

А.В. Ахмадеев

ЦИТОАРХИТЕКТОНИКА, НЕЙРОННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ И ВЛИЯНИЕ ФАКТОРА ПОЛА НА ДЕНДРОАРХИТЕКТонику НЕЙРОНОВ ЗАДНЕГО МЕДИАЛЬНОГО ЯДРА МИНДАЛЕВИДНОГО ТЕЛА МОЗГА КРЫС

Кафедра морфологии и физиологии человека и животных (зав. — проф. Л.Б. Калимуллина) Башкирского государственного университета, г. Уфа

Цель работы — анализ цитоархитектоники, нейронной организации и влияния фактора пола на дендроархитектонику нейронов заднего медиального ядра миндалевидного тела мозга. Работа выполнена на 50 половозрелых крысах (25 самцов и 25 самок) линии Вистар с использованием методов Ниссля и Гольджи. Показано, что ядро образовано крупными нейронами, которые при импрегнации нитратом серебра имеют характеристики, присущие длинноаксонным редковетвистым и густоветвистым нейронам. У самцов дендриты длинноаксонных редковетвистых нейронов имеют более высокие показатели ветвистости, а дендриты длинноаксонных густоветвистых нейронов — большую общую длину, чем у самок.

Ключевые слова: мозг, миндалевидное тело, заднее медиальное ядро, нейронная организация, половые различия.

В системе нейроэндокринной регуляции, составляющей основу интеграции организма, важное место занимают стероидные и, прежде всего, половые гормоны. Они являются универсальными индукторами широкого круга процессов, начиная от экспрессии генов до детерминирующего действия на морфогенез его систем [2, 15, 16]. Ярким примером последнего является так называемая половая дифференциация мозга (ПДМ), осуществляемая андрогенами в определенный (критический) период раннего онтогенеза [12–14]. ПДМ, проявляющаяся формированием полового диморфизма его структур, интенсивно исследуется на разных по сложности иерархических уровнях нейроэндокринной системы. Наибольшие успехи связаны с исследованием гипоталамической области мозга; особое внимание уделяется изучению внегипоталамических структур, одной из которых является миндалевидное тело (МТ).

В результате обширных исследований функциональной морфологии и нейроэндокринологии МТ доказано его участие в процессах ПДМ, выявлены основные зоны полового диморфизма и предложена концепция росто-каудального градиента в механизмах его модулирующего влияния на деятельность репродуктивных центров гипоталамической области мозга [2, 3, 9].

Однако вопрос — имеет ли место половой диморфизм в нейронной организации зон полового диморфизма МТ — ранее не исследовался. Работами последних лет показано морфогенетическое влияние андрогенов на нейроны дорсомедиального и заднего кортикального ядер МТ [4, 6]. В отношении заднего медиального ядра (Мер) такие сведения отсутствуют.

Цель данной работы — анализ цитоархитектоники, нейронной организации и влияния фактора пола на дендроархитектонику нейронов Мер.

Материал и методы. Исследования проведены в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР) на 50 половозрелых крысах линии Вистар, содержащихся в идентичных условиях вивария при свободном доступе к еде и воде при световом дне продолжительностью 14 ч. Цитоархитектоника и цитологические характеристики нейронов изучены у 10 крыс (5 самцов и 5 самок). После анестезии нембуталом (60 мг/кг) и декапитации головной мозг фиксировали в 10% нейтральном формалине и после стандартной проводки заливали в парафин. Готовили серии фронтальных срезов толщиной 8–10 мкм (для изучения цитологических характеристик нейронов) и 20 мкм (для исследования цитоархитектоники), которые окрашивали крезиловым фиолетовым по Нисслю. Нейронная организация Мер изучена с помощью метода Гольджи на 40 крысах (20 самцов и 20 самок). Для этого головной мозг после фиксации в жидкости Мюллера и дополнительной фиксации в смеси двухромовокислого калия и четырехокиси осмия выдерживали в 1% растворе нитрата серебра 10 сут в термостате, после чего обезвоживали в нескольких порциях этанола возрастающей концентрации, заливали в целлоидин и готовили фронтальные срезы толщиной 100 мкм.

Идентификацию нейронов проводили на основании классификации Т.А. Леонтович [10]. На рисунках нейронов Мер, выполненных при увеличении в 200 раз, подсчитывали число первичных дендритов, число свободных концов всех дендритов, число всех точек ветвления дендритов нейрона, измеряли общую длину дендритов нейрона, определяли площадь дендритного поля и суммарную длину всех концевых веточек дендритов. У длинноаксонных густоветвистых нейронов, кроме указанных выше параметров, измеряли длину самого длинного и самого разветвленного дендрита, а также подсчитывали число точек ветвлений (на самом длинном и на

самом разветвленном дендрите) и число свободных окончаний на самом длинном и на самом разветвленном дендрите). Использовали 2 производных параметра — отношение числа свободных концов дендритов нейронов к числу первичных дендритов и отношение общей длины дендритов к их числу. Величины, полученные при работе с курвиметром и планиметром, выражали в условных единицах. Статистическую обработку выполняли с использованием пакета программ «Statistica 5.5». Для оценки значимости различий цифровых данных использовали t-критерий Стьюдента.

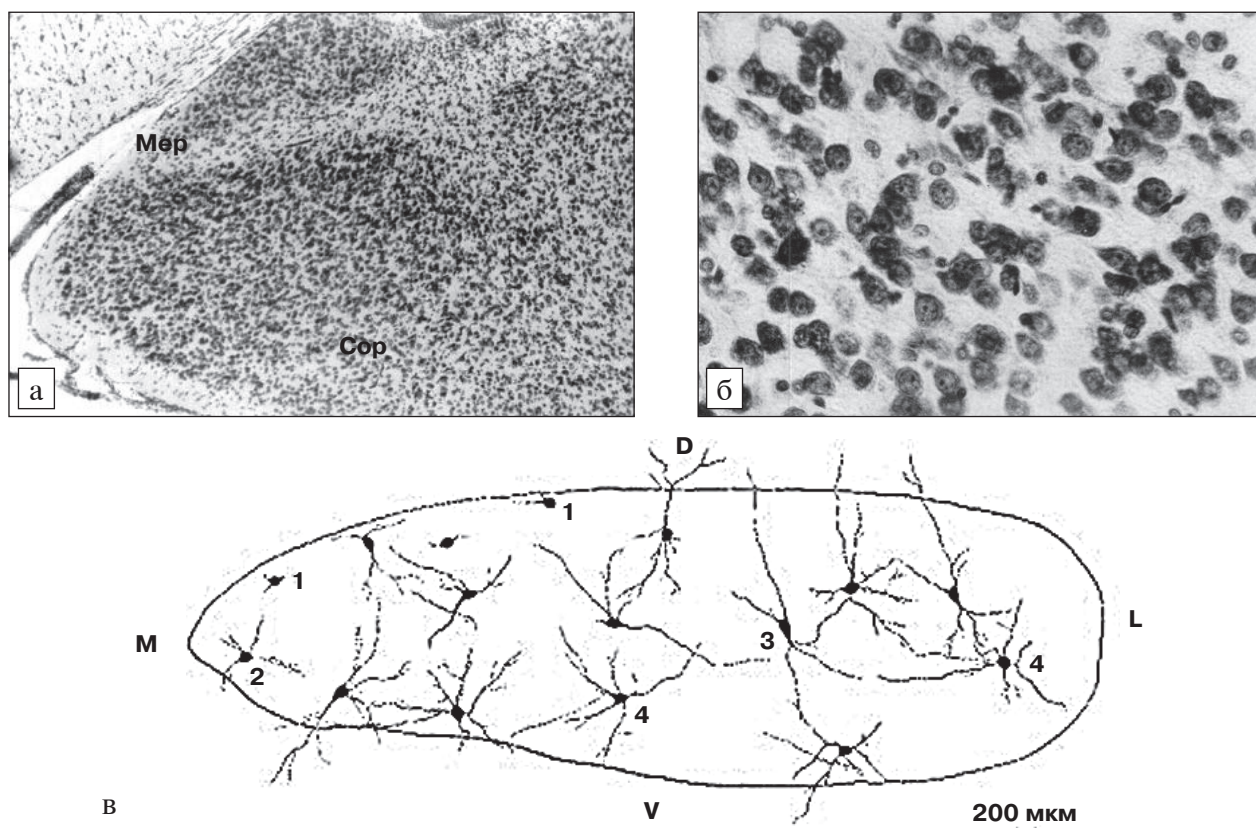
Результаты исследования. На ростральном уровне заднего отдела МТ Мер располагается ниже дорсомедиального ядра, отделяясь от него волокнистой прослойкой. Медиальной границей ядра является край полушария конечного мозга, латеральной — волокнистая прослойка, следующая от продольной ассоциативной системы и отделяющая это ядро от базолатерального ядра МТ. Ниже Мер располагается заднее кортикальное ядро (рисунок, а). На каудальном уровне этого отдела Мер прилежит к нижнему рогу бокового желудочка. На citoархитектонических препаратах Мер легко дифференцируется от заднего кортикального ядра благодаря высокой плотности расположения составляющих его нейронов.

Мер содержит нейроны крупных и средних размеров (см. рисунок, б), группирующиеся в виде полосы. Хроматофильная субстанция, представленная мелкими зернами и отдельными небольшими глыбками, равномерно распределена по цитоплазме клеток. Ядро нейронов хорошо контурировано за счет явления примембранного гиперхроматоза, содержит эухроматин, небольшие глыбки гетерохроматина и центрально расположенное ядрышко.

В составе Мер как у самок, так и у самцов выявлены все виды длинноаксонных редковетвистых нейронов — нейробластоформные, короткодендритные и ретикулярные, а также длинноаксонные густоветвистые нейроны (см. рисунок, в).

Нейробластоформные нейроны находятся в субвентрикулярных зонах медиальной части Мер. Они имеют округлое или овальное тело, 2–3 дендрита неравной длины, которые отходят от тела в противоположные стороны или под углом друг к другу. Анализ количественных характеристик дендритов нейробластоформных нейронов у самцов и самок (таблица) выявил статистически значимое различие количества свободных концов дендритов.

Тела короткодендритных нейронов имеют овальную и полигональную форму и крупнее, чем



Цитоархитектоника (а), цитологическая характеристика нейронов (б) и нейронная организация (в) заднего медиального ядра миндалевидного тела мозга.

в — длинноаксонные редковетвистые и густоветвистые нейроны. Мер — заднее медиальное ядро; Сор — заднее кортикальное ядро; М — медиальная поверхность; L — латеральная поверхность; D — дорсальная поверхность; V — вентральная поверхность; 1 — нейробластоформные нейроны; 2 — короткодендритные нейроны; 3 — ретикулярный нейрон; 4 — густоветвистые нейроны. а, б — окраска крезиловым фиолетовым. а — об. 8, ок. 5; б — об. 40, ок. 10.

**Количественные характеристики дендритов заднего медиального ядра миндалевидного тела мозга
у самцов и самок крыс линии Вистар ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)**

Объект исследования	Параметры	Самки	Самцы
Дендриты нейробластоформных нейронов	d	2,0±0,3	2,40±0,24
	Bd	3,0±0,3	4,4±0,4*
	Ld	4,8±0,4	6,4±0,5
	Sda	40±5	50±6
	Gd	1,20±0,20	1,60±0,24
	Bd/d	1,56±0,12	1,68±0,14
	Ld/d	2,6±0,5	2,5±0,3
Дендриты короткодendrитных нейронов	d	2,8±0,4	3,2±0,4
	Bd	6,6±0,4	8,8±0,4*
	Ld	10,8±0,9	13,8±1,5
	Sda	98±4	118±6**
	Gd	3,60±0,24	5,4±0,5*
	Bd/d	2,46±0,22	2,9±0,3*
	Ld/d	4,0±0,3	4,3±0,5
Дендриты ретикулярных нейронов	d	4,0±0,4	4,40±0,24
	Bd	8,4±0,8	11,6±0,9
	Ld	28,6±1,2	44,0±1,4**
	Sda	484±15	605±40*
	Gd	4,2±0,6	7,4±1,0
	Ldt	9,0±1,1	11,2±1,5*
	Bd/d	2,21±0,28	2,50±0,16
Дендриты густоветвистых нейронов	Ld/d	7,5±0,9	8,6±0,5
	d	4,6±0,8	4,8±0,5
	Bd	13,4±1,2	15,0±0,4
	Ld	22,8±2,0	30,6±2,3*
	Sda	374±15	432±15
	Gd	8,40±0,24	9,4±0,6
	C	13,0±0,9	13,0±1,3
	Gc	3,0±0,7	2,20±0,20
	Bdc	4,0±0,7	3,20±0,20
	Cr	11,8±1,4	9,8±1,0
	Gcr	3,6±0,9	3,0±0,3
	Bdr	4,6±0,9	4,0±0,3
	Ldt	7,4±1,4	6,2±1,0
	Bd/d	2,4±0,4	3,3±0,4
	Ld/d	5,5±1,0	6,9±1,3

Примечание. d — число первичных дендритов; Bd — число свободных концов всех дендритов; Gd — число всех точек ветвления дендритов нейрона; Ld — общая длина дендритов нейрона; Sda — площадь дендритного поля; Ldt — суммарная длина всех концевых веточек дендритов; C — длина самого длинного дендрита; Cr — длина самого разветвленного дендрита; Gc — число точек ветвлений на самом длинном дендрите; Gcr — число точек ветвлений на самом разветвленном дендрите; Bdc — число свободных окончаний на самом длинном дендрите; Bdr — число свободных окончаний на самом разветвленном дендрите. Различия между величинами показателей у самок и самцов значимы: * при $P < 0,05$; ** при $P < 0,01$.

у нейробластоформных. Эти нейроны равномерно распределены на территории ядра, часто выявляются в периваскулярных зонах. Дендриты имеют волнистый ход, небольшую длину, на их поверхности присутствуют шипики. Короткодendrитные

нейроны у самцов и самок крыс различаются по большему числу параметров, чем нейробластоформные (см. таблицу). У самцов больше свободных концов дендритов; увеличена площадь дендритного поля и число точек ветвлений, а

также изменено отношение числа свободных концов дендритов к их числу.

Ретикулярные нейроны имеют массивные тела, от которых отходят 3–5 первичных дендритов, которые распространяются на далекие расстояния, разветвляясь, как правило, на своих концах. На поверхности дендритов определяются немногочисленные палочковидные шипики, их плотность больше у самцов. Сравнение количественных характеристик дендритов ретикулярных нейронов показало, что основные половые различия касаются длины дендритов, площади дендритного поля и длины концевых веточек дендритов, при этом число точек ветвления и число свободных концов изменяются незначимо (см. таблицу).

Длинноаксонные густоветвистые нейроны чаще выявляются в латеральных зонах Мер, в то время как редковетвистые — в медиальных. Длинноаксонные густоветвистые нейроны Мер имеют преимущественно характер древовидных, но встречаются и кустовидные, а также переходные формы между классами нейронов. В составе Мер обнаружены также отдельные мультиполярные гигантские нейроны, которые выделяются среди других густоветвистых нейронов своей величиной, многочисленными длинными прямыми дендритами. Сравнительный анализ количественных характеристик длинноаксонных густоветвистых нейронов у самцов и самок крыс выявил значимо большую общую длину дендритов у самцов крыс.

Обсуждение полученных данных. В заднем отделе МТ выделяют дорсомедиальное ядро и Мер [2], которое представляет собой одно из самых крупных ядер МТ. Опираясь на особенности строения, характеристику связей и данные онтогенеза, можно полагать, что Мер является одним из древнейших образований МТ [18–20].

Мер находится между дорсомедиальным и задним кортикальным ядрами и имеет много сходных с ними черт в нейронной организации [5]. Его нейроны реагируют на овари- и орхидэктомию изменением кариоволюметрических показателей [1], и на его территории обнаружены половые различия в связывании нейронами α -бунгаротоксина, который является лигандом никотиновых ацетилхолиновых рецепторов [17]. Реализуется ли в Мер морфогенетический эффект действия андрогена в периоде ПДМ и имеют ли место половые различия в дендроархитектонике его нейронов, ранее не изучалось.

Набор нейронов в Мер неодинаков в его медиальной и латеральной зонах. В первой, которая крупнее латеральной, преобладают длинноаксонные редковетвистые нейроны — короткодendrитные и ретикулярные. На каудальном уровне заднего отдела, там, где Мер оказывается под вентральной

стенкой бокового желудочка, можно обнаружить и нейробластоформные нейроны. В латеральных частях ядра встречаются длинноаксонные густоветвистые нейроны преимущественно древовидного класса, которые считаются самыми «примитивными» среди густоветвистых нейронов и имеют черты сходства с короткодendrитными [9]. Интересной находкой данного исследования является обнаружение в составе Мер единичных мультиполярных гигантских нейронов, которые рассматриваются как особые клетки, специализированные на интеграции на своих длинных ветвящихся по радиусам дендритах, разнообразной импульсации как от окружающих ретикулярных нейронов, так и от приходящих к ним афферентных волокон [9]. Обнаружение этих нейронов в составе Мер позволяет предполагать, что это ядро может выполнять функции интегративно-пускового центра палеоамигдалы [7].

Наибольшая выраженность половых различий обнаружена у короткодendrитных нейронов Мер, у которых из 7 исследованных параметров значимо различались четыре (число свободных окончаний, площадь дендритного поля, число точек ветвления и показатель разветвленности дендритов). Известно, что короткодendrитные нейроны широко представлены в нейросекреторных ядрах, в гипоталамической и преоптической областях, часто локализуются в периваскулярных зонах. Это показывает, что они обладают значительной пластичностью, а также позволяет предполагать их причастность к обеспечению взаимосвязей между нервной и эндокринной системой [2, 10].

Ретикулярные нейроны выявлялись как в латеральных, так и в медиальных зонах Мер. Они формировали своими длинными дендритами сеть, среди которой располагались другие формы редковетвистых нейронов, а также густоветвистые нейроны. Вероятно, в Мер проявляется выявленная в конечном мозге общая закономерность — наличие единой системы древних интегративных ретикулярных клеток, способных оказывать модулирующее влияние на его нисходящие системы [11]. Выявленные у ретикулярных нейронов половые различия позволяют предполагать, что деятельность формируемых ими рецептивных решеток испытывает влияние половых стероидов.

Анализ цитоархитектоники, нейронной организации и цитологических характеристик нейронов заднего отдела МТ обнаружил общие черты в структурно-функциональной организации трех структур этого отдела — дорсомедиального, Мер и заднего кортикального ядер — и дал возможность предложить новую концепцию субстрата древней амигдалы [6]. Согласно этой концепции, указанная группа ядер, формирование которой

происходит на ранних этапах онтогенеза и филогенеза головного мозга, представляет собой единый структурно-функциональный комплекс, развитие которого в онтогенезе детерминируется половыми стероидами, которые оказывают на него модулирующее влияние и во взрослом организме.

В настоящее время известно, что весь указанный комплекс ядер синхронно реагирует на дефицит половых гормонов [1], а нейроны дорсомедиального и заднего кортикального ядер испытывают модулирующее влияние половых стероидов [2, 8], морфогенетический эффект андрогена имеет место в дорсомедиальном и заднем кортикальном ядрах [4, 6], дорсомедиальное и заднее кортикальное ядра, по данным кариометрии, являются зонами полового диморфизма [2].

В результате настоящего исследования впервые выявлено наличие половых различий в дендроархитектонике нейронов Мер. В длинноаксонных редковетвистых нейронах этого ядра у половозрелых самцов крыс имеет место большая ветвистость дендритов, а длинноаксонные густоветвистые нейроны обладают большей общей длиной дендритов. Характер выявленных различий сходен с ранее описанным в дорсомедиальном ядре МТ [4]. Полученные данные позволяют предполагать предопределенность выявленных половых различий морфогенетическим эффектом половых стероидов в период ПДМ.

ЛИТЕРАТУРА

- Ахмаев И.Г. и Калимуллина Л.Б. Миндалевидный комплекс гонадэктомизированных крыс, реакция нейронов кортико-медиального отдела. *Арх. анат.*, 1982, т. 83, вып. 12, с. 48–59.
- Ахмаев И.Г. и Калимуллина Л.Б. Миндалевидный комплекс мозга: функциональная морфология и нейроэндокринология. М., Наука, 1993.
- Асрибекова М.К. и Калимуллина Л.Б. Структурно-функциональная организация миндалевидного комплекса мозга в динамике эстрального цикла. *Бюл. exper. биол.*, 1989, т. 107, № 3, с. 748–750.
- Ахмаев А.В. Влияние фактора пола и неонатальной андрогенизации на дендроархитектонику нейронов дорсомедиального ядра миндалевидного тела мозга. *Морфология*, 2006, т. 129, № 3, с. 30–33.
- Ахмаев А.В. и Калимуллина Л.Б. Структурная и количественная характеристика дендритов нейронов заднего отдела миндалевидного тела мозга крысы. *Морфология*, 2003, т. 123, вып. 3, с. 36–39.
- Ахмаев А.В. и Калимуллина Л.Б. Дендроархитектоника нейронов заднего кортикального ядра миндалевидного тела мозга крысы под влиянием фактора пола и неонатальной андрогенизации. *Морфология*, 2004, т. 125, вып. 2, с. 22–25.
- Ахмаев А.В. и Калимуллина Л.Б. Древняя амигдала: цитоархитектоника, организация и цитологические характеристики нейронов. *Морфология*, 2004, т. 126, вып. 5, с. 15–19.
- Ахмаев А.В. и Калимуллина Л.Б. Электронно-микроскопическая характеристика нейроэндокринных нейронов миндалевидного тела мозга у самцов и самок крыс на различных стадиях эстрального цикла. *Морфология*, 2006, т. 130, вып. 6, с. 25–29.
- Калимуллина Л.Б., Ахмаев А.В., Гуркова Я.О. и др. Ростокаудальный градиент в структурно-функциональной организации миндалевидного тела мозга. *Морфология*, 2004, т. 125, вып. 1, с. 7–11.
- Леонтович Т.А. Нейронная организация подкорковых образований переднего мозга. М., Медицина, 1978.
- Леонтович Т.А., Хренов А.И., Мухина Ю.К. и др. Единая система редковетвистых проекционных (ретикулярных) НАДФН-диафоразных нейронов в образованиях из густоветвистых клеток переднего мозга человека. *Журн. высш. нервн. деят.*, 2005, т. 55, № 6, с. 798–811.
- Резников А.Г. Половые гормоны и дифференциация мозга. Киев, Наук. думка, 1982.
- Резников А.Г., Акмаев И.Г., Фиделина О.В. и др. Метаболизм тестостерона в дискретных областях мозга плодов крыс. *Пробл. эндокринол.*, 1990, т. 36, № 3, с. 57–61.
- Резников А.Г., Пишак В.П., Носенко Н.Д. и др. Пренатальный стресс и нейроэндокринная патология. Черновцы, Медакадемия, 2004.
- Угрюмов М.В. Механизмы нейроэндокринной регуляции. М., Наука, 1999.
- Шалапина В.Г. Предисловие. В кн.: Основы нейроэндокринологии. СПб., Элби—СПб, 2005, с. 4–8.
- Arimatsu Y. and Seto A. Ontogeny of sexual difference in α -bungarotoxin binding capacity in the mouse amygdala. *Brain Res.*, 1982, v. 234, № 1, p. 27–39.
- Bayer S.A. Quantitative ^3H -thymidine radiographic analysis of neurogenesis in the rat amygdala. *J. Comp. Neurol.*, 1980, v. 194, № 4, p. 845–875.
- Conrad L.C. and Pfaff D.W. Efferents from medial basal forebrain and hypothalamus in the rat. *J. Comp. Neurol.*, 1976, v. 169, № 2, p. 185–200.
- Olmos J.E., Hardy H. and Heimer L. The afferent connections of the main and accessory olfactory bulb formations in the rat: an experimental HRP study. *J. Comp. Neurol.*, 1978, v. 181, № 2, p. 213–244.

Поступила в редакцию 10.03.07
Получена после доработки 18.07.07

CYTOARCHITECTONICS, NEURONAL ORGANIZATION AND THE INFLUENCE OF GENDER FACTOR ON NEURONAL DENDROARCHITECTONICS OF AMYGDALA POSTERIOR MEDIAL NUCLEUS

A.V. Akhmadeyev

The aim of this study was the analysis of cytoarchitectonics, neuronal organization and gender factor influence on neuronal dendroarchitectonics of amygdala posterior medial nucleus. The study was performed on 50 adult Wistar rats (25 male and 25 female) using Nissl and Golgi staining methods. The nucleus is shown to be formed by large neurons, which in silver-impregnated sections, had the characteristics of long-axon sparsely- and densely-branched neurons. In male rats, dendrites of long-axon sparsely-branched neurons had greater branching indexes, while those of long-axon densely-branched neurons were longer than in females.

Key words: brain, amygdala, posterior medial nucleus, neuronal organization, gender differences.

Department of Human and Animal Morphology and Physiology, Bashkir State University, Ufa.