

УДК 57.086.2, 57.087.1

Давлетбаева А. Р., Федорова А. М., Хисматуллина З. Р.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ЦЕНТРАЛЬНОГО ЯДРА МИНДАЛЕВИДНОГО ТЕЛА КРЫС ЛИНИИ DAT-HET

Уфимский университет науки и технологий, Уфа, Российская Федерация

Аннотация. Целью исследования явилось изучение морфо-количественной организации центрального ядра миндалевидного тела крыс линии DAT-HET.

Методика исследования заключалась в изучении морфологии нейронов, цитоархитектоники и измерении площади центрального ядра миндалевидного тела на фронтальных срезах головного мозга крысы, окрашенных крезилем фиолетовым по методу Ниссля. Объекты исследования: лабораторные крысы-самцы двух линий: линии Wistar ($n = 8$) (контрольная группа), линии DAT-HET ($n = 10$) (опытная группа/гетерозиготы), характеризующиеся частично сниженным уровнем переносчика дофамина. Масса тела животных составляла 235–240 г, возраст — 5–6 месяцев.

Основные результаты. Впервые получены данные по морфо-количественной организации центрального ядра миндалевидного тела мозга крыс линии DAT-HET. Сравнительный анализ структурной организации показал отличия в форме и размерах нейронов центрального ядра миндалевидного тела мозга. Методом планиметрии выявлены достоверные отличия по площади и проценту представительства центрального ядра миндалевидного тела мозга у крыс линии DAT-HET.

Ключевые слова: миндалевидное тело мозга, центральное ядро, дофамин, крысы линии DAT-HET.

Davletbaeva A. R., Fedorova A. M., Hismatullina Z. R.

QUANTITATIVE ANALYSIS OF THE CENTRAL NUCLEUS OF THE AMYGDALA IN RATS OF THE DAT-HET LINE

Ufa University of Science and Technology, Ufa, Russian Federation

Abstract. The purpose of this study was to study the morphological and quantitative organization of the central nucleus of the amygdala in rats of the DAT-HET line. The research methods consisted in studying the morphology of neurons, cytoarchitectonics and measuring the area of the central nucleus of the amygdala on the frontal sections of the rat brain stained with purple cresil by the Nissl method.

Objects of research: laboratory male rats of two lines: Wistar lines ($n = 8$) (control group), DAT-HET lines ($n = 10$) (experimental group/heterozygotes), characterized by partially reduced levels of dopamine transporter. The body weight of the animals was 235–240 g, age 5–6 months.

Main results of the work: for the first time, data on the morphological and quantitative organization of the central nucleus of the amygdala of the brain in rats of the DAT-HET line were obtained. A comparative analysis of the structural organization showed differences in the shape and size of the neurons of the central nucleus of the amygdala brain. The planimetry method revealed significant differences in the area and percentage of central nucleus of the amygdala representation in rats of the DAT-HET line.

Keyword: amygdala, central nucleus, dopamine, DAT-HET rats.

ВВЕДЕНИЕ

Центральное ядро (Ce) миндалевидного тела (MT) мозга является ключевым регуляторным ядром, которое участвует в формировании различных видов адаптивного поведения, включая агрессивное, пищевое, оборонительное и другие. Оно традиционно рассматривается как выходной нейронный центр, который передает условную информацию к структурам мозга, генерирующим эмоциональные реакции [1]. По строению Ce является гетерогенным образованием и состоит из ряда субъядер. По литературным данным, субъядра Ce получили названия на основе топографии и их нейронной организации. Различают медиальное (CeM), латеральное (CeL) и промежуточное субъядро (CeC) [2]. По мнению других авторов, в состав Ce также входит латеро-капсулярное субъядро [3]. Однако некоторые авторы выделяют его как часть, являющуюся переходной латеро-капсулярной зоной MT, но не Ce [4]. Важно отметить, что Ce также выступает в роли основных нейромодулирующих центров, влияя на высвобождение норадреналина, дофамина, ацетилхолина и серотонина. Известно, что в Ce обнаружена высокая концентрация дофамина, а также повышенная активность фермента тирозингидроксилазы, который обеспечивает образование ДОФА [5].

Дофаминергические волокна, расположенные в области вентрального отдела покрышки среднего мозга и в компактной части черной субстанции, проходят через миндалевидное тело, поясную извилину, гиппокамп и другие структуры лимбической системы мозга [6]. Дофаминергические сигнальные пути имеют решающее значение для поддержания физиологических процессов, и несбалансированная активность может привести к дисфункциям, связанным с нейродегенеративными заболеваниями [7]. В норме по завершении нейротрансмиссии передача сигналов дофамина прекращается поглощением внеклеточного дофамина через переносчика дофамина (DAT), трансмембранный белок обратно в дофаминергические терминалы [8]. Все указанные выше исследования проводились на крысах линии Wistar.

Крысы модели генетического дефицита дофаминового транспортера DAT характеризуются повышением концентрации внеклеточного дофамина в синапсах головного мозга, что приводит к сходному фенотипу нейродегенеративных заболеваний, подобных шизофрении, синдрому дефицита внимания и гиперактивности, биполярному расстройству [9]. Изучение механизмов патогенеза состояний, связанных с функционированием дофаминергической системы мозга, является актуальным вопросом современности.

В связи с вышеизложенным, цель настоящего исследования состояла в изучении структурной организации и количественных характеристик центрального ядра миндалевидного тела крыс линии DAT-HET.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на лабораторных крысах-самцах двух линий: линии Wistar ($n = 8$) (контрольная группа) и линии DAT-НЕТ ($n = 10$) (опытная группа), характеризующихся частично сниженным уровнем переносчика дофамина. Масса тела животных составляла 235–240 г, возраст 5–6 месяцев. Крысы содержались в виварии кафедры физиологии и общей биологии Уфимского университета науки и технологий при комнатной температуре 20–22 °С в стандартных клетках по 3–4 животных без ограничения подвижности, освещенности и доступа к воде и пище, на сбалансированном рационе. Проведенное исследование согласовано с этическим комитетом Уфимского университета науки и технологий.

В качестве наркотизатора для животных использовали хлоралгидрат в дозе 400 мг/кг массы тела животного, разведенный в 0,9%-ном растворе натрия хлорида из расчета 10 мл/кг, вводили внутривенно. Крыс умерщвляли декапитацией, извлекали головной мозг, фиксировали в нейтральном формалине (10%-ный раствор) и заливали в парафин стандартным способом. Изготавливали серии фронтальных срезов мозга толщиной 10 мкм, которые окрашивали крезиловым фиолетовым по методу Ниссля [10]. Измерение абсолютной площади Се МТ мозга осуществляли в программе Levenhuk Tourview в мм². На основании полученных данных рассчитали удельную площадь Се как отношение Се к МТ. Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программы Statistica 10.0. Данные представлены в виде суммы среднего арифметического и стандартного отклонения. Оценку различий двух независимых выборок проводили с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении топографии Се на срезах у обеих линий крыс определяли скопление нейронов в виде достаточно крупного, округлого образования, разграниченного волокнами оптического тракта с медиальной стороны и продольной ассоциативной связкой — с латеральной стороны от Се. Верхней границей Се является скорлупа. Благодаря наличию таких структур границы Се достаточно четко определяются. Се МТ имеет гетероморфное строение, хорошо дифференцируются медиальное (СеМ), латеральное (СеL) субъядра Се МТ и объединяющая их промежуточная часть (СеС). Се МТ мозга имеет росто-каудальную протяженность, начинаясь в переднем отделе и заканчиваясь центральным отделом.

У крыс линии Wistar медиальное субъядро (СеМ) сформировано мелкими и средними по размеру нейронами, которые имеют овальную и веретенообразную форму. Латеральное (СеL) субъядро Се сформировано более крупными по размеру нейронами полигональной формы. Между нейронами и вблизи них определяются клетки глии, отмечаются просветы.

Се МТ мозга крыс линии DAT-НЕТ образовано нейронами, имеющими размер от малого до среднего, но встречаются и крупные нейроны. На участках, параллельных оптическому тракту, многие нейроны имеют веретенообразную форму. Хорошо визуализируются латеральное (СеL) и медиальное (СеМ) субъядра Се МТ. Необходимо отметить, что нейроны, входящие в состав Се МТ у крыс линии DAT-НЕТ, в основном имеют вытянутую форму перикариона, между нейронами практически отсутствуют просветы.

Следующим этапом исследования явилось изучение площади Се МТ, были проведены измерения абсолютных площадей Се и МТ мозга.

У крыс линии DAT-НЕТ на ростральном уровне переднего отдела МТ мозга абсолютная площадь Се равна $1,09 \pm 0,16 \text{ мм}^2$, абсолютная площадь МТ составляет $12,11 \pm 0,95 \text{ мм}^2$, удельная площадь, занятая Се, составила 9%. У крыс линии Wistar площадь, занятая Се, равна $0,75 \pm 0,04 \text{ мм}^2$, площадь МТ равна $11,4 \pm 0,44 \text{ мм}^2$, соответственно удельная площадь 6,6%.

В переднем отделе на каудальном уровне у крыс линии DAT-НЕТ абсолютная площадь Се равна $2,29 \pm 0,08 \text{ мм}^2$, общая площадь МТ мозга составляет $17,84 \pm 1,34 \text{ мм}^2$, у крыс Wistar площадь Се равна $0,91 \pm 0,07 \text{ мм}^2$, площадь МТ составила $14,95 \pm 1,29 \text{ мм}^2$ (табл. 1). Измерение абсолютных площадей у крыс линии DAT-НЕТ и Wistar на ростральном и каудальном уровнях переднего отдела выявило достоверно значимые различия ($p < 0,05$). Вычисление удельных площадей переднего отдела Се также выявило достоверные различия. На ростральном и каудальном уровнях площадь, занятая Се у крыс линии DAT-НЕТ, больше на каудальном уровне в два раза.

Измерение абсолютной площади у крыс линии DAT-НЕТ на ростральном уровне центрального отдела показало, что абсолютная площадь Се равна $2,51 \pm 0,03 \text{ мм}^2$, а площадь МТ равна $18,38 \pm 0,44 \text{ мм}^2$. У крыс линии Wistar площадь Се равна $0,95 \pm 0,06 \text{ мм}^2$, а площадь МТ составляет $12,51 \pm 0,53 \text{ мм}^2$. Удельная площадь Се ядра у крыс DAT-НЕТ составила 13,6%, у крыс линии Wistar — 7,6%.

На каудальном уровне центрального отдела МТ абсолютная площадь Се у DAT-НЕТ равна $0,92 \pm 0,10 \text{ мм}^2$, а площадь МТ — $11,90 \pm 0,26 \text{ мм}^2$. У крыс линии Wistar площадь Се равна $0,75 \pm 0,06 \text{ мм}^2$, площадь МТ составляет $11,51 \pm 0,53 \text{ мм}^2$, достоверных различий не выявлено. Вычисление удельной площади дало возможность более точного анализа представительства Се МТ мозга. Достоверные различия по удельной площади Се МТ выявлены в переднем отделе на обоих уровнях и только на ростральном уровне центрального отдела.

Таблица 1

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АБСОЛЮТНЫХ И УДЕЛЬНЫХ ПЛОЩАДЕЙ (мм^2) СЕ И МТ КРЫС ЛИНИИ DAT-НЕТ И WISTAR, %

Уровень	Структура	Wistar S ($M \pm m$)	Удельная площадь Се Wistar, %	DAT-НЕТ S ($M \pm m$)	Удельная площадь Се DAT-НЕТ, %
Передний отдел, ростральный уровень	Се	$0,75 \pm 0,04$	6,6	$1,09 \pm 0,16^*$	9,0*
	МТ	$11,4 \pm 0,44$		$12,11 \pm 0,95^*$	
Передний отдел, каудальный уровень	Се	$0,91 \pm 0,07$	6,08	$2,29 \pm 0,08^*$	12,8*
	МТ	$14,95 \pm 1,29$		$17,84 \pm 1,34^*$	
Центральный отдел, ростральный уровень	Се	$0,95 \pm 0,06$	7,6	$2,51 \pm 0,03^*$	13,6*
	МТ	$12,51 \pm 0,53$		$18,38 \pm 0,44^*$	
Центральный отдел, каудальный уровень	Се	$0,75 \pm 0,06$	6,5	$0,92 \pm 0,1$	7,7
	МТ	$11,51 \pm 0,53$		$11,9 \pm 0,26$	

* — статистически значимые различия ($p < 0,05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Центральное ядро миндалевидного тела имеет сложное строение, как и вся миндалина в целом. В нем хорошо дифференцируются медиальное (CeM), латеральное (CeL) субъядра Ce МТ и объединяющая их промежуточная часть (CeC). Ce МТ мозга имеет rostro-каудальную протяженность, начинаясь в переднем отделе и заканчиваясь центральным отделом. При изучении структурной организации Ce у крыс двух линий нами выявлены различия по размерам и форме нейронов субъядер Ce МТ.

Измерение площадей Ce МТ крыс линии DAT-НЕТ, которые являются гетерозиготами, нокаутными по переносчику дофаминами, выявило достоверные различия по абсолютной и удельной площадям ядра, выражающиеся в большем представительстве Ce в МТ в переднем и центральном отделах, кроме каудального уровня центрального отдела. На каудальном уровне площади Ce практически уравниваются. Этот факт можно объяснить наличием rostro-каудального градиента, который имеет место быть в структурной организации ядер МТ. Различия, выявленные при сравнительном анализе площади, занятой Ce, у обеих линий животных, увеличение представительства Ce у крыс линии DAT-НЕТ, возможно, возникают в ответ на изменения дофаминергической трансмиссии, вызванные нокаутом гена. Полученные данные требуют дальнейших комплексных исследований Ce МТ у крыс линии DAT-НЕТ, которое выступает в роли основного нейромодулирующего центра, влияя на высвобождение дофамина.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Pitts M. W., Todorovic C., Blank T., Takahashi L. K.* The Central Nucleus of the Amygdala and Corticotropin-Releasing Factor: Insights into Contextual Fear Memory. *Journal of Neuroscience*. 2009; 29(22):7379–7388.
2. *Aerts T., Seuntjen E.* Novel Perspectives on the Development of the Amygdala in Rodents. *Frontiers in Neuroanatomy*. 2021; 15:786679. DOI: 10.3389/fnana.2021.786679
3. *Ахмадеев А. В.* Структура, функции и геноархитектоника центрального ядра миндалины мозга // *Морфология*. 2021. Т. 159. № 4. С. 137–144.
4. *Шарипова Л. А., Калимуллина Л. Б., Минибаева З. Р.* Структурно-функциональная организация центрального ядра миндалевидного комплекса мозга: учебное пособие. Уфа: БашГУ, 2003. 134 с.
5. *Бонь Е. И.* Характеристика медиаторов и модуляторов, их биологическая роль в функционировании нервной системы // *Вестник НовГУ*. 2021. № 1(122). С. 6–14.
6. *Колотилова О. И., Коренюк И. И., Хусаинов Д. Р., Чертаев И. В.* Дофаминергическая система мозга // *Вестник Брянского государственного университета*. 2014. № 3. С. 97–106.
7. *Bloomfield M. A., McCutcheon R. A., Kempton M., Freeman T. P., Howes O.* The effects of psychosocial stress on dopaminergic function and the acute stress response. *Elife*. 2019; 8:e46797. DOI: 10.7554/eLife.46797.
8. *Mehler-Wex C., Riederer P., Gerlach M.* Dopaminergic dysbalance in distinct basal ganglia neurocircuits: implications for the pathophysiology of Parkinson's disease,

- schizophrenia and attention deficit hyperactivity disorder. *Neurotoxicity Research*. 2006; 10:167–179. DOI: 10.1007/BF03033354.
9. *Gainetdinov R. R., Caron M. G.* An animal model of attention deficit hyperactivity disorder. *Molecular Medicine Today*. 2000; 6(1): 43–44. DOI: 10.1016/s1357-4310(99)01616-0
10. *Саркисов Д. С., Перов Ю. Л.* Микроскопическая техника. М.: Медицина, 1996. 544 с.

УДК 616-091.8

Деев Р. В., Слепов Ю. К., Ахмедов А. С., Емелин А. М.

ВЛИЯНИЕ КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА ИНФИЛЬТРАТА В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ЖЕЛУДКА НА РЕАКТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ ТКАНИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ АТРОФИЧЕСКОМ ГАСТРИТЕ

*Северо-Западный государственный медицинский университет
им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, Российская Федерация*

Аннотация. Целью работы является характеристика клеточного состава воспалительного инфильтрата в волокнистой соединительной ткани собственной пластинки слизистой оболочки желудка у пациентов с атрофическим гастритом.

Материал и методы: в исследование включены мультифокальные биоптаты желудка, полученные от 20 пациентов с клиническим и эндоскопическим диагнозом хронический атрофический гастрит. Биоптаты подвергали стандартной гистологической обработке с окраской гематоксилином и эозином, по Маллори и альциановым синим. Для типирования субпопуляций лейкоцитов поставлены иммуногистохимические реакции с антителами к CD68, CD4, CD8, CD20, CD138.

Основные результаты работы показали, что при разделении биоптатов слизистой оболочки антрального отдела и тела желудка на две группы сравнения — с так называемой кишечной метаплазией и без метаплазии, субпопуляционный состав лейкоцитов, определяющий в том числе и местный цитокиновый профиль, являющийся важным эпигенетическим фоном, влияющим на дифференцировку эпителиоцитов, различен. Так статистически значимая разница установлена для числа М1-макрофагов (CD68+, p -value — 0,011) и В-лимфоцитов (CD20+ лимфоцитов, p -value — 0,047). Построенная модель логистической регрессии объясняет 63,7% данных.

Ключевые слова: атрофический гастрит, метаплазия, макрофаг, лимфоцит, цитокин, эпигенетика.