

А. Ю. Ерофеев

Волгоградский государственный медицинский университет,
кафедра патологической анатомии

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУР АМИГДАЛЯРНОГО КОМПЛЕКСА КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

УДК 611.813.3.018:616.8-008.615:599.323.4

Проведен анализ структурно-функциональных сдвигов в структурах амигдаллярного комплекса животных (крыс) в процессе развития хронического стресса. Экспериментальное исследование проводилось на 44 белых крысах-самцах. Для воспроизведения эмоционального перенапряжения в эксперименте использовалась модель иммобилизационного стресса, длительностью 7, 14, 30 и 120 суток. Наиболее выраженные дистрофические процессы начинают проявляться после иммобилизации 30 суток и определяются в медиальном, кортикальном и латеральном ядрах миндалевидного (амигдаллярного) комплекса.

Ключевые слова: ядра миндалевидного (амигдаллярного) комплекса, стресс, крыса.

A. Yu. Erofeev

MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE STRUCTURES OF THE AMYGDALAR COMPLEX OF RATS UNDER CHRONIC STRESS

The aim of the study is to analyze structural and functional shifts in the structures of the amygdalar complex of animals (rats) during the development of chronic stress. The experimental study was conducted on 44 white male rats. To reproduce emotional overstrain, the experiment used a model of immobilization stress lasting 7, 14, 30, and 120 days. The most pronounced dystrophic processes begin to manifest after 30 days of immobilization and are determined in the medial, cortical and lateral nuclei of the amygdalar complex.

Key words: amygdalar complex nuclei, stress, rat.

В процессе жизнедеятельности организм постоянно сталкивается с воздействиями внешней среды, такими как холод, жара, вынужденное голодание, состояние тревоги, травмы. Различные экстремальные воздействия приводят к развитию особого состояния организма, которое определено как состояние стресса [1]. Систематическое накопление эмоциональных реакций приводит к развитию затяжной отрицательной эмоции (возбуждения), связанной с изменениями метаболизма нервных клеток, различных структурных образований ЦНС, обеспечивающих эмоциональную сферу [2]. Эмоциональные реакции при этом теряют свой адаптивный характер и ведут к развитию психосоматических заболеваний (неврозы, заболевания ССС, поражения мозга и других органов) [3, 8].

Особое значение в организации эмоциональных реакций придается четырем структурам головного мозга: передним отделам коры полушарий большого мозга, гиппокампу, ядрам миндалевидного (амигдаллярного) комплекса и гипоталамуса [4–7].

Лимбическая система, как единое морфофункциональное объединение, или комплекс взаимодействующих структурных образований

головного мозга, принимает участие в регуляции важных вегетативно-висцеральных функций и основных поведенческих реакций организма [10]. Она окрашивает инстинкты положительным эмоциональным фоном, а также участвует в регуляции приобретенных форм поведения – эмоций и мотиваций, играет существенную роль в механизмах памяти (кратковременной и долговременной) [9].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Провести анализ структурно-функциональных сдвигов в структурах амигдаллярного комплекса животных (крыс) в процессе развития хронического стресса.

Первая группа (12 животных): в качестве исходного уровня исследовались ядра амигдаллярного комплекса крыс, находившихся в стандартных условиях содержания и кормления.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Определяющим методологическим принципом воспроизведения и изучения эмоционального стресса, широко используемым в настоящее время, является теория функциональных систем. На основе данной теории

определена роль конфликтных ситуаций в генезе эмоционального стресса. Длительная неудовлетворенность результатами поведения, отсутствие возможности достижения приспособительного результата приводят к длительному эмоциональному перенапряжению и развитию эмоционального стресса.

Таким образом, для экспериментального воспроизведения эмоционального стресса основным условием является создание поведенческой ситуации, при которой животное не может в течение длительного времени удовлетворять свои ведущие биологические или основные социальные потребности и достигать положительных приспособительных результатов. На основании вышеизложенного, для воспроизведения эмоционального перенапряжения в эксперименте использовалась модель иммобилизационного стресса. Условия многократной иммобилизации приводит животных к ситуации,

в которой исключена возможность освобождения от фиксации и достижения полезных приспособительных результатов [6].

Постоянный контроль развития стадий процесса является необходимым условием для изучения развития стрессовой реакции при проведении эксперимента.

Контроль и определение срока развития стадий тревоги, резистентности и истощения осуществлялся путем определения массы животных, макро- и микроскопического исследования желудочно-кишечного тракта, лимфоидной системы, определения веса надпочечников.

Экспериментальное исследование проводилось на 44 белых крысах-самцах с первоначальной массой животных 180–200 граммов. Экспериментальный материал с учетом длительности иммобилизации был разделен на 5 групп (табл. 1).

Таблица 1

Статистические данные экспериментального материала

№ группы	Длительность эксперимента (иммобилизация), в сутках	Животные (количество)
1	Контрольная группа	12
2	7	8
3	14	8
4	30	8
5	120	8
Всего:		44

В первую (контрольную) группу были определены животные, находившиеся в обычных условиях вивария (12 животных). Вторая группа представлена животными, подвергавшимися иммобилизации (путем помещения животных в специально оборудованные домики, обеспечивавшие фиксацию туловища) 3 раза в течение 7 суток, по 3–4 часа. В третью группу определены животные, подвергавшиеся 6-кратной иммобилизации по 3–4 часа в течение 14 суток. Четвертая группа соответствовала – 9-кратной фиксации в течение 30 суток. Пятая группа – животные с проведенной в течение 120 суток 36-кратной иммобилизацией.

После проведенных иммобилизаций животных забивали под легким эфирным наркозом. Головной мозг экспериментальных животных был фиксирован в жидкости Буэна, после уплотнения материала залит в парафин. С каждого блока получено 600–800 серийных фронтальных срезов толщиной 5–7 микрон. Каждый пятый или десятый серийный срез помещали на предметные стекла и маркировали в порядке получения материала.

Использование определенных методических подходов, позволяющих раскрыть основные морфологические эквиваленты функции нервной системы, дают возможность интерпретировать выявленные структурно-функциональные изменения основных элементов лимбической системы.

С этой целью необходимо проведение исследования ядерных образований миндалевидного (амигдалярного) комплекса с учетом плотности расположения нейронов и глиальных элементов, их морфоструктурных параметров. Исходя из вышеизложенного, при исследовании серийных срезов использовались следующие методы: окрашивание препаратов мозга гематоксилин-эозином; окрашивание по Ниссю (цитоплазма, ядро, ядрышко, базофильная субстанция); цитокариометрические и стереометрические исследования (изучение объемной плотности нейронов, объема ядер нейронов, удельной площади поверхности нейронов, количества нейронов в единице объема); определение степени поражения нейронов путем подсчета неизмененных, слабоизмененных, грубо-

измененных и отсутствующих нейронов. Морфо-математический анализ проведен с учетом исследований средней арифметической, среднего отклонения средней арифметической, коэффициента вариации. Цифровой материал, полученный в ходе исследования, представлен в табл. 1. Объектом морфологического и морфометрического изучения определены основные ядерные образования миндалевидного комплекса: базальное (*n. amigdaloides basalis*), медиальное (*n. amigdaloides medialis*), кортикальное (*n. amigdaloides corticalis*), латеральное (*n. amigdaloides lateralis*).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное исследование показало следующее: миндалевидный комплекс располагался между нижним медиальным отделом коры и латеральным краем гипоталамуса. В ростокаудальном направлении распространялся приблизительно на то же расстояние, что и гипоталамус. Передней границей миндалевидного комплекса является щелеподобный третий желудочек, задняя граница проходит на тех же срезах, где расположены мамиллярные тела гипоталамуса. Непосредственно миндалевидный комплекс представлен ядерными образованиями. Главные ядра миндалины прослеживаются на срезах, следующих непосредственно за зрительным перекрестом. Боковая граница миндалевидного комплекса образована наружной капсулой. Исследовались основные ядра миндалины: базальное (AB), медиальное (AME), кортикальное (ACO) и латеральное (AL).

Латеральное ядро расположено медиальнее внутренней капсулы, формой напоминает стекающую каплю. Рядом с латеральным ядром, медиальнее, расположено базальное ядро миндалины, имеющее округлую форму. Медиальное ядро вытянутой формы расположено между вставочными массами и коротким пучком волокон, отмечающих начало конечной полоски. Медиальнее окончания периморфной коры расположена клеточная группа, представляющая собой кортикальное ядро. Основные ядра миндалевидного комплекса были представлены клеточными группами, состояли из однородных нейронов округлой формы, которые содержали овальное или круглое [AB $M \pm m$ (50,3 ± 3,4) мкм, AME $M \pm m$ (65,8 ± 1,9) мкм, ACO $M \pm m$ (64,4 ± 2,8) мкм, AL $M \pm m$ (72,0 ± 3,1) мкм] ядрышко, окруженное узким ободком цитоплазмы.

Морфометрические данные, характеризующие степень поражения нейронов образований миндалевидного комплекса, приведены в табл. 2.

Вторая группа (8 животных): иммобилизация животных осуществлялась три раза по 3–4 часа на протяжении 7 суток.

Морфологическое исследование основных ядер миндалевидного комплекса показало следующее. Нейроны сохраняли четкую структуру, ядра нейронов были отчетливо выражены и имели округлую форму. Клеточный состав основных ядер амигдаларного комплекса неоднороден, выделялись нейроны двух типов. Первый тип – нервные клетки овальной или веретенообразной формы, малого размера, содержащие светлое или гиперхромированное ядро эллипсоидной формы; второй тип – нервные клетки более крупного размера, содержащие ядра округлой или вытянутой формы.

Выявлены слабовыраженные дистрофические процессы нервных клеток в базальном, медиальном, кортикальном и латеральном ядрах амигдаларного комплекса. Дистрофические изменения характеризовались явлениями перипеллюлярного отека, сателлитоза, острого набухания отдельных нейронов исследуемых зон. Также имело место сморщивание единичных нейронов, проявлявшееся западением боковых и базальной поверхностей; ядра нейронов приобретали вытянутую палочковидную форму, наблюдалось явление гиперхромии.

Морфометрическое исследование позволило выявить незначительное увеличение объема ядер нейронов базального [$M \pm m$ (55,7 ± 3,3) мкм] и латерального [$M \pm m$ (118,2 ± 3,2) мкм] ядер амигдаларного комплекса. В медиальном [$M \pm m$ (58,9 ± 1,8) мкм] и кортикальном [$M \pm m$ (31,1 ± 1,5) мкм] ядрах отмечалось уменьшение объема ядер нейронов. Данные морфометрического исследования приведены в табл. 2.

Третья группа (8 животных): иммобилизация животных по 3–4 часа шесть раз на протяжении 14 суток. При морфологическом исследовании ядер амигдаларного комплекса выявлены дистрофические явления в их нейронах: базального, медиального, кортикального и латерального ядер, которые проявлялись в виде острого набухания единичных нейронов, перипеллюлярного отека, сателлитоза. Отмечено появление нейронов в состоянии сморщивания с западением боковых и базальной поверхностей, гиперхромией слаборазличимых, вытянутых палочковидных ядер.

Основная масса нервных клеток ядер амигдаларного комплекса сохраняла четкую структуру; нейроны содержали центрально расположенное ядро округлой формы, окруженное тонким ободком цитоплазмы.

Степень поражения (%) нейронов амигдалярного комплекса крыс при хроническом стрессе

Ядра амигдалярного комплекса	Характер изменений	Длительность эксперимента (сутки)			
		7	14	30	120
Базальное	Неизмененные нейроны	257	254	249	270
	Слабоизмененные нейроны	0	0	6	11
	Грубоизмененные нейроны	0	0	0	0
	Отсутствующие нейроны	0	0	0	0
	Показатель степени поражения нейронов, %	0	0	1	2
Медиальное	Неизмененные нейроны	258	265	268	252
	Слабоизмененные нейроны	0	0	7	8
	Грубоизмененные нейроны	0	0	0	0
	Отсутствующие нейроны	0	0	0	0
	Показатель степени поражения нейронов, %	0	0	1	1
Кортикальное	Неизмененные нейроны	239	242	241	254
	Слабоизмененные нейроны	0	0	7	11
	Грубоизмененные нейроны	0	0	0	0
	Отсутствующие нейроны	0	0	0	0
	Показатель степени поражения нейронов, %	0	0	1	2
Латеральное	Неизмененные нейроны	260	275	263	282
	Слабоизмененные нейроны	0	0	12	17
	Грубоизмененные нейроны	0	0	0	0
	Отсутствующие нейроны	0	0	0	0
	Показатель степени поражения нейронов, %	0	0	2	3

В базальном и медиальном ядрах основная масса нейронов была представлена клетками малого размера с округлым ядром [AB $M \pm m$ ($62,2 \pm 1,9$) мкм; AME $M \pm m$ ($69,5 \pm 1,5$) мкм]. Кортикальное и латеральное ядра представлены нейронами двух типов: малого размера и среднего.

Для объективизации результатов исследования было проведено морфометрическое исследование нейронов амигдалярных образований.

Четвертая группа (8 животных): девятикратная иммобилизация животных по 3–4 часа в течении 30 суток.

Выявлены выраженные дистрофические процессы в базальном, медиальном, кортикальном и латеральном ядрах амигдалярного комплекса.

Базальное ядро представлено нейронами малых размеров. Незначительная часть нейронов сохраняла структуру – ядра округлой формы с хорошо выраженным ядрышком, окруженные тонким ободком цитоплазмы. Дистрофические изменения нейронов базального ядра проявлялись в виде острого набухания нервных клеток, сморщивания, перичеселлюлярного отека

и сателлитоза. Морфометрическое исследование позволило выявить уменьшение объема ядер нейронов [$M \pm m$ ($54,7 \pm 2,6$) мкм].

Морфологическое исследование медиального, латерального и кортикального ядер выявило выраженные дистрофические изменения. Дистрофические процессы в нейронах проявлялись в виде сморщивания части нервных клеток, они приобретали вытянутую форму; гиперхромированные палочковидные ядра становились плохо или совсем неразличимы, также наблюдались явления перичеселлюлярного отека, сателлитоза, острого набухания части нейронов, проявлявшегося увеличением размеров ядра и цитоплазмы, эктопии ядер и ядрышек и лизиса базофильной субстанции.

Отмечалось уменьшение объема ядер нейронов медиального ядра [$M \pm m$ ($66,9 \pm 2,2$) мкм]. Незначительное увеличение объема ядер нейронов наблюдалось в кортикальном [$M \pm m$ ($66,9 \pm 1,8$) мкм] и латеральном [$M \pm m$ ($111,9 \pm 12,8$) мкм] ядерных образованиях.

Пятая группа (8 животных): иммобилизация по 3–4 часа на протяжении 120 суток, 36 фиксации. В этой серии экспериментов были выявлены

выраженные дистрофические изменения нейронов базального ядра. Дистрофические процессы проявлялись в виде острого набухания части нейронов, перичеселлюлярного отека, сателлитоза, а также сморщиванием нейронов, гиперхромией ядер и цитоплазмы, западением боковых поверхностей и увеличением одной из оси клеток. Незначительная часть нейронов сохраняла структуру; нервные клетки содержали округлое ядро, окруженное узким ободком цитоплазмы. Средний показатель объема ядер составлял $M \pm m$ ($57,6 \pm 22$) мкм. Степень поражения нейронов базального ядра составляла 2 %.

Дистрофические процессы в медиальном, латеральном и кортикальном ядрах имели более выраженный характер. Проявлялись они в виде гидропических изменений, сморщивания отдельных нейронов, а также острого набухания части нейронов, характеризующегося увеличением размеров ядра, цитоплазмы, лизисом базофильной субстанции, эктопией и лизисом ядрышка. Отмечены явления сателлитоза.

Выявлены незначительные изменения объема ядер нейронов основных структур амигдаларного комплекса: медиального [$M \pm m$ ($68,1 \pm 1,3$) мкм], кортикального [$M \pm m$ ($65,7 \pm 1,9$) мкм] и латерального [$M \pm m$ ($77,2 \pm 18,6$) мкм] ядер.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенное исследование ядер амигдаларного комплекса крыс в условиях иммобилизации со сроками 7, 14, 30 и 120 суток, а также в контрольной группе, выявило наличие дистрофических процессов в базальном, медиальном, кортикальном и латеральном ядрах. Степень поражения нейронов и тяжесть дистрофических изменений в исследуемых ядрах комплекса различны. Степень поражения нейронов на заключительном этапе эксперимента (иммобилизация 120 суток) не превышала 3 %. Наиболее выраженные дистрофические процессы начинают проявляться после иммобилизации 30 суток и определяются в медиальном, кортикальном и латеральном ядрах миндалевидного (амигдаларного) комплекса. Отмечено нарастание тяжести дистрофических изменений с увеличением срока эксперимента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Особенности экспрессии индуцибельной NO-синтазы в зубчатой извилине крыс при депрессии. – Текст : непосредственный / М. Р. Экова, А. В. Смирнов, И. Н. Тюренков, Н. В. Григорьева // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2020. – Т. 169, № 5. – С. 653 – 656.
2. *Mattson, M. P.* Ageing and neuronal vulnerability. – Direct text / M. P. Mattson, T. Magnus // *Nat. Rev. Neurosci.* – 2006. – № 4 (7). – P. 278 – 294.
3. *McEwen, B. S.* Stress effects on neuronal structure: hippocampus, amygdala, and prefrontal cortex. – Direct text / B. S. McEwen, C. Nasca, J. D. Gray // *Neuropsychopharmacology.* – 2016. – №. 1 (41). – P. 3 – 23.
4. Medial amygdala lesions differentially influence stress responsivity and sensorimotor gating in rats. – Direct text / C. H. Vinkers, E. Y. Bijlsma, L. C. Houtepen [et al.]. // *Physiol Behav.* – 2010. – Vol. 99, № 3. – P. 395 – 401.
5. Morphological changes and characteristics of the expression of serine racemase in the rat hippocampus in combined stress. – Direct text / A. V. Smirnov, N. V. Grigor'eva, M. R. Ekova [et al.]. // *Neuroscience and Behavioral Physiology.* – 2017. – Vol. 47, № 8. – P. 1010 – 1014.
6. *Naskar, S.* Stress Elicits Contrasting Effects on the Structure and Number of Astrocytes in the Amygdala versus Hippocampus. – Direct text / S. Naskar, S. Chattarji // *eNeuro.* – 2019. – № 6 (1).
7. Neural oscillations in the infralimbic cortex after electrical stimulation of the amygdala. Relevance to acute stress processing. – Direct text / A. Luque-García, V. Teruel-Martí, S. Martínez-Bellver [et al.]. // *J Comp Neurol.* – 2018. – Vol. 526, № 8. – P. 1403 – 1416.
8. Neurobiology of chronic mild stress: parallels to major depression / M. N. Hill, K. G. Hellems, P. Verma [et al.]. – Direct text // *Neurosci. Biobehav. Rev.* – 2012. – Vol. 36. – P. 2085 – 2117.
9. Qualitatively different effect of repeated stress during adolescence on principal neuron morphology across lateral and basal nuclei of the rat amygdala. – Direct text / M. A. Padival, S. R. Blume, J. E. Vantrease, J. A. Rosenkranz // *Neuroscience.* – 2015. – Vol. 291. – P. 128 – 145.
10. *Sood, A.* Acute stress evokes sexually dimorphic, stressor-specific patterns of neural activation across multiple limbic brain regions in adult rats. – Direct text / A. Sood, K. Chaudhari, V. A. Vaidya // *Stress.* – 2018. – Vol. 21, № 2. – P. 136 – 150.