

УДК 612.82

DOI 10.29039/2413-1725-2024-10-2-14-22

ЦЕНТРАЛЬНОЕ ЯДРО МИНДАЛЕВИДНОГО КОМПЛЕКСА И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА СИСТЕМНУЮ ГЕМОДИНАМИКУ САМОК КРЫС В УСЛОВИЯХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО ПОКОЯ И ОСТРОГО СТРЕССА

Бакулина Е. И., Юданова А. Д., Романова И. Д., Инюшкин А. Н.

*ФГАОУ ВО «Самарский национальный исследовательский университет
им. академика С. П. Королёва», Самара, Россия
E-mail: ainyushkin@mail.ru*

Центральное ядро миндалевидного комплекса, входящее в состав структуры «расширенная миндалина», – звено экстрагипоталамической системы кортиколиберина, которое оказывает влияние на стресс-зависимое поведение и инициацию эмоционально-мотивированного ответа. Цель исследования: оценка влияния центральных отделов миндалины на функциональное состояние сердечно-сосудистой системы в условиях покоя и в фармакологической гидrocортизоновой модели стресса у крыс. В ходе исследования у интактных крыс (контроль) и у крыс с разрушенным центральным ядром миндалины изучены основные параметры гемодинамики и клеточного состава периферической крови в покое и при фармакологическом моделировании острого стресса. Полученные результаты дают основание считать центральный отдел миндалевидного комплекса одной из важнейших структур ЦНС, участвующих в развитии стресс-реакции, разрушение которой приводит к угнетению адаптивных ответных реакций сердечно-сосудистой системы при стрессе.

Ключевые слова: миндалина, центральное ядро миндалевидного комплекса, системная гемодинамика, стресс, крысы, общий адаптивный синдром.

ВВЕДЕНИЕ

Стресс от внешних стимулов вызывает измененный физиологический ответ, направленный на поддержание гомеостатического баланса, инициируя изменения в головном мозге и организме в целом. К ключевым областям мозга, участвующим в ответных реакциях на стрессовые условия относятся базолатеральный миндалевидный комплекс, лимбическая система, «расширенная миндалина», гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система и др. [1].

Центральное и медиальное ядра миндалины входят в совокупность структур «расширенной миндалины», которая регулирует поведенческие реакции и эмоционально-мотивированный ответ на стресс у животных, опосредует анксиогенные эффекты кортиколиберина [2, 3].

Деструктивные воздействия на центральное и латеральное ядра приводят к угнетению развития стрессорного ответа у животного, а также к увеличению экспрессии мРНК кортиколиберина в миндалине и гипоталамусе [4]. Стимуляция центрального и кортикального ядер, напротив, усиливает секрецию гормонов гипофизарно-надпочечниковой системы, тем самым меняя вектор поведенческого

ответа на стрессоген. Данные об изменениях физиологических функций наглядно показывают активирующее влияние миндалевидного комплекса на гипоталамус; при этом миндалина выступает в роли терминального поля, через которое в гипоталамус следуют сигналы от норадренергических и дофаминергических ядер мозга. Миндалевидный комплекс в данной ситуации является областью взаимодействия кортиколиберина со многими медиаторами и нейрогормонами, вследствие чего замыкается регуляторный контур, контролирующей напрямую эмоциональное окрашивание стрессорного ответа [5].

Немаловажным фактором при стрессе является стимулирование миндалевидным комплексом выброса системой гипофиз-надпочечники глюкокортикоидов в кровь, что подтверждается повышением уровня глюкокортикоидов при негативных эмоциях с сохранением высокого уровня во временном диапазоне от 12 часов до суток [6].

Цель исследования: оценка влияния центральных отделов миндалины на функциональное состояние сердечно-сосудистой системы в условиях покоя и в фармакологической гидrocортизоновой модели стресса у крыс.

Задачи:

Исследовать параметры деятельности сердечно-сосудистой системы у интактных и амигдалоэктамированных крыс в состоянии покоя и при фармакологическом моделировании острого стресса.

Провести микроскопирование и подсчет процентного соотношения различных видов лейкоцитов в периферической крови у интактных и амигдалоэктамированных крыс в условиях физиологического покоя и острого стресса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Все процедуры соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям комитета по биоэтике биологического факультета Самарского национального исследовательского университета им. академика С. П. Королева (протокол № 3 от 20.06.2018). Исследование осуществлялось на половозрелых беспородных самках крыс, общей численностью 24 особи, массой 260–310 г. Животные для проведения эксперимента были получены из вивария ФГАОУ ВО Самарский национальный исследовательский университет им. академика С. П. Королёва. Все особи, случайным образом разделенные на две группы, содержались в стандартных условиях вивария: обычный пищевой и питьевой рацион со свободным доступом к воде и пище. Все самки, которые были использованы в эксперименте, находились в фазе диэструса эстрального цикла с исключением беременности и воздействия гормональных факторов. Самкам экспериментальной группы была проведена стандартная [7] операция по локальному разрушению центрального ядра миндалины электролитическим способом с применением анодного тока силой 0,1 А продолжительностью 10 с. Для электрокоагуляции использовали активный электрод, изготовленный из нержавеющей стали диаметром 100 мкм с двойной лаковой изоляцией, длина неизолированной активной части составляла 1 мм. Индифферентный электрод из нержавеющей стали фиксировали на ухе. Активный

электрод вводили по координатам: Р – 1,8 мм, L – 3,8 мм, V – 7,8 мм [8]. Самкам контрольной группы производилось введение активного электрода, но без воздействия тока.

В качестве стрессогенного фактора при моделировании фармакологического острого стресса в исследовании применялся препарат Гидрокортизон Рихтер (Gedeon Richter Plc) – 1 мг на 100 г веса животного внутривенно. Данный препарат является глюкокортикоидным средством противовоспалительного действия, угнетающим функции лейкоцитов и тканевых макрофагов. Процесс метаболизации происходит в печени (T_{1/2} – 80–120 мин). Регистрация данных через полтора и три часа после введения препарата обоснована периодом полураспада как средством фиксации развития стресс-реакции или метаболизма гидрокортизона у животных [9].

В исследовании использовали специализированное оборудование для измерения артериального давления у крыс и мышей – CODA Monitor (Kent Scientific Corporation). Используя технологию регистрации объемного давления (VPR), данный метод позволяет измерить систолическое (СД), диастолическое (ДД) и среднее давление (СрД), частоту сердечных сокращений (ЧСС), минутный объем крови (МОК). Показатель пульсового давления (ПД) рассчитывался математически. Исходя из высокой лабильности сердечно-сосудистой системы, регистрация показателей артериального давления осуществлялась 6-8 раз и проводилась до, через полтора и три часа после введения гидрокортизона. По наличию/отсутствию сдвигов от нормы процентного соотношения различных видов лейкоцитов фиксировалась выраженность стресс-реакции (лейкоцитарная формула на 200 клеток). Подсчет лейкоцитарной формулы проводили в окрашенном (метод Романовского-Гимзы) мазке нативной крови из хвоста под микроскопом с иммерсией [10].

При помощи программы SigmaPlot 12.5 (SYSTAT Software) был проведен статистический анализ полученных данных. Различия с уровнем $p < 0,05$ рассматривались как статистически значимые. Shapiro–Wilk test применяли для вычисления нормальности распределения данных в выборках. Levene's test применяли для выявления однородности распределения выборок. Парный и непарный t-тест, тест Манна-Уитни и тест до и после в статистическом анализе применяли для сравнения выборок. Данные представлены как средние арифметические \pm стандартное отклонение.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В исследовании воздействия деструкции центрального ядра миндалевидного комплекса на гемодинамику у самок в покое установлено, что показатели ДД и СрД выше в контрольной группе, чем в экспериментальной, а показатель ПД напротив выше в экспериментальной группе (рис. 1). Другие параметры гемодинамических показателей сердечно-сосудистой системы у животных обеих групп статистически не различались.

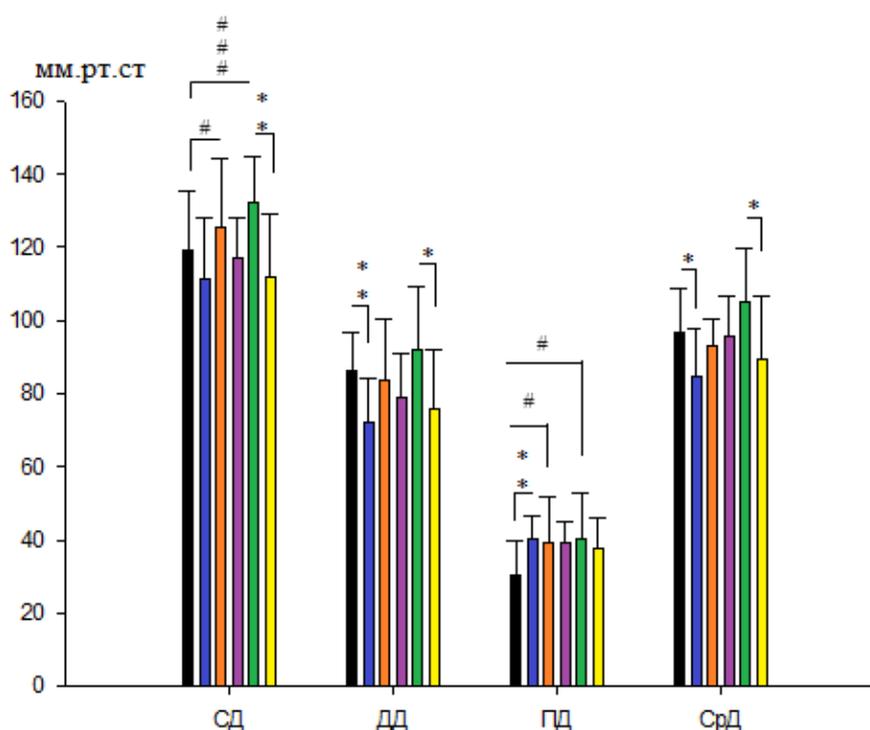


Рис. 1. Значения систолического (СД), диастолического (ДД), пульсового (ПД) и среднего (СрД) давления у самок крыс в покое и после воздействия гидрокортизона.

Примечание: Черные столбцы – контрольная группа, покой; синие столбцы – экспериментальная группа, покой; оранжевые столбцы – контрольная группа через полтора часа после воздействия; фиолетовые столбцы – экспериментальная группа через полтора часа после воздействия; зеленые столбцы – контрольная группа через 3 часа после воздействия; жёлтые столбцы – экспериментальная группа через 3 часа после воздействия; * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$ (между исследуемыми группами), # – $p < 0.05$; ### – $p < 0.005$ (внутри исследуемых групп).

В контрольной группе после введения гидрокортизона наблюдался рост СД и ПД через полтора и три часа (рис. 1). В экспериментальной группе прослеживается тенденция к увеличению СД, ДД и СрД через полтора часа после введения гидрокортизона и тенденция к снижению этих параметров к трем часам. В экспериментальной группе спустя три часа после введения гидрокортизона было зарегистрировано снижение СД, ДД и СрД по сравнению с контрольной группой (рис. 1).

Статистически значимых изменений МОК и ЧСС в исследовании не выявлено.

Процентное содержание эозинофилов в крови экспериментальных животных резко снизилось после введения гидрокортизона и сохранялось сниженным на протяжении трех часов эксперимента. У особей контрольной группы количество

эозинофилов после введения гидрокортизона оказалось выше, чем у животных экспериментальной группы (рис. 2).

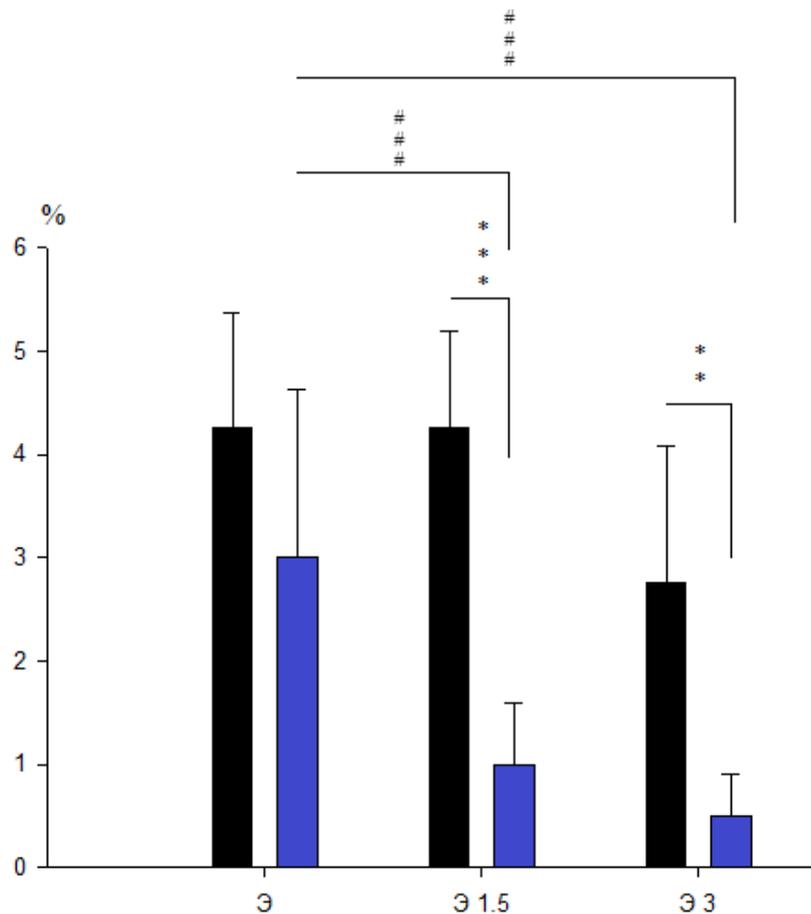


Рис. 2. Процентное соотношение эозинофилов у контрольной группы крыс и экспериментальной группы крыс в покое и при развитии стресс-реакции (Э 1.5 – через полтора часа после введения гидрокортизона; Э 3 – через 3 часа после введения гидрокортизона).

Примечание: Черные столбцы – контрольная группа; синие столбцы – экспериментальная группа; **– $p < 0.01$; ***– $p < 0.005$ (между исследуемыми группами), ###– $p < 0.005$ (внутри исследуемых групп).

Полученные нами результаты в виде снижения большинства показателей артериального давления при разрушении центрального ядра миндалина в целом согласуются с данными, полученными другими исследователями. Так Folkow et al. в эксперименте у 6-недельных спонтанно гипертензивных (SHR) крыс при двухстороннем разрушении миндалевидного комплекса увеличения артериального

давления по сравнению с контролем не зафиксировали [11]. Sanders et al. в исследованиях на самцах пограничных гипертензивных крыс (BHR) с двухсторонним электролитическим разрушением центрального ядра и прямым измерением артериального давления и ЧСС в покое, зафиксировали снижение измеряемых параметров при поражении центрального ядра. Помимо этого, в исследовании Sanders et al. на самцах BHR проводилась регистрация артериального давления и ЧСС в течение 10 мин острого стресса и в течение 10 мин после него, которая показала уменьшение проявлений стресс-реакции при поражении центрального ядра миндалевидного комплекса [12]. В нашем исследовании обнаружено увеличение показателей СД, ДД и СрД к третьему часу после воздействия гидрокортизона на самок контрольной группы. Вместе с тем фармакологическое моделирование острого стресса у самок экспериментальной группы привело к снижению основных показателей гемодинамики. Частично эти данные, согласуются с результатами, полученными в исследованиях Sanders et al., а также в работах Zhang et al., где на неанестезированных кошках зафиксировано двухфазное изменение артериального давления (первичное снижение с последующим возрастанием) при двухсторонней криогенной блокаде центрального ядра миндалина [13]. Также Galeno et al. было описано угнетение сердечно-сосудистой реакции на острый шумовой стресс при двустороннем поражении центрального ядра у спонтанно гипертензивных крыс (SHR) и крыс Вистар-Киото (wky) [14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенной работы был сделан анализ влияния центральных отделов миндалевидного комплекса на гемодинамику крыс в условиях острого стресса. В результате исследования установлено вовлечение центрального ядра миндалевидного комплекса в выражение эмоциональной окраски физиологического ответа в фармакологической гидрокортизоновой модели стресса, включая сопутствующие сердечно-сосудистые изменения. Исходя из данных, полученных в ходе исследования, можно говорить о том, что влияние центрального ядра миндалина на сердечно-сосудистый контроль преимущественно осуществляется через механизмы регуляции кровяного давления, нежели путем изменения сердечного ритма. Некоторые различия между данными, полученными нами и другими исследователями, можно объяснить тем, что их эксперименты проводились на трансгенных или склонных к сердечно-сосудистым заболеваниям крысах (спонтанно гипертензивные (SHR) и погранично гипертензивные (BHR) крысы).

Зарегистрированные при моделировании стресса изменения показателей артериального давления у особей контрольной группы демонстрируют особенности механизмов стресс-реакции на фоне введения гидрокортизона, в то время как у экспериментальных крыс наблюдается обычная картина реакции сердечно-сосудистой системы на введение и последующий метаболизм гидрокортизона без инициации механизмов стресс-реакции.

Картина выраженной эозинопении у особей экспериментальной группы после введения гидрокортизона и менее выраженной — в контрольной группе

свидетельствует о том, что центральное ядро является одним из важных компонентов реализации стресс-реакции, выполняя роль важной антистрессовой структуры.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 23-28-00720).

Список литературы

1. Sullivan S. E. Bioinformatic analysis of long-lasting transcriptional and translational changes in the basolateral amygdala following acute stress / S. E. Sullivan, M. E. Jones, S. Jamieson, G. Rumbaugh, C. A. Miller // PLoS One. – 2019. – V. 14(1). – P. 846.
2. Waraczynski M. A. The central extended amygdala network as a proposed circuit underlying reward valuation / M. A. Waraczynski // Neurosci. Biobehav. Rev. – 2005. – V. 28. – P. 1–25.
3. Шабанов П. Д. Структурно-функциональная организация системы расширенной миндалины и ее роль в подкреплении / П. Д. Шабанов, А. А. Лебедев // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2007. – Т. 5, № 1. – С. 2–16.
4. Шабанов П. Д. Кортиколибериновые механизмы подкрепления и их модуляция нейропептидами и наркотиками / П. Д. Шабанов, А. А. Лебедев // Психофармакология и биологическая наркология. – 2007. – Т. 7, № 2. – С. 1510–1527.
5. Dimitrov A. Differences in Neural Recovery From Acute Stress Between Cortisol Responders and Non-responders / A. Dimitrov, K. Demin, P. Fehlner, H. Walter, S. Erk, I. M. Veer // Front Psychiatry. – 2018. – V. 9. – P. 631.
6. Best B. The Amygdala and the Emotions / Ben Best // The Amygdala and the Emotions. – 2004. – URL: <http://www.benbest.com/science/anatmind/anatmd9.html> (дата обращения: 13.02.2024).
7. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения: Пер. с англ. Е. Н. Живописцевой / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. П. Хьюстон; [Под ред. А. С. Батуева]. – М.: Высш. шк., 1991. – 399 с.
8. Paxinos G. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. / Paxinos G., Watson C. – Watson: Academic Press, 1998. – 474 p.
9. Гидрокортизон-Рихтер (Hydrocortisone-Richter) инструкция по применению / Справочник Видаль «Лекарственные препараты в России» – 2018. – URL: https://www.vidal.ru/drugs/hydrocortisone-richter__2028 (дата обращения: 14.02.2024).
10. Воронин Е. С. Практикум по клинической диагностике с рентгенологией: учебное пособие / Е. С. Воронин, С. П. Ковалев, Г. В. Сноз, В. И. Черкасова, А. М. Шабанов, М. В. Щукин. – М.: Инфра-м, 2014. – 336 с.
11. Folkow B. Influence of amygdala lesions on cardiovascular responses to altering stimuli on behaviour and on blood pressure development in spontaneously hypertensive rats / B. Folkow, M. Hallback-Nordlander, J. Martnev, C. Nordborg // Acta Physiol. Scand. – 1982. – V. 116. – P. 133–40.
12. Sanders B. J. Central amygdaloid lesions attenuate cardiovascular responses to acute stress in rats with borderline hypertension / B. J. Sanders, C. Wirtz-Nole, S. M. DeFord, B. F. Erling // Physiol. Behav. – 1994. – V. 56, № 4. – P. 709–713.
13. Zhang J. X. Cryogenic blockade of the central nucleus of the amygdala attenuates aversively conditioned blood pressure and respiratory responses / J. X. Zhang, R. M. Harper, H. F. Ni // Brain Res. – 1986. – V. 386. – P. 136–145.
14. Galeno T. M. Central amygdaloid nucleus lesion attenuates exaggerated hemodynamic responses to noise stress in the spontaneously hypertensive rat / T. M. Galeno, G. W. Van Hoesen, M. J. Brody // Brain Res. – 1984. – V. 2. – P. 249–259.

THE CENTRAL NUCLEUS OF THE AMYGDALA COMPLEX AND ITS EFFECT ON THE SYSTEMIC HEMODYNAMICS OF FEMALE RATS UNDER CONDITIONS OF PHYSIOLOGICAL REST AND ACUTE STRESS

Bakulina E. I., Yudanova A. D., Romanova I. D., Inyushkin A. N.

*Samara National Research University, Samara, Russia
E-mail: ainyushkin@mail.ru*

The central nucleus of the amygdala complex, which is part of the structure of the "expanded amygdala" – a link of the extrahypothalamic system of corticoliberin, influences stress-dependent behavior and the initiation of an emotionally motivated response in a stressful situation. The aim of the study evaluates the influence of the central parts of the amygdala on the functioning of the cardiovascular system at rest and against the background of the stress reaction in rats. Object and methods. In the course of the study, in intact and rats with a destroyed central nucleus, the main parameters of the cardiovascular system and the cellular composition of the peripheral blood of animals at rest and during pharmacological modeling of acute stress were studied.

In the course of this work, an analysis was made of the influence of the central departments of the amygdala complex on the hemodynamics of rats under acute stress. As a result of the study, the involvement of the central nucleus of the amygdala complex in the expression of the emotional coloring of the physiological response in the pharmacological hydrocortisone stress model, including concomitant cardiovascular changes, was established. Based on the data obtained during the study, it can be said that the influence of the central nucleus of the amygdala on cardiovascular control is mainly carried out through mechanisms of regulation of blood pressure, rather than by changing the heart rate. Some differences between the data obtained by us and the previously mentioned researchers can be explained by the fact that their experiments were conducted on initially sick or prone to cardiovascular diseases rats (spontaneously hypertensive (SHR) and borderline hypertensive (BHR) rats).

Changes in blood pressure indicators recorded during stress modeling in individuals of the control group demonstrate the work of stress reaction mechanisms against the background of hydrocortisone administration, while in experimental rats the usual picture of the reaction of the cardiovascular system to the administration and subsequent metabolism of hydrocortisone is observed without initiating stress reaction mechanisms.

The pattern of pronounced eosinopenia in individuals of the experimental group after administration of hydrocortisone and less pronounced in the control group indicates that the central core is one of the important components of the stress reaction, being an important anti-stress component.

The results obtained give reason to consider the central department of the amygdala complex as one of the most important components of the stress reaction, the destruction of which leads to inhibition of adaptive responses of the cardiovascular system during the stress reaction.

Keywords: amygdala, central nucleus of amygdala, systemic hemodynamics, stress, rats, general adaptive syndrome.

References

1. Sullivan S. E., Jones M. E., Jamieson S., Rumbaugh G., Miller C. A., Bioinformatic analysis of long-lasting transcriptional and translational changes in the basolateral amygdala following acute stress, *PLoS One*, **14** (1), 846 (2019).
2. Waraczynski M. A., The central extended amygdala network as a proposed circuit underlying reward valuation, *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **28**, 472 (2005).
3. Shabanov P. D., Lebedev A. A., Strukturno-funktsional'naya organizatsiya sistemy rasshirennoy mindaliny i ee rol' v podkrepleni, *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii*, **5** (1), 2 (2007). (In Russ.).
4. Shabanov P. D., Lebedev A. A., Kortikoliberinovyie mekhanizmy podkrepleniya i ikh modulyatsiya neuropeptidami i narkogenami, *Psikhofarmakologiya i biologicheskaya narkologiya*, **7** (2), 1510 (2007). (In Russ.).
5. Dimitrov A., Demin K., Fehlner P., Walter H., Erk S., Veer I. M., Differences in Neural Recovery From Acute Stress Between Cortisol Responders and Non-responders, *Front Psychiatry*, **9**, 631 (2018).
6. Best B., The Amygdala and the Emotions / Ben Best // The Amygdala and the Emotions, 2004. – URL: <http://www.benbest.com/science/anatmind/anatmd9.html>
7. Buresh Ya., Bureshova O., Houston D. P., *Methods and basic experiments on the study of the brain and behavior*, (Moscow: Higher School Publ, 1991). (In Russ.).
8. Paxinos G., Watson C., *The Rat Brain in Stereotaxis Coordinates*, (Watson: Academic Press, 1998).
9. Gidrokortizon-Rikhter (Hydrocortisone-Richter) instruktsiya po primeneniyu / Spravochnik Vidal' «Lekarstvennye preparaty v Rossii», 2018. – URL: https://www.vidal.ru/drugs/hydrocortisone-richter__2028 (In Russ.).
10. Voronin E. S., Kovalev S. P., Snoz G. V., Cherkasova V. I., Shabanov A. M., Shchukin M. V., *Praktikum po klinicheskoy diagnostike s rentgenologiej*, (Moscow: Infra-m, 2014) (In Russ.).
11. Folkow B., Hallback-Nordlander M., Martnev J., Nordborg C., Influence of amygdala lesions on cardiovascular responses to altering stimuli on behaviour and on blood pressure development in spontaneously hypertensive, *Acta Physiologica Scandinavica*, **116**, 133 (1982).
12. Sanders B. J., Wirtz-Nole C., DeFord S. M., Erling B. F., Central amygdaloid lesions attenuate cardiovascular responses to acute stress in rats with borderline hypertension, *Physiology & Behavior*, **56** (4), 709 (1994).
13. Zhang J. X., Harper R. M., Ni H. F., Cryogenic blockade of the central nucleus of the amygdala attenuates aversively conditioned blood pressure and respiratory responses, *Brain Research*, **386**, 136 (1986).
14. Galeno T. M., Van Hoesen G. W., Brody M. J., Central amygdaloid nucleus lesion attenuates exaggerated hemodynamic responses to noise stress in the spontaneously hypertensive rat, *Brain Research*, **2**, 249 (1984).