
ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 611.813.14:616-092.9

ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ГИППОКАМПА СТАРЫХ КРЫС В РЕЗУЛЬТАТЕ СТРЕССОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

**А. В. Смирнов, И. Н. Тюренков, М. В. Шмидт, Г. Л. Снизур,
В. Н. Перфилова, Н. В. Аксенова, Д. Д. Бородин, В. И. Даниленко, П. А. Хлопонин,
Н. В. Богомолова, Е. Н. Губанова**

*Волгоградский государственный медицинский университет,
кафедра патологической анатомии, кафедра фармакологии и биофармации ФУВ,
Волгоградский медицинский научный центр*

У крыс 24-месячного возраста на фоне стрессового воздействия выявлены патоморфологические изменения в пирамидном слое СА3 зоны вентрального гиппокампа, в дорсальных отделах изменения носили асимметричный характер в правом и левом полушарии. Иммуногистохимическое выявление iNOS в структурах гиппокампа выявило более интенсивное окрашивание в нейрорпиле *stratum lucidum* и увеличение ширины иммунореактивной области радиального слоя СА3 зоны гиппокампа животных, подвергшихся стрессу.

Ключевые слова: гиппокамп, стресс, iNOS.

THE CHARACTERISTIC OF MORPHOLOGICAL CHANGES OF HIPPOCAMPAUS OLD RATS AS A RESULT OF STRESS

**A. V. Smirnov, I. N. Tyurenkov, M. V. Schmidt, G. L. Snigur,
V. N. Perfilova, N. V. Aksenova, D. D. Borodin, V. I. Danilenko, P. A. Hloponin,
N. V. Bogomolova, E. N. Gubanova**

In rats, 24 months of age against the effects of stress revealed pathological changes in the pyramidal layer CA3 area of the ventral hippocampus. The morphological changes of the dorsal hippocampus bear the asymmetric nature in the right and left hemisphere. Immunohistochemical examination revealed more intense staining of mossy fibers stratum lucidum and the increase in the width of immunoreactive zone stratum radiatum CA3 area of the hippocampus of stressed animals.

Key words: hippocampus, stress, iNOS.

Процесс адаптации к различным повреждающим факторам, которые в общей форме можно обозначить как стрессоры, в организме осуществляется на всех уровнях интеграции — от молекулярного и клеточного до системного [3, 8]. Литературные данные свидетельствуют о том, что при старении развивается резистентность кортикотропина к ингибирующему влиянию глюкокортикоидов [8], что приводит к нарушению гомеостатического контроля функции кортикотропоцитов гипофиза, к чрезмерной стимуляции надпочечников, увеличению уровня глюкокортикоидов в крови и к изменениям в нейронах ствола головного мозга, гиппокампа, гипоталамуса в различные возрастные периоды. Повышающаяся по мере старения уязвимость организма к действию неблагоприятных факторов окружающей среды может быть обусловлена как избыточ-

ной (повреждающей) стрессорной реакцией, так и ослаблением стресслимитирующих систем [1].

Большое количество исследований, проведенных на животных моделях стресса, свидетельствует о развитии морфофункциональных изменениях в структурах лимбической системы, обеспечивающей уровень эмоционального восприятия воздействующего фактора. Так, под влиянием длительного стресса у грызунов и низших приматов происходит уменьшение объема гиппокампа. Гиппокампальные апикальные дендриты укорачиваются под воздействием однократной экспозиции глюкокортикоидов или под влиянием стресса [7]. Под влиянием экстремальных условий (хронический стресс или длительное введение глюкокортикоидов) возможно уменьшение общего числа нейронов в гиппокампе. Также показана корреляция между высоким

уровнем кортизола и уменьшением объема гиппокампа у здоровых индивидуумов в процессе старения [1].

Активация индуцибельной NO-синтазы (iNOS) считается основным источником повышенной продукции NO в мозге в условиях различных патологий, включая различные нейродегенеративные процессы. В ряде экспериментальных работ было показано, что стресс вызывает усиление экспрессии pNOS и iNOS во многих отделах головного мозга, с преобладанием в новой коре и гиппокампе, а NO принимает участие в реализации эффектов стресса [5]. Однако характер структурных изменений в гиппокампе в стареющем организме при стрессовом воздействии с позиций активации компонентов системы оксида азота остается малоизученным.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Определение структурных особенностей гиппокампа старых (24-месячных) крыс на фоне стрессового воздействия.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальные исследования проводили в условиях НИИ Фармакологии. В экспериментальной группе 10 белых крыс самцов в возрасте 24 месяца подвергались комбинированному стрессовому воздействию (вибраций, шумов, света) в течение 7 дней, после чего выводились из эксперимента. Животные забивались под эфирным наркозом в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Адекватность модели оценивали по развитию кровоизлияний, эрозий и язв в желудочно-кишечном тракте. Контролем служили 10 самцов того же возраста. Головной мозг фиксировали в 10%-м нейтральном формалине, сдальнейшим обезвоживанием в батарее спиртов и изготовлением парафиновых блоков. Получали срезы толщиной 5—7 мкм. Производили окрашивание срезов гематоксилином и эозином, тионином по методу Ниссля. Иммуногистохимическое исследование проводили с использованием поликлональных первичных антител к iNOS. Фотодокументирование осуществляли цифровой фотокамерой Olympus (Япония).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При микроскопическом изучении вентральных отделов гиппокампа у 24-месячных контрольных крыс выявлены следующие особенности гистологического строения. Нейроны пирамидного слоя зоны CA1 зоны характеризовались округлой формой ядра и близкой к округлой формой перикариона, равномерным распределением субстанции Ниссля в цитоплазме. Однако встречались и единичные гиперхромные клетки. В CA3 зоне нейроны пирамидного слоя располагались более дисперсно, имели полигональную (треугольную) форму с четко визуализируемым ядром и одним ядрышком.

У стрессированных животных того же возраста отмечались более выраженные морфологические изме-

нения в зоне CA3 гиппокампа. Наблюдалось уменьшение, по сравнению с контролем, ширины пирамидного слоя и плотности расположения нейронов. Кроме того, были обнаружены участки очаговых выпадений нейроцитов. При окраске по методу Ниссля часть нейронов пирамидного слоя характеризовалась разнообразными неспецифическими изменениями в виде гиперхроматоза, хроматолиза и сморщивания (рис. 1). Кроме того, определялись поврежденные нейроны в пирамидном слое, которые характеризовались наличием интенсивной базофилии цитоплазмы перикариона, в ряде случаев пикнозом ядер и уменьшением размеров перикариона. В остальных отделах аммонова рога и зубчатой извилины существенных патоморфологических изменений, по сравнению с животными контрольной группы, выявлено не было.

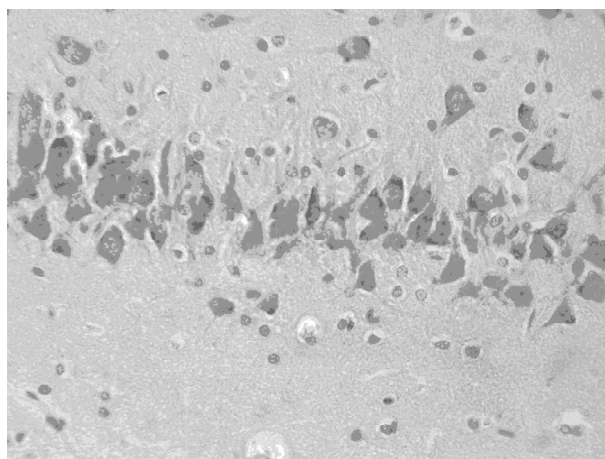


Рис. 1. Дистрофические изменения в нейронах пирамидного слоя гиппокампа (CA1 зона). Головной мозг 24-месячной крысы на фоне семидневного комбинированного стресса. Окраска тионином по методу Ниссля. Увеличение $\times 400$

В дорсальных отделах гиппокампа наблюдались схожие морфологические изменения. В обеих исследуемых группах животных темные, гиперхромные нейроны выявлялись в пирамидном слое аммонова рога (зона CA3) и гранулярном слое зубчатой извилины. В краевом (полиморфном) слое, содержащем тела корзинчатых нейронов гиппокампа также обнаруживались единичные гиперхромные клетки. В группе стрессированных животных значимые морфологические изменения наблюдались только у отдельных животных в виде участков пирамидного слоя зоны CA3 с наличием большого количества сморщенных, извитых нейронов с гиперхромной цитоплазмой. Необходимо отметить, что данные изменения были более выражены в левом полушарии.

При иммуногистохимическом исследовании с использованием антител к iNOS в обеих исследуемых группах выявлена цитоплазматическая экспрессия иммунореактивного материала (индуцибельная NO-синтаза) мозаично в перикарионах нейронов, их отростках и некоторых глиальных клетках молекулярного, лакунар-

ного, пирамидного и радиального слоев гиппокампа. Экспрессия иммунопозитивного материала обнаруживалась во всех зонах и слоях гиппокампа. Необходимо отметить, что в пирамидных клетках СА1 и СА3 зон гиппокампа распределение иммунопозитивного материала носило неравномерный характер. В изучаемых экспериментальных группах животных умеренная экспрессия iNOS выявлялась в цитоплазме большинства нервных клеток, в то же время встречались единичные нейроны с более интенсивно окрашенным ядром и цитоплазмой. При этом у животных, подвергшихся стрессовому воздействию, интенсивность экспрессии иммунореактивного материала в перикарионах нейронов, в целом, существенно не отличалась от крыс контрольной группы. Однако обращает на себя внимание более выраженное иммунопозитивное окрашивание нейропиля и отростков нейронов в *stratum radiatum* и *stratum lucidum* СА3 зоны гиппокампа стрессированных животных по сравнению с контрольной группой (рис. 2). При этом отмечалось увеличение ширины области иммунореактивных волокон радиального слоя.

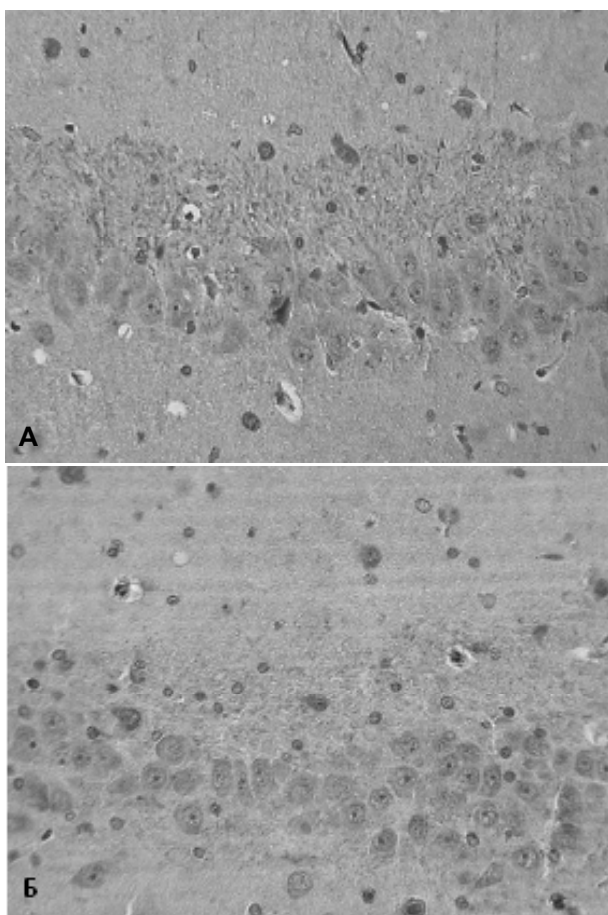


Рис. 2. Экспрессия иммунопозитивного материала в мшистых волокнах *stratum lucidum* СА3 зоны гиппокампа. А. Головной мозг 24-месячной крысы на фоне семидневного комбинированного стресса. Б. Головной мозг 24-месячной крысы (контроль). Иммуногистохимическая реакция на индуцибельную NO-синтазу. Окраска гематоксилином. Увеличение $\times 400$

В зубчатой извилине обнаруживалась цитоплазматическая экспрессия иммунореактивного материала (индуцибельная NO-синтаза) мозаично в перикарионах нейронов гранулярного слоя. В субгранулярных отделах зубчатой извилины наблюдается иммунопозитивное окрашивание отростков нейронов, несколько более выраженное у стрессированных животных по сравнению с контрольной группой.

Полученные нами данные свидетельствуют о развитии патоморфологических изменений и нарушений citoархитектоники гиппокампа у 24-месячных крыс-самцов в результате стрессового воздействия. При этом более выраженный характер изменения носили в зоне СА3 аммонова рога. В другом исследовании авторами было показано, что у грызунов стресс приводит к ремоделированию апикальных дендритов пирамидальных нейронов гиппокампального субрегиона СА3, которое выражается в снижении числа и длины апикальных дендритов [9]. Наблюдающаяся в нашем эксперименте асимметрия микроскопических изменений согласуется с литературными данными, свидетельствующими о существовании межполушарной асимметрии гистологического строения гиппокампа, как при нормальном старении, так и при развитии различных патологических процессов [7].

Реализация влияния гуморального звена стрессовой реакции на головной мозг определяется как вне-, так и внутриклеточными сигнальными путями, среди которых большое значение имеет оксид азота (NO). Негативное влияние гиперпродукции iNOS связывают с повышенным образованием свободнорадикальных продуктов: в комбинации с супероксидными радикалами NO образованием токсического пероксинитрита, способствующего повреждению клеточных мембран, липидов, белка, ДНК и в целом клеток и ведущего к нейродегенеративным повреждениям [1]. Полученные нами данные свидетельствуют об экспрессии индуцибельной изоформы NOS как в процессе «нормального» старения (интактные животные), так и на фоне стрессового воздействия. При этом различия в интенсивности иммуногистохимического окрашивания цитоплазмы нейронов носили не достоверный характер в исследуемых экспериментальных группах, что, на данном этапе исследования, не позволяет связать выявленные дистрофические изменения нейронов в гиппокампе стрессированных животных с активацией индуцибельной NO-синтазы. Однако мы выявили более интенсивное окрашивание нервных волокон *stratum lucidum* и отростков нейронов радиального слоя СА3 зоны гиппокампа животных, подвергшихся стрессу. Данные волокна представлены базальными немиелинизированными аксонами гранулярных клеток зубчатой извилины, которые образуя параллельные пучки, покидают гранулярный слой, входят в хилус и далее в СА3, где образуют многочисленные синаптические контакты с дендритными отростками пирамидных клеток. По литературным данным, повреждение волокон и рецепторов данной

области может приводить к развитию гиппокампальной дисфункции, проявляющейся нарушением поведения и пространственного обучения [6].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на экспериментальном материале у старых крыс (24-месячного возраста) при комбинированном стрессовом воздействии выявлены патоморфологические изменения в различных зонах гиппокампа, носящие асимметричный характер в правом и левом полушарии. Наиболее значимые патогистологические изменения выявлены в нейронах пирамидного слоя СА3 зоны вентрального гиппокампа, которые характеризовались развитием дистрофических изменений при увеличении количества гиперхромных (поврежденных) клеток, обнаружены участки очаговых выпадений нейроцитов. При этом иммуногистохимическое исследование с использованием первичных поликлональных антител к индуцибельной нитрооксидсинтазе (iNOS) в структурах гиппокампа выявило более интенсивное окрашивание нейропиля и нервных волокон в *stratum radiatum* и *stratum lucidum* СА3 зоны гиппокампа животных, подвергшихся стрессу, а также расширение иммунореактивной области в радиальном слое и субгранулярной зоне зубчатой извилины гиппокампа при стрессе, что может свидетельствовать о развитии гиппокампальной дисфункции и нарушении процесса нормального ней-

рогенеза у стареющих животных в условиях стрессового воздействия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воробьева О. В. // Психиатрия и психофармакотерапия. — 2007. — № 4 (9) — С. 15—18.
2. Воронков А. В., Робертус А. И., Тюренков И. Н. // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2008. — № 3. — С. 54—57.
3. Смирнов А. В., Краюшкин А. И., Горелик Е. В., Григорьева Н. В. // Вестник ВолГМУ. — 2012. — № 1 (41) — С. 61—63.
4. Хлопонин П. А., Писарев В. Б., Смирнов А. В., Почепцов А. Я. // Вестник ВолГМУ. — 2004. — № 2 (11). — С. 3—6.
5. Ховряков А. В. и др. // Морфология. — 2009. — № 2 (135) — С. 7—11.
6. Crusio W. E., Schwegler H. // Behav. Brain Funct. — 2005. — Vol. 1 (3).
7. Mc Laughlin K. J., Gomez J. L., Baran S. E., et al. // Brain Res. — 2007. — Vol. 1161. — P. 56—64.
8. Pedro Garrido // Aging and Disease. — 2011. — Vol. 2, № 1. — P. 80—99.
9. Pillai A. G. // PLoS ONE. — 2012. — Vol. 7, Issue 6. — P. 1.

Контактная информация

Шмидт Максим Вячеславович — к. м. н., доцент кафедры патологической анатомии, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: schmidtmed@mail.ru

УДК 576.2: 796 — 055.2

ВЛИЯНИЕ ЗАНЯТИЙ СПОРТОМ НА СОМАТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПОЛОВОГО ДИМОРФИЗМА У ДЕВУШЕК РАЗНЫХ ТИПОВ КОНСТИТУЦИИ

В. Б. Мандриков, Р. П. Самусев, Е. В. Зубарева, Е. С. Рудаскова, Г. А. Адельшина

*Волгоградский государственный медицинский университет,
кафедра физического воспитания и здоровья,
Волгоградская государственная академия физической культуры*

Проведено соматометрическое обследование 167 студентов физкультурного вуза обоего пола. У девушек, не занимающихся спортом, преобладающим типом половой конституции является мезоморфный, а у юношей — андроморфный. У девушек-спортсменок выявлены изменения показателей полового диморфизма, степень выраженности которых зависит от их соматотипа.

Ключевые слова: соматометрия, тип конституции, регулярная физическая нагрузка, половой диморфизм.

IEFFECT OF SPORTS ON SOMATIC INDICATORS OF SEXUAL DIMORPHISM IN GIRLS WITH DIFFERENT BODY TYPES

V. B. Mandrikov, R. P. Samusev, E. V. Zubareva, E. S. Rudaskova, G. A. Adelshina

Somatometric examination of 167 students of both sexes from a Physical Education Institute was conducted. Girls who do not do sports were predominantly mesomorphs while young men were mostly andromorphs. Girls who do sports showed changes in the indicators of sexual dimorphism whose degree depends on their somatotype.

Key words: somatometry, body type, regular physical activity, sexual dimorphism.

В последнее время в литературе все чаще обсуждается проблема влияния занятий спортом на женский организм [1, 4, 8, 9 и др.]. При этом высказываются разные мнения о том, оказывает ли физическая на-