

Афанаскина Любовь Николаевна

**МОРФОЦИТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
НЕЙРОН-ГЛИАЛЬНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ КРЫШИ СРЕДНЕГО МОЗГА И
КОРЫ МОЗЖЕЧКА БЕСХВОСТЫХ АМФИБИЙ**

Специальность 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Томск – 2017

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования "Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого" министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор

Медведева Надежда Николаевна

Официальные оппоненты:

Солонский Анатолий Владимирович – д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической психонейроиммунологии и нейробиологии Научно-исследовательского института психического здоровья Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук.

Воронцова Зоя Афанасьевна – д.б.н., профессор, заведующий кафедрой гистологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «15» декабря 2017 г. в 9.00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.096.03 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 634050, г. Томск, Московский тракт, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации и на сайте www.ssmu.ru

Автореферат разослан « ____ » _____ 2017 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

Герасимов Александр Владимирович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Разносторонняя человеческая деятельность нарушает динамическое равновесие и хрупкий баланс в природных экосистемах, и требует всестороннего анализа адаптивных возможностей животных для приспособления к существованию в трансформированных условиях (Вершинин, Неустроева, 2011; Спирина, 2011; Вершинин, Вершинина, 2013).

Земноводные, обитающие в водно-наземной среде, в полной мере отражают состояние природы в целом и условия локального местообитания, что делает их уникальными биоиндикаторами проблем окружающей среды (Иванова, Жигальский, 2011; Brito, 2008; Mazgalska, 2009; Bilal и др., 2011; Vershinin, Henle, 2011; Waddle и др., 2012).

Современными морфофизиологическими исследованиями доказано, что изменение химического состава водной среды и прибрежной зоны оказывает воздействие на земноводных, приводя к уменьшению их численности (Тропина, 2011; Фоминых, 2011; Фоминых, Ляпков, 2011; Toribio-Hernandez, 2012), нарушению эмбриогенеза (Москвитина и др., 2011; Северцова, 2012; Moskvitina, 2011; Arrighi и др., 2013), репродуктивной системы (Желев, 2011; McDaniel и др., 2008; Du Preez и др., 2009; Skelly и др., 2010; Storrs-Mendez, 2010), хромосом (Вершинин, 2015; Gabrielsen, 2013; Dubois, 2014) и морфофизиологических параметров тела (Ben Hassine, 2011; Bionda, 2012; Toth, 2012; Puky, 2014; Henle, 2014; Lunde, 2014). В результате антропогенного воздействия у амфибий формируются фенотипические и физиологические адаптации на уровне различных систем органов (Файзулин и др., 2012, 2013; Вершинин, 2014; Faizulin, 2010). Рядом авторов отмечены изменения покровов (Ибрагимова, Стариков, 2011; Желев, 2011), опорно-двигательной (Вершинин, Неустроева, 2011; Неустроева, 2012; Микитинец, 2012; Lada, 1999), кровеносной (Гассо, Клименко, 2011; Байгушикова, 2011; Вершинин, Вершинина, 2013; Арзуманян и др., 2013; Kozlowski и др., 2010), иммунной (Пескова, Жукова, 2012), пищеварительной (Акуленко и др., 2011, 2012; Мищенко, 2013) и половой систем у земноводных (Байtimiрова, 2013; Трофимов, 2013; Baitimirova, Vershinin, 2014).

Изменение условий существования вынуждает организмы адаптироваться на уровне всех систем, начиная с ведущей интегративной системы – нервной (Воронцова, 2012; Солонский и др., 2015). Сведения об адаптационных возможностях нервной системы земноводных при действии неблагоприятных факторов крайне скудны. Имеются лишь фрагментарные работы, отражающие структурные и функциональные изменения, на клеточном уровне в головном мозге амфибий при электрической и цветовой стимуляции, облучении, действии антибиотиков, влиянии L-глутамата и NO-генерирующего соединения и др. (Ларионова и др., 2001; Самосудова и др., 2007; Хренкова и др., 2008; Рыжова и др., 2013; Родичкин, 2015). Также изучено строение коры мозжечка и крыши среднего мозга некоторых видов амфибий с позиции их двигательной активности и филогенеза позвоночных животных (Орлянская, 2004, 2006; Орлянская, Крупкина, 2008).

Земноводные занимают важное место на пути филогенетического развития позвоночных животных и перехода из водной среды к наземному существованию, что обусловлено прогрессивными эволюционными преобразованиями их нервной системы и органов чувств (Никитенко, 1969). У амфибий ихтиопсидный тип головного мозга с высшим интегрирующим центром в среднем мозге. Он, совместно с мозжечком, обеспечивает взаимосвязь с окружающей средой, регуляцию и координацию движений в наземно-водной среде обитания (Ноздрачев, Поляков, 1994; Андреева, Обухов, 1999).

Исследования компенсаторно-приспособительных процессов в ведущих отделах головного мозга земноводных при действии антропогенных факторов, в том числе в биоценозах южной части Красноярского края не проводились. Полученные данные об адаптивных изменениях параметров площади нервных клеток, увеличении плотности распределения нейронов и глиоцитов, повышении числа гипо- и гиперхромных клеток,

снижении белкового фонда клеток в ведущих отделах головного мозга амфибий имеют значение для оценки влияния факторов окружающей среды и могут использоваться экологами для биомониторинга наземных и водных экосистем, и оценки уровня антропогенной нагрузки на данные территории. Именно эти вопросы являются предметом изучения данной диссертационной работы.

Цель исследования: изучение морфоцитохимических показателей нейрон-глиальных популяций эфферентного слоя крыши среднего мозга и слоев коры мозжечка бесхвостых амфибий в зависимости от их видовой принадлежности и степени антропогенной трансформации территорий южной части Красноярского края.

Задачи исследования:

1. Изучить особенности морфологических параметров нейрон-глиальных популяций VI слоя крыши среднего мозга и коры мозжечка (площадь клеток, их ядер, цитоплазмы и плотность распределения) в зависимости от видовой принадлежности земноводных.

2. Проанализировать цитохимические показатели популяций нейронов VI слоя крыши среднего мозга и коры мозжечка (белковый фонд и хроматофилия клеток) в зависимости от видовой принадлежности амфибий.

3. Изучить на популяционно-клеточном уровне морфоцитохимические показатели нейронов и глии VI слоя крыши среднего мозга и коры мозжечка бесхвостых земноводных, обитающих на территориях Красноярского края с разным уровнем загрязнения окружающей среды (низкий, повышенный, высокий).

4. Провести анализ изменений морфоцитохимических характеристик нейрон-глиальных популяций головного мозга амфибий при антропогенном воздействии.

5. Сопоставить морфоцитохимические показатели VI слоя крыши среднего мозга и коры мозжечка бесхвостых амфибий с уровнем антропогенной нагрузки на биотопы.

Защищаемые положения:

1. Морфологические показатели нейрон-глиальных популяций VI слоя крыши среднего мозга и коры мозжечка бесхвостых амфибий зависят от их видовой принадлежности.

2. Специфический полиморфизм морфологических показателей нейрон-глиальных популяций VI слоя крыши среднего мозга и коры мозжечка земноводных обусловлен степенью антропогенной трансформации биотопов южной части Красноярского края.

3. Выявленная вариабельность цитохимических показателей нейронов VI слоя крыши среднего мозга и коры мозжечка земноводных связана с видовой принадлежностью и уровнем антропогенной нагрузки территорий южной части Красноярского края.

Научная новизна исследования.

Впервые изучена и показана видовая специфичность в строении крыши среднего мозга (центрального серого вещества, его наружного зернистого слоя, являющегося эфферентным) и слоев коры мозжечка бесхвостых земноводных разных видов (*B. bufo*, *R. arvalis*, *P. ridibundus*, *R. amurensis*), которая проявляется разными значениями площади нейронов и их структур (цитоплазмы и ядра), плотности распределения нервных и глиальных клеток, хроматофилии нейронов, показателей белкового фонда клеток.

Впервые изучены пластические возможности и адаптационные морфоцитохимические перестройки нейрон-глиальных популяций крыши среднего мозга и коры мозжечка амфибий в зависимости от уровня загрязнения окружающей среды. Выявленные компенсаторно-приспособительные реакции проявляются увеличением площади нервных клеток, плотности распределения нейронов и глиоцитов (астроцитов и олигодендроцитов), процентного соотношения гипо- и гиперхромных клеток, снижением концентрации и содержания в нейронах общих водонерастворимых белков.

Теоретическое и практическое значение.

Результаты настоящего исследования вносят дополнительные сведения по строению отделов головного мозга (среднего мозга и мозжечка) бесхвостых амфибий изученных видов (*B. bufo*, *R. arvalis*, *P. ridibundus*, *R. amurensis*).

Полученные данные о компенсаторно-приспособительных реакциях нейрон-глиальных популяций крыши среднего мозга и коры мозжечка земноводных, трансформированных территорий южной части Красноярского края, могут использоваться для дальнейших фундаментальных исследований адаптивных перестроек нервной системы при антропогенных воздействиях. Полученные результаты также могут применяться, как дополнительные маркеры, экологами для биомониторинга наземных и водных экосистем, оценки уровня антропогенной нагрузки на данные территории.

Реорганизация нервной системы земноводных связана с их переходом к наземному образу жизни и способствовала общему морфофункциональному прогрессу нервной системы позвоночных животных в ходе их филогенетического развития. Полученные фундаментальные данные о нейрон-глиальных клеточных популяциях головного мозга бесхвостых амфибий могут быть применены в качестве дополнительных сведений по эволюционной нейроморфологии.

Методология и методы исследования.

Дизайн эксперимента и набор используемых в работе методов позволяют получить достоверную информацию о видовой специфичности амфибий на уровне морфологических показателей нейрон-глиальных популяций VI слоя крыши среднего мозга и слоев коры мозжечка, а также спектре изменений морфоцитохимических характеристик популяций нейронов и глии головного мозга земноводных при воздействии антропогенных факторов. Достаточное количество животных дает возможность провести обобщение полученных экспериментальных данных, сформулировать представление о комплексе адаптивных перестроек нервной системы амфибий в зависимости от уровня антропогенной нагрузки на территории южной части Красноярского края. В работе использован комплекс современных и традиционных гистологических, гистохимических, морфометрических и статистических методов, способствующих получению достоверной информации о морфоцитохимической характеристике нейрон-глиальных популяций отделов головного мозга бесхвостых амфибий.

Внедрение результатов в практику. Сведения о морфоцитохимическом состоянии нейронов VI слоя крыши среднего мозга и слоев коры мозжечка земноводных внедрены в лекционные и практические курсы на кафедре биологии с экологией и курсом фармакогнозии ФГБОУ ВО КрасГМУ им. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, по дисциплине «Биология», в разделе «Популяционно-видовой уровень организации живых систем», «Филогенез нервной системы позвоночных животных», «Эволюционная биология. Первые наземные позвоночные», «Происхождение и систематика Земноводных. Организация Бесхвостых Земноводных». На кафедре биологии и экологии ФГБОУ ВО КГПУ им. В.П. Астафьева по дисциплине «Зоология», по темам: «Нервная система и органы чувств», «Основные закономерности воздействия факторов на организм», «Использование позвоночных животных в жизнедеятельности человека».

Научный материал по исследованию влияния антропогенных факторов на территории южной части Красноярского края на нервную систему земноводных внедрен в деятельность ООО «Красноярской экологической лаборатории».

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены на международных конференциях «Экология Южной Сибири и сопредельных территорий» (Абакан, 2008), IV съезде Российского герпетологического общества им. А.М. Никольского «Актуальные вопросы изучения и охраны амфибий и рептилий Северной Евразии» (Казань, 2009), X Конгрессе Международной ассоциации морфологов (Ярославль, 2010), IV Всероссийской научно-практической конференции «Мониторинг природных экосистем» (Пенза, 2010); V съезде Российского герпетологического общества им. А.М. Никольского «Итоги научных исследований и охрана биоразнообразия амфибий и рептилий Северной Евразии: проблемы и перспективы теории и практики» (Минск, 2012); Первой международной молодежной конференции герпетологов России и сопредельных стран (Санкт-Петербург, 2013); XII Конгрессе Международной ассоциации морфологов и VII съезде российского научного медицинского

общества анатомов, гистологов и эмбриологов (Тюмень, 2014); VI съезде Российского герпетологического общества им. А.М. Никольского «Актуальные проблемы изучения и сохранения биоразнообразия земноводных и пресмыкающихся Евразии» (Пушино, 2015).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 15 работ, из которых 5 статей и 2 тезисов в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов и списка использованной литературы. Диссертация изложена на 186 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 41 таблицей и 18 рисунками. Список использованной литературы включает 273 источника, из них 85 на иностранных языках.

Все материалы, представленные в диссертационной работе, получены, обработаны и проанализированы лично автором.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Отлов амфибий для исследования проведен на территории южной части Красноярского края в весенне-летнее время с 2008 по 2011 гг. Забор образцов головного мозга производился в лаборатории на кафедре биологии с экологией и курсом фармакогнозии ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России.

Экспериментальные исследования были одобрены Локальным Этическим комитетом ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России (протокол № 33/2011 от 2011) и проводились в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. № 755), приказом Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 23.08.2010 № 708н г. Москва «Об утверждении правил лабораторной практики», Национальным стандартом РФ ГОСТ Р 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики».

Для исследования использовались все виды бесхвостых земноводных, обитающих на территории южной части Красноярского края (таблица 1). На основании анализа Государственных докладов «О состоянии и охране окружающей среды в Красноярском крае» за 2008 – 2011 гг. и данных о загрязнении воздуха (таблица 2) районы, в которых осуществлялась выборка земноводных, были подразделены на три группы: районы с низким уровнем загрязнения (Абанский, Курагинский – НУЗ); районы с повышенным уровнем загрязнения (Шарыповский, Иланский – ПУЗ); районы с высоким уровнем загрязнения (Канский, Березовский – ВУЗ).

Таблица 1 – Систематическое положение и видовой состав амфибий

Класс	Отряд	Семейство	Род	Вид	№ и название биотопа, район исследования и выборка
Amphibia - Амфибии	Anura – Бесхвостые амфибии	Bufonidae - Жабы	Bufo - Жабы	<i>Bufo bufo</i> Linne, 1758 - серая (обыкновенная) жаба	1. пойма р. Берешь Шарыповский р-н (n = 5)
					2. пойма р. Канзыба Курагинский р-н (n = 7)
		Ranidae - Лягушки	Rana - Лягушки	<i>Rana arvalis</i> <i>Nilsson</i> , 1842 - остромордая лягушка	3. р. Березовка, Березовский р-н (n = 5)
					4. искусственный пр. Канский р-н (n = 5)
					5. пр. Таганщик Абанский р-н (n = 8)
					6. пр. Егоровка Абанский р-н (n = 10)
					7. р. Берешь Шарыповский р-н (n = 9)
					8. пр. п. Шарыпово (n = 10)
					9. пойма р. Берешь Шарыповский р-н (n = 7)
					<i>Rana amurensis</i>

			<i>Boulenger, 1886</i> – сибирская лягушка	= 6)
				11. оз. Кунгул Иланский р-н (n = 8)

Таблица 2 – Значения фоновых концентраций загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных пунктов Красноярского края, мг/м³

Название населенного пункта, района	Взвешенные вещества	Диоксид серы	Оксид углерода	Диоксид азота
1. п. Шарыпово, Шарыповского района	0,31	0,024	3,2	0,054
2. п. Курагино, Курагинского района	0,22	0,025	2,5	0,074
3. с. Березовка, Березовского района	0,8	0,022	3,8	0,11
4. г. Канск, Канского района	0,5	0,12	2,0	0,09
5. п. Абан, Абанского района	0,17	0,015	1,5	0,05
6. г. Иланский, Иланского района	0,2	0,028	1,4	0,03

Примечание: В таблице использованы данные Федеральной службы по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды ФГБУ «Среднесибирского УГМС» Территориального центра по мониторингу загрязнения окружающей среды за 2011 г.

Отлов земноводных осуществлялся по методикам для полевых исследований (Ананьева и др., 1998). Идентификация видов проведена по морфологическим признакам при помощи определителей (Банников и др., 1977; Ананьева и др., 1998; Кузьмин, 2012; Чупров, 2013).

При определении числа особей, необходимого для исследования, использована формула: $n = t \times t / k$, где t – нормированное отклонение, k – коэффициент объема выборки (Автандилов, 1990; Лакин, 1990). Исходя из расчетов количество материала, необходимого для того, чтобы иметь основание сделать определенные выводы для исследования составляет не менее 3 – 5 особей. Определение пола проводилось по наличию у самцов брачных мозолей и резонаторов (у *P. ridibundus*) (Банников и др., 1977). Половозрелость амфибий определяли по состоянию гонад (Ноздрачев, 1994). После воздушно-эфирного наркоза проводилась декапитация амфибий. Головной мозг извлекали и помещали в фиксатор (жидкость Карнуа), затем по общепринятым гистологическим методикам осуществлялась заливка образцов мозга и изготовление серийных срезов толщиной 5 – 6 мкм на санном микротоме «Slide 2002».

Крыша среднего мозга амфибий состоит из поверхностного, центрального и перивентрикулярного слоев. Последние два слоя (центральный и перивентрикулярный) объединяются в так называемое центральное серое вещество, в котором выделяют 9 слоев. В перивентрикулярный слой входят 1 - 6 слои крыши среднего мозга (Терентьев, 1950; Ноздрачев, Поляков, 1994; Андреева, Обухов, 1999). В данной работе изучены эфферентные нейроны VI (наружного зернистого) слоя крыши среднего мозга земноводных, идентичные IV слою эфферентных нейронов среднего мозга костных рыб (Андреева, Обухов, 1999). В коре мозжечка исследованы нейрон-глиальные популяции молекулярного слоя со звездчатыми нейронами (ЗН), слоя грушевидных нейронов с эфферентными клетками Пуркинье (КП) и нейронные популяции зернистого слоя, представленные зернистыми клетками (ЗК).

Для вычисления плотности нейронов и глиоцитов рассчитывалось число клеток, приходящихся на единицу площади стандартной микрометрической сетки, затем производили перерасчет на 1 мм² (Автандилов, 1990). На препаратах морфометрировали по 100 полей зрения на срезах мозжечка и среднего мозга, изготовленных от 5 - 10 амфибий. В VI слое среднего мозга, в молекулярном слое и в слое грушевидных нейронов коры мозжечка подсчитывали плотность свободных (астроцитов и олигодендроцитов) и перинейрональных (сателлитных олигодендроцитов) глиоцитов (Мац, 1994). За сателлиты принимали клетки, примыкающие к нейрону или удаленные от тела нейрона на расстояние, не превышающее диаметр ядра глиоцита (Худоевков, Воронков, 2010; Алексеева и др., 2012; Боголепова и др., 2015; Elson, 2004). Количество глиальных клеток, приходящихся на один нейрон (ГНИ), рассчитывали как соотношение числа глиальных клеток к числу нервных клеток (N_{гл} / N_{нк}).

Для морфометрии препараты срезов мозга, окрашенные тионином по методу Ниссля в модификации И.В. Викторова (1969), фотографировали на микроскопе Olympus BX45 насадкой для фото-видеодокументации Olympus DP25 и пакетом компьютерного программного обеспечения Cell[^]D (объектив $\times 40$). Морфометрию проводили на клетках с сохранной структурой в программах «NIS-Elements D» и «JMicroVision 1.2.7» (Жуков, 2015). Изучены площади (S): тела клетки (S клетки) – St; цитоплазмы (S цитоплазмы) – Sc; ядра (S ядра) – Sj; структурный ядерно-цитоплазматический коэффициент (сЯЦК), отношение S_j / S_c .

В популяциях слоя грушевидных нейронов мозжечка и VI слоя крыши среднего мозга подсчитывали число нейронов с разной степенью хроматофилии цитоплазмы по методике, модифицированной Т.М. Лютиковой (2011). Клетки по степени хроматофилии разделяли на: нормо-, гипо- и гиперхромные, функционирующие в пределах биологической нормы без явлений деструктивных нарушений (Федоров, 2003; Фетисов и др., 2008, Калимуллина, 2012). Фиксировали количество нейронов каждого типа в поле зрения и вычисляли процентное отношение клеток каждого типа к их суммарному количеству.

В зернистом слое оценивали число хроматиновых глыбок в ядрах зернистых клеток (Григорьева, 1987). Анализировали число глыбок в 10 клетках в 10 полях зрения у каждого вида земноводных, расчет производили на 100 клеток от каждой особи. Дифференцировали ЗК на три группы: 1 – с низким содержанием (2 – 3 крупных глыбки); 2 – средним содержанием (от 4 до 7 глыбок средних размеров); 3 – с высоким содержанием (8-9 и более мелких глыбок хроматина).

Для количественного определения общих водонерастворимых белков в цитоплазме и ядрах нейронов слоев коры мозжечка и VI слоя крыши среднего мозга использовали окраску амидочёрным 10 Б (Савоненко, 1995). Определяли суммарное содержание водонерастворимых белков, составляющих основу сухого веса клеточных структур, в единицах оптической плотности (пкг/мкм²) с помощью микроскопа Zeiss Axioskop со встроенной видеокамерой и программным обеспечением (Axio Vision LE Rel. 4.3) в монохроматическом свете при длине волны $\lambda = 620$ нм (100 клеток каждого слоя) (рисунок 1). При работе использованы следующие показатели: Мя - содержание белков в ядре; Мц – содержание белков в цитоплазме; фЯЦК - функциональный ЯЦК (M_j / M_c); Ся - концентрация белков в ядре; Сц - концентрация белков в цитоплазме; рЯЦК - регуляторный ЯЦК (S_j / S_c). Для подсчета показателей Мц и Мя использованы параметры: St, Sj, Sc (Мац, 1994).

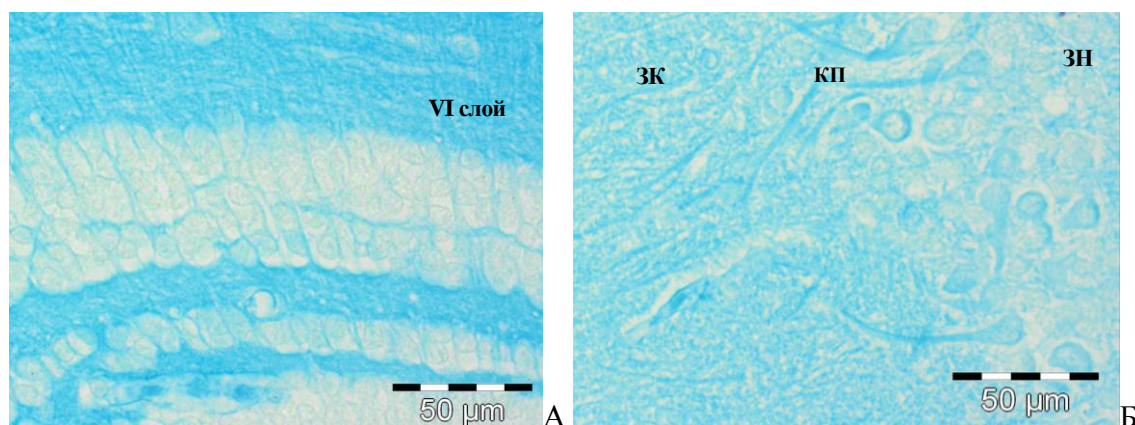


Рисунок 1 – Нейроны VI слоя крыши среднего мозга (А) и коры мозжечка (Б) остромордой лягушки. Окраска амидочёрным 10 Б. ЗН – звездчатые нейроны, КП – клетки Пуркинье, ЗК – зернистые клетки

Цифровой материал обрабатывался в пакете программ “Statistica 6.0” и MS Excel 2003. Для выбора критерия значимости различий проверяли соответствие формы распределения нормальному закону, используя критерий Колмогорова–Смирнова с поправкой Лилиефорца. Общее межгрупповое различие оценивалось при помощи H-критерия Крускала-Уоллиса. Для сравнения показателей в двух группах амфибий одного вида применяли критерий Манна–Уитни (“Statistica 6.0”). Для многогрупповых сравнений амфибий разных видов использовали

непараметрический вариант критерия Ньюмана-Кейлса в программе EXCEL STAT [Малета, 1992; Гланц, 1999]. Различия между сравниваемыми показателями при всех методах считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Статистические данные представлены в виде Me [25%; 75%], где 25 – первый квартиль, 75 – третий квартиль.

Фотографии слоев изученных отделов головного мозга амфибий сделаны на микроскопе Olympus BX45 с насадкой для фото-видеодокументации Olympus (объектив $\times 20$, $\times 40$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные нейрогистологические исследования показали, что нейрон-глиальные популяции VI слоя крыши среднего мозга и слоев коры мозжечка амфибий имеют специфические морфофункциональные особенности, связанные с их видовой принадлежностью.

Характеристика видовой специфичности *B. Bufo* и *R. arvalis* была изучена на популяциях амфибий, обитающих в биотопах с низким уровнем загрязнения. Для амфибий – *P. ridibundus* и *R. amurensis* использовались данные из биотопов с повышенным уровнем загрязнения в силу локального распространения земноводных.

Плотность распределения нейронов в изученных структурах головного мозга амфибий варьирует в диапазоне: от сотен клеток в молекулярном слое, десятков клеток в слое грушевидных нейронов коры мозжечка, нескольких тысяч в VI слое крыши среднего мозга, до десятков тысяч клеток на фиксированную единицу площади 1 мм^2 в зернистом слое коры мозжечка. При этом у *B. Bufo* и *R. amurensis* во всех слоях изученных отделов головного мозга наблюдается высокая плотность распределения нейронов. У *P. ridibundus* и *R. arvalis* средние и низкие значения показателей плотности клеток (рисунок 2).

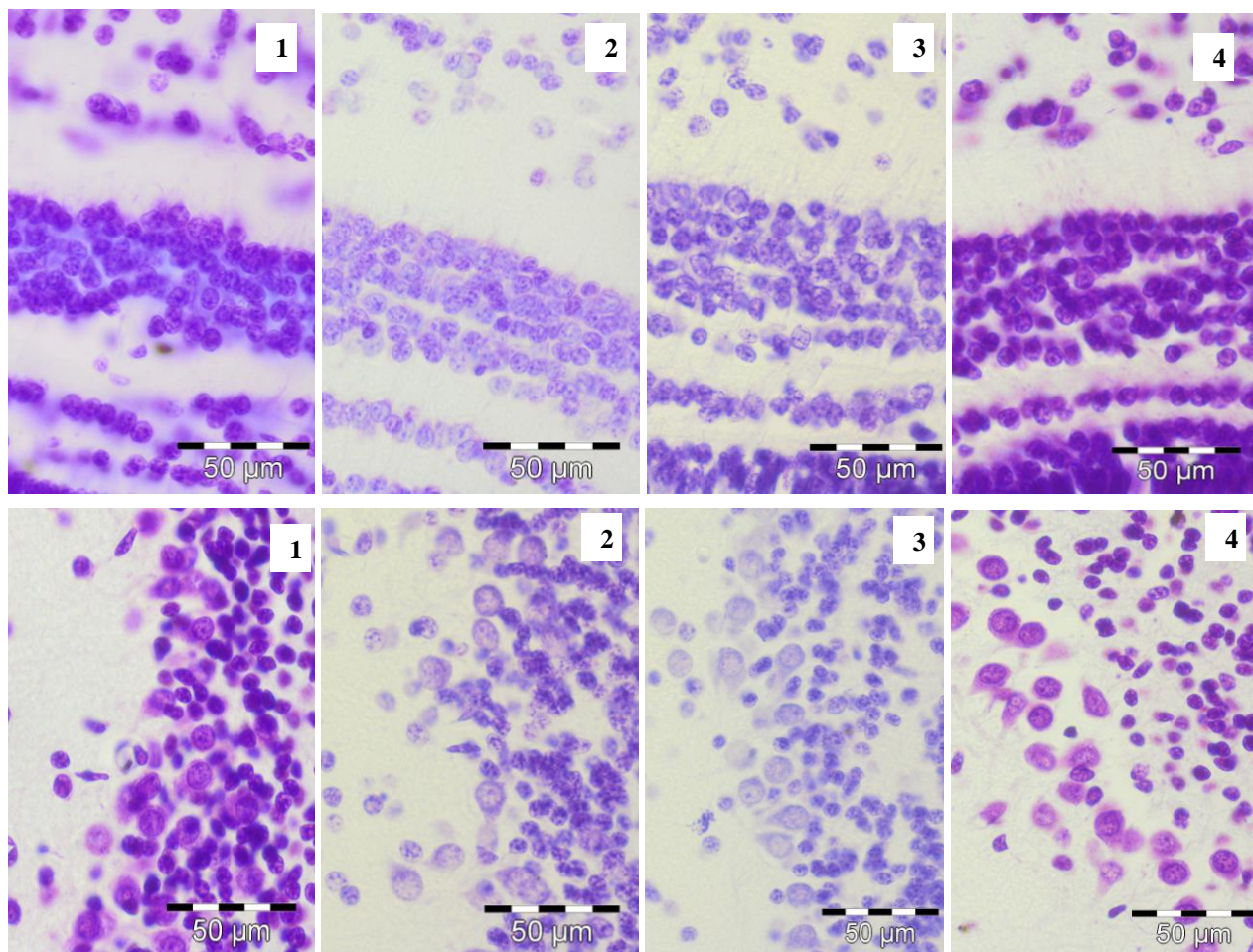


Рисунок 2 – Показатели плотности нейронов VI слоя крыши среднего мозга и слоев коры мозжечка земноводных. 1 - *B. Bufo*, 2 - *R. arvalis*, 3 - *P. ridibundus*, 4 - *R. amurensis*

У разных видов амфибий плотность распределения свободных и сателлитных глиоцитов обладала особенностями: *B. bufo* имела средние значения плотности глиоцитов. *R. arvalis* характеризовались средними и низкими значениями плотности глии. *P. ridibundus* и *R. amurensis* имели высокую и среднюю плотность глии (рисунок 3). Высокие значения показателей ГНИ в изученных слоях мозга у *P. ridibundus* (биотоп 8-9) свидетельствуют об усилении пролиферации и миграционной активности глиоцитов у интродуктивного вида для территории южной части Красноярского края. Значения ГНИ сателлитных глиоцитов у отдельно взятых видов не имели явного увеличения показателя.

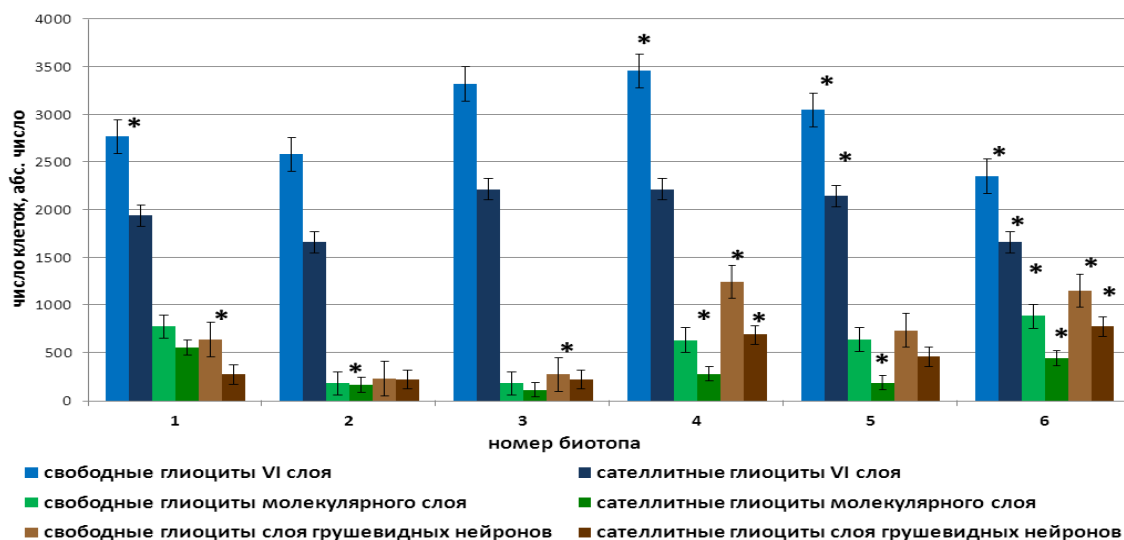
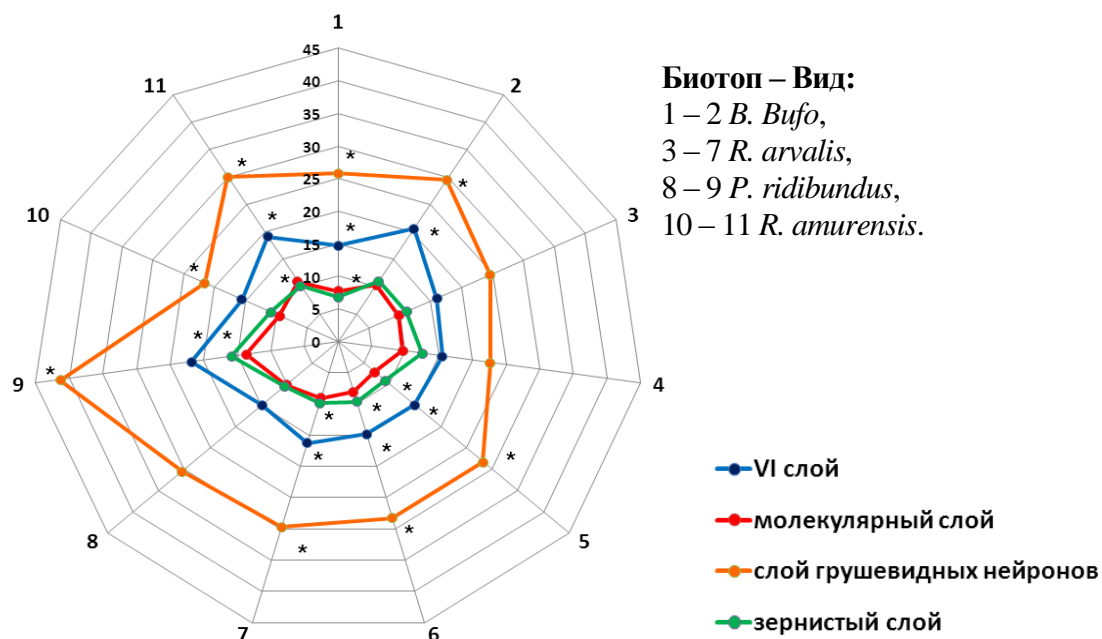


Рисунок 3 – Плотность распределения свободных и сателлитных глиоцитов в клеточных популяциях отделов головного мозга земноводных изученных биотопов на 1 мм². 1 - *B. Bufo*, 2, 3 - *R. arvalis*, 4, 5 - *P. ridibundus*, 6 - *R. amurensis*. * - значимость различий, критерий Ньюмана-Кейлса, $p < 0,05$.

В исследуемой выборке земноводных у всех изученных видов наименьшие значения Ст имели ЗН молекулярного слоя (от 7,8 до 13,7 мкм²) и ЗК зернистого слоя (от 6,9 до 15,9 мкм²) коры мозжечка. Большие значения Ст у нейронов VI слоя (от 14,8 до 21,8 мкм²) крыши среднего мозга. Самыми крупными были КП слоя грушевидных нейронов (от 21,6 до 41,3 мкм²) коры мозжечка (рисунок 4).



Биотоп – Вид:
 1 – 2 *B. Bufo*,
 3 – 7 *R. arvalis*,
 8 – 9 *P. ridibundus*,
 10 – 11 *R. amurensis*.

Рисунок 4 – Показатели площади тела (St) нейронов VI слоя крыши среднего мозга и слоев коры мозжечка земноводных изученных биотопов, мкм²

* - значимость различий, критерий Ньюмана-Кейлса, $p < 0,05$.

При этом в изученных отделах мозга земноводных выявлена видовая специфичность: у *P. ridibundus* самые высокие показатели площади клеток, средние значения показателей площади тела клеток имеют *B. bufo* и *R. amurensis*, *R. arvalis* характеризуется малыми размерами клеток.

Гетерогенность популяций нейронов в изученных отделах головного мозга имеет разброс: у *B. bufo* (биотопы 1 - 2), *P. ridibundus* (биотопы 8 - 9) и *R. amurensis* (биотопы 10 - 11) выявлено варьирование данного показателя в широком диапазоне, что дает материал для естественного отбора и свидетельствует о возможности компенсаторно-приспособительных реакций. У *R. arvalis* (биотопы 3 - 7) диапазон варьирования признака имеет меньшие пределы с высокой степенью однородности мелких клеток, что отражает стабильное функционирование организмов и связано с оптимальной адаптацией к среде фонового вида амфибий (рисунок 4).

У земноводных в популяциях кариохромных нейронов молекулярного, зернистого слоев коры мозжечка и VI слоя среднего мозга Ся преобладала над Сц. Цитохромные КП имели крупные ядра с широким ободком цитоплазмы и отростками, их Сц до 70% превышала значения Ся. У *P. ridibundus* наибольшие значения Ся и Сц, у *B. bufo*, и *R. amurensis* средние значения показателей, у *R. arvalis* низкие значения Ся и Сц, что соответствует данным по площади тела нейронов (рисунок 5). Значения сЯЦК больше 1 в кариохромных клетках VI слоя крыши среднего мозга, в молекулярном и зернистом слоях мозжечка. В КП слоя грушевидных нейронов показатель варьировал от 0,4 до 1, отражая специфические взаимоотношения между структурами клеток.

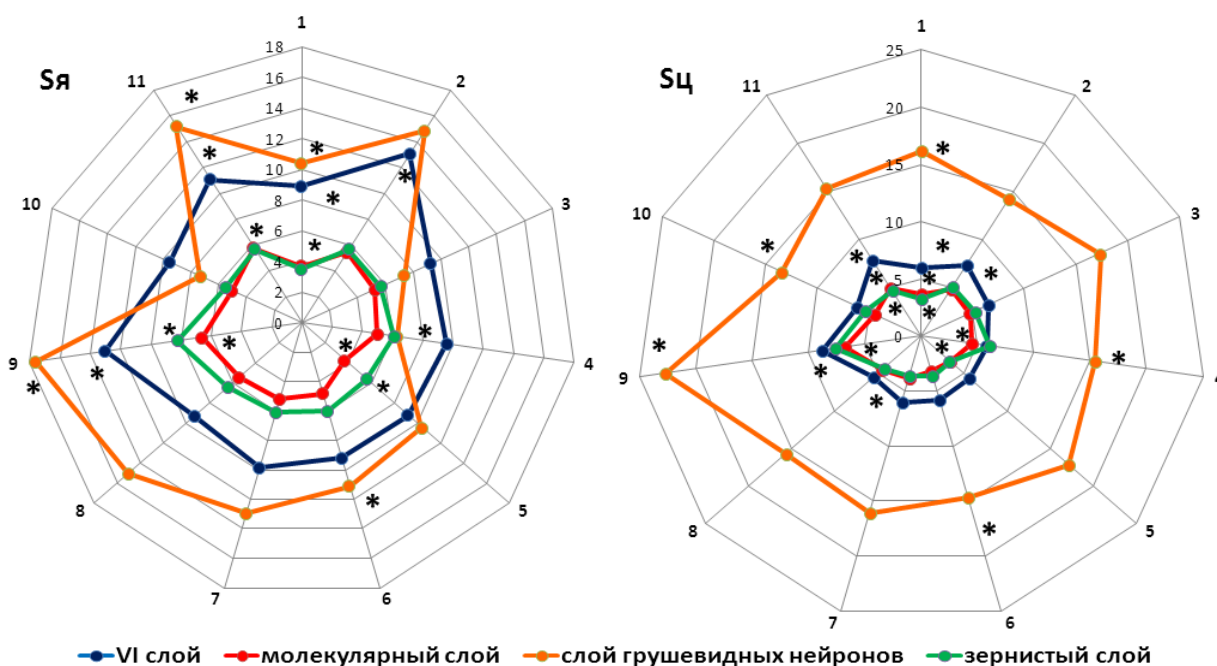


Рисунок 5 – Показатели площади ядра (Ся) и цитоплазмы (Сц) нейронов VI слоя крыши среднего мозга и слоев коры мозжечка земноводных изученных биотопов, мкм².

Биотоп – Вид: 1 – 2 *B. Bufo*, 3 – 7 *R. arvalis*, 8 – 9 *P. ridibundus*, 10 – 11 *R. amurensis*.

* - значимость различий, критерий Ньюмана-Кейлса, $p < 0,05$.

Мелкоклеточные популяции свидетельствуют об адаптации нейронов, обеспечивающих функционирование мозжечка, координацию и передвижение амфибий в наземно-водной среде. Гетерогенность морфологических характеристик нейронных популяций мозга земноводных свидетельствует о значительных потенциальных возможностях на популяционно-клеточном уровне для воздействия факторов отбора.

Полученные данные по хромотофилии нейронов VI слоя крыши среднего мозга и слоя грушевидных нейронов коры мозжечка земноводных изученных видов не выявили достоверных видовых особенностей показателей.

Цитохимические показатели нейронов VI слоя крыши среднего мозга и коры мозжечка амфибий отразили наличие видовых особенностей. По показателям концентрации белков в цитоплазме и ядрах нейронов выявлено: для *B. bufo* характерна средняя и высокая, *R. arvalis* – высокая, *P. ridibundus* средняя и низкая, *R. amurensis* средняя концентрация общих водонерастворимых белков (таблица 3, 4).

Таблица 3 – Состояние фонда общих водонерастворимых белков в нейронных популяциях VI слоя крыши среднего мозга земноводных изученных биотопов

Показатель Биотоп	Сц	Ся	рЯЦК	Мц	Мя	фЯЦК
	Ме [25%; 75%], пкг/мкм ²					
1 - <i>B. bufo</i> пойма р. Берешь Шарыповский р-н, ПУЗ	0,5 [0,5; 0,6]	0,2 [0,2; 0,3]	0,5 [0,4; 0,6]	3,1 [2,6; 3,6]	2,4 [1,6; 3,2]	0,7 [0,6; 1,0]
2 - <i>B. bufo</i> пойма р. Канзыба Курагинский р-н, НУЗ	0,5 [0,5; 0,5] ¹	0,2 [0,2; 0,3]	0,5 [0,4; 0,6]	3,6 [3,1; 4,0] ¹	2,7 [2,0; 3,6] ¹	0,8 [0,6; 1,0]
3 - <i>R. arvalis</i> р. Березовка, Березовский р-н, ВУЗ	0,5 [0,5; 0,5] ¹	0,3 [0,2; 0,4] ^{1,2}	0,6 [0,5; 0,7] ^{1,2}	3,5 [2,7; 3,9] ¹	2,9 [2,1; 3,7] ¹	0,9 [0,7; 1,0] ^{1,2}
4 - <i>R. arvalis</i> искусств. пруд Канский р-н, ВУЗ	0,5 [0,5; 0,6] ²	0,4 [0,3; 0,4] ¹⁻³	0,7 [0,6; 0,8] ¹⁻³	3,1 [2,7; 3,6] ^{2,3}	3,5 [2,9; 4,5] ¹⁻³	1,1 [1,0; 1,4] ¹⁻³
5 - <i>R. arvalis</i> пруд Татанщик Абанский р-н, НУЗ	0,5 [0,4; 0,5] ¹⁻⁴	0,2 [0,1; 0,2] ¹⁻⁴	0,4 [0,2; 0,5] ¹⁻⁴	2,7 [2,4; 3,2] ¹⁻⁴	1,5 [1,1; 2,2] ¹⁻⁴	0,6 [0,4; 0,8] ¹⁻⁴
6 - <i>R. arvalis</i> пруд Егоровка Абанский р-н, НУЗ	0,5 [0,4; 0,5] ^{1,3,4}	0,3 [0,2; 0,4] ^{1,2,4,5}	0,7 [0,6; 0,8] ^{1-3,5}	2,8 [2,3; 3,1] ¹⁻⁴	2,3 [1,9; 3,0] ²⁻⁵	0,6 [0,4; 0,9] ¹⁻⁴
7 - <i>R. arvalis</i> пойма р. Берешь Шарыповский р-н, ПУЗ	0,5 [0,5; 0,6] ^{2,3,5,6}	0,3 [0,3; 0,3] ¹⁻⁶	0,6 [0,4; 0,7] ^{1,2,4-6}	3,0 [2,6; 3,4] ^{2,3,5}	3,0 [2,6; 3,4] ^{1,2,4-6}	0,9 [0,8; 1,2] ^{1,2,4-6}
8 - <i>P. ridibundus</i> пруд п. Шарыпово, ПУЗ	0,5 [0,5; 0,5] ^{1,4-7}	0,2 [0,2; 0,3] ³⁻⁷	0,5 [0,3; 0,6] ³⁻⁷	2,8 [2,3; 3,2] ¹⁻⁴	2,0 [1,5; 2,5] ¹⁻⁷	0,8 [0,6; 1,0] ³⁻⁷
9 - <i>P. ridibundus</i> пойма р. Берешь Шарыповский р-н, ПУЗ	0,5 [0,4; 0,5] ^{1-4,7,8}	0,3 [0,2; 0,4] ^{1,2,4,5,7,8}	0,7 [0,5; 0,8] ^{1-3,5,7,8}	4,0 [3,5; 4,7] ¹⁻⁸	3,9 [2,9; 5,0] ¹⁻⁸	1,0 [0,7; 1,2] ¹⁻⁸
10 - <i>R. amurensis</i> искусств. пр. Канский р-н, ВУЗ	0,5 [0,4; 0,5] ^{1-4,7-9}	0,2 [0,2; 0,3] ^{3-7,9}	0,6 [0,4; 0,6] ^{1,2,4-6,8,9}	2,9 [2,6; 3,3] ^{2,3,5,9}	2,5 [1,7; 3,2] ^{2-5,7-9}	0,8 [0,7; 1,0] ^{1,4-9}
11 - <i>R. amurensis</i> оз. Кунгул Иланский р-н, ПУЗ	0,5 [0,4; 0,5] ^{1-4,7-9}	0,3 [0,2; 0,4] ^{1,2,4,5,7,8,10}	0,6 [0,5; 0,8] ^{1,2,4-6,8-10}	3,7 [3,2; 4,4] ¹⁻¹⁰	3,2 [2,5; 4,3] ¹⁻¹⁰	0,9 [0,6; 1,0] ^{1,4-9}

Примечание: Мя – содержание общих водонерастворимых белков в ядре; Мц – содержание белков в цитоплазме; фЯЦК – функциональный ЯЦК (Мя / Мц); Ся – концентрация общих водонерастворимых белков в ядре; Сц – концентрация белков в цитоплазме; рЯЦК – регуляторный ЯЦК (Ся / Сц); значимость различий по сравнению с показателями особей биотопов 1 – 10 (критерий Ньюмана-Кейлса, $p < 0,05$). В таблице индексы, указанные цифрами с 1 по 10, обозначают наличие статистической значимости между биотопом, у которого стоит индекс и биотопом, на который он указывает.

Максимальные значения концентрации белков в цитоплазме и ядрах нейронов VI слоя крыши среднего мозга определены у *R. arvalis* (биотоп 6), *P. ridibundus* (биотоп 9) и *R. amurensis* (биотоп 11), в ЗН молекулярного слоя у *R. amurensis* (биотоп 11), в КП и ЗК у *R. arvalis* (биотоп 6), а минимальные значения характерны для *B. bufo* (биотоп 2), *R. arvalis* (биотоп 6) и *P. ridibundus* (биотоп 9) по слоям соответственно.

По содержанию белков в цитоплазме и ядрах нейронов обнаружено: у *B. bufo* и *R. amurensis* среднее; *R. arvalis* и *P. ridibundus* низкое и высокое содержание общих водонерастворимых белков. Максимальные значения содержания белков в цитоплазме и ядрах нейронов VI слоя крыши среднего мозга и слоев коры мозжечка выявлены у *P. ridibundus* (биотоп 9), а минимальные значения обнаружены в нейронах VI слоя у *R. arvalis* (биотоп 5), в ЗН и КП у *R. arvalis* (биотоп 6), в ЗК у *B. bufo* (биотоп 1) и *R. arvalis* (биотопы 5, 6). В эфферентных нейронах содержание белковых веществ в цитоплазме и ядре выше, чем в ассоциативных. Значения показателей содержания белков в цитоплазме и ядре снижаются в ряду функционально различающихся нейронов: КП > ЗК > ЗН, по концентрации КП > ЗН > ЗК. Сопоставление данных по слоям коры мозжечка амфибий позволило выявить высокий белковый фонд в цитоплазме и ядрах эфферентных КП слоя грушевидных нейронов во всех анализируемых биотопах в сравнении с ассоциативными ЗН и ЗК молекулярного и зернистого слоев (таблица 3, 4).

Таблица 4 – Состояние фонда общих водонерастворимых белков в нейронных популяциях слоя грушевидных нейронов коры мозжечка земноводных изученных биотопов

Биотоп	Показатель					
	Сц	Ся	рЯЦК	Мц	Мя	фЯЦК
Me [25%; 75%], пкг/мкм ²						
1 - <i>B. bufo</i> пойма р. Берешь Шарыповский р-н, ПУЗ	0,6 [0,6; 0,6]	0,5 [0,4; 0,5]	0,8 [0,7; 0,9]	9,5 [8,4; 10,4]	4,8 [3,6; 6,4]	0,5 [0,4; 0,7]
2 - <i>B. bufo</i> пойма р. Канзыба Курагинский р-н, НУЗ	0,5 [0,5; 0,5] ¹	0,3 [0,3; 0,4] ¹	0,7 [0,6; 0,8] ¹	6,9 [6,2; 8,8] ¹	4,9 [3,5; 5,8]	0,7 [0,4; 0,9] ¹
3 - <i>R. arvalis</i> р. Березовка, Березовский р-н, ВУЗ	0,6 [0,5; 0,6] ²	0,4 [0,4; 0,5] ^{1,2}	0,7 [0,7; 0,8] ^{1,2}	9,8 [7,4; 11,7] ²	3,8 [2,8; 5,4] ^{1,2}	0,4 [0,3; 0,6] ^{1,2}
4 - <i>R. arvalis</i> искусств. пруд Канский р-н, ВУЗ	0,6 [0,5; 0,6] ^{1,2}	0,5 [0,4; 0,5] ^{2,3}	0,8 [0,7; 0,9] ^{2,3}	8,9 [6,8; 10,9] ^{2,3}	6,5 [4,2; 7,9] ¹⁻³	0,7 [0,4; 1,1] ^{1,3}
5 - <i>R. arvalis</i> пруд Таганщик Абанский р-н, НУЗ	0,5 [0,5; 0,6] ¹⁻⁴	0,3 [0,2; 0,4] ^{1,3,4}	0,6 [0,5; 0,7] ¹⁻⁴	7,9 [6,1; 11,5] ¹⁻⁴	3,1 [2,4; 4,5] ^{1,2,4}	0,4 [0,3; 0,6] ^{1,2,4}
6 - <i>R. arvalis</i> пруд Егоровка Абанский р-н, НУЗ	0,6 [0,5; 0,6] ^{2,4,5}	0,5 [0,4; 0,6] ¹⁻⁵	0,9 [0,8; 1,0] ¹⁻⁵	8,2 [6,5; 11,1] ¹⁻³	2,8 [2,1; 3,4] ¹⁻⁵	0,3 [0,2; 0,5] ¹⁻⁵
7 - <i>R. arvalis</i> пойма р. Берешь Шарыповский р-н, ПУЗ	0,6 [0,5; 0,6] ^{1-3,5,6}	0,4 [0,3; 0,4] ^{1,3,4,6}	0,6 [0,5; 0,7] ^{1-4,6}	8,5 [6,7; 12,8] ¹⁻³	3,8 [2,8; 5,4] ^{1,2,4,6}	0,4 [0,2; 0,5] ^{1,2,4,6}
8 - <i>P. ridibundus</i> пруд п. Шарыпово, ПУЗ	0,5 [0,5; 0,6] ^{1-3,6}	0,4 [0,3; 0,5] ^{1,2,4-7}	0,7 [0,7; 0,8] ^{2,4,5-7}	8,3 [7,2; 10,3] ¹⁻³	6,2 [5,1; 7,6] ^{1-3,5-7}	0,7 [0,5; 0,9] ^{1,3,5-7}
9 - <i>P. ridibundus</i> пойма р. Берешь Шарыповский р-н, ПУЗ	0,5 [0,4; 0,5] ^{1,3-8}	0,3 [0,3; 0,4] ^{1-4,6-8}	0,6 [0,6; 0,7] ^{1-4,6,8}	11,6 [9,6; 13,3] ¹⁻⁸	5,4 [4,0; 6,9] ¹⁻⁸	0,5 [0,4; 0,6] ²⁻⁸
10 - <i>R. amurensis</i> искусств. пр. Канский р-н, ВУЗ	0,6 [0,5; 0,6] ^{1-3,5,6} ₉	0,4 [0,3; 0,5] ^{1,2,4-7} ₉	0,8 [0,7; 0,8] ^{1,2,4-7,9}	7,4 [6,0; 8,9] ^{1,3,4,6-9}	3,1 [2,2; 4,5] ^{1,2,4,6,8} ₉	0,4 [0,3; 0,6] ^{1,2,4} _{6,7,9}
11 - <i>R. amurensis</i> оз. Кунгул Иланский р-н, ПУЗ	0,5 [0,5; 0,6] ^{1-4,6,7,9,10}	0,4 [0,3; 0,4] ^{1,3,4,6,8-10}	0,7 [0,6; 0,7] ^{1,3-10}	8,5 [6,9; 9,5] ^{1-3,9,10}	5,3 [4,2; 6,4] ^{3-8,10}	0,6 [0,5; 0,8] ¹⁻¹⁰

Примечание: значимость различий по сравнению с показателями особей биотопов 1 - 10 (критерий Ньюмана-Кейлса, $p < 0,05$).

Нейрон-глиальные популяции VI слоя крыши среднего мозга и слоев коры мозжечка у амфибий из районов с НУЗ (Абанский и Курагинский) имеют средние значения плотности нейронов и глиоцитов. У амфибий из районов с повышенным (Шарыповский, Иланский) и высоким (Канском и Березовском) уровнем загрязнения в VI слое крыши среднего мозга и слоях коры мозжечка наблюдается увеличение плотности нейронов, свободных и сателлитных глиоцитов (таблица 5, 6). В VI слое самая низкая плотность клеток выявлена у

R. arvalis (биотоп 5 и 6 с НУЗ) и невысокие значения получены у *P. ridibundus* (биотоп 8 и 9 с ПУЗ). У амфибий наблюдается перераспределение плотности нейронов с тенденцией к уплотнению крупноклеточных популяций (биотопы 1, 2, 3, 4, 10). Максимальная плотность клеток выявлена у *B. bufo* (биотоп 1 с ПУЗ) (таблица 5).

Таблица 5 – Показатели плотности нейронов и глиоцитов VI слоя крыши среднего мозга земноводных изученных биотопов на фиксированной площади (1 мм²)

Показатель Биотоп	ρ нейронов	ρ глии своб.	ρ глии сат.	ГНИ своб.	ГНИ сат.
	Ме [25%; 75%], абс. число				
1 - <i>B. bufo</i> пойма р. Берешь Шарыповский р-н, ПУЗ	9143,9 [8312,6; 9698,1]	3879,2 [3325,1; 4433,4]	2493,8 [2216,7; 2770,9]	0,4 [0,4; 0,5]	0,3 [0,3; 0,3]
2 - <i>B. bufo</i> пойма р. Канзыба Курагинский р-н, НУЗ	8617,4 [7943,2; 9421,0] ¹	2770,9 [2216,7; 3325,1] ¹	1939,6 [1662,5; 2216,7] ¹	0,3 [0,3; 0,3] ¹	0,2 [0,2; 0,3] ¹
3 - <i>R. arvalis</i> р. Березовка, Березовский р-н, ВУЗ	8589,7 [7758,5; 9975,2]	4433,4 [3602,1; 4987,6] ^{1,2}	2863,2 [2493,8; 3325,1] ^{1,2}	0,5 [0,4; 0,6] ^{1,2}	0,3 [0,3; 0,4] ^{1,2}
4 - <i>R. arvalis</i> искусств. пруд Канский р-н, ВУЗ	7943,2 [7019,6; 9421,0] ^{1,2,3}	4064,0 [3325,1; 4710,5] ²	2689,6 [2216,7; 2955,6] ²	0,5 [0,4; 0,6] ^{1,2}	0,3 [0,3; 0,4] ^{1,2}
5 - <i>R. arvalis</i> пруд Таганщик Абанский р-н, НУЗ	5403,2 [4710,5; 6095,9] ¹⁻⁴	2586,2 [2216,7; 3140,3] ^{1,3,4}	1662,5 [1385,4; 2216,7] ¹⁻⁴	0,5 [0,4; 0,6] ^{1,2,4}	0,3 [0,3; 0,4] ^{1,2}
6 - <i>R. arvalis</i> пруд Егоровка Абанский р-н, НУЗ	5911,2 [5541,8; 6650,1] ¹⁻⁵	3325,1 [2770,9; 4156,3] ¹⁻⁵	2216,7 [1847,3; 2493,8] ¹⁻⁵	0,6 [0,5; 0,7] ¹⁻⁵	0,4 [0,3; 0,4] ¹⁻⁵
7 - <i>R. arvalis</i> пойма р. Берешь Шарыповский р-н, ПУЗ	7204,3 [6373,0; 7758,5] ¹⁻⁶	3463,6 [2493,8; 4433,4] ¹⁻⁵	2432,3 [2216,7; 2798,0] ^{2,3,5}	0,5 [0,4; 0,6] ^{1,2,6}	0,3 [0,3; 0,4] ^{1,2,6}
8 - <i>P. ridibundus</i> пруд п. Шарыпово, ПУЗ	6650,1 [5818,9; 8312,6] ¹⁻⁶	3463,6 [2770,9; 4433,4] ¹⁻⁵	2216,7 [1847,3; 2493,8] ¹⁻⁵	0,5 [0,4; 0,7] ^{1,2,6}	0,3 [0,3; 0,4] ^{1,2,6}
9 - <i>P. ridibundus</i> пойма р. Берешь Шарыповский р-н, ПУЗ	6580,8 [5911,2; 7758,5] ¹⁻⁷	3048,0 [2632,3; 3602,1] ¹⁻⁸	2147,4 [1773,4; 2493,8] ^{1-5,7}	0,5 [0,4; 0,5] ^{2-5,6,8}	0,3 [0,3; 0,4] ^{1,2,6}
10 - <i>R. amurensis</i> искусств. пр. Канский р-н, ВУЗ	8728,3 [7204,3; 9605,7] ^{1,5-9}	3602,1 [2770,9; 4433,4] ^{1-5,9}	2216,7 [1662,5; 2586,2] ¹⁻⁵	0,4 [0,4; 0,5] ²⁻⁹	0,3 [0,2; 0,3] ¹⁻⁹
11 - <i>R. amurensis</i> оз. Кунгул Иланский р-н, ПУЗ	7619,9 [6650,1; 8589,7] ¹⁻¹⁰	2355,2 [1662,5; 2770,9] ¹⁻¹⁰	1662,5 [1330,0; 1939,6] ^{1-4,6-10}	0,3 [0,3; 0,4] ¹⁻¹⁰	0,2 [0,2; 0,3] ^{1,3-10}

Примечание: ρ - плотность; своб. – свободная глия; сат. – сателлитная глия; ГНИ – глио-нейрональный индекс; значимость различий по сравнению с показателями особей биотопов 1 - 10 (критерий Ньюмана-Кейлса, p < 0,05).

Наибольшая плотность глиоцитов в VI слое крыши среднего мозга выявлена у *R. arvalis* (биотоп 3 с высоким уровнем загрязнения). Минимальная плотность свободных глиоцитов характерна для *R. amurensis* (биотоп 11 с повышенным уровнем загрязнения), а сателлитных глиоцитов для *R. arvalis* (биотоп 5 с низким уровнем загрязнения) и *R. amurensis* (биотоп 11 с повышенным уровнем загрязнения). У разных видов амфибий прослеживается взаимосвязь между плотностью нервных клеток и плотностью распределения глии: чем выше плотность нейронов, тем интенсивнее пролиферация и миграция глиоцитов. Показатели ГНИ своб. у амфибий в изученных биотопах варьировали в диапазоне значений: 0,3 – 0,6, а ГНИ сат. 0,2 – 0,4, с наибольшими значениями показателей у амфибий из биотопов с ПУЗ и ВУЗ (таблица 5).

Показатели плотности ЗН в молекулярном слое коры мозжечка варьируют от 339,2 [307,7; 399,4] клеток у *R. arvalis* (биотоп 6 с низким уровнем загрязнения), до 1370,3 [1156,3; 1602,1] у *B. bufo* (биотоп 1 с повышенным уровнем загрязнения). У амфибий наблюдается тенденция к уплотнению крупноклеточных популяций у *B. bufo* (биотопы 1, 2), *R. arvalis* (биотопы 4) и *R. amurensis* (биотопы 10, 11). У *R. arvalis* (биотопы 3, 5, 6, 7) и *P. ridibundus* (биотопы 8, 9) показатели плотности варьировали в диапазоне: от 339 до 646 клеток на 1 мм².

Наибольшая плотность глиоцитов в молекулярном слое коры мозжечка наблюдается у *B. bufo* (биотоп 1 с ПУЗ). Минимальные значения плотности глиоцитов характерны для *R. arvalis* из биотопов с НУЗ: свободных глиоцитов - биотопы 5 и 6, а сателлитных – 6 биотоп. В биотопах с ПУЗ и ВУЗ: 1 (*B. bufo*), 4 (*R. arvalis*) и 10, 11 (*R. amurensis*) наблюдается увеличение количества сателлитной глии, усиление пролиферации и миграции глиоцитов к нейронам. Показатели ГНИ своб. у амфибий изученных биотопов варьировали от 0,4 (биотоп 7) до 1,3 (биотоп 8). Максимальные значения ГНИ своб. принадлежат *P. ridibundus* (биотопы 8 и 9 с ПУЗ), что отражает процесс адаптации ЗН у вида, осваивающего новые территории. Показатели ГНИ сат. у амфибий варьировали от 0,3 (биотопы 3, 6) до 0,7 (биотопы 1, 10). При этом в биотопе 1 ГНИ сат. преобладал над ГНИ своб., а в биотопах 5, 7 и 10 ГНИ своб. примерно равен ГНИ сат., что отражает подключение компенсаторных механизмов на популяционно-клеточном уровне.

Плотность КП слоя грушевидных нейронов мозжечка изученных видов амфибий имеет разброс: от 712,5 [554,2; 923,6] клеток (биотоп 2 с низким уровнем загрязнения) до 2826,3 [2549,2; 3114,2] (биотоп 1 с ПУЗ). Выявлена зависимость между Ст клеток и их плотностью: чем крупнее размеры КП, тем меньше их плотность и наоборот, плотность мелких КП увеличивается, что связано с оптимальным выполнением функций эфферентными КП слоя грушевидных нейронов (таблица 4, 8). Наибольшая плотность глиоцитов слоя грушевидных нейронов у *B. bufo* биотоп 1 с ПУЗ. Минимальные значения плотности глиоцитов характерны для *R. arvalis* (биотопы 5, 6 с НУЗ). У амфибий биотопов 1 – 4, 8 – 11 увеличивается число глиоцитов, что указывает на включение компенсаторных механизмов в биотопах с повышенным воздействием антропогенного фактора. Показатели ГНИ своб. в слое грушевидных нейронов варьируют от 0,2 (биотоп 6) до 1,0 (биотопы 2, 8), а ГНИ сат. имеет диапазон: 0,2 (биотопы 5, 6) – 0,6 (биотопы 8, 9). Показатели ГНИ своб. и ГНИ сат. в биотопах 6 и 7 имеют сходные значения, что указывает на усиление трофического и компенсаторного воздействия глиоцитов (таблица 6).

Таблица 6 – Показатели плотности нейронов и глиоцитов слоя грушевидных нейронов крыши мозжечка земноводных изученных биотопов на фиксированной площади (1 мм²)

Биотоп	Показатель				
	ρ нейронов	ρ глии своб.	ρ глии сат.	ГНИ своб.	ГНИ сат.
	Me [25%; 75%], абс. число				
1 - <i>B. bufo</i> пойма р. Берешь Шарьповский р-н, ПУЗ	2863,2 [2216,7; 3325,1]	1662,5 [1385,4; 2216,7]	1325,1 [1048,0; 1602,1]	0,6 [0,5; 0,8]	0,5 [0,4; 0,6]
2 - <i>B. bufo</i> пойма р. Канзыба Курагинский р-н, НУЗ	712,5 [554,2; 923,6] ¹	639,9 [484,9; 923,6] ¹	277,1 [184,7; 369,5] ¹	1,0 [0,7; 1,4] ¹	0,4 [0,3; 0,5] ¹
3 - <i>R. arvalis</i> р. Березовка, Березовский р-н, ВУЗ	1787,2 [1108,4; 2105,9] ^{1,2}	727,4 [554,2; 969,8] ¹	554,2 [415,6; 738,9] ^{1,2}	0,5 [0,3; 0,7] ^{1,2}	0,3 [0,2; 0,6] ^{1,2}
4 - <i>R. arvalis</i> искусств. пруд Канский р-н, ВУЗ	1477,8 [1108,4; 1801,1] ¹⁻³	923,6 [738,9; 1108,4] ¹⁻³	554,2 [415,6; 738,9] ^{1,2}	0,7 [0,5; 0,8] ¹⁻³	0,4 [0,3; 0,5] ^{1,3}
5 - <i>R. arvalis</i> пруд Татанщик Абанский р-н, НУЗ	1108,4 [886,7; 1330,0] ¹⁻⁴	227,1 [184,7; 415,6] ¹⁻⁴	221,7 [138,5; 369,5] ^{1,3,4}	0,3 [0,2; 0,4] ¹⁻⁴	0,2 [0,1; 0,3] ¹⁻⁴
6 - <i>R. arvalis</i> пруд Егоровка Абанский р-н, НУЗ	1154,5 [831,3; 1662,5] ¹⁻⁴	277,1 [138,5; 369,5] ¹⁻⁴	221,7 [138,5; 369,5] ^{1,3,4}	0,2 [0,1; 0,3] ¹⁻⁵	0,2 [0,1; 0,3] ¹⁻⁴
7 - <i>R. arvalis</i> пойма р. Берешь Шарьповский р-н, ПУЗ	1246,9 [961,1; 1662,5] ¹⁻⁵	484,7 [410,7; 555,2] ¹⁻⁶	415,6 [372,3; 554,2] ¹⁻⁵	0,4 [0,3; 0,5] ¹⁻⁶	0,4 [0,3; 0,5] ^{1,3,5,6}
8 - <i>P. ridibundus</i> пруд п. Шарьпово, ПУЗ	1108,4 [738,9; 1662,5] ^{1-4,7}	1246,9 [1108,4; 1477,8] ¹⁻⁷	692,7 [554,2; 923,6] ¹⁻⁷	1,0 [0,7; 1,7] ^{1,3-7}	0,6 [0,4; 1,0] ¹⁻⁷
9 - <i>P. ridibundus</i> пойма р. Берешь Шарьповский р-н, ПУЗ	725,7 [475,0; 1108,4] ^{1,3-8}	735,4 [401,4; 979,7] ^{1-2,4-8}	461,8 [316,7; 554,2] ^{1,2,5-8}	0,9 [0,7; 1,2] ¹⁻⁸	0,6 [0,4; 1,0] ¹⁻⁷
10 - <i>R. amurensis</i> искусств. пр. Канский р-н, ВУЗ	2466,1 [1979,2; 2955,6] ¹⁻⁹	1108,4 [831,3; 1477,8] ¹⁻⁹	859,0 [554,2; 1108,4] ¹⁻⁹	0,5 [0,3; 0,6] ¹⁻⁹	0,4 [0,3; 0,5] ^{1,3-6,8,9}

11 - <i>R. amurensis</i> оз. Кунгул Иланский р-н, ПУЗ	2826,3 [2549,2; 3114,2] ²⁻¹⁰	1154,5 [886,7; 1662,5] ¹⁻¹⁰	775,8 [649,5; 1108,4] ¹⁻⁹	0,4 [0,3; 0,6] ^{1-6,8-10}	0,3 [0,2; 0,3] ^{1,2,4-10}
--	--	---	---	---------------------------------------	---------------------------------------

Примечание: значимость различий по сравнению с показателями особей биотопов 1 – 10 (критерий Ньюмана-Кейлса, $p < 0,05$).

Плотность нейронов зернистого слоя коры мозжечка у изученных видов земноводных находится в диапазоне от 19 до 43 тысяч клеток на фиксированной площади (1 мм²). Наибольшая плотность ЗК у *B. bufo* (биотопы 1, 2 - 36344,7 [31957,5; 40824,3] и 43890,8 [37494,0; 50540,9] соответственно) и у *R. amurensis* (биотопы 10, 11 - 33946,4 [28342,2; 36991,3] и 38127,3 [34358,9; 39235,7] соответственно), что отражает видовые особенности амфибий. Наименьшая плотность ЗК выявлена у *R. arvalis* (биотоп 5 с НУЗ - 19881,1 [17733,6; 22167,1]). У остромордых лягушек изученных биотопов наблюдается варьирование плотности нейронов в диапазоне от 19881,1 до 30590,5 тысяч. Высокие значения плотности ЗК выявлены у *P. ridibundus* (биотопы 8 и 9 с ПУЗ - 29238,1 [25729,6; 33712,4] и 29246,7 [24910,2; 32169,9] соответственно).

Нейрональные популяции VI слоя крыши среднего мозга и слоев коры мозжечка у амфибий, обитающих в районах с низким уровнем загрязнения (Абанский и Курагинский), имеют средние значения показателей площади клеток, ядра и цитоплазмы. У амфибий, обитающих в районах с повышенным (Шарыповский, Иланский) и высоким (Канский и Березовский) уровнями загрязнения, наблюдается достоверное увеличение площади тела нейронов (St), их ядер (Sя) и цитоплазмы (Sц) (таблица 7, 8).

Таблица 7 – Морфологические характеристики нейронных популяций VI слоя крыши среднего мозга изученных видов земноводных

Биотоп	Показатель	St	Sя	Sц	сЯЦК
		Me [25%; 75%], мкм ²			
1 - <i>B. bufo</i> пойма р. Берешь Шарыповский р-н, ПУЗ		14,8 [13,0; 17,7]	8,9 [7,9; 11,3]	6,0 [5,2; 6,6]	1,6 [1,5; 1,7]
2 - <i>B. bufo</i> пойма р. Канзыба Курагинский р-н, НУЗ		20,7 [17,4; 23,6] ₁	13,1 [10,7; 15,4] ₁	7,4 [6,5; 8,2] ¹	1,7 [1,6; 2,0] ¹
3 - <i>R. arvalis</i> р. Березовка, Березовский р-н, ВУЗ		16,0 [14,2; 18,5] _{1,2}	9,3 [8,1; 11,3] ²	6,5 [5,8; 7,4] _{1,2}	1,4 [1,3; 1,6] _{1,2}
4 - <i>R. arvalis</i> искусств. пруд Канский р-н, ВУЗ		15,5 [13,6; 17,3] ₂	9,6 [8,4; 11,0] ²	5,8 [5,3; 6,5] ₃ ²	1,6 [1,5; 1,8] ₁₋₃
5 - <i>R. arvalis</i> пруд Татанщик Абанский р-н, НУЗ		14,9 [12,9; 17,0] ₁₋₄	9,2 [7,9; 10,4] ^{1,2}	5,6 [5,0; 6,5] _{2,3}	1,6 [1,4; 1,8] _{2,3}
6 - <i>R. arvalis</i> пруд Егоровка Абанский р-н, НУЗ		14,8 [12,2; 17,2] ₁₋₄	9,2 [7,2; 10,8] ^{1,2}	5,8 [5,1; 6,5] _{2,3}	1,6 [1,4; 1,7] _{2,3}
7 - <i>R. arvalis</i> пойма р. Берешь Шарыповский р-н, ПУЗ		16,2 [13,4; 18,8] _{1,2,4-6}	9,8 [8,2; 12,5] ^{1,2}	6,0 [5,1; 6,7] _{2,3}	1,7 [1,5; 2,0] _{1,3-6}
8 - <i>P. ridibundus</i> пруд п. Шарыпово, ПУЗ		14,9 [12,9; 16,5] _{2,3,5-7}	9,3 [7,6; 10,6] ^{2,7}	5,5 [5,0; 6,0] ₁₋₇	1,6 [1,5; 1,8] _{2,3,7}
9 - <i>P. ridibundus</i> пойма р. Берешь Шарыповский р-н, ПУЗ		21,8 [18,8; 25,3] ₁₋₈	13,0 [11,3; 15,2] _{1,3-8}	8,8 [7,8; 10,1] ₁₋₈	1,5 [1,3; 1,7] ₁₋₈
10 - <i>R. amurensis</i> искусств. пр. Канский р-н, ВУЗ		15,6 [13,2; 18,8] _{2,4-6,8,9}	9,5 [7,9; 12,0] ^{2,9}	6,2 [5,4; 6,9] _{2,3,8,9}	1,6 [1,4; 1,8] _{2,3,7,9}
11 - <i>R. amurensis</i> оз. Кунгул Иланский р-н, ПУЗ		19,2 [16,3; 22,0] ¹⁻¹⁰	11,1 [9,2; 12,9] ₁₋₁₀	7,9 [6,8; 9,3] ₁₋₁₀	1,4 [1,2; 1,6] _{1,2,4-10}

Примечание: St – площадь тела нервной клетки; Sц – цитоплазмы, Sя – ядра; сЯЦК – структурный ядерно-цитоплазматический коэффициент; значимость различий по сравнению с показателями особей биотопов 1 - 10 (критерий Ньюмана-Кейлса, $p < 0,05$).

В популяциях VI слоя крыши среднего мозга минимальные размеры St клеток выявлены у *B. bufo* (биотоп 1 с повышенным уровнем загрязнения) и *R. arvalis* (биотоп 6 с низким уровнем загрязнения). Максимальные показатели St с высокой гетерогенностью выявлены у *P. ridibundus* (биотоп 9 с повышенным уровнем загрязнения). Мелкие клетки отмечались в популяции нейроцитов у *R. arvalis* (биотоп 5 с низким уровнем загрязнения) и *P. ridibundus* (биотоп 8 с повышенным уровнем загрязнения) (таблица 7).

В морфологических параметрах ЗН молекулярного слоя коры мозжечка выявлен разброс показателей: от 7 до 14 мкм², при этом минимальная St выявлена у *R. arvalis* (биотоп 5 с низким уровнем загрязнения), максимальные у особей *P. ridibundus* (биотоп 9 с повышенным уровнем загрязнения). Наличие в популяциях *R. arvalis* мелкоклеточных ЗН свидетельствует о наличии возможностей для действия факторов отбора.

Минимальные значения St КП выявлены у амфибий из биотопов с ВУЗ: *R. amurensis* (биотоп 10) и *R. arvalis* (биотоп 4), а максимальные у *P. ridibundus* – биотоп 9 с ПУЗ. Самые высокие показатели Ся и Сц у *P. ridibundus* (биотоп 9 с ПУЗ) и у *R. arvalis* (биотоп 4 с ВУЗ). Самые низкие значения Сц и Ся обнаружены у *R. amurensis* (биотоп 10 с ВУЗ) (таблица 8).

Таблица 8 – Морфологические характеристики нейронных популяций слоя грушевидных нейронов коры мозжечка земноводных изученных биотопов

Биотоп	Показатель	St	Ся	Сц	сЯЦК
	Me [25%; 75%], мкм ²				
1 - <i>B. bufo</i> пойма р. Берешь Шарьповский р-н, ПУЗ		25,9 [23,1; 30,2]	10,4 [7,3; 13,5]	16,2 [14,1; 17,8]	0,7 [0,5; 0,9]
2 - <i>B. bufo</i> пойма р. Канзыба Курагинский р-н, НУЗ		29,6 [25,1; 33,3] ¹	14,9 [11,3; 18,1] ₁	14,2 [11,9; 16,9] ₁	1,0 [0,7; 1,3] ¹
3 - <i>R. arvalis</i> р. Березовка, Березовский р-н, ВУЗ		24,6 [20,4; 29,8] ²	7,4 [5,7; 9,5] ^{1,2}	17,3 [13,4; 19,6] _{1,2}	0,5 [0,4; 0,6] _{1,2}
4 - <i>R. arvalis</i> искусств. пруд Канский р-н, ВУЗ		22,6 [18,7; 27,0] ₁₋₃	6,3 [4,6; 7,9] ¹⁻³	15,4 [12,6; 19,8] ₁₋₃	0,4 [0,3; 0,5] ₁₋₃
5 - <i>R. arvalis</i> пруд Татанщик Абанский р-н, НУЗ		28,2 [23,1; 35,0] _{1,3,4}	10,4 [7,9; 13,5] ₂₋₄	17,1 [13,6; 24,9] _{1,2,4}	0,6 [0,4; 0,8] ₂₋₄
6 - <i>R. arvalis</i> пруд Егоровка Абанский р-н, НУЗ		28,2 [21,5; 33,9] _{3,4}	11,1 [8,3; 14,7] ₁₋₅	14,7 [11,1; 19,7] _{13,5}	0,8 [0,6; 1,0] ₁₋₅
7 - <i>R. arvalis</i> пойма р. Берешь Шарьповский р-н, ПУЗ		29,6 [27,1; 34,3] _{3,4}	12,9 [11,5; 15,9] ₁₋₆	16,1 [14,1; 18,9] ₂₋₅	0,8 [0,7; 1,0] ₁₋₅
8 - <i>P. ridibundus</i> пруд п. Шарьпово, ПУЗ		30,4 [27,2; 34,5] _{1,3-7}	15,0 [12,5; 17,2] _{1,3-7}	15,7 [13,3; 18,8] _{2,3,5}	1,0 [0,8; 1,2] _{1,3-7}
9 - <i>P. ridibundus</i> пойма р. Берешь Шарьповский р-н, ПУЗ		41,3 [36,8; 45,3] ₁₋₈	17,6 [13,1; 21,5] ₁₋₈	22,7 [19,6; 27,6] ₁₋₈	0,8 [0,6; 1,0] _{1-5,8}
10 - <i>R. amurensis</i> искусств. пр. Канский р-н, ВУЗ		21,6 [18,1; 27,8] _{1-3,5-9}	7,3 [5,7; 10,2] _{1,2,4-9}	13,5 [11,1; 16,1] _{1,3-5,7-9}	0,5 [0,4; 0,7] _{1,2,4-9}
11 - <i>R. amurensis</i> оз. Кунгул Иланский р-н, ПУЗ		30,1 [27,3; 35,3] _{1,3-7,9,10}	15,2 [12,9; 17,9] _{1,3-7,9,10}	15,4 [13,6; 18,0] _{2,5,9,10}	0,9 [0,8; 1,2] _{1,3-7,9,10}

Примечание: значимость различий по сравнению с показателями особей биотопов 1 - 10 (критерий Ньюмана-Кейлса, $p < 0,05$).

В биотопе 1 с ПУЗ у *B. bufo* самые мелкие ЗК с минимальными значениями Ся и Сц. Минимальные показатели Сц имеют ЗК у *R. arvalis* (биотоп 5 с НУЗ). У озерной лягушки (*P. ridibundus*) 9 биотопа – с ПУЗ выявлены максимальные показатели Ся и Сц среди сравниваемых видов амфибий в ЗК зернистого слоя коры мозжечка.

Интенсивность синтетических процессов и функциональной нагрузки в нейронах отражает степень конденсированности хроматина в ядре. В популяциях ЗК зернистого слоя коры мозжечка число глыбок хроматина охватывает диапазон от низкого (2-3 крупных глыбки) до высокого (10 и более мелких глыбок). Большинство ЗК имели умеренно-среднее и средне-высокое количество глыбок (от 4 до 7), обеспечивая оптимальные процессы экспрессии генов. У *B. bufo* (биотоп 2), *R. arvalis* (биотопы 5 – 7) из районов НУЗ, популяция имела 10 - 20% высокоактивных ЗК с низким (2 – 3) числом глыбок хроматина. У *P. ridibundus* (биотопы 8, 9) и *R. amurensis* (биотопы 10, 11) из районов ПУЗ и ВУЗ в популяции ЗК выявлено 30% клеток с высоким количеством (8 – 9) мелких глыбок хроматина в ядре. Наличие ЗК с большим числом мелких глыбок хроматина свидетельствует о плотной упаковке ДНК и снижении функциональных возможностей (рисунок 6).

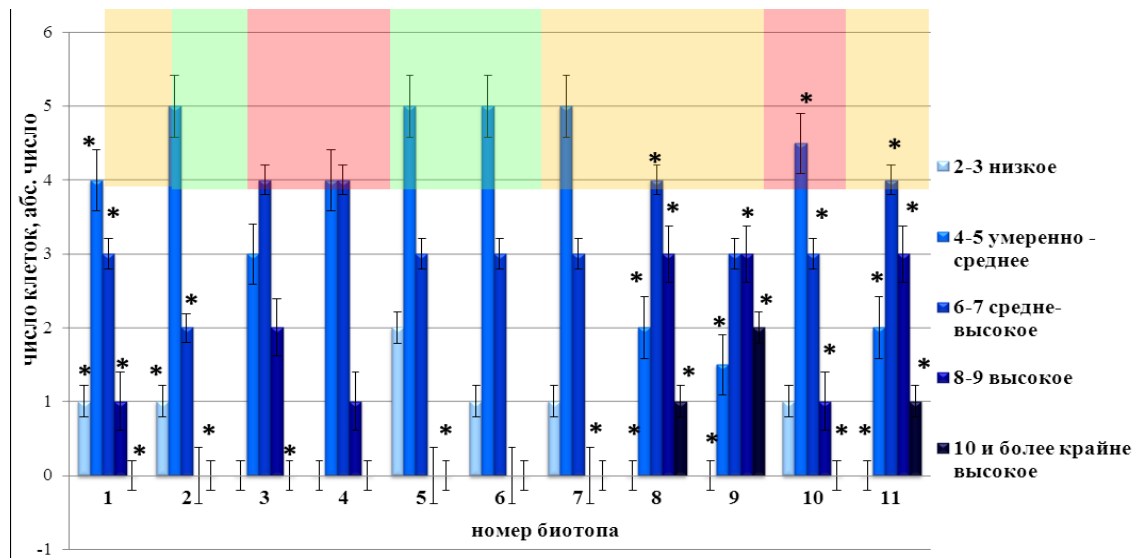


Рисунок 6 – Соотношение зернистых клеток в зернистом слое коры мозжечка амфибий изученных биотопов по содержанию глыбок хроматина Me [25%; 75%]. - районы НУЗ, - районы ПУЗ, - районы ВУЗ. * - значимость различий, критерий Ньюмана-Кейлса, $p < 0,05$.

Выявленная вариабельность цитохимических показателей нейронов VI слоя крыши среднего мозга и коры мозжечка земноводных связана с видовой принадлежностью и уровнем антропогенной нагрузки территорий южной части Красноярского края.

Вещество Ниссля является индикатором для оценки прижизненного функционального состояния нейронов. В популяциях VI слоя крыши среднего мозга и слоя грушевидных нейронов коры мозжечка по степени хроматофилии выявлено: до 70% нормохромных нейронов (в КП до 93%), 15% гиперхромных (в КП до 20%) и 25% гипохромных нервных клеток (рисунок 7).

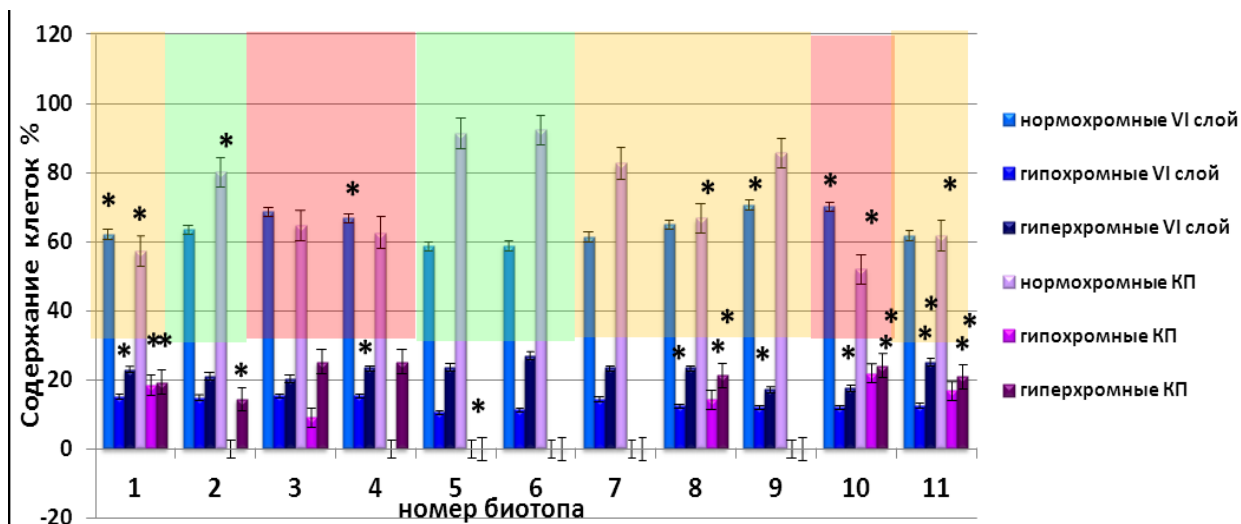


Рисунок 7 – Соотношение клеток VI слоя крыши среднего мозга и слоя грушевидных нейронов коры мозжечка земноводных по степени хроматофилии цитоплазмы, Me [25%; 75%],

■ - районы НУЗ, ■ - районы ПУЗ, ■ - районы ВУЗ. * - значимость различий, критерий Ньюмана-Кейлса, $p < 0,05$.

В популяциях нейронов VI слоя крыши среднего мозга наблюдалось наименьшее число нормохромных клеток у *R. arvalis* из биотопов с ВУЗ (биотопы 3 и 4). Минимальное количество гипохромных клеток выявлено у *R. arvalis* (биотоп 5 с НУЗ), а максимальное – у *R. arvalis* (биотоп 4 с ВУЗ). Наиболее высокий процент гиперхромных нейронов выявлен у *R. arvalis* (биотоп 6 с НУЗ). У особей биотопов 1, 4, 5, 7 и 8 содержание гиперхромных клеток составило 23%. У *P. ridibundus* (биотоп 9 с ПУЗ) выявлено самое низкое содержание гиперхромных нейронов, что рассматривается, как резерв для активации клеток при функциональных нагрузках. В популяциях КП наибольший процент нормохромных клеток выявлен у *R. arvalis* биотоп 5 с НУЗ, а наименьший у *R. amurensis* биотоп 10 с ВУЗ (рисунок 7)

Наибольшее число гиперхромных нейронов, находящихся в состоянии покоя, выявлено в популяциях КП у *R. arvalis* (биотопы 3 и 4 с высоким уровнем загрязнения), в сравнении с биотопами с низким уровнем загрязнения (биотопы 5, 6) (рисунок 8).

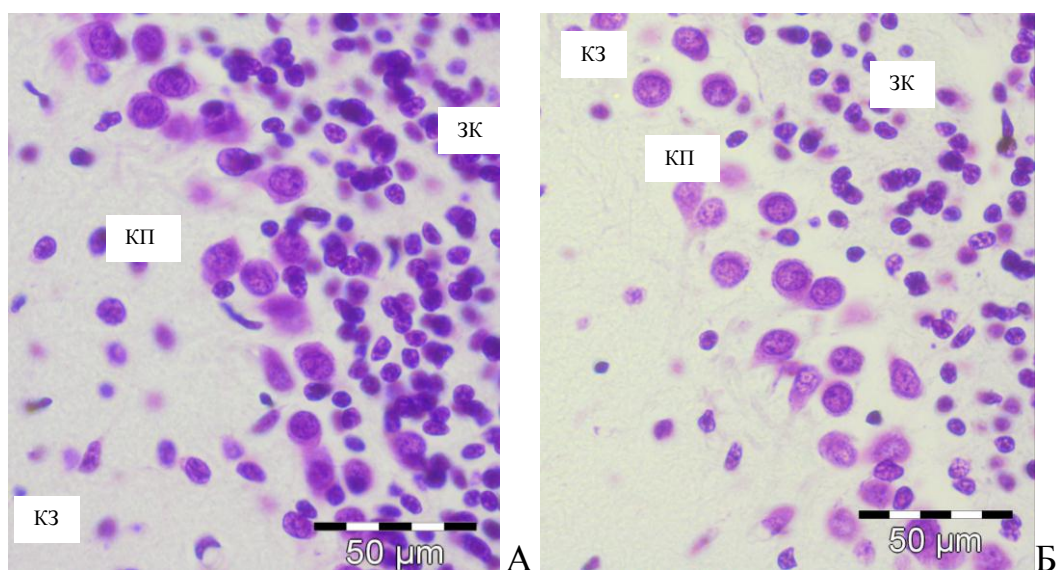


Рисунок 8 – Мозжечок остромордой лягушки. Окраска по Ниссля, А – *R. arvalis* р. Березовка, Березовский район - ВУЗ, Б – *R. arvalis* пруд Татаншик Абанский район - НУЗ

Максимальное число гипохромных КП выявлено у *R. amurensis* (биотоп 10 с высоким уровнем загрязнения). Наличие в VI слое крыши среднего мозга и слое грушевидных нейронов коры мозжечка достаточно высокого процентного соотношения гиперхромных и низкого гипохромных нейронов – эволюционно закрепленное приспособление, обеспечивающее условия для поддержания стабильности метаболических процессов в наземно-водной среде обитания.

Исследование нейронов VI слоя крыши среднего мозга и слоев коры мозжечка у разных видов земноводных выявило существенные различия в содержании белковых веществ (таблица 3, 4). Средние значения Сц нейронов VI слоя во всех биотопах практически идентичны и превышают значения Ся. У амфибий биотопов 3, 6, 7, 9, 11 $S_c > S_y$ в 1,7 раза, что отражает оптимальное функционирование нейронов VI слоя (таблица 3).

У земноводных биотопов 1, 2, 5, 8, 10 выявлена высокая Сц по сравнению с Ся (в 2,5 раза), что отражает высокую функциональную активность нейронов и их биосинтетических процессов. Максимальные показатели Ся выявлены в нейронах у *R. arvalis* биотопа 4 с высоким уровнем загрязнения, что отражает повышенную активность нейронов при низкой реализации белкового фонда. Значения рЯЦК у особей всех биотопов варьируют от 0,4 (биотоп 5) до 0,7 (биотопы 4, 6, 9) (таблица 3).

Концентрация белков в цитоплазме нейронов преобладает над их концентрацией в ядрах, при их более высоких параметрах, что свидетельствует о снижении пластического обмена в нейронах VI слоя. У *R. arvalis* биотопа 4 с высоким уровнем загрязнения в цитоплазме клеток выявлено меньшее содержание белков, чем в ядре, что свидетельствует о накоплении белков нейронами. У особей биотопов 7 и 9 с повышенным уровнем загрязнения содержание белков в ядрах и цитоплазме нейронов имеет практически идентичные значения. У *P. ridibundus* биотопа 9 наблюдаются процессы активного синтеза и использования белка, дальнейшее длительное возбуждение клеток может привести к деструктивным процессам. У *R. arvalis* биотопа 5 с низким уровнем загрязнения показатели Мц и Мя самые низкие, что отражает снижение биосинтеза белка и пластического обмена в нейронах. У земноводных биотопов 2, 3, 9 и 11 концентрация белков в нейронах средняя при их высоком содержании, что отражает повышенную активность нейронов при низкой реализации белкового фонда. Амфибии биотопа 4 с высоким уровнем загрязнения имеют высокие показатели Ся и Сц при высоких значениях Мя, что отражает трансформационные перестройки белков, либо их пассивное накопление. У амфибий биотопов 1, 8 и 10 (с повышенным и высоким уровнем загрязнения) показатели Сц высокие, Ся низкие при среднем Мц и низком Мя. Высокие значения фЯЦК (0,6 – 1,0) связаны с превышением содержания белков в цитоплазме нейронов по сравнению с ядром. В популяциях VI слоя Сц клеток выше, чем Ся; показатели Мц имеют разброс от небольших (2,7) до высоких (4,0) значений; показатель Мя клеток находится в диапазоне: 1,5 - 3,9 пкг/мкм² (таблица 3).

Для нейронов молекулярного слоя коры мозжечка средние значения Сц ЗН во всех биотопах варьируют в диапазоне от 0,5 до 0,6 пкг/мкм² и превышают значения Ся. У амфибий биотопов 2, 5 – 10 $S_c > S_y$ в 1,7 раза, что отражает оптимальное функционирование нейронов с преобладанием процессов синтеза белков над их использованием. У особей биотопов 1 и 3 показатель Сц $> S_y$ в 1,5 раза, что указывает на повышенную активность нейронов при сниженной реализации белкового фонда. Значения рЯЦК (S_y / S_c) варьируют от 0,5 (биотопы 2, 5, 8) до 0,8 пкг/мкм² (биотопы 4, 11). Такое значение показателей обусловлено преобладанием Сц над Ся карихромных ЗН и свидетельствует об оптимизации биосинтеза белков в ядрах клеток и пластического обмена в нейронах молекулярного слоя.

У амфибий в ЗН показатели Мц выше, чем Мя, что необходимо для нормализации метаболических процессов в ответ на воздействие факторов среды. Наибольшее значение Мц у *B. bufo* (биотоп 2 с низким уровнем загрязнения, $M_c > M_y$ в 2,1 раза) и у особей *P. ridibundus* (биотопы 8, 9 с повышенным уровнем загрязнения, $M_c > M_y$ в 1,7 раза), что отражает интенсивный белковый синтез в цитоплазме нейронов. Высокие значения фЯЦК (0,5 – 0,9) у амфибий связаны с весомым превышением содержания белков в цитоплазме нейронов по сравнению с содержанием белков в ядре.

В эфферентных КП слоя грушевидных нейронов выявлено преобладание концентрации и содержания белков в цитоплазме над аналогичными показателями в ядрах нейронов. В цитоплазме КП Сц превышает Ся от 1,2 раза у *B. Bufo* (биотоп 1) и *R. arvalis* (биотоп 4), до 1,7 раза у *B. Bufo* (биотоп 2), *R. arvalis* (биотоп 5) и *P. ridibundus* (биотоп 9). У амфибий в цитоплазме и ядрах КП выявлена умеренная концентрация белков при высоких значениях содержания белков и крупных размерах клеток, что подразумевает высокую функциональную нагрузку и связано с активным транспортом белков из цитоплазмы клеток в аксон (таблица 4).

Содержание белков в цитоплазме КП превышает их содержание в ядрах от 1,4 раза (*R. arvalis* – биотоп 4 с высоким уровнем загрязнения), до 2,9 раз (*R. arvalis* – биотоп 6 с низким уровнем загрязнения), что свидетельствует о биосинтетической активности нейронов и интенсивном использовании белка клетками. Значения рЯЦК КП варьировали от 0,6 до 0,9, при этом максимальные значения принадлежат *R. arvalis* (биотоп 6 с низким уровнем загрязнения) и отражают повышение содержания белков в ядрах КП слоя грушевидных нейронов и превалирование накопления белков в клетках при сниженной его реализации. В КП фЯЦК (Мя / МЦ) отражает преобладание Ся нейронов у земноводных 2 (*B. bufo*), 4 (*R. arvalis*) и 8 (*P. ridibundus*) биотопов и накопления биосинтетических продуктов (таблица 4).

У амфибий в ЗК зернистого слоя коры мозжечка концентрация белков средняя при их достаточно высоком содержании, что отражает повышенную активность нейронов при сниженной реализации белкового фонда. У *B. bufo* (биотоп 1) концентрация белков в ядре и цитоплазме низкая при среднем содержании белков в цитоплазме и низком – в ядре, что связано с высокой функциональной нагрузкой ЗК у особей, испытывающих действие факторов среды в биотопах с повышенным уровнем загрязнения. В зернистом слое Сц > Ся в 1,7 раза у особей всех биотопов, кроме 4 и 7. В данном слое рЯЦК имеет диапазон от 0,5 (биотоп 2) до 0,8 (биотопы 4, 10). У *R. arvalis* (биотопы 3, 7 с высоким и повышенным уровнем загрязнения) ЗК имеют показатели Мя > Мц, при средних значениях Сц и Ся, и размеров клеток, что отражает трансформационные перестройки внутри белковых молекул, либо процесс пассивного накопления белков в клетках. В ЗК биотопа 2 Мц нейронов превышает Мя в 1,8 раза, обеспечивая их оптимальное функционирование. В ЗК фЯЦК имеет диапазон: 0,6 (биотоп 2) – 1,2 (биотоп 7). Такие значения показателя свидетельствуют об изменении работы ЗК зернистого слоя в сторону накопления в них белковых веществ.

На основе полученных морфоцитохимических данных можно сделать заключение, что на уровне нейронных популяций VI слоя крыши среднего мозга и слоев коры мозжечка амфибий наряду с общими закономерностями морфоцитохимической организации интегративных структур имеются особенности, проявляющиеся у представителей разных видов земноводных. Для нейронных популяций коры мозжечка и крыши среднего мозга представителей разных видов амфибий в соответствии с морфофункциональными особенностями их клеточного состава свойственна определенная структурная организация клеточных компонентов, ядерно-цитоплазматические отношения, тинкториальная гетерогенность и уровень белкового фонда клеток.

Сопоставление морфоцитохимических параметров нейрон-глиальных популяций у земноводных разных видов выявляет морфоцитохимическую специфику, обусловленную обитанием амфибий на трансформированных территориях. В биотопах с повышенным и высоким уровнем загрязнения наблюдается изменение параметров площади нервных клеток, увеличение плотности распределения нейронов и глиоцитов, повышение числа гипо- и гиперхромных клеток, снижение концентрации и содержания в цитоплазме и ядрах нейронов общих водонерастворимых белков.

Выявленный полиморфизм морфоцитохимических характеристик нейронных популяций изученных отделов мозга амфибий является результатом действия факторов отбора, закрепляющих адаптации к обитанию земноводных в биотопах южной части Красноярского края с разной степенью воздействия антропогенных факторов.

Выводы:

1. Выявлены видовые особенности морфологических параметров нейрон-глиальных клеточных популяций головного мозга (крыши среднего мозга и коры мозжечка) земноводных: представители вида *B. bufo* имеют средние значения площади тела клеток, высокие и средние значения плотности распределения нейронов и глиоцитов. *R. arvalis* характеризуется малыми размерами клеток, меньшей плотностью нейронов и глии. У *P. ridibundus* наибольшая площадь клеток и средняя плотность нейронов и глиоцитов. *R. amurensis* отличается средними значениями площади и плотности распределения нейронов, средней и высокой плотностью глиоцитов.

2. Выявлены видовые особенности цитохимических показателей нейронов VI слоя крыши среднего мозга и коры мозжечка амфибий: для *B. bufo* и *R. amurensis* характерно среднее; *R. arvalis* и *P. ridibundus* низкое и высокое содержание общих водонерастворимых белков в нервных клетках.

3. Морфоцитохимические характеристики нейронных популяций VI слоя крыши среднего мозга и слоев коры мозжечка амфибий по качественным и количественным параметрам наиболее полно характеризуют степень антропогенной трансформации биоценозов южной части Красноярского края, связаны с адаптацией к среде обитания и рассматриваются как варианты компенсаторно-приспособительных перестроек на популяционно-клеточном уровне.

4. Выявлен спектр морфоцитохимических изменений нейрон-глиальных популяций головного мозга амфибий при воздействии негативных факторов среды: увеличение плотности распределения нейронов и глиоцитов, увеличение площади нервных клеток, изменение числа гипо- и гиперхромных клеток, снижение концентрации и содержания в цитоплазме и ядрах нейронов общих водонерастворимых белков.

5. Нейрон-глиальные популяции VI слоя крыши среднего мозга и слоя грушевидных нейронов коры мозжечка у земноводных, обитающих в районах с низким уровнем загрязнения (Абанский и Курагинский), имеют среднюю плотность распределения нейронов (5911,2 [5541,8; 6650,1]; 1108 [886,7; 1330,0]), свободных (2770,9 [2216,7; 3325,1]; 227,1 [184,7; 415,6]) и сателлитных (1939,6 [1662,5; 2216,7]; 221,7 [138,5; 369,5]) глиоцитов, средние значения площади нейронов (14,9 [12,9; 17,0] мкм²; 28,2 [23,1; 35,0] мкм²), количества нормо-, гипо- и гиперхромных нейронов, содержания и концентрации в нервных клетках общих водонерастворимых белков.

6. У амфибий из районов (Шарыповский, Иланский) с повышенным уровнем загрязнения в изучаемых отделах мозга наблюдаются морфоцитохимические перестройки нейрон-глиальных популяций: повышение плотности распределения нервных клеток и глиоцитов, увеличение площади нейронов, уменьшение количества нормо- и гипохромных клеток в VI слое, но увеличение их в слое грушевидных нейронов, увеличение числа гиперхромных клеток, уменьшение содержания и концентрации в нервных клетках общих водонерастворимых белков.

7. В районах с высоким (Канский и Березовский) уровнем загрязнения у амфибий наблюдается дальнейшее повышение плотности распределения нейронов и глиоцитов, в VI слое крыши среднего мозга увеличение площади нейронов, но уменьшение ее в слое грушевидных нейронов коры мозжечка, дальнейшее уменьшение числа нормохромных нервных клеток, уменьшение числа гипохромных клеток в VI слое, но увеличение их в слое грушевидных нейронов, дальнейшее увеличение числа гиперхромных клеток и снижение в нейронах белкового фонда.

Практические рекомендации:

1. Материалы диссертации могут использоваться в лекционно-практических курсах по биологии, зоологии, экологии и биогеографии для студентов биологических и медицинских специальностей вузов Красноярского края в рамках реализации национально-регионального компонента образовательных стандартов.

2. Включить в систему биомониторинга морфоцитохимические характеристики нейрон-глиальных популяций VI слоя крыши среднего мозга и слоев коры мозжечка бесхвостых земноводных и рекомендовать их природоохранным организациям (Роспотребнадзору, Ростехнадзору) для биодиагностики уровня антропогенной трансформации биотопов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи и тезисы в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК РФ

1. Орлянская Т.Я. Морфологический анализ клеточных популяций мозжечка *Rana ridibunda*, обитающей на урбанизированных территориях Красноярского края / Т.Я. Орлянская, Л.Н. Афанаскина // Морфология: X Конгресс Международной ассоциации морфологов, Ярославль. – 2010. – Том 137, № 4. – С. 149.
2. Афанаскина Л.Н. Сравнительная характеристика клеточных субпопуляций мозжечка серой жабы (*Bufo bufo*) и остромордой лягушки (*Rana arvalis*) в условиях антропогенного воздействия / Л.Н. Афанаскина // Вестник КГПУ. – 2012. - № 1 (19). - С.387-391.
3. Афанаскина Л.Н. Сравнительная характеристика клеточных субпопуляций мозжечка серой жабы (*Bufo bufo*) в условиях антропогенного воздействия / Л.Н. Афанаскина // Вестник КГПУ. – 2012. - № 2 (20). – С. 389-393.
4. Орлянская Т.Я. Структурный полиморфизм клеточных популяций слоев мозжечка лягушки остромордой (*Rana arvalis*) некоторых биотопов Красноярского края в условиях антропогенного воздействия / Т.Я. Орлянская, Л.Н. Афанаскина // Вестник КрасГАУ. – 2012. - № 8.- С. 87-93.
5. Орлянская Т.Я. Вариабельность популяций нейронов и глии VI слоя среднего мозга серой жабы (*Bufo bufo*), живущей на урбанизированных территориях Красноярского края / Т.Я. Орлянская, Л.Н. Афанаскина // Морфология. - 2014. - № 3.- С.22-23.
6. Афанаскина Л.Н. Морфоцитохимические показатели нейрон-глиальных популяций головного мозга остромордой лягушки (*Rana arvalis*) антропогенизированных территорий южной части Красноярского края / Л.Н. Афанаскина, Н.Н. Медведева, В.Л. Вершинин // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 4; URL: <http://www.science-education.ru/article/view?id=25003> (дата обращения: 25.07.2016).
7. Афанаскина Л.Н. Морфоцитохимическая характеристика нейрон-глиальных популяций среднего мозга озерной лягушки (*Pelophylax ridibundus* Pall.) урбанизированных территорий Красноярского края / Л.Н. Афанаскина, Н.Н. Медведева, В.Л. Вершинин // Морфоцитохимическая // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 5; URL: <http://www.science-education.ru/article/view?id=25096> (дата обращения: 30.08.2016).

Работы, опубликованные в других изданиях

8. Городилова С. Н. Материалы по распространению и размножению озерной лягушки (*Rana ridibunda*) на территории южной части Средней Сибири / С. Н. Городилова, Л.Н. Чибиряк // Экология южной Сибири и сопредельных территорий. - Абакан, 2007. - Т. 1.—С. 89-90.
9. Городилова С.Н. Материалы по экологии остромордой лягушки (*RANA ARVALIS* NILSSON, 1842) лесостепной части Средней Сибири / С. Н. Городилова, Л.Н. Чибиряк // Фауна и экология животных Средней Сибири и Дальнего Востока: Межвузовский сб. научн. тр. - Красноярск, 2008. - Вып.5. - С. 157-172.
10. Орлянская Т.Я. Эволюционная нейроморфология - научное направление и основа совершенствования преподавания филогенетических аспектов становления нервной системы / Т.Я. Орлянская, Т.И. Устинова, С.В. Чижова, Л.Н. Афанаскина // Вузовская педагогика: материалы конференции / гл. ред. С.Ю. Никулина. – Красноярск: Версо, 2010. - С.325-328.
11. Афанаскина Л.Н. Характеристика клеточных субпопуляций мозжечка серой жабы в условиях антропогенного воздействия / Л.Н. Афанаскина // Мониторинг природных экосистем: IV Всероссийская научно-практическая конференция: сб. науч. статей / МНИЦ ПГСХА. - Пенза: РИО ПГСХА, 2010. - С. 142 – 145.

12. Афанаскина Л.Н. Сравнительная характеристика клеточных субпопуляций мозжечка земноводных обитающих в причулымской лесостепи / Л.Н. Афанаскина // Вопросы герпетологии: материалы Пятого съезда Герпетологического общества им. А.М. Никольского. – Минск: ИООО «Право и экономика», 2012. – С. 28 – 31.
13. Афанаскина Л.Н. Вариативность нейроморфологических параметров клеточных субпопуляций мозжечка серой жабы (*Bufo Bufo*) в условиях Курагинского района / Л.Н. Афанаскина, Т.Я. Орлянская // Актуальные проблемы биомедицинской антропологии и морфологии: сб. науч. тр. - Красноярск: тип. КрасГМУ, 2012. – С.100-104.
14. Афанаскина Л.Н. Нейроморфологическая пластичность клеточных субпопуляций VI слоя среднего мозга серой жабы (*Bufo bufo*) в условиях антропогенных биотопов Красноярского края / Л.Н. Афанаскина // Современная герпетология: проблемы и пути их решения: материалы первой международной Молодежной конференции герпетологов России и сопредельных стран.- СПб: Зоологический институт РАН, 2013. - С. 48-51.
15. Афанаскина Л.Н. Взаимосвязь нейрон-глиальных клеточных популяций крыши среднего мозга сибирской лягушки (*Rana amurensis*) с уровнем антропогенной трансформацией территорий / Л.Н. Афанаскина, Н.Н. Медведева // Электронный научно-образовательный Вестник «Здоровье и образование в XXI веке». - 2017. - Т.19. - №2.- С.3-8.

Список сокращений:

НУЗ – низкий уровень загрязнения	Мц – содержание общих водонерастворимых белков в цитоплазме
ПУЗ – повышенный уровень загрязнения	фЯЦК – функциональное ЯЦК, соотношение
ВУЗ – высокий уровень загрязнения	Мя/Мц
КП – клетки Пуркинье	Ся – концентрация общих водонерастворимых белков в ядре
ЗК – зернистые клетки	Сц – концентрация общих водонерастворимых белков в цитоплазме
St – площадь профильного поля тела	рЯЦК – регуляторное ЯЦК, как отношение
Ся – площадь профильного поля ядра	Ся/Сц
Сц – площадь профильного поля цитоплазмы	>- больше, < - меньше
сЯЦК – структурное ядерно-цитоплазматическое отношение как Ся/Сц	n – количество животных в выборке
ρ - плотность	m – масса животных
ρ глии своб. – свободная глия	пр. - пруд
ρ глии сат. – сателлитная глия	искусств. - искусственный
ГНИ – глио-нейрональный индекс	
Мя – содержание общих водонерастворимых белков в ядре	