона. Каких-либо деструктивных изменений нейронов на этой стадии развития крыс после пренатальной гипоксии не обнаружено.

К 2 нед постнатального онтогенеза у контрольных крыс заметны признаки созревания и дифференцировки всех компонентов нервной ткани сенсомоторной коры. Однако в I молекулярном слое, где все еще преобладает большой объем межклеточного пространства, заметны тонкие нейрональные отростки, идущие в разных направлениях. Определить их принадлежность к аксонам

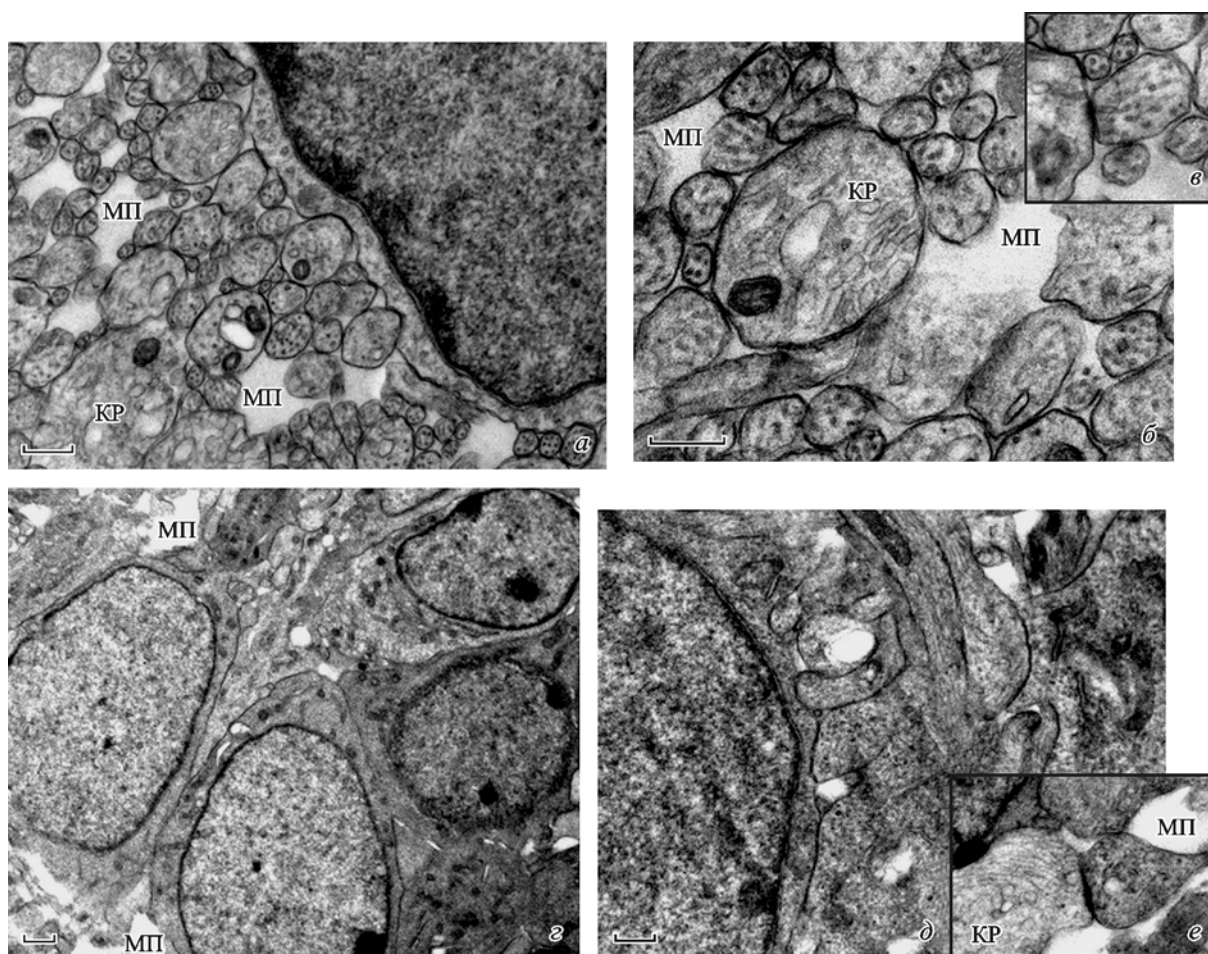


Рис. 1. Ультраструктурная организация сенсомоторной коры на P5 контрольных крыс (*a—в*) и крыс, перенесших пренатальную гипоксию (*з—е*).

a — вокруг крупного нейрона с малым количеством органоидов расположены поперечно срезанные отростки разного диаметра; *б* — нейропилль с конусами роста (КР) и большим объемом межклеточного пространства (МП); *в* — контакт в виде десмосом; *з* — групповое расположение мелких нейронов; *д* — многочисленные окончания аксонов вблизи поверхности нейрона; *е* — незрелый синаптический контакт. Масштабные отрезки — 500 нм.

или дендритам на данной стадии развития невозможно (рис. 2, *a*).

Нейропилль II—III пирамидных слоев сенсомоторной коры 2-недельных контрольных крыс — незрелый, неплотный (рис. 2, *б*). Некоторые конусы роста с крупными округлыми ростовыми везикулами и вакуолями расположены рядом с клеткой (рис. 2, *в*). Нейроны на этой стадии представляют собой дифференцированные клетки с крупным овальным ядром и иногда с двумя ядрышками. В окружающей ядро цитоплазме таких клеток содержится полный набор клеточных органоидов — рибосомы, шероховатый эндоплазматический ретикулум, комплекс Гольджи и митохондрии. Набор этих органоидов важен для белкового синтеза и дыхания клетки. В нейропилле пирамидных слоев четко выявляются отростки глиальных клеток и многочисленные дендриты с ответвлениями и дендритическими трубочками. На ответвлениях дендритов появляется небольшое количество шипиков, но без шипикового аппарата (рис. 2, *з*). В этот период развития выявляется незначительное количество истинных синапсов со скоплением синаптических пузырьчков в пресинаптическом отделе и с выраженным утолщением синаптических мембран (рис. 2, *з*). В некоторых синаптических окончаниях выявляются одиночные типичные грануляр-

ные пузырьчки и небольшое количество уплощенных плеоморфных пузырьчков. Тонкие миелинизированные волокна, особенно их крупные пучки, в этот период развития в коре не встречаются. В нейропилле сенсомоторной коры преобладают асимметричные аксодендритические контакты и симметричные аксосоматические контакты.

У 2-недельных крыс, перенесших пренатальную гипоксию, заметно значительное отставание нейрогенеза и синаптогенеза по сравнению с контрольными сверстниками. В пирамидных слоях у таких крыс по сравнению с контрольными животными наблюдали менее плотный нейропилль: большой объем межклеточного пространства с многочисленными конусами роста (рис. 2, *д, е*). Нейроны менее дифференцированные, много свободных рибосом в узком ободке цитоплазмы вокруг ядра. Шипиков меньше, синапсы менее зрелые, отсутствуют миелинизированные волокна. На рис. 2, *д* представлены крупный нейрон и продольно срезанный дендрит, которые окружены межклеточным пространством с редкими аксонными окончаниями.

Таким образом, в первые 2 нед постнатального онтогенеза в сенсомоторной коре контрольных животных происходят снижение объема межклеточного пространства и числа конусов роста, интенсивная дифференциров-

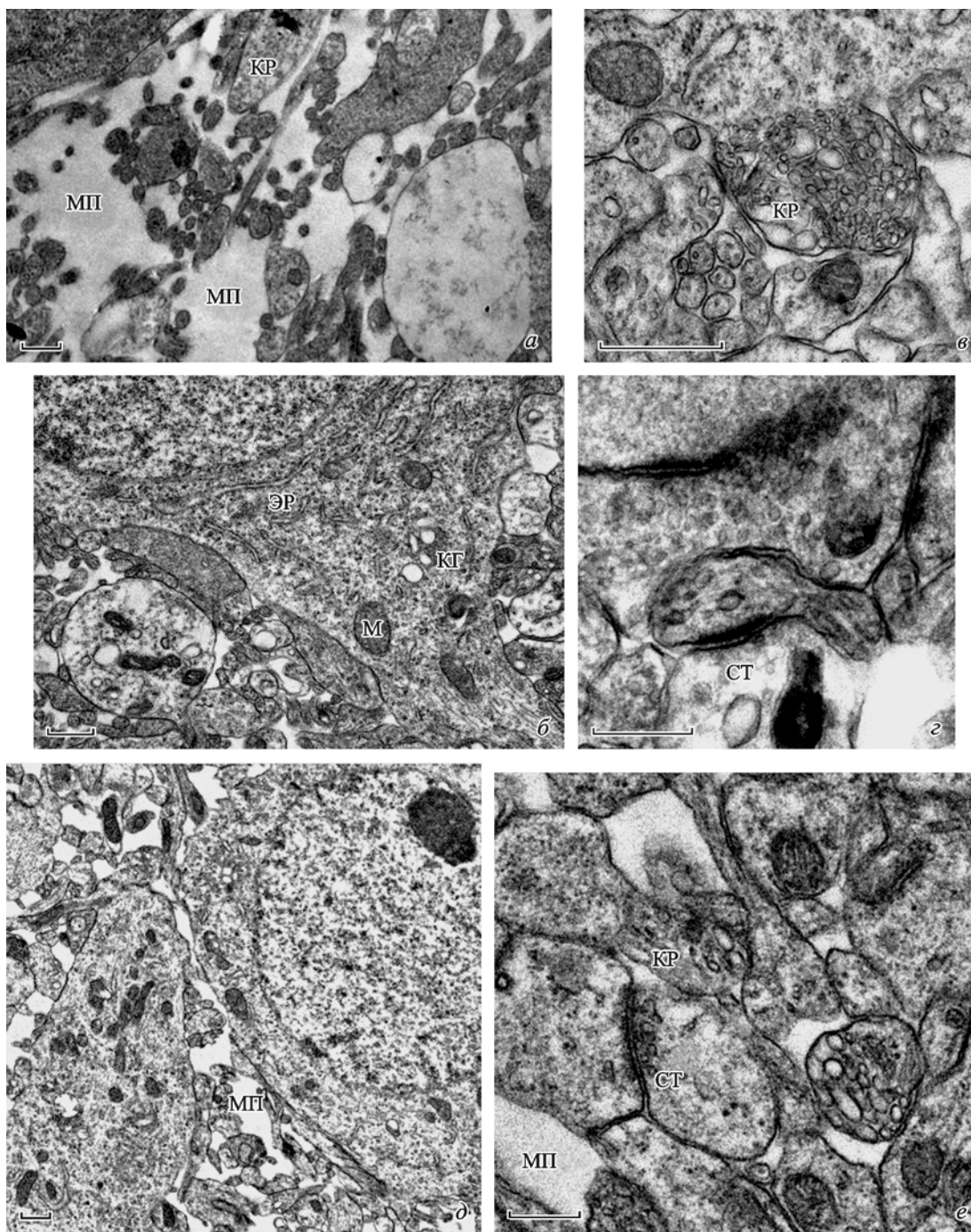


Рис. 2. Ультраструктурная организация сенсомоторной коры на P14 контрольных крыс (*a—c*) и крыс, перенесших пренатальную гипоксию (*d, e*).

a — нейропил первого слоя сенсомоторной коры с большим объемом межклеточного пространства; *b* — крупный пирамидный нейрон с полным набором органоидов в цитоплазме — эндоплазматическим ретикулумом (ЭР), комплексом Гольджи (КГ) и митохондриями (М); на дендрите, отходящем от тела клетки пирамидного нейрона, можно видеть многочисленные незрелые синаптические контакты; *в* — конус роста (КР) вблизи нейрона; *г* — контакты с синаптическими терминалями (СТ) на головке шипика; *д* — большой объем межклеточного пространства (МП) в нейропиле вокруг нейронов; *е* — зрелый синаптический контакт с синаптическими пузырьками неодинакового размера, многочисленные конусы роста (КР). Масштабные отрезки — 500 нм.

ка и созревание нейронов, увеличение количества отростков, формирование новых синапсов, развитие шипиков и становление межнейронных связей. Однако в случае пренатальной гипоксии сохраняются увеличенный объем межклеточного пространства и большое количество конусов роста. Темпы дифференцировки, созревания клеток, нейрогенеза и синаптогенеза снижены, что приводит

к нарушению формирования структуры сенсомоторной коры в раннем постнатальном развитии.

Нейродегенеративные изменения клеток в сенсомоторной коре. На препаратах, окрашенных по Нисслю, у крыс, перенесших пренатальную гипоксию, наряду с признаками отставания формирования элементов нервной ткани сенсомоторной коры были обнаруже-

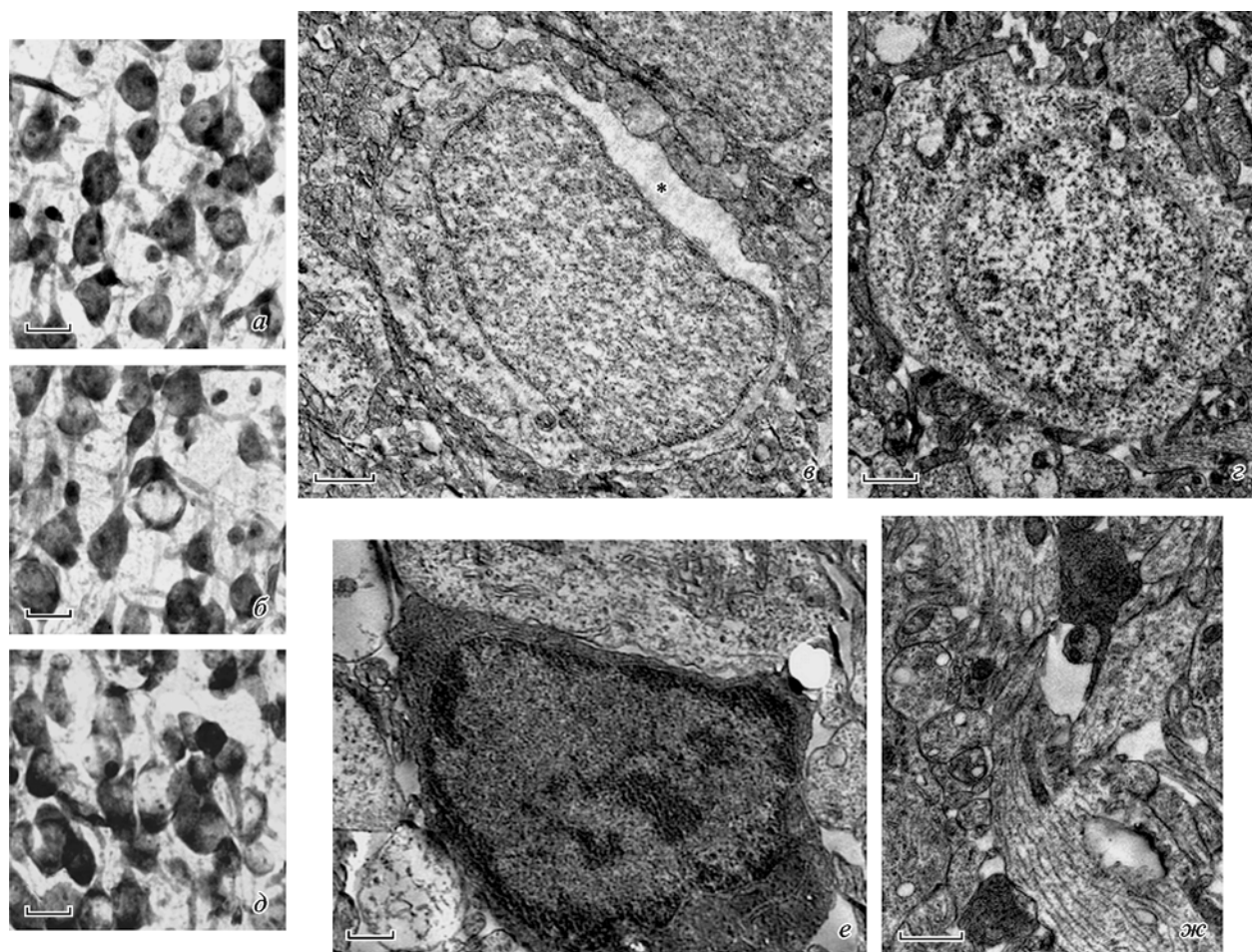


Рис. 3. Нейродегенеративные изменения в сенсомоторной коре на P14 у крыс, перенесших пренатальную гипоксию. *a, б, д* — окраска по Ниссию, *стрелками* показаны дегенерирующие нейроны, *масштабные отрезки* — 20 мкм; *в, г, е, ж* — электронная микроскопия, масштабные отрезки — 500 нм. *в, г* — хроматолиз с отеком цитоплазмы клеток (*) и лизисом ядерной мембраны и цитоплазматических органоидов; *е* — гиперхромный, «сморщенный» темный нейрон, органоиды не видны; *ж* — электронно-плотные отростки гиперхромных нейронов вблизи крупного продольно срезанного дендрита.

ны признаки деструкции нервных клеток на P14 (рис. 3, *a, б, д*), в то время как на P5 деструктивных изменений нейронов не было обнаружено.

На P14 у крыс, перенесших пренатальную гипоксию, в сравнении с контролем были выявлены изменения ультраструктурных особенностей пирамидных нейронов. У части крупных пирамидных нейронов происходило набухание клеточных тел и их отростков с появлением вакуолей и лизисом органоидов в цитоплазме (ЭПР, комплекса Гольджи, рибосом и митохондрий, см. рис. 3, *б, в*). В клетках и их отростках появлялись электронно-прозрачные вакуоли. Такие нейроны были окружены набухшими и разросшимися глиальными отростками. На рис. 3, *г* показан нейрон, характеризующийся нарушением целостности ядерной оболочки, распадом митохондрий и исчезновением рибосом. Перечисленные признаки характерны для клеток в состоянии хроматолиза, который мы наблюдали на препаратах, окрашенных по методу Ниссля (рис. 3, *б*). У другой части нейронов, имеющих небольшие размеры, происходило сморщивание тел клеток и их отростков, цитоплазма становилась более электронно-плотной (или гиперхромной при окраске по Ниссию) (рис. 3, *д, е*). Объем клеточного ядра уменьшался, вокруг него можно было наблюдать тонкий ободок темной

цитоплазмы. Из-за повышенной гиперхромности у таких нейронов трудно различить органоиды — митохондрии и ЭПР. Такой тип дегенерации клеток известен как гиперхроматоз. На рис. 3, *ж* показаны сморщенные темные отростки подобных клеток с электронно-плотной цитоплазмой. Дегенерацию по типу гиперхроматоза наблюдали у нейронов как в I молекулярном слое, так и в пирамидных слоях сенсомоторной коры.

В развитии реакции постановки передней конечности на опору (плейсинг) животные, перенесшие пренатальную гипоксию, демонстрировали существенное отставание от контрольных сверстников (рис. 4). В возрасте 5 сут отставание составляло 53 % (при 1.61 ± 0.12 балла в контроле и 0.86 ± 0.08 балла в экспериментальной группе, $p < 0.001$), а в возрасте 2 нед разница в выполнении исследуемых реакций животными контрольной и экспериментальной групп сократилась до 16 % (при 2.68 ± 0.08 балла в контроле и 2.26 ± 0.11 балла в экспериментальной группе, $p = 0.007$).

Спонтанная двигательная активность. При анализе такой менее специфической реакции, как спонтанная двигательная активность, было обнаружено, что ее продолжительность была выше ($p < 0.01$) в контрольной группе, чем в экспериментальной, как у крысят в

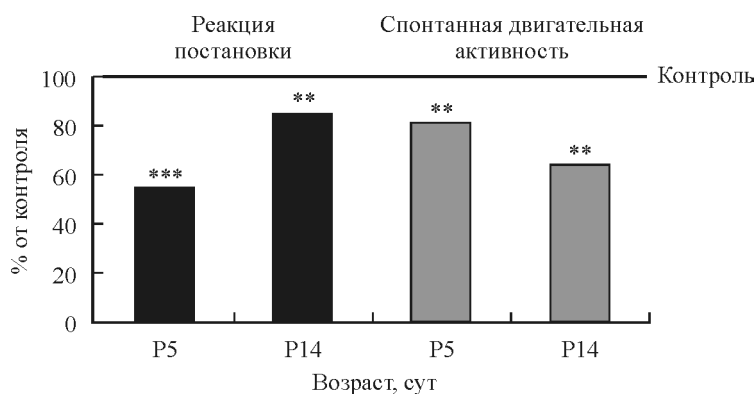


Рис. 4. Отставание в развитии двигательного поведения у 5- и 14-суточных крысят, перенесших пренатальную гипоксию, по сравнению с контрольными сверстниками.

По горизонтали — возраст крысят; по вертикали — характеристики двигательного поведения, выраженные в процентах от контроля (горизонтальная линия). Звездочками отмечены статистически достоверные различия между абсолютными значениями, полученными при тестировании контрольной и гипоксической групп соответствующего возраста (** — при $p < 0.01$, *** — при $p < 0.001$; критерий Манна—Уитни).

возрасте 5 сут (27.00 ± 1.43 и 23.09 ± 1.24 с соответственно), так и у крысят в возрасте 14 сут (58.08 ± 1.50 и 36.50 ± 3.62 с соответственно).

Обсуждение

При анализе полученных морфологических данных главное внимание обращали на такие показатели, как степень зрелости клеточных элементов нервной ткани и нейропила, а самое главное, на уровень синаптогенеза, который дает возможность определить ведущую роль сенсомоторной коры контрольных крыс в возрасте 2 нед в поддержании характерных для данной стадии развития поведенческих реакций (Nyakas et al., 1996; Дубровская, Журавин, 2008; Дубровская и др., 2017). При проведении сравнительного ультроструктурного исследования нервной ткани сенсомоторной коры на P5 и P14 у контрольных крыс и крыс, перенесших пренатальную гипоксию, у последних было отмечено значительное отставание формирования межнейронных связей. У контрольных крыс к 2 нед после рождения происходит интенсивный процесс формирования синаптических терминалей, у которых появляются синаптические пузырьки, митохондрии и истинные терминали с утолщением специализированных участков мембран. В то же время у гипоксических животных было отмечено значительное отставание в формировании этих признаков. Однако и у контрольных животных, и у крысят, перенесших пренатальную гипоксию, на этой стадии отсутствуют синаптические пузырьки с нейромедиаторами в терминалях, зрелые синаптические контакты и шипиковый аппарат в дендритных шипиках. Несмотря на имеющиеся свидетельства об активном врастании таламокортикальных волокон в кору 1—6-суточных крысят (Жарская и др., 1984), признаков процесса миелинизации у крысят в данный период развития нами не обнаружено.

У крысят, подвергшихся пренатальной гипоксии, нами ранее были обнаружены аналогичные признаки незрелости ткани дорсолатерального стриатума (слабодифференцированные нейроны, незрелый нейропил, отставание синаптогенеза) в течение первых 2 нед жизни (Журавин и др., 2005, 2007). Это может свидетельствовать об отставании развития целого ряда отделов головного моз-

га, в том числе сенсомоторной коры и стриатума, которые включены в пирамидную и экстрапирамидную системы организации движений крыс. Выявленное отставание развития данных систем согласуется с литературными данными о временном паттерне формирования проекционных нейронов новой коры и стриатума (Reid, Walsh, 2002), а также с наблюдаемым нарушением как специфических для сенсомоторной коры (плейсинг), так и неспецифических (спонтанная двигательная активность) двигательных реакций у крысят, перенесших пренатальную гипоксию в период формирования этих клеток (E14).

Через 2 нед после рождения у крысят, перенесших пренатальную гипоксию, наряду с отставанием дифференциации и созревания нервной ткани обнаружены признаки дегенеративных изменений нейронов на светооптическом и электронно-микроскопическом уровнях — хроматолиз и гиперхроматоз. Предположение о гибели дегенерирующих клеток согласуется с обнаруженным нами ранее повышением экспрессии проапоптотических белков P53 и каспазы-3 и их колокализацией в телах клеток коры мозга (Васильев и др., 2008), а также с наблюдениями других авторов (Отеллин и др., 2002). Ранее нами были обнаружены аналогичные дегенеративные изменения клеток стриатума (как по типу хроматолиза, так и по типу гиперхроматоза), также наблюдавшиеся в течение 2 нед после рождения у крысят, подвергшихся пренатальной гипоксии (Журавин и др., 2007). Возможно, такая гибель клеток связана с элиминацией пирамидных нейронов, интенсивно происходящей в этот период (Vasil'ev et al., 2016).

Различие в темпах постепенного развития двигательных реакций, характеризующих состояние сенсомоторной коры (плейсинг; см.: De Ryck et al., 1992; Schallert, 2006; Fan et al., 2008) или головного мозга в целом (спонтанная двигательная активность), отражает функциональную незрелость сенсомоторной коры, наблюдавшуюся на ультроструктурном уровне.

Таким образом, результаты сравнительного исследования структурной и ультроструктурной организации сенсомоторной коры в раннем онтогенезе (P5 и P14) контрольных крыс и крыс, перенесших гипоксию на E14, свидетельствуют о влиянии нарушения формирования сенсомоторной коры на двигательную активность живот-

ного. Также важно отметить, что незрелость межнейронных контактов препятствует обеспечению синаптической пластичности, что в свою очередь может являться причиной наблюдавшихся нами ранее поведенческих дисфункций (Дубровская, Журавин, 2008; Дубровская и др., 2017) у крыс, перенесших пренатальную гипоксию. Помимо отставания в развитии нами отмечены синхронные нейродегенеративные изменения в отделах кортикостриарной системы (сенсомоторная кора и стриатум) у крыс, перенесших пренатальную гипоксию, что может также вносить свой вклад в развитие двигательных дисфункций у таких животных.

Авторы благодарят О. С. Алексею за помощь в проведении гипоксического воздействия на беременных самок и Е. В. Озирскую за оказанную помощь по подготовке материала для электронной микроскопии. Электронно-микроскопическое исследование проводили на базе Центра коллективного пользования научным оборудованием для физиологических, биохимических и молекулярно-биологических исследований Института эволюционной физиологии и биохимии РАН.

Работа выполнена в рамках госзадания ФАНО России (АААА-А18-118012290373-7) при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 16-04-00694).

Список литературы

- Васильев Д. С., Туманова Н. Л., Журавин И. А. 2008. Структурные изменения в нервной ткани новой коры в онтогенезе крыс после гипоксии на разных сроках онтогенеза. Журн. эволюц. биохим. физиол. 44 (3) : 258—266. (Vasilyev D. S., Tumanova N. L., Zhuravin I. A. 2008. Structural alterations in cortical tissue in ontogenesis of rats subjected by hypoxia in different period of ontogenesis J. Evol. Biochem. Physiol. 44 (3) : 258—266.)
- Дубровская Н. М., Васильев Д. С., Тихонравов Д. Л., Туманова Н. Л., Журавин И. А. 2017. Изменение уровня активности каспазы-3 в раннем онтогенезе приводит к нарушению памяти и обучения у взрослых крыс. Журн. высш. нерв. деят. 67 (6) : 693—704. (Dubrovskaya N. M., Vasiliev D. S., Tikhonravov D. L., Tumanova N. L., Zhuravin I. A. 2017. Change of the level of a caspase-3 activity during the early ontogenesis leads to the impairment of memory and learning in adult rats J. Higher Nervous Activity. 67 (6) : 693—704.)
- Дубровская Н. М., Журавин И. А. 2008. Онтогенетические особенности поведения крыс, перенесших гипоксию на 14-е или 18-е сутки эмбриогенеза. Журн. высш. нерв. деят. 58 (5) : 616—625. (Dubrovskaya N. M., Zhuravin I. A. 2008. Ontogenetical peculiarities of behavior of rats subjected to hypoxia on 14th or 18th days of embryogenesis. J. Higher Nervous Activity. 58 (5) : 616—625.)
- Жарская В. Д., Голикова Т. В., Ленков Д. Н., Верещак Н. И. 1984. Структурные и функциональные корреляты в постнатальном развитии фронтальных полей неокортекса крысы. В кн.: Развивающийся мозг. М.: Ред. Ин-та мозга. 27—30. (Zhar'skaya V. D., Golikova T. V., Lenkov D. N., Vereschak N. I. 1984. Structural and functional correlates in postnatal development of rat frontal cortex areas. In: Developing brain. Moscow: Institute of Brain. 27—30.)
- Журавин И. А., Туманова Н. Л., Озирская Е. В., Васильев Д. С., Дубровская Н. М. 2005. Формирование структурной и ультраструктурной организации стриатума в раннем постнатальном онтогенезе крыс при изменении условий их эмбрионального развития. Морфология. 127 (2) : 31—36. (Zhuravin I. A., Tumanova N. L., Ozirskaya E. V., Vasil'ev D. S., Dubrovskaya N. M. 2005. Formation of the structural and ultrastructural organization of the striatum in early postnatal ontogenesis of rats in altered conditions of embryonic development. Morphology. 127 (2) : 31—36.)
- Журавин И. А., Туманова Н. Л., Озирская Е. В., Васильев Д. С., Дубровская Н. М. 2007. Формирование структурной и ультраструктурной организации стриатума в постнатальном онтогенезе крыс при изменении условий их эмбрионального развития. Журн. эволюц. биохим. физиол. 42 (2) : 194—203. (Zhuravin I. A., Tumanova N. L., Ozirskaya E. V., Vasil'ev D. S., Dubrovskaya N. M. 2007. Formation of striatum structural and ultrastructural organization in rat postnatal ontogenesis at changes of conditions of their embryonic development. J. Evol. Biochem. Physiol. 42 (2) : 194—203.)
- Отеллин В. А., Хожай Л. И., Гилерович Е. Г., Коржевский Д. Э., Косткин В. Б., Белостоцкая Г. Б. 2002. Повреждающие воздействия в критические периоды пренатального онтогенеза как фактор, модифицирующий структурное развитие головного мозга и поведенческие реакции после рождения. Вестн. РАМН. 12 : 32—35. (Otellin V. A., Hozai L. I., Gilerovich E. G., Korjevskiy D. E., Kostkin V. B., Belostotskaya G. B. 2002. Destructive actions in critical periods of prenatal ontogenesis as a factor affecting development of brain structure and behavior after birth. Vestnik RAMN. 12 : 32—35.)
- Соколова Н. А., Граф А. В., Маслова М. В., Маклакова А. С., Хиразова Е. С. 2016. Стресс на ранних стадиях онтогенеза: пептидергическая коррекция. М.: Товарищество научных изданий КМК. 254 с. (Sokolova N. A., Graf A. V., Maslova M. V., Khyrazova E. S. 2016. Stress in early ontogenesis: peptidergic treatment. Moscow: Association of KMK. 254 p.)
- Allam A. A., Abo-Eleneen R. E. 2012. The development of sensorimotor reflexes in albino mice; albino rats and black-hooded rats. Int. J. Develop. Neurosci. 30 : 545—553.
- De Ryck M., Van Reempts J., Duytschaever H., Van Deuren B., Clincke G. 1992. Neocortical localization of tactile/proprioceptive limb placing reactions in the rat. Brain Res. 573 : 44—60.
- Fan L. W., Chen R. F., Mitchell H. J., Lin R. C., Simpson K. L., Rhodes P. G., Cai Z. 2008. alpha-Phenyl-n-tert-butyl-nitronne attenuates lipopolysaccharide-induced brain injury and improves neurological reflexes and early sensorimotor behavioral performance in juvenile rats. J. Neurosci. Res. 86 : 3536—3547.
- Nyakas C., Buwalda B., Luiten P. G. M. 1996. Hypoxia and brain development. Progress in Neurobiol. 49 : 1—51.
- Paxinos G., Watson C. 2007. The rat brain in stereotaxic coordinates. 6th Edition. Elsevier Inc. 456 p.
- Rakic P. 1995. Radial versus tangential migration of neuronal clones in the developing cerebral cortex. PNAS. 92 : 11 323—11 327.
- Reid C. B., Walsh C. A. 2002. Evidence of common progenitors and patterns of dispersion in rat striatum and cerebral cortex. J. Neurosci. 22 : 4002—4014.
- Schallert T. 2006. Behavioral tests for preclinical intervention assessment. NeuroRX. 3 : 497—504.
- Vasil'ev D. S., Dubrovskaya N. M., Tumanova N. L., Zhuravin I. A. 2016. Prenatal hypoxia in different periods of embryogenesis differentially affects cell migration, neuronal plasticity and rat behavior in postnatal ontogenesis. Front. Neurosci. 10 : 126.

Поступила 12 II 2018

CHANGES IN ULTRASTRUCTURE OF THE SENSORIMOTOR CORTEX ACCOMPANIED
BY THE MOTOR BEHAVIOR DYSFUNCTIONS IN THE EARLY ONTOGENESIS OF RATS
SUBJECTED TO THE PRENATAL HYPOXIA

N. L. Tumanova,^{1,2} D. S. Vasiliev,^{1,2,} N. M. Dubrovskaya,^{1,2} I. A. Zhuravin^{1,2}*

¹ I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry RAS, St. Petersburg, 194223, and

² St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, 194100;

* e-mail: dvasilyev@bk.ru

The purpose of this work was to conduct a comparative study of morphogenesis and synaptogenesis of the sensorimotor cortex, of rats subjected to prenatal hypoxia on E14 (7 % O₂, 3 h) and rats with normal development, as well as compare their motor behavior in early ontogeny (P5, P14). In the first two weeks of postnatal ontogenesis, the delay in the nervous tissue maturation was detected in sensorimotor cortex of rats subjected to prenatal hypoxia. The following features of immature nervous tissue were found: a large volume of intercellular spaces, numerous growth cones and desmosomes, decreased in the number of the mature synapses, dendritic spines without spine apparatus. The data obtained suggest the poor differentiation of cortical neurons. Beside the features of delay in the neural tissue development, some signs of neuronal death were detected in 14-day-old rat pups subjected to prenatal hypoxia: giperchromatosis, chromatolysis, the lysis of the organelles and the destruction of the outer membrane. It has been shown that prenatal hypoxia can cause a delay in the development of motor behavior in the early ontogeny of rats. Such a lag was manifested in the formation of the placing reaction as well as reducing of the overall spontaneous motor activity. Comparison of the cortical tissue changes with similar changes in the dorsolateral striatum described previously leads to the conclusion that the action of the destructive factor during embryogenesis causes the delay in the formation of cortico-striatal system of the brain which results in disruption of motor behavior of animals.

Key words: ontogenesis, neurogenesis, synaptogenesis, sensorimotor cortex, prenatal hypoxia, motor behavior, rat, electron microscopy.
