

Влияние депривации парадоксального сна на ультраструктуру нейронов головного мозга и поведенческие реакции крыс

Б.М. Абушов

Институт физиологии им. А.И. Караева Национальной академии наук Азербайджана (Баку)

Целью работы является морфофункциональный анализ влияния депривации парадоксального сна разной продолжительности на ультраструктуру нейронов головного мозга крыс, а также на реаринг, груминг, половую активность и потребление пищи и воды. Установлено, что при 36–48-часовой депривации парадоксального сна в нейронах изменения репаративного характера сопровождаются усилением всех видов поведенческих реакций. При 60-часовой депривации парадоксального сна в нейронах репаративные процессы несколько ослабевают, а дистрофические – охватывают большое количество нейронов, что сопровождается уменьшением количества основных поведенческих реакций.

Ключевые слова: депривация парадоксального сна, ультраструктура нейронов, поведенческие реакции, репаративные процессы

В настоящее время нейрофизиологические аспекты влияния депривации парадоксального сна (ДПС) исследуются очень интенсивно [8, 10, 11], однако нейроморфологические аспекты проблемы изучены недостаточно. Кроме того, в литературе отсутствуют данные о параллельном исследовании влияния ДПС на ультраструктуру мозга и поведенческие реакции животных. Некоторые авторы [2, 5] указывают на чрезвычайную актуальность одновременного исследования влияния различных экстремальных факторов на структуру и функцию мозга.

Цель настоящей работы – проведение морфофункционального анализа влияния ДПС разной продолжительности на ультраструктуру нейронов некоторых сомногенных структур головного мозга, а также на основные поведенческие реакции экспериментальных животных (реаринг, груминг и сексуальное поведение крыс).

Материал и методы исследования

Эксперименты проведены на половозрелых крысах-самцах линии Вистар, начальной массой 220–230 г. Животных разделили на три группы, а каждую группу – на 2 подгруппы (по 10 крыс в каждой). Одну подгруппу использовали как контрольную, а вторую подвергали 36-, 48- и 60-часовой ДПС, по методу M. Jouvet [9]. В ходе ДПС у животных регистрировали количество потребляемой воды и пищи, а также число актов реаринга, груминга и половой активности (попытки совершения полового акта). Количество потребляемой пищи выявляли путем взвешивания корма, а количество выпитой воды измеряли по ее объему через 36, 48 и 60 ч. Прочие поведенческие показатели (реаринг, груминг и половая активность) регистрировали путем визуальной регистрации количества актов.

В конце каждого срока ДПС мозг наркотизированных эфиром животных фиксировали путем перфузии через аорту 2,5% раствором глутаральдегида и 2% раствором параформальдегида на фосфатном буфере (рН 7,2–7,4). У перфузированных животных из сомногенных образований мозга (III–V слои передней лимбической коры – ЛК, поле СА1 дорсального гиппокампа – ДГ, ретикулярной формации варолиевого моста – РФВМ, дорсального ядра шва – ДЯШ и голубого пятна – ГП) были изъятые кусочки и обработаны по общей прописи электронномикроскопических исследований. В приготовленных серийных срезах каждого образования в объеме 0,01 мм³ ткани подсчитывали количество нейронов с нормальными ультраструктурами и субмикроскопическими изменениями.

Результаты обрабатывались по правилам вариационной статистики с использованием пакета программы Excel 2003. Достоверность различий между группами вычисляли t-критерием Стьюдента [4]. Достоверным считали значение при $p < 0,05$.

таблица 1: Влияние депривации парадоксального сна на количество потребляемой крысами пищи (в граммах) и воды (в миллилитрах).

Исследуемые показатели	Статистические показатели	Сроки депривации					
		36 час.		48 час.		60 час.	
		Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Пища	n M±m p	10 153,5±0,5	10 185,9±0,7 <0,001	10 204,8±0,8	10 250,6±0,6 <0,001	10 244,7±0,8	10 199,1±0,6 <0,001
Вода	n M±m p	10 35,3±0,6	10 42,7±0,8 <0,001	10 42,2±0,5	10 51,9±0,5 <0,001	10 56,8±0,8	10 36,6±0,5 <0,001

Результаты

При 36-часовой ДПС у экспериментальных животных по сравнению с контрольными увеличивается количество принятой пищи и воды (табл. 1). У этих животных повышается количество актов реаринга ($p < 0,001$; рис. 1), груминга ($p < 0,01$; рис. 2) и половой активности ($p < 0,001$; рис. 3). Электронно-микроскопические исследования изучаемых структур головного мозга этих животных показали, что в перикарионах большинства нейронов изменения не отмечаются. Однако во всех изученных образованиях наблюдаются группы нейронов, у которых выявляется эктопия

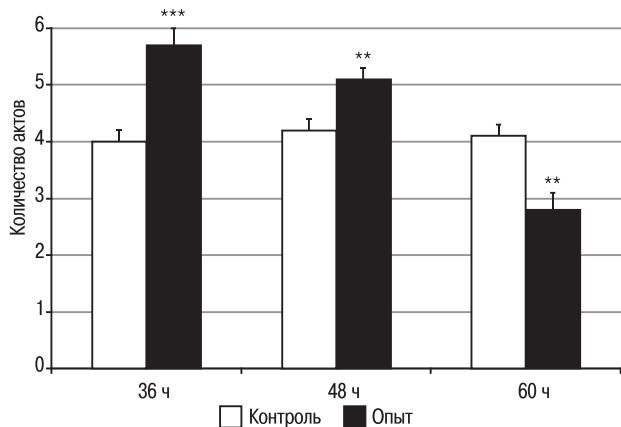


рис. 1: Влияние депривации парадоксального сна на реаринг у крыс. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

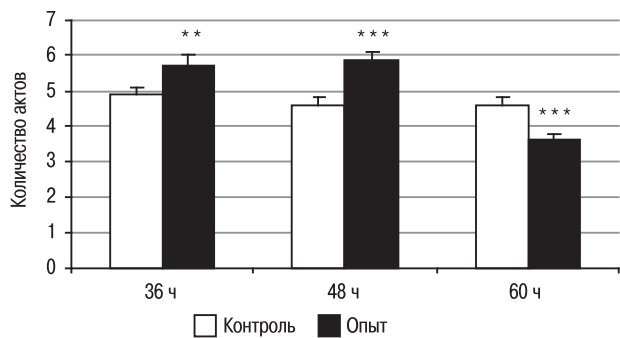


рис. 2: Влияние депривации парадоксального сна на груминг у крыс. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

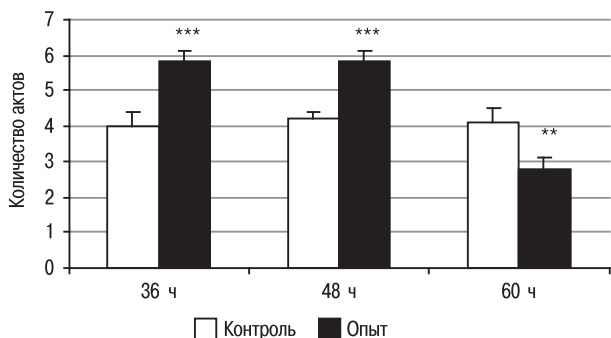


рис. 3: Влияние депривации парадоксального сна на сексуальное поведение у крыс. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

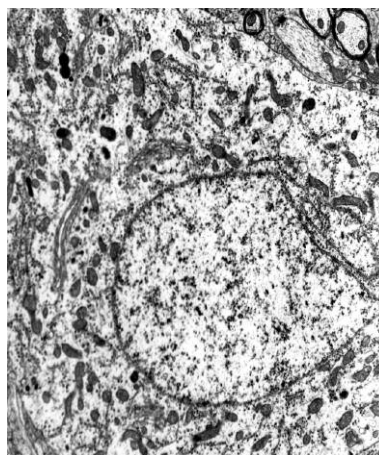


рис. 4: Ультраструктура нейрона среднего диаметра с репаративными изменениями в III–V слоях передней лимбической коры головного мозга крыс при 36-часовой депривации парадоксального сна. Ув. $\times 8000$.

таблица 2: Количество нейронов с нормальными ультраструктурами и субмикроскопическими изменениями в $0,01 \text{ мм}^3$ ткани некоторых структур головного мозга крыс при 36-часовой депривации парадоксального сна.

Структура мозга	Статистические показатели	Нормальные нейроны		Нейроны с репаративными изменениями		Нейроны с дистрофическими изменениями	
		Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
III-V слои передней лимбической коры	n M±m p	10 60,1±0,4	10 43,2±0,4 <0,001	10 0	10 17,0±0,3 <0,001	10 0	10 0
Поле СА ₁ дорсального гиппокампа	n M±m p	10 54,4±0,4	10 42,0±0,4 <0,001	10 0	10 11,9±0,2 <0,001	10 0	10 0
РФ варолиевого моста	n M±m p	10 31,1±0,5	10 25,1±0,4 <0,001	10 0	10 6,1±0,2 <0,001	10 0	10 0
Дорсальное ядро шва	n M±m p	10 44,8±0,4	10 35,8±0,4 <0,001	10 0	10 9,1±0,3 <0,001	10 0	10 0
Синее пятно	n M±m p	10 45,5±0,2	10 37,0±0,3 <0,001	10 0	10 9,0±0,3 <0,001	10 0	10 0

Обозначения: РФ – ретикулярная формация.

ядра и ядрышка, увеличение количества хроматинового вещества в кариоплазме, числа инвагинаций кариолеммы до 5–6 (в контроле их количество обычно не превышает 1–2), одновременно происходит и их углубление. В цитоплазме таких нейронов наблюдается увеличение количества органелл: митохондрий, канальцев гранулярной эндоплазматической сети (ГЭС), аппарата Гольджи, рибосом, полисом, лизосом (рис. 4). Такие изменения в перикарионах нейронов оцениваются как репаративные [1, 3, 6]. При 36-часовой ДПС репаративные изменения происходят в нейронах среднего размера, но иногда они выявляются и в крупных нервных клетках. При 36-часовой ДПС в тканях сомногенных образований объемом $0,01 \text{ мм}^3$ среднее количество нейронов с репаративными изменениями приблизительно в 3,5 раз меньше, чем клеток с нормальной ультраструктурой (табл. 2).

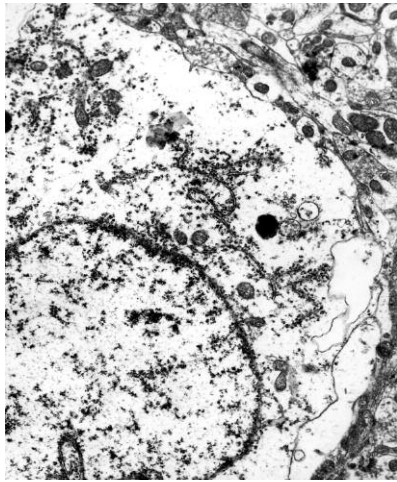


рис. 5: Периферический хроматолиз и вакуолизация цитоплазмы в нейроне среднего диаметра III–V слоев передней лимбической коры головного мозга крысы при 48-часовой депривации парадоксального сна. Ув. $\times 10000$.

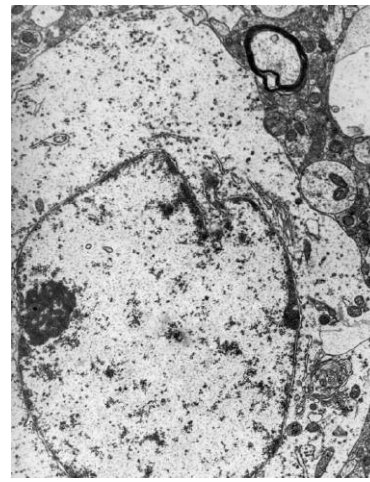


рис. 6: Резко выраженный хроматолиз и очаговая вакуолизация цитоплазмы в нейроне среднего диаметра III–V слоев передней лимбической коры головного мозга крысы при 60-часовой депривации парадоксального сна. Ув. $\times 8000$.

таблица 3: Количество нейронов с нормальными ультраструктурами и субмикроскопическими изменениями в $0,01 \text{ мм}^2$ ткани некоторых структур головного мозга крыс при 48-часовой депривации парадоксального сна.

Структура мозга	Статистические показатели	Нормальные нейроны		Нейроны с репаративными изменениями		Нейроны с дистрофическими изменениями	
		Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
III-V слои передней лимбической коры	n M \pm m p	10 60,0 \pm 0,5	10 36,0 \pm 0,4 <0,001	10 0	10 20,1 \pm 0,3 <0,001	10 0	10 3,9 \pm 0,3 <0,001
Поле СА ₁ дорсального гиппокампа	n M \pm m p	10 54,0 \pm 0,3	10 34,9 \pm 0,6 <0,001	10 0	10 16,2 \pm 0,3 <0,001	10 0	10 4,2 \pm 0,5 <0,001
РФ варолиевого моста	n M \pm m p	10 31,0 \pm 0,6	10 23,0 \pm 0,4 <0,001	10 0	10 8,0 \pm 0,3 <0,001	10 0	10 0
Дорсальное ядро шва	n M \pm m p	10 44,8 \pm 0,6	10 32,0 \pm 0,4 <0,001	10 0	10 12,8 \pm 0,3 <0,001	10 0	10 0
Синее пятно	n M \pm m p	10 46,4 \pm 0,4	10 33,0 \pm 0,4 <0,001	10 0	10 13,1 \pm 0,3 <0,001	10 0	10 0

Обозначения: РФ – ретикулярная формация.

На 48-й час ДПС у крыс происходит еще большее увеличение количества принятой пищи и воды (табл. 1), отмечается повышение количества актов реаринга ($p < 0,01$; рис. 1), груминга ($p < 0,001$; рис. 2) и половой активности ($p < 0,001$; рис. 3). Количество нейронов с репаративными изменениями в перикарионе значительно увеличивается (табл. 3). В телах некоторых нейронов отмечаются уменьшение цитоплазматических органелл вблизи цитолеммы, очаговый хроматолиз, в отдельных нейронах – вакуолизация (рис. 5). Количество дистрофически измененных нейронов очень мало и они являются нейронами только среднего диаметра, в то время как репаративные изменения происходят в нейронах как среднего, так и большого диаметра. Более того, нейроны с дистрофическими изменениями встречаются только в ЛК и ДГ и являются пирамидными клетками.

таблица 4: Количество нейронов с нормальными ультраструктурами и субмикроскопическими изменениями в $0,01 \text{ мм}^2$ ткани некоторых структур головного мозга крыс при 60-часовой депривации парадоксального сна.

Структура мозга	Статистические показатели	Нормальные нейроны		Нейроны с репаративными изменениями		Нейроны с дистрофическими изменениями	
		Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
III-V слои передней лимбической коры	n M \pm m p	10 60,3 \pm 0,2	10 30,0 \pm 0,4 <0,001	10 0	10 16,0 \pm 0,3 <0,001	10 0	10 14,0 \pm 0,3 <0,001
Поле СА ₁ дорсального гиппокампа	n M \pm m p	10 54,1 \pm 0,2	10 31,9 \pm 0,5 <0,001	10 0	10 13,0 \pm 0,4 <0,001	10 0	10 9,0 \pm 0,3 <0,001
РФ варолиевого моста	n M \pm m p	10 30,7 \pm 0,5	10 22,0 \pm 0,4 <0,001	10 0	10 7,0 \pm 0,3 <0,001	10 0	10 2,0 \pm 0,3 <0,001
Дорсальное ядро шва	n M \pm m p	10 45,1 \pm 0,2	10 30,0 \pm 0,5 <0,001	10 0	10 9,1 \pm 0,4 <0,001	10 0	10 6,0 \pm 0,2 <0,001
Синее пятно	n M \pm m p	10 46,1 \pm 0,2	10 31,0 \pm 0,4 <0,001	10 0	10 10,1 \pm 0,4 <0,001	10 0	10 4,9 \pm 0,2 <0,001

Обозначения: РФ – ретикулярная формация.

При 60-часовой ДПС у животных происходит уменьшение количества принятой пищи и воды (табл. 1), а также снижение числа актов реаринга ($p < 0,01$; рис. 1), груминга ($p < 0,001$; рис. 2) и половой активности ($p < 0,01$; рис. 3). Во всех исследуемых структурах мозга (табл. 4) количество нейронов с репаративными изменениями в перикарионе существенно снижается, а дистрофические нарушения охватывают наибольшее количество нервных клеток. Причем, наиболее подвержены дистрофическим изменениям пирамидные нейроны среднего размера, хотя иногда встречаются крупные и мелкие нейроны с изменениями в виде хроматолиза и вакуолизации цитоплазмы. Обращает на себя внимание тот факт, что дистрофические процессы в нейронах происходят на 48-й час ДПС, а нарушения в поведении животных наблюдаются только на 60-й час депривации. Этот факт экспериментально доказывает, что при ДПС, так же как и при любых

воздействиях на организм, структурные изменения опережают функциональные [7]. Следует отметить, что количество пирамидных нейронов среднего диаметра с дистрофическими изменениями в ЛК значительно больше (табл. 2), а в цитоплазме некоторых из них наблюдаются крупные вакуоли (рис. 6).

Обсуждение

Результаты исследования показали, что при 36-, 48- и 60-часовой ДПС в мозге крыс возникают морфофункциональные изменения, характер которых существенно меняется в зависимости от продолжительности депривации. Так, на начальном этапе (36–48-й час ДПС) происходит мобилизация резервных защитных механизмов, повышающих толерантность мозга к ДПС. На этом этапе в большинстве нервных клеток обнаруживаются субмикроскопические изменения репаративного характера, за счет чего количество поведенческих реакций у подопытных животных может резко возрастать. Однако при 48-часовой ДПС в некоторых нейронах отмечаются и дистрофические изменения, что свидетельствует о сниже-

нии компенсаторных ресурсов мозга. К 60-му часу эксперимента на фоне относительного ослабления репаративных процессов происходит нарастание дистрофических изменений, охватывающих большое количество нейронов, что может трактоваться как истощение компенсаторных возможностей мозга. По сравнению с предыдущим сроком (48 ч), при 60-часовой ДПС среднее количество дистрофически измененных нейронов увеличивается приблизительно в 6 раз. Возникшие дистрофические изменения в нейронах головного мозга крыс приводят к резкому уменьшению всех поведенческих показателей.

Особый интерес представляет тот факт, что среди нейронов различного диаметра дистрофические процессы в первую очередь развиваются в пирамидных нейронах среднего диаметра ЛК и ДГ, которые, по-видимому, наименее толерантны к действию ДПС. Такая высокая чувствительность к действию ДПС пирамидных нейронов среднего диаметра ЛГ и ДГ позволяет предположить, что эти нейроны играют чрезвычайно важную роль в нейрофизиологических механизмах парадоксальной фазы сна.

Список литературы

1. Абушов Б.М. Компенсаторные возможности мозга при однократной тотальной депривации сна. Неврол. вестн. 2007; 4: 67–70.
2. Адрианов О.С. Организованный мозг (Очерк о принципах конструкции и функциональной организации мозга, сообщ. 1). Усп. физиол. наук 1995; 1: 25–45.
3. Кривицкая Г.Н., Гельфанд В.Б., Попова Э.Н. Деструктивные и репаративные процессы при очаговых поражениях головного мозга. М: Медицина, 1980.
4. Лакин Г.Ф. Биометрия. М: Высшая школа, 1980.
5. Мошков Д.А. Адаптация и ультраструктура нейронов. М: Наука, 1985.
6. Пушкин А.С., Лапин С.К. Ультраструктурные признаки приспособительных и компенсаторных процессов ЦНС. В кн.: Вопросы экспериментальной и клинической патологии. Тр. Ереванского мед. инс-та. Ереван. 1980: 95–99.
7. Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций (ред. Д.С. Саркисов). М: Медицина, 1987.
8. Horne J. REM sleep, energy balance and “optimal foraging”. Neurosci. Biobehav. Rev. 2009; 339: 466–474.
9. Jouvet M. Paradoxical sleep. A study of its nature and mechanisms. Progr. Brain Res. 1965; 18: 257–258.
10. Menegolaa M., Misonouc H., Vachera H. et al. Dendritic A-type potassium channel subunit expression in CA1 hippocampal interneurons. Neuroscience 2008; 154: 953–964.
11. Ogawaa K., Abec T., Nittonod H. et al. Temporal coupling of rapid eye movements and cerebral activities during REM sleep. Clin. Neurophysiol. 2009; 120: 18–23.

Effects of paradoxical sleep deprivation on behavioral reactions and ultrastructure of the brain neurons in rats

B.M. Abushov

A.I. Karaev Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Azerbaijan (Baku)

Key words: paradoxical sleep deprivation, neuronal ultrastructure, behavioral reactions, reparative processes

The aim of this work was morpho-functional analysis of the effect of paradoxical sleep deprivation of different duration on ultrastructure of the brain neurons, as well as on rearing, grooming, sexual activity and food and water consumption. It was revealed that, in early terms (36–48 hours) of the paradoxical sleep deprivation, the neuronal reparative changes were accom-

panied by intensification of all behavioral reactions. Under 60-hours paradoxical sleep deprivation, reparative processes in neurons were slightly reduced, while dystrophic changes covered a large number of neurons, which was accompanied by decrease in the number of main behavioral reactions.

Контактный адрес: Абушов Бабек Мамед оглы – канд. мед. наук, вед. науч. сотр. лаборатории функциональной цитохимии Института физиологии им. А.И. Караева Национальной академии наук Азербайджана. AZ 1100, Азербайджан, Баку, ул. Шариф-заде, д. 2.
Тел./факс: +994 (12) 596-00-79; e-mail: babushov@rambler.ru