

Особенности морфофункциональных изменений структур головного мозга крыс разного возраста при формировании поведения активного избегания после общего охлаждения

И.Н. НИКИШКОВА

Институт неврологии, психиатрии и наркологии АМН Украины, г. Харьков

Peculiarities of Morphofunctional Changes in Brain Structures of Rats of Various Age when Forming the Active Avoidance Behavior Following General Cooling

NIKISHKOVA I.N.

*Institute for Neurology, Psychiatry and Narcology
of the Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kharkov*

Рассматриваются особенности морфофункциональных изменений структур головного мозга 3-х и 6-месячных крыс при обучении на модели формирования поведения активного избегания (ПАИ) после 3-кратного общего умеренного охлаждения.

Ключевые слова: поведение активного избегания, неокортекс, гиппокамп, гипоталамус, миндалевидный комплекс.

Розглядаються особливості морфофункціональних змін структур головного мозку 3-х та 6-місячних щурів при навчанні на моделі формування поведінки активного уникнення після 3-разового загального помірного охолодження.

Ключові слова: поведінка активного уникнення, неокортекс, гіпокамп, гіпоталамус, мигдалеподібний комплекс.

There have been considered the peculiarities of morphofunctional changes of brain structures in 3- and 6-months' rats when training on the model formation for active avoidance behavior (AAB) following a three-fold general moderate cooling.

Key words: active avoidance behaviour, neocortex, hippocampus, hypothalamus, amygdala complex.

Общее умеренное охлаждение является экстремальным фактором, с действием которого организм неоднократно сталкивается в реальных условиях. Согласно данным [3], оно оказывает выраженное модулирующее действие на состояние структур головного мозга. Цель данного исследования – изучение особенностей морфофункциональных изменений головного мозга у 3-х и 6-месячных крыс при формировании ПАИ после общего умеренного охлаждения. Полученные данные могут быть полезными для понимания роли влияния на организм температурных воздействий при разработке систем обучения, а также методов коррекции различного рода нарушений памяти.

Материалы и методы

Работа проводилась на белых крысах-самцах линии Вистар 3-х и 6-месячного возрастов. Процессу обучения животных экспериментальной группы в каждом возрасте предшествовало трёхкратное общее умеренное охлаждение, которое проводили по оригинальной методике [6]. Контролем служила группа животных, формирование ПАИ у которых проходило без предварительных воздействий. Также были изучены морфофункциональные показатели у животных под

General cooling is known to be an extreme factor, the effect of which the organism comes across with for many times during life. According to the literature data [3], it shows a pronounced modulating effect on the state of brain structures. Objective of the present work was studying the peculiarities of brain morphofunctional changes in 3- and 6-months' rats when forming the AAB following a moderate general cooling. The obtained data may be useful for understanding the role of the temperature effect on an organism when elaborating the training systems, as well as the correction methods for various memory failures.

Materials and methods

The work was performed in white Wistar male rats of 3 and 6 months' age. Three-fold general moderate cooling accomplished according to the original method [6] preceded the process of animals' teaching. Group of animals with AAB formation with no preliminary effects served as the control. There were also studied the morphofunctional indices in animals of both ages under the cold effect mentioned.

Teaching was carried out according to the classic method of two-side active avoiding in Skinner's chamber. There was recorded the EEG of neocortex (NC), hippocampus (HC), hypothalamus (HT) and amygdala complex (AC), which regulate the adaptive

Адрес для корреспонденции: Никишкова И.Н., Институт неврологии, психиатрии и наркологии АМН Украины, ул. Академика Павлова, 46, г. Харьков, Украина 61068; тел.: +38 (0572) 263394.

Address for correspondence: Nikishkova I.N., Institute for Neurology, Psychiatry and Narcology of the Academy of Medical Sciences of Ukraine, 46, Akademika Pavlova str., Kharkov, Ukraine 61068; tel.: +38 (0572) 263394

влиянием вышеуказанного холодого воздействия.

Обучение проводили по классической методике выработки двухстороннего активного избегания в камере Скиннера. Регистрировали ЭЭГ неокортекса (НК), гиппокампа (ГППК), гипоталамуса (ГТ) и миндалевидного комплекса (МК), регулирующих адаптивные реакции животных, и морфофункциональные особенности НК и ГТ до и после охлаждения, а также после формирования ПАИ.

Результаты и обсуждение

С помощью морфологического анализа исследуемых структур мозга 3-месячных животных контрольной группы установлено преобладание высокой структурно-функциональной активности нейронов с признаками снижения содержания энергетических и пластических веществ в ГППК, в меньшей мере – в НК, и преобладания процессов синтеза в ГТ, что свидетельствует о повышенной морфофункциональной активности лимбических структур мозга с признаками истощения в ГППК. Это согласуется с нейрофизиологическими данными, по которым у 3-месячных животных обнаруживались повышенная возбудимость лимбических структур, высокий уровень пароксизмальных проявлений на ЭЭГ в этих структурах. На поведенческом уровне это сочеталось с высоким уровнем эмоциональной напряжённости и затруднением реализации сформированных условных реакций в данной группе животных.

В группе 3-месячных крыс после предварительного 3-кратного общего охлаждения по данным морфологических исследований в НК и ГППК отмечены значительные изменения по активации синтеза нуклеиновых кислот и белков, т. е. у этих животных наблюдался сдвиг в сторону увеличения синтетической активности в НК и ГППК, что сочеталось с угнетением чрезмерной реактивности и судорожной готовности, присущих животным этого возраста. Отмечавшаяся на ЭЭГ пространственная синхронизация была связана с усилением тормозных процессов под влиянием ГТ. Ведущая роль ГТ в реагировании организма 3-месячных животных на охлаждение подтверждается и морфологическими данными, согласно которым морфофункциональные изменения, наблюдавшиеся в гипоталамических нейронах (ядерный полиморфизм, дистрофические изменения), свидетельствовали о напряжении адапционных клеточных механизмов в данной структуре.

По результатам морфологических исследований у 3-месячных крыс экспериментальной группы признаки высокой функциональной активности (чёткость слоёв и вертикальной упорядоченности, наряду с преобладанием в нейронах

responses in animals, and morphofunctional peculiarities of NC and HT prior to and following cooling, as well as after the AAB formation.

Results and discussion

Morphological analysis of the brain structures under study in 3-months' animals of the control group noted the prevailing of highly structural and functional activity of neurons with the signs of the decrease in the content of energetic and plastic substances in HPPC, in lesser extent in NC, the synthesis processes in HT, that testifies to the increased morphofunctional activity of brain limbic structures with the signs of weakening in HPPC. This coordinates with the neurophysiological data according to those in 3-months' animals there were found the increased excitability of limbic structures, high level of paroxysmal manifestations of those in EEG. At behavioral level it was combined with a high degree of emotional tension and getting difficult of the realization of conditioned reactions in this group of animals.

In the group of 3-months' rats following a three-fold general cooling according to the data of morphological investigations there was observed the shift towards the increase of synthetic activity in NC and HPPC, combined with the suppression of surplus reactivity and spasmodic readiness being the characteristics of the animals of this age. Spatial synchronization noted in EEG was related to the intensification of the inhibition processes under HT effect. The leading role of this structure in an organism response of 3-months' animals to cooling is also confirmed by morphological data according to those the morphofunctional changes observed in hypothalamic neurons (nuclear polymorphism, dystrophic changes) testified to the tension in adaptive cell mechanisms occurring in this structure.

According to the results of morphological investigation in 3-months' rats of experimental group the signs of high functional activity (accuracy of the layers and vertical order rate with the prevailing of the synthesis processes in neurons) which testified to the orientation of adaptation-compensatory mechanisms, were the most manifested in NC (Fig. 1a). According to the indices of brain bioelectric activity the NC together with AC were the most reactive structures, and the amplitude rise in biopotentials (of low-frequency spectrum) in EEG of these structure testified to this fact.

In HC there was also noted the successful proceeding of compensatory processes, manifested in the growth of hyperchromia combined with glial proliferation (Fig. 1b) [1]. In addition, such an increase of hippocampus hyperchromia at the behavioral level may be related to the success in AAB formation in this group, as according to the data [4] the part of

процессов синтеза), свидетельствовавшие о направленности адаптационно-компенсаторных механизмов, были наиболее выраженными в НК (рис. 1, а). По показателям биоэлектрической активности мозга НК наряду с МК, были наиболее реактивными структурами, о чём свидетельствовало увеличение амплитуды биопотенциалов (низкочастотного спектра) на ЭЭГ данных структур.

В ГППК также отмечалось успешное протекание компенсаторных процессов, проявлением которых был рост гиперхромии в сочетании с глиальной пролиферацией (рис 1, б) [1]. Кроме того, такое увеличение гиппокампальной гиперхромии может быть связано на поведенческом уровне с успешностью формирования ПАИ в этой группе, поскольку, по данным [4], доля гиперхромных нейронов у хорошо обучившихся животных выше, чем у животных с проблемами обучения. У 3-месячных животных контрольной группы в ГППК, наряду с гиперхромией, наблюдался также рост гипохромии. В целом преобладание в нейронах НК и ГППК 3-месячных животных экспериментальной группы синтетической активности на фоне отсутствия выраженных деструктивных изменений сочеталось с угнетением чрезмерной реактивности после гипотермического воздействия.

Контрольная и экспериментальная группы животных 3-месячного возраста также четко различались по морфофункциональным показателям ГТ. В соответствии с полученными морфологическими данными и результатами ЭЭГ исследований состояния ГТ у крыс экспериментальной группы можно предположить, что в условиях обучения условной реакции активного избегания после 3-кратного охлаждения двойная функциональная нагрузка (регуляция гомеостаза и формирование ПАИ) приводит к угнетению биоэлектрической активности и выраженным структурным изменениям (клеточный полиморфизм, дистрофические формы нейронов) в этой структуре (рис. 1, в).

В МК же наблюдались явления высокой морфофункциональной активности, сочетавшиеся с повышенным уровнем пароксизмальных проявлений, регистрируемых на ЭЭГ. Возможно, в условиях уменьшения активности ГТ активация негативных эмоциогенных структур мозга и соответственно повышение уровня функциональной активности в механизмах доминирующей мотивации происходили с преобладающим участием МК, который является “усилителем” эмоций и субстратом оценки конкурентных взаимоотношений разных мотиваций [8].

Морфологический анализ структур мозга 6-месячных крыс контрольной группы

hyperchrome neurons in well trained animals was higher than in those with the training problems. In 3-months’ animals of the control group in HPPC together with hyperchromia there was also observed the growth of hypochromia. In a whole the prevailing in NC and HC neurons of 3-months’ experimental group animals of synthetic activity at the background of the absence of manifested destructive changes was combined with the suppression of excessive reactivity the same as in the group of 3-months’ animals following hypothermia effect.

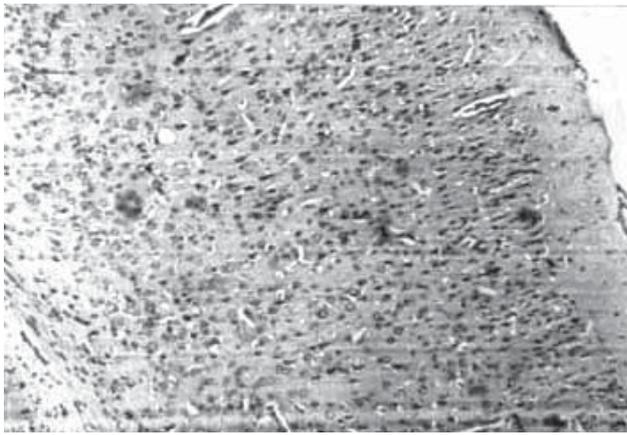
The control and experimental groups of 3-months’ animals were distinguished clearly on HT morphofunctional indices. In accordance with the morphological data obtained and EEG results on the HT state in rats of experimental group it may be supposed that under training conditions for AAB conditioned reaction following three-fold cooling the two-times functional loading (homeostasis regulation and AAB formation) resulted in the suppression of bioelectric activity and manifested structural changes (cellular polymorphism, dystrophic neuron shapes) in this structure (Fig. 1, c).

In AC there were observed the phenomena of high morphofunctional activity combined with the increased level of paroxysmal manifestations, recorded in EEG. Probably, under the conditions of decreasing the HT activity the activation of negative emotional brain structures and, consequently, the rise of the functional activity level in the mechanisms of dominating motivation have occurred with the prevailing of AC participation, which is known to be as the “amplifier” of emotions and a substrate for the estimation of competitive interactions of various motivations [8].

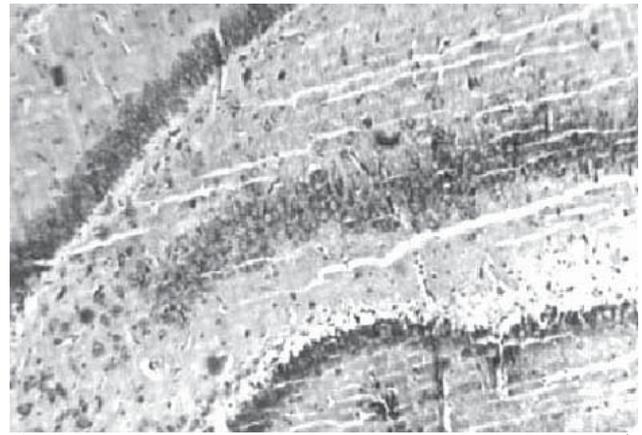
Morphological analysis of the brain structures of 6-months’ control group rats has demonstrated that they were characterized by a clear differentiation of layers and vertical order rate, as well as the prevailing of neuron normochromia. During the training NC and HC occurred to be the most reactive structures. In the whole the training process of 6-months’ animals of this group was accompanied by the optimum manifestation of electrographic, behavioral and vegetative reactions.

During the brain tissue morphological analysis of 6-months’ animals following the three-fold general cooling in the structures under study there was revealed the augmentation of neurons amount in the boundary functional states, hyperchromia intensification together with the hypochromia rise, appearance of dystrophic forms in HT and deletions into NC.

The morphofunctional changes mentioned testified to the tension of reactive processes in the structures under study. This fact was also confirmed by EEG data, according to those in 6-months’ rats following the three-fold cooling there was observed the augmentation of paroxysmal high amplitude activity and



а а



б б

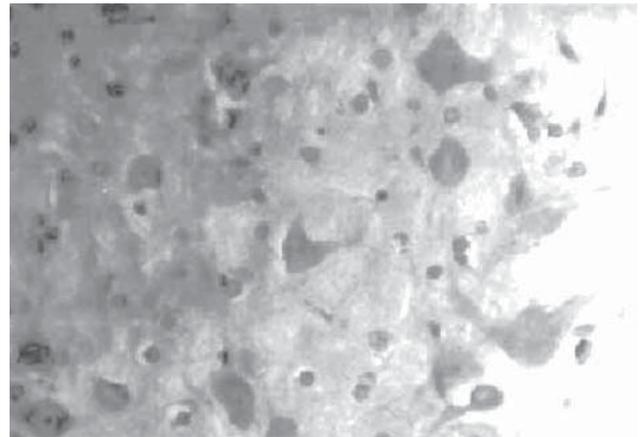
Рис.1. Структуры головного мозга крысы в возрасте 3-х месяцев со сформированным ПАИ после трёхкратного общего умеренного охлаждения: **а** – неокортекс; окраска по Нисслию, увеличение $\times 64$; **б** – гиппокамп; окраска по Нисслию, увеличение $\times 64$; **в** – гипоталамус; окраска по Нисслию, увеличение $\times 192$.

Fig. 1. Brain structures of 3-month's rat with formed AVB after tree-fold general moderate cooling: **a** – neocortex, Nissle staining, magnification $\times 64$; **b** – hippocampus, Nissle staining, magnification $\times 64$; **c** – hypothalamus, Nissle staining, magnification $\times 192$.

продемонстрировал, что им были присущи чёткая дифференциация слоёв и вертикальная упорядоченность, а также преобладание нормохромии нейронов. В ходе обучения наиболее реактивными структурами оказались НК и ГППК. В целом процесс обучения 6-месячных животных этой группы сопровождался оптимальным проявлением электрографических, поведенческих и вегетативных реакций.

При морфологическом анализе тканей головного мозга 6-месячных животных после 3-кратного общего охлаждения в исследуемых структурах было обнаружено увеличение количества нейронов в пограничных функциональных состояниях: нарастание гиперхромии наряду с усилением гипохромии, появление дистрофических форм в ГТ и выпадений в НК. Указанные морфоструктурные изменения свидетельствовали о напряжённости реактивных процессов в изучаемых структурах. Это же подтверждали и данные ЭЭГ. Согласно им у 6-месячных крыс после 3-кратного охлаждения наблюдались усиление пароксизмальной высокоамплитудной активности и обогащение её спектра колебаниями бета-диапазона. Таким образом, выявленное повышение возбудимости исследуемых структур может свидетельствовать об увеличении эмоционального напряжения, которое ощущалось после 3-кратного влияния охлаждения.

Подобно группе 6-месячных животных после предварительного общего охлаждения у НК экспериментальной группы крыс этого возраста, по данным морфологических исследований,

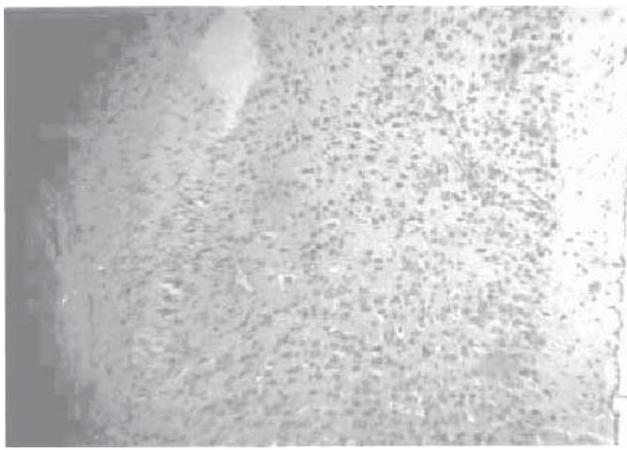


в в

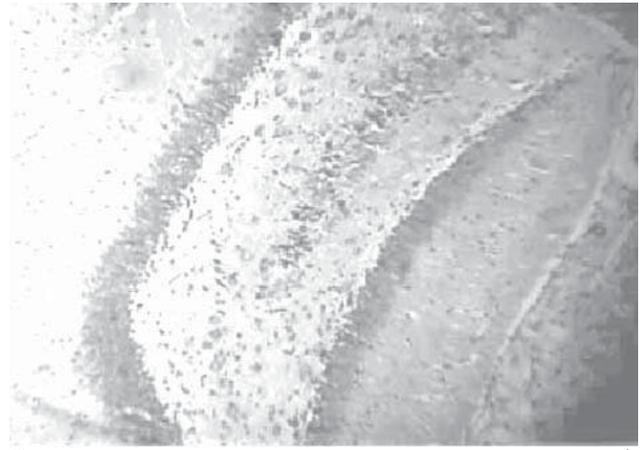
an enrichment of its spectrum with beta-range oscillations. Thus the revealed excitability increase in the structures studied may testify to the rise of emotional tension, which was felt following the three-fold cooling effect.

Similar to the 6-months' animals group following the preliminary general cooling in NC of experimental rat group of this age there was noted (according to the data of morphological investigation) the hyperchromia increase together with a considerable extent of deletions and dystrophic neuron shapes, that in the whole occurred to be the result of the tension of adaptation cellular mechanisms (Fig. 2, a). Basing on the data [7] it may be supposed that the increase of the biopotential amplitude observed in NC EEG may be stipulated directly by the increased NC reactivity and/or by the intensification of the excitation afferent entering to it.

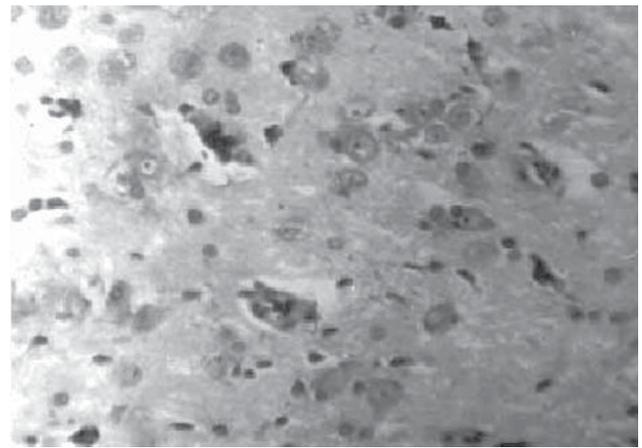
In HC the hypochromia rise found together with the hyperchromia phenomena testified to a tense functional activity of this structure (with the prevailing of the energetic substances expenditure over the synthesis of those), that was combined with a high level of paroxysmal and convulsive manifestations recorded by hippocampogramme (Fig. 2b). The revealed convulsive activity in HPPC, in its turn, could be the cause of a slight motor inhibition, demonstrated



а



б



в

Рис. 2. Структуры головного мозга крысы в возрасте 6-ти месяцев со сформированным ПАИ после трёхкратного общего умеренного охлаждения: **а** – неокортекс; окраска по Нисслию, увеличение $\times 64$; **б** – гиппокамп; окраска по Нисслию, увеличение $\times 64$; **в** – гипоталамус; окраска по Нисслию, увеличение $\times 192$.

Fig. 2. Brain structures of 6-month's rat with formed AVB after tree-fold general moderate cooling: **a** – neocortex, Nissle staining, magnification $\times 64$; **b** – hippocampus, Nissle staining, magnification $\times 64$; **c** – hypothalamus, Nissle staining, magnification $\times 192$.

отмечалось повышение гиперхромии наряду со значительным количеством выпадений и дистрофических форм нейронов, что в целом стало результатом напряжения адаптационно-клеточных механизмов (рис. 2, а). Опираясь на данные [7], можно предположить, что именно повышенной реактивностью НК и/или усилением возбуждающего афферентного поступления к ней может быть обусловлено и увеличение амплитуды биоэлектрических потенциалов, наблюдавшееся на ЭЭГ НК.

В ГППК нарастание гипохромии, выявленное наряду с явлениями гиперхромии, свидетельствовало о напряжённой функциональной активности этой структуры (с преобладанием расхода энергетических веществ над их синтезом), что сочеталось с высоким уровнем пароксизмальных и судорожных проявлений, зафиксированным на гиппокампограмме (рис. 2,б). Обнаруженная в ГППК судорожная активность в свою очередь могла стать причиной некоторой двигательной заторможенности, которую продемонстрировали 6-месячные крысы экспериментальной группы во время обучения, и чем они кардинально отличались от контрольной группы животных того же возраста [2].

Но в отличие от группы 6-месячных животных после охлаждения, морфофункциональному состоянию ГТ животных экспериментальной группы были свойственны стабильность и оптимальный уровень активности и оно было подобно таковому у 6-месячных крыс контрольной группы (рис. 2, в). Эта структура характеризова-

by 6-months' rats of experimental group during the training, and that was their difference from the control group of animals of the same age [2].

However in contrast to the group of 6-months' animals following cooling the morphofunctional HT state of experimental group animals was characterized by stability and the optimal activity level, and it was similar to the one in 6-months' rats of the control group (Fig. 2c). This structure was characterized by a high level of morphofunctional activity with the prevailing of anabolism processes. The EEG picture was characterized by regular organized alpha-rhythm.

Conclusions

More successful AAB formation in 3-months' rats of experimental group it supposed to be related to the fact that as a result of the cooling effect the level of functional activity in the structures under study optimized: first, the HPPC hyperreactivity decreased, which was related to the motoric inhibition in many animals and with the problems of formation and/or realization of the conditioned reaction being formed; then, according to the data [5] during training with a negative background the intensification of negative emotional background due to the MC activation promotes to a rapid and stable formation of the conditioned reflexes.

лась высоким уровнем морфофункциональной активности с преобладанием процессов анаболизма. Картина ЭЭГ был присущ регулярный организованный альфа-ритм.

Выводы

Таким образом, можно предположить, что более успешное формирование ПАИ у 3-месячных крыс экспериментальной группы было связано с тем, что вследствие действия охлаждения уровень функциональной активности исследуемых структур оптимизировался: во-первых, снизилась гиперреактивность ГППК, которая у многих животных связана с двигательной заторможенностью и с затруднением формирования и/или реализации сформированной условной реакции; во-вторых, согласно [5] при обучении с отрицательным подкреплением, усиление отрицательного эмоционального фона за счёт активации МК способствует быстрому и устойчивому образованию условных рефлексов.

Для электрической активности исследуемых структур головного мозга 6-месячных животных экспериментальной группы были характерны высокоамплитудные пароксизмальные проявления, в основном в ГППК и МК, которые мигрировали в НК с периодическим вовлечением в этот процесс ГТ. Как в ходе обучения, так и после его окончания фиксирующийся визуально покой сочетался с регистрировавшимся на ЭЭГ мощным скрытым возбуждением, вероятно, с отрицательной окраской, поскольку фокусом пароксизмальной активности был МК. В общем, с одной стороны, отрицательная окраска эмоционального возбуждения за счёт активации механизмов доминирующей мотивации стимулировала обучение, обеспечивая надёжность выработки, что подтверждается большим количеством условно-рефлекторных ответов. С другой стороны, пароксизмы и судорожные проявления, наблюдавшиеся в ГППК, могли стать у многих животных причиной затруднения реализации сформированной условной реакции активного избегания или отсрочки её во времени.

Литература

1. Аврущенко М.Ш., Волков А.В. Механизмы формирования скрытых и отсроченных постреанимационных энцефалопатий на уровне нейрональных популяций // Вест. РАМН.– 1997.– №10.– С. 26-32.
2. Арушанян Э.Б., Бейер Э.В. Место гиппокампа в биоритмологической организации поведения // Успехи физиол. наук.– 2001.– Т.32.– №1.– С. 79-95.
3. Бабийчук Г.А., Марченко В.С., Ломакин И.И., Белостоцкий А.В. Нейрофизиологические процессы охлаждённого мозга.– Киев: Наук. думка, 1992. – 207 с.
4. Заржецкий Ю.В., Аврущенко М.Ш., Мутускина Е.А., Турбина И.Е. Функциональная и структурная характе-

For electric activity of the brain structure under study of 6-months' animals of the experimental group there were characteristic highly amplitude paroxysmal manifestations, mainly in HPPC and AC, migrated to NC with periodic involvement of HT into this process. Both during the training and after its finishing the rest fixed visually was combined with the strong latent excitation recorded with EEG, obviously, with negative character, as MC was the focus of paroxysmal activity. In general, from one side the negative character of emotional excitation due to the activation of the mechanisms of dominating motivation stimulated the training providing the reliability of the result, that was confirmed by a high amount of conditionally-reflective responses. From other side, the paroxysms and convulsive signs observed in HC could be the cause of the problems in realizing of the AAB conditioned reaction formed or its postponing within the time.

References

1. Avruschenko M.Sh., Volkov A.V. Mechanisms for the formation of latent and delayed post-reviving encephalopathies at the level of neuronal populations // Vestnik RAMN.– 1997.– N10.– P. 26-32.
2. Arushanyan E.B., Beyer E.V. The role of hippocampus in biorhythmologic behavior organization // Successes of physiological sciences.– 2001.– V.32.– N1.– P. 79-95.
3. Babijchuk G.A., Marchenko V.S., Lomakin I.I., Belostotsky A.V. Neurophysiological processes of cooled brain.– Kiev: Nauk.dumka, 1992.– 207p.
4. Zarzhetsky Yu.V., Avruschenko M.Sh., Mutuskina E.A., Turbina I.E. Functional and structural characteristics of re-lived rats training on positive and negative stimulus // Bul. Experim. Biol. i Med.– 2000.– Annex N2.– P. 9-11.
5. Nikishkova I.N. Experimental analysis of the dependence of trace process upon the state of emotional homeostasis // Ukr. Visnyk psykhoneurologii.– 1995.– Vol.3, N1.– P. 172-173.
6. Nikishkova I.N., Kutikov A.E. Peculiarities of the modeling of a moderate periodical cooling in Wistar rats // Problems of Cryobiology.– 2000.– N2.– P. 113-114.
7. Sosina V.D. EEG-analysis of the relationships of thalamo-frontal system structures when recovering the conditioned-reflectory behavior in amygdala –ectomized rats// Journ. Vyshey nervnoy deyatelnosti im. Pavlova I.P.– 1992.– Vol.42.– N4.– P. 672-678.
8. Selden N.R.W., Everitt B.J., Jarrard L.E., Robbins T.W. Complementary roles for the amygdala and hippocampus in aversive conditioning to explicit and contextual cues // Neurosci.– Vol.42.– N2.– 1991.– P. 335-350.

Accepted in 23.07.2003

- ристики обучения на положительный и отрицательный стимул у реанимированных крыс // Бюл. эксперим. биол. и мед.– 2000.– Прил. №2.– С. 9-11.
5. *Никишкова И.Н.* Экспериментальный анализ зависимости формирования следовых процессов от состояния эмоционального гомеостаза // Укр. вісник психоневрології.– 1995.– Т.3.– Вип.1 – С.172-173.
 6. *Никишкова И.Н., Кутиков А.Е.* Особенности моделирования общего умеренного периодического охлаждения у крыс линии Вистар // Пробл. криобиологии.– 2000. – №2.– С. 113-114.
 7. *Сосина В.Д.* ЭЭГ-анализ взаимоотношений структур таламофронтальной системы при восстановлении условнорефлекторного поведения амигдалэктомированных крыс // Журн. высш. нерв. деят. им. И.П. Павлова. – 1992. – Т. 42. - № 4. – С. 672-678.
 8. *Selden N.R.W., Everitt B.J., Jarrard L.E., Robbins T.W.* Complementary roles for the amygdala and hippocampus in aversive conditioning to explicit and contextual cues // *Neurosci.*– Vol.42.– N2.– 1991.– P. 335-350.

Поступила 23.07.2003