

© И. И. Садртдинова, З. Р. Хисматуллина, 2017
УДК 611.813.14.018.86:612.018:599.323.4

И. И. Садртдинова, З. Р. Хисматуллина

ИЗМЕНЕНИЯ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ СИНАПСОВ В ПЕРЕДНЕМ КОРТИКАЛЬНОМ ЯДРЕ МИНДАЛЕВИДНОГО ТЕЛА МОЗГА САМОК КРЫС В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОДЕРЖАНИЯ ПОЛОВЫХ ГОРМОНОВ

Кафедра физиологии человека и зоологии (зав. — д-р биол. наук З. Р. Хисматуллина), ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», г. Уфа

Проведен анализ ультраструктурных особенностей синапсов в переднем кортикальном ядре миндалевидного тела мозга самок крыс линии WAG/Rij ($n=9$) при разных уровнях женских половых гормонов. Результаты исследования показали, что овариэктомия приводит к структурным изменениям синапсов и снижению их общей численности по сравнению с таковым в контрольной группе, а заместительная гормональная терапия — к восстановлению структуры синапсов и их количества. Обнаружено, что по степени выраженности плотных проекций в контрольной группе и после овариэктомии преобладают асимметричные синапсы (52%), по типу искривления плоскости синаптического контакта — синапсы с положительно искривленным контактом. После заместительной терапии наблюдается незначительное снижение количества асимметричных синапсов (47%), большинство из них имеют отрицательно искривленный контакт. Определяются сложные синаптические комплексы дивергентного и конвергентного типов, что свидетельствует об активном функциональном состоянии контактов. Количество перфорированных синапсов значимо увеличивается с 14,3 до 50%, что, возможно, свидетельствует об эстрогенной активации синапсов.

Ключевые слова: миндалевидное тело мозга, переднее кортикальное ядро, синапсы, половые гормоны, крысы линии WAG/Rij

Известно, что функционирование ЦНС, обеспечивающее протекание процессов высшей нервной деятельности и их психических проявлений, определяется состоянием межнейронных связей, отростков нейронов и синаптических контактов.

В настоящее время синапсоархитектоника является одной из наиболее важных проблем в изучении мозга. Это объясняется тем, что организация межнейронных связей лежит в основе системной деятельности мозга, механизмов адаптации, обучения, компенсации нарушенных функций [2].

Синапсы обладают стабильной пространственной организацией, высокой пластичностью и являются ключевым местом коммуникации между нейронами [5, 13, 14].

Миндалевидное тело (МТ) мозга занимает ведущее место в интеграции деятельности трех основных регуляторных систем организма — нервной, эндокринной и иммунной. Фундаментальные исследования МТ мозга в рамках проблем лимбической системы мозга показали, что оно участвует в организации адаптивного поведения человека и животных, формировании эмоций и памяти.

Кроме того, МТ выполняет важную роль как звено репродуктивной системы организма [7]. К числу элементов нейроэндокринной системы мозга относится переднее кортикальное ядро (ПКЯ) МТ мозга [4, 7]. Поэтому целью настоящего исследования стало изучение изменений ультраструктуры синапсов в ПКЯ МТ мозга до и после овариэктомии и после заместительной гормональной терапии у крыс.

Материал и методы. Исследование выполнено на половозрелых самках-крыс линии WAG/Rij массой 200–220 г в возрасте 6 мес ($n=9$). Крыс содержали в условиях вивария биологического факультета Башкирского государственного университета, характеризующихся постоянством комнатной температуры (20–22 °C) и уровнем влажности. Животные находились в стандартных пластмассовых клетках по 3–4 особи, еду и питье получали *ad libitum*. Овариэктомию проводили по общепринятой методике [3]. Спустя 1 мес овариэктомированным животным вводили 17 β -эстрадиол (в дозе 10 мкг/100 г массы тела), растворенный в стерильном персиковом масле 1 раз в сутки в течение 2 сут, а затем (на 3-и сутки) вводили 17 β -эстрадиол в совокупности с прогестероном (в дозе 5 мг/100 г массы тела животного). Содержание животных и все экспериментальные манипуляции осуществляли в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утверж-

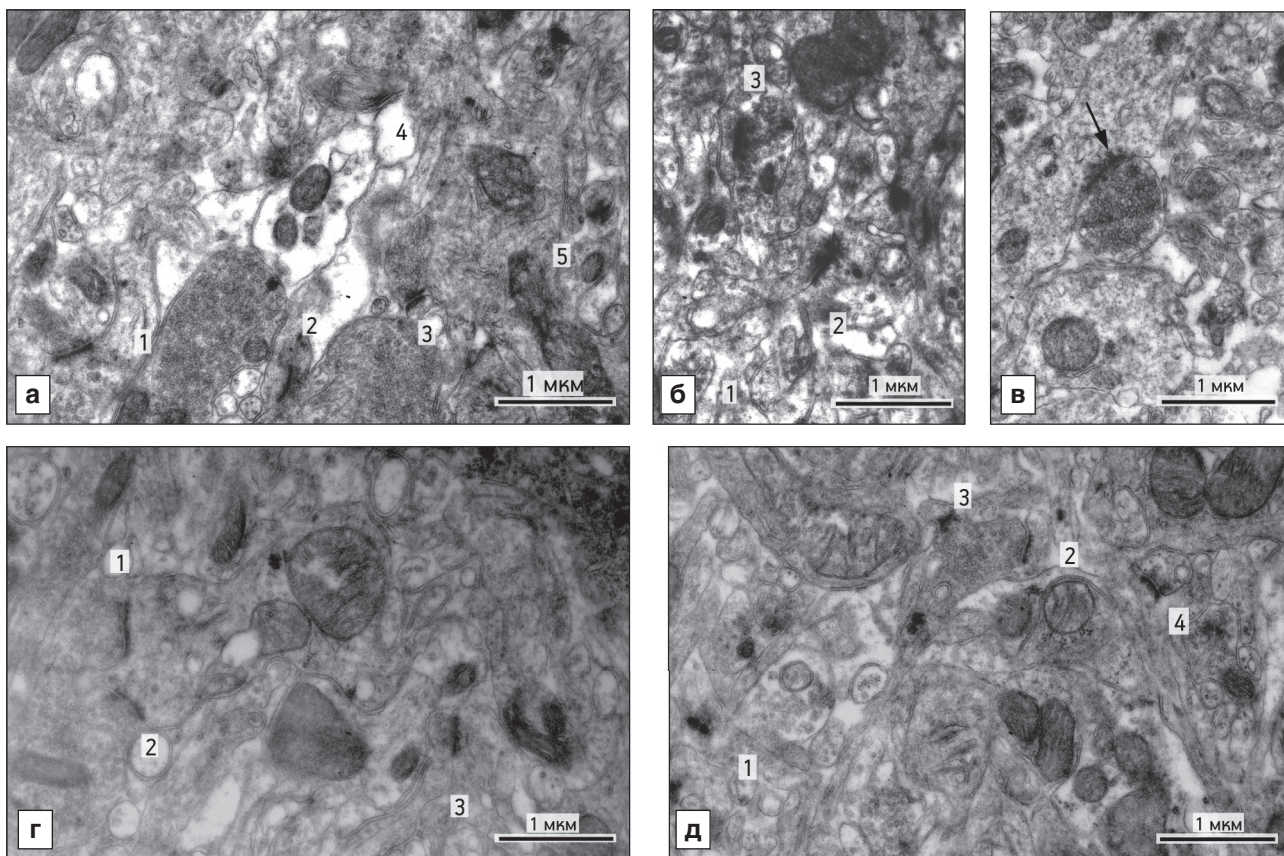
Сведения об авторах:

Садртдинова Индира Илдаровна (e-mail: indira.ildarovna@mail.ru), Хисматуллина Зухра Рашидовна (e-mail: hismatullinazr@mail.ru), кафедра физиологии человека и зоологии, биологический факультет, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», 450076, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32

денными приказом МЗ СССР от 12.08.1977 г. Животных декапитировали под эфирным наркозом. Для проведения электронно-микроскопических исследований материал фиксировали путем погружения в охлажденный 2,5% глутаральдегид на какодилатном буферном растворе (рН 7,2–7,4) и дополнительно в 2% растворе OsO_4 на том же буфере, обезжизивали в этаноле восходящей концентрации и заливали в эпон-812. Ультратонкие срезы готовили на ультратоме LKB-III 8800 (LKB, Швеция), контрастировали 2% водным раствором уранилацетата и цитратом свинца (по Рейнольдсу) и изучали в трансмиссионном электронном микроскопе JEM-1011CX II (JEOL, Япония). Структурно-функциональный анализ синапсов осуществляли согласно классификации, приведенной в монографии В.В.Семченко и соавт. [6]. Асимметричные и симметричные синапсы описывали согласно классификации В.В.Семченко и соавт. [6] и S.Matsuda и соавт. [9]. На электронных микроскопических фотографиях (общей площадью 1517 мкм²) было зарегистрировано 285 синапсов. Статистическую обработку данных проводили, используя программу «Statistica» v.7.0 (Stat Soft Inc., США). Для сравнения качественных признаков использовали z-критерий с поправкой Йетса на непрерывность. Различия считали статистически значимыми при $P \leq 0,05$.

Результаты исследования. В ПКЯ МТ мозга на основании характера пресинаптической части и расположения контакта на нейроне были выявлены различные типы синапсов: аксосоматические, аксодендритные, аксошипиковые, денродендритные и аксоаксонные.

Чаще всего определялись аксодендритные синапсы, они располагались на основных стволах дендритов (рисунок, 1, а–д). В основном встречались дендриты крупных размеров со светлой цитоплазмой. В них отчетливо определялись митохондрии разной формы и размеров, эндоплазматическая сеть и рибосомы. Аксоны имели темную цитоплазму, в ее состав входили мультивезикулярные тельца и гранулы гликогена. Синаптические пузырьки имели округлую форму и разные размеры. В концевых расширениях аксонов находились митохондрии, обеспечивающие энергией, которая необходима для синаптической



Ультраструктура синапсов переднего кортикального ядра миндалевидного тела мозга крыс линии WAG/Rij контрольной группы (а), после овариэктомии (б, в), после заместительной гормональной терапии (г, д).

а — 1 — асимметричный аксодендритный синапс с плоским контактом; 2 — асимметричный аксодендритный синапс с положительно искривленным контактом; 3 — симметричный аксошипиковый синапс с плоским контактом; 4 — асимметричный дендро-дендритный синапс с плоским контактом; 5 — симметричный аксошипиковый синапс с плоским контактом; б — 1 и 2 — асимметричные аксодендритные синапсы с положительно искривленным контактом; 3 — аксошипиковый синапс с плоским контактом; в — аксодендритный синапс с изменением кривизны постсинаптического уплотнения (стрелка); г — 1 — конвергентный асимметричный аксодендритный синапс с плоским контактом; 2 — перфорированный аксошипиковый синапс с плоским контактом; 3 — аксошипиковый синапс с плоским контактом; д — 1 — аксодендритный синапс с плоским контактом; 2 — дивергентный аксошипиковый синапс с плоским контактом; 3 — симметричный аксодендритный синапс с положительно искривленным контактом; 4 — асимметричный дендро-дендритный синапс

передачи. Компонентами аксоплазмы являлись нейрофиламенты и микротрубочки.

На активное функциональное состояние контактов указывали наполненность синаптически-пузырьками аксонных терминалей с многочисленными митохондриями, наличие в шипиках хорошо выраженного шипикового аппарата и изменение кривизны синаптических мембран (см. рисунок, в). Об этом же свидетельствовало формирование сложных по строению синаптических комплексов дивергентного (см. рисунок, д) и конвергентного типов (см. рисунок, г).

Аксосоматические аксонные и дендродендритные синапсы встречались довольно редко (табл. 1). В перикарионе нейронов определялись митохондрии, эндоплазматическая сеть, полири-

босомы, комплекс Гольджи. В аксонах имелись синаптические пузырьки. Ширина синаптической щели не превышала 20 нм.

По степени выраженности плотных проекций (специализированная часть цитоматрикса) синаптические контакты подразделялись на асимметричные и симметричные. Синапсы с асимметричными мембранами имели меньшую электронную плотность аксоплазмы. Они содержали, как правило, округлые синаптические пузырьки одного или нескольких размеров, которые часто группировались у пресинаптической мембраны. Асимметричные (возбуждающие) синапсы характеризовались увеличением постсинаптического утолщения в условиях усиленного функционирования. Симметричные (тормозные) синапсы имели синаптические пузырьки овальной или дисковидной формы и были менее многочисленны.

Асимметричные синапсы чаще располагались на мелких дендритах и их шипиках (см. рисунок, б), у них значительно выражена асимметрия и осмиофилия постсинаптической мембраны, симметричные синапсы — на телах нейронов, стволах дендритов, постсинаптическая мембрана имела слабо выраженную полосу осмиофильного вещества. Частота их встречаемости указана в табл. 1.

По типу искривления плоскости синаптического контакта выявлены синапсы с плоским, положительно и отрицательно искривленным контактом (см. рисунок), что в большей степени связано с функциональным состоянием синапсов. Относительная встречаемость синапсов в зависимости от характера кривизны постсинаптической мембраны приведена в табл. 2.

В большинстве случаев постсинаптические мембраны были сплошными, а иногда прерывистыми, такие синапсы, имеющие несколько активных зон, носят название перфорированных (см. рисунок, г). После заместительной терапии обнаружено увеличение их доли с $14,3 \pm 1,2$ до $50,0 \pm 1,2\%$ ($P \leq 0,05$).

Анализ численности синапсов в ПКЯ МТ мозга у крыс линии WAG/Rij показал, что овариэктомия приводила к снижению общего количества синапсов, а заместительная гормональная терапия — к повышению.

После овариэктомии мы наблюдали нарушение дискретности синаптических пузырьков — четкость их контуров терялась, мембраны многих из них выглядели «размытыми».

Морфологические изменения после заместительной гормональной терапии свидетельствовали о наличии восстановительных процессов в ПКЯ МТ мозга.

Таблица 1

Относительная частота встречаемости различных типов синапсов ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, %)

Типы синапсов	Группы животных		
	Контрольная	После овариэктомии	После заместительной гормональной терапии
Аксодендритный	$33,3 \pm 0,3$	$51,90 \pm 0,19^*$	$50,0 \pm 0,6^*$
Аксошиповый	$40,0 \pm 0,6$	$24,1 \pm 0,5^*$	$30,5 \pm 0,4$
Аксосоматический	$6,7 \pm 2,1$	$1,8 \pm 0,6$	$4,2 \pm 1,6$
Аксосаксонный	$13,3 \pm 0,9$	$1,80 \pm 0,06^*$	$2,8 \pm 0,6^*$
Дендро-дендритный	$6,7 \pm 0,7$	$20,4 \pm 1,0^*$	$12,5 \pm 1,4$
Перфорированный	$13,3 \pm 2,6$	$11,1 \pm 2,2$	$8,3 \pm 1,4$
Асимметричный	$66,7 \pm 1,6$	$52,0 \pm 1,0^*$	$47,0 \pm 1,2^*$
Симметричный	$33,3 \pm 1,7$	$48,0 \pm 0,5^*$	$53,0 \pm 1,7^*$
Конвергентный	0	0	$1,4 \pm 0,6$
Дивергентный	$6,7 \pm 1,7$	0	$2,8 \pm 1,3$

* Статистически значимые различия по сравнению с показателями в контрольной группе значимы при $P \leq 0,05$.

Таблица 2

Относительное содержание синапсов в переднем кортикальном ядре миндалевидного тела мозга крысы с различным типом искривления плоскости синаптического контакта ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, %)

Тип синапса	Группы животных		
	Контроль	После овариэктомии	После заместительной гормональной терапии
Плоский	55 ± 6	69 ± 6	$65,0 \pm 2,3$
Положительно искривленный	$28,0 \pm 2,6$	$20,2 \pm 1,3$	$14,7 \pm 2,2$
Отрицательно искривленный	$16,7 \pm 2,2$	$10,7 \pm 1,2$	$20,3 \pm 2,9$

В ходе проведенного анализа были выявлены различные типы синапсов: аксодендритные, аксо-соматические и аксоаксонные синапсы. Кроме того, были обнаружены количественные различия: по степени выраженности плотных проекций в контрольной группе и после овариэктомии преобладали асимметричные синапсы, по типу искривления плоскости синаптического контакта — синапсы с положительно искривленным контактом. После заместительной терапии наблюдалось незначительное снижение количества асимметричных синапсов, большинство из них имели отрицательно искривленный контакт. Определялись также сложные синаптические комплексы дивергентного и конвергентного типов, что свидетельствовало об активном функциональном состоянии контактов.

Обсуждение полученных данных. Полученные данные показали, что количественное соотношение синапсов в ПКЯ МТ мозга у крыс линии WAG/Rij меняется в разных экспериментальных группах животных в зависимости от уровня женских половых гормонов, что согласуется с данными литературы [10, 11]. После овариэктомии наблюдается снижение общей численной плотности синапсов. После заместительной гормональной терапии происходит увеличение общего количества синапсов и числа перфорированных синапсов, что свидетельствует об эстрогенной активации синапсов [6], и это, возможно, приводит к повышению эффективности нейротрансмиссии [8]. Известно, что эстрадиол оказывает модулирующее влияние на нейрональную возбудимость, меняя пластические свойства терминалей аксонов, например, увеличивает нейрональную пластичность [10]. Под действием эстрадиола происходит изменение K^+ -тока через постсинаптическую мембрану нейронов МТ и потенцирование рецепторов АМРА (рецептор α -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты, ионотропный рецептор глутамата) в пирамидных клетках поля СА1 гиппокампа [11]. Эстрадиол вызывает гиперполяризацию нейронов в медиальной части МТ и нейронов аркуатной области гипоталамуса, а также пластичность ГАМК-синапсов [12].

Выявленные в нашей работе изменения синапсов могут быть предпосылкой к их деструкции и полному исчезновению, а обнаруженные сближения и стыковки синаптических пузырьков и пресинаптической мембраны, возможно, нарушают выделение медиатора, ухудшают синаптическую передачу, т.е. приводят к нарушению их функциональной активности [1].

Таким образом, анализ синаптического аппарата ПКЯ МТ мозга крыс линии WAG/Rij позволяет

заключить, что в результате недостатка женских половых гормонов, вызванного удалением яичников, через 1 мес выявляются как количественные (в сторону уменьшения), так и деструктивные изменения синапсов, что, возможно, приводит к нарушению функционального состояния организма в целом. Согласно полученным нами данным, заместительная гормональная терапия улучшает морфофункциональное состояние синаптического аппарата ПКЯ МТ мозга крыс линии WAG/Rij.

ЛИТЕРАТУРА

1. Боголепов Н.Н. Ультраструктура синапсов коры большого мозга человека в старческом возрасте // Экспер. и фундамент. неврол. 2008. Т. 2, № 4. С. 22–27.
2. Боголепов Н.Н. Закономерности пластичности и стабильность синапсоархитектоники мозга // Вестн. международной академии наук. 2010. № 1. С. 18–21.
3. Кабак Я.М. Практикум по эндокринологии. М.: Изд-во МГУ, 1968.
4. Садртдинова И.И., Хисматуллина З.Р. Стероидная регуляция нейронной возбудимости в переднем кортикальном ядре миндалевидного комплекса мозга у крыс линии WAG/Rij // Биомедицина. 2014. № 2. С. 64–72.
5. Семченко В.В., Боголепов Н.Н., Степанов С.С. Синапто-архитектоника коры большого мозга (морфометрические аспекты). Омск: ИПК «Омич», 1995.
6. Семченко В.В., Степанов С.С., Боголепов Н.Н. Синаптическая пластичность головного мозга (фундаментальные и прикладные аспекты). М.: Директ-Медиа, 2014.
7. Хисматуллина З.Р. Миндалевидный комплекс мозга в системе регуляции репродуктивных функций организма: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Уфа, 2009.
8. Широкова О.М., Ведунова М.В., Митрошина Е.В. и др. Морфофункциональные закономерности развития нейронных сетей в диссоциированных культурах клеток гиппокампа // Современные технологии в медицине. 2013. Т. 5, № 2. С. 6–13.
9. Matsuda S., Kobayashi Y., Ishizuka N. A quantitative analysis of the laminar distribution of synaptic boutons in field CA3 of the rat hippocampus // Neurosci Res. 2004. Vol. 49. P. 241–251.
10. Mermelstein P.G. Membrane-localised oestrogen receptor alpha and beta influence neuronal activity through activation of metabotropic glutamate receptors // J. Neuroendocrinol. 2009. Vol. 21, № 4. P. 257–262.
11. Morissette M., Le Saux M., D'Astous M. et al. Contribution of estrogen receptors alpha and beta to the effects of estradiol in the brain // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 2008. Vol. 108, № 3. P. 327–338.
12. Parducz A., Garcia-Segura L.M. Sexual differences in the synaptic connectivity in the rat dentate gyrus // Neurosci. Lett. 1993. Vol. 161. P. 53–56.
13. Rollenhagen A., Lubke J.H. The morphology of excitatory central synapses: from structure to function // Cell Tissue Res. 2006. Vol. 326, № 2. P. 221–237.
14. Tai Q., Palazzolo K., Mautes A. et al. Ultrastructural characteristics of glutamatergic and GABAergic terminals in cat lamina

IX before and after spinal cord injury // J. Spinal Cord. Med. 1997. Vol. 20, № 3. P. 311–318.

Поступила в редакцию 03.07.2016
Получена после доработки 15.02.2017

**CHANGES OF THE ULTRASTRUCTURE
OF SYNAPSES IN THE ANTERIOR CORTICAL
NUCLEUS OF THE AMYGDALA OF THE BRAIN
OF FEMALE RATS DEPENDING ON
THE LEVELS OF SEX HORMONES**

I.I.Sadrtdinova, Z.R.Khismatullina

The analysis of the ultrastructural characteristics of synapses was performed in the anterior cortical nucleus of the amygdala of the brain in female WAG/Rij rats (n=9) at different levels of female sex hormones. The results of the study demonstrated that ovariectomy lead to structural changes of synapses and decline

in their total population compared with that in the control group, while hormone replacement therapy was able to restore the structure of the synapses and their number. It was shown that according to the degree of expression of dense projections both in the control group and after ovariectomy asymmetrical synapses predominated (52%), according to the type of curvature of the plane of the synaptic contact, the synapses with positively curved contact prevailed. After replacement therapy, there was a slight decline in the number of asymmetric synapses (47%), most of them had negatively curved contact. Elaborate synaptic complexes of divergent and convergent types were determined, suggesting the active functional state of the contacts. The number of perforated synapses significantly increased from 14.3 to 50%, which may indicate the estrogenic activation of synapses.

Key words: *amygdala, anterior cortical nucleus, synapses, sex hormones, WAG/Rij rats*

Department of Human Physiology and Zoology, Bashkir State University, Ufa