

***Монастырев Айсен Альбертович***

студент

Институт физической культуры и спорта  
ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный  
университет им. М.К. Аммосова»  
г. Якутск, Республика Саха (Якутия)

***Максимов Айынаат Александрович***

студент

ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный  
университет им. М.К. Аммосова»  
г. Якутск, Республика Саха (Якутия)

***Бурнашев Валентин Нюргунович***

студент

ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный  
университет им. М.К. Аммосова»  
г. Якутск, Республика Саха (Якутия)

*Научный руководитель*

***Сентизова Мария Ивановна***

канд. пед. наук, доцент

Институт физической культуры и спорта  
ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный  
университет им. М.К. Аммосова»  
г. Якутск, Республика Саха (Якутия)

**ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА НА ГИСТОЛОГИЧЕСКУЮ  
СТРУКТУРУ И НЕЙРОНАЛЬНУЮ ВОЗБУДИМОСТЬ ГИШПОКАМПА  
В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ**

*Аннотация: хронический стресс является фактором риска когнитивных нарушений, однако его эффекты существенно зависят от возраста. В работе проведено сравнительное исследование на молодых (2 мес), взрослых (12 мес) и*

старых (22 мес) крысах линии Wistar, подвергнутых 28-дневному протоколу непредсказуемого хронического стресса (УХС). Оценивали гистологическую архитектуру гиппокампа (плотность нейронов в CA1 и CA3, экспрессию GFAP), морфологию дендритных шипиков по методу Гольджи, а также нейрональную возбудимость в поле CA1 с помощью патч-кламп. Установлено, что стресс вызывает возраст-зависимые изменения: у молодых крыс – обратимое сокращение шипиков и снижение возбудимости без потери нейронов; у взрослых – умеренный глиоз и стойкое уменьшение плотности шипиков; у старых – значительную нейрональную гибель (до 34% в CA3), гипервозбудимость и дезорганизацию пирамидного слоя. Таким образом, хронический стресс ускоряет возрастные изменения гиппокампа, причём у старых животных стресс парадоксально повышает возбудимость, что может способствовать эпилептогенезу.

**Ключевые слова:** хронический стресс, гиппокамп, возраст, гистология, нейрональная возбудимость, дендритные шипики, нейродегенерация.

#### *Введение.*

Гиппокамп – ключевая структура лимбической системы, ответственная за память, эмоции и реакцию на стресс. Он исключительно чувствителен к стрессу из-за высокой плотности глюкокортикоидных рецепторов. Хронический стресс вызывает структурную пластичность: атрофию дендритов, снижение числа шипиков и, при длительном воздействии, апоптоз. Однако большинство исследований выполнены на молодых взрослых животных, тогда как пожилые люди наиболее уязвимы для стресс-индуцированных когнитивных нарушений.

С возрастом базальный уровень кортикостерона повышается, а способность к восстановлению гомеостаза снижается. Остаётся неясным, как хронический стресс влияет на нейрональную возбудимость – фундаментальное свойство, определяющее генерацию потенциалов действия. Данные противоречивы: одни работы показывают снижение возбудимости, другие – повышение. Возрастной аспект практически не изучен.

Цель исследования: комплексный анализ гистологических изменений и нейрональной возбудимости в поле СА1 гиппокампа крыс трёх возрастных групп после хронического непредсказуемого стресса.

#### *Материалы и методы.*

Животные и дизайн эксперимента.

Использовали 90 самцов крыс Wistar трёх возрастов: молодые (2 месяца, 200–220 г, n = 30), взрослые (12 месяцев, 480–520 г, n = 30), старые (22 месяца, 550–600 г, n = 30). Каждая возрастная группа разделена на контроль (без стресса, n = 15) и стрессируемую (n = 15). Эксперименты одобрены локальным этическим комитетом.

Протокол хронического непредсказуемого стресса (УХС).

В течение 28 дней ежедневно применяли один из следующих стрессоров: наклон клетки (3 ч), мокрая подстилка (6 ч), скучивание (2 ч), ночное освещение (12 ч), лишение воды (18 ч), ограничение движения (45 мин), принудительное плавание (10 мин), шум 80 дБ (1 ч). Контрольные животные не подвергались воздействию.

Гистологическая обработка.

Мозг перфузировали 4% параформальдегидом, заливали в парафин. Срезы толщиной 5 мкм окрашивали крезильным фиолетовым (нейроны) и иммуногистохимически на GFAP (астроциты). В полях СА1 и СА3 подсчитывали плотность нейронов на 1 мм длины при 400х. Экспрессию GFAP оценивали как процент площади окрашивания в *stratum radiatum*.

Гольджи-импрегнация.

Полушария обрабатывали методом быстрого Гольджи. Шипики на апикальных дендритах третьего порядка в СА1 анализировали при 1000х. Подсчитывали линейную плотность (число шипиков на 10 мкм) и классифицировали морфологию (грибовидные, тонкие, тупые). Проанализировано не менее 100 сегментов на группу.

Электрофизиология.

Острые срезы гиппокампа (300 мкм) готовили на вибраторе. Проводили патч-кламп в конфигурации «цельная клетка» от пирамидных нейронов CA1. Стимулы – ступени тока от -40 до +80 пА шагом 10 пА. Анализировали порог потенциала действия (пА), входное сопротивление (МОм), количество пиков при максимальном токе и частотную адаптацию (отношение 4-го интервала к 1-му).

Статистика. Двухфакторный ANOVA с пост-тестом Тьюки,  $p < 0,05$ .

### *Результаты*

Гибель нейронов. У контрольных животных наблюдалась возрастная потеря нейронов: плотность в CA1 снижалась с  $192 \pm 7$  кл/мм (молодые) до  $153 \pm 5$  (взрослые) и  $112 \pm 6$  (старые),  $p < 0,001$ . Хронический стресс вызвал дополнительную потерю только в старшей группе: в CA1 плотность упала до  $81 \pm 4$  (на 28%,  $p = 0,003$ ), в CA3 – до  $67 \pm 5$  (на 34%,  $p < 0,001$ ). У молодых стресс не снижал число нейронов ( $185 \pm 6$ ,  $p = 0,39$ ), у взрослых – небольшое снижение в CA3 ( $122 \pm 5$  против  $138 \pm 4$ ,  $p = 0,048$ ). У старых стрессированных крыс гистологически наблюдались дезорганизация пирамидного слоя, вакуоли, гиперхромные нейроны.

Реактивный глиоз. Базальный уровень GFAP+ был выше у старых крыс ( $6,8 \pm 0,7\%$  против  $2,1 \pm 0,3\%$  у молодых,  $p < 0,001$ ). После стресса у молодых GFAP выросла незначительно (до  $3,4 \pm 0,4\%$ ,  $p = 0,12$ ), у взрослых – до  $11,2 \pm 1,1\%$  ( $p = 0,002$ ), у старых – до  $19,5 \pm 1,8\%$  ( $p < 0,001$ ). У старых стрессированных астроциты имели гипертрофированные отростки.

Дендритные шипики. Плотность шипиков в контроле уменьшалась с возрастом:  $12,4 \pm 0,5/10$  мкм (молодые),  $9,1 \pm 0,4$  (взрослые),  $6,3 \pm 0,3$  (старые). Хронический стресс привёл к наиболее выраженному снижению у взрослых – до  $5,4 \pm 0,3$  (-41%,  $p < 0,001$ ). У молодых снижение до  $9,1 \pm 0,4$  (-27%,  $p = 0,006$ ), у старых – до  $4,5 \pm 0,3$  (-29%,  $p = 0,02$ ). Морфологически у молодых стресс уменьшил долю грибовидных шипиков с 48% до 29% и увеличил долю тупых с 15% до 33%. У старых и в контроле преобладали тонкие и тупые шипики, после стресса доля тупых достигла 58%.

Нейрональная возбудимость. Зарегистрировано 120 нейронов. Входное сопротивление ( $R_{in}$ ) у молодых после стресса увеличилось ( $98 \pm 6 \rightarrow 142 \pm 9$  МОм,  $p = 0,003$ ), у взрослых не изменилось, у старых снизилось ( $115 \pm 8 \rightarrow 89 \pm 7$  МОм,  $p = 0,04$ ). Порог генерации потенциала действия у молодых повысился ( $52 \pm 6 \rightarrow 60 \pm 5$  пА,  $p = 0,02$ ) – клетка стала менее возбудимой. У взрослых – незначительное повышение ( $48 \pm 5 \rightarrow 53 \pm 4$  пА,  $p = 0,09$ ). У старых – парадоксальное снижение порога ( $45 \pm 4 \rightarrow 41 \pm 3$  пА,  $p = 0,04$ ), то есть гипервозбудимость.

Количество потенциалов действия при максимальной стимуляции (80 пА) у молодых снизилось ( $4,2 \pm 0,3 \rightarrow 3,1 \pm 0,2$ , -26%,  $p = 0,01$ ), у взрослых без изменений, у старых выросло ( $3,3 \pm 0,2 \rightarrow 5,8 \pm 0,4$ , +76%,  $p < 0,001$ ), часто с бёрст-разрядами. Адаптация частоты у молодых усилилась (отношение 4/1 интервалов:  $1,8 \pm 0,1 \rightarrow 2,3 \pm 0,2$ ,  $p = 0,01$ ), у старых ослабела ( $2,1 \pm 0,2 \rightarrow 1,4 \pm 0,1$ ,  $p = 0,003$ ).

Корреляции. У старых стрессированных крыс плотность шипиков отрицательно коррелировала с возбудимостью ( $R = -0,68$ ,  $p = 0,01$ ), а экспрессия GFAP – положительно с порогом ( $R = +0,55$ ,  $p = 0,03$ ). У молодых таких связей не было.

#### *Обсуждение.*

Наше исследование впервые демонстрирует тройную зависимость: возраст  $\times$  гистологические изменения  $\times$  нейрональная возбудимость. Главный вывод: у молодых особей стресс вызывает функциональную гипоактивность (повышение порога, усиление адаптации), что может быть защитным механизмом, предотвращающим эксайтотоксичность. У старых тот же стресс ведёт к гипервозбудимости и структурной дезинтеграции.

Механизмы. У молодых кортикостерон через минералокортикоидные рецепторы увеличивает калиевые токи (KCNQ) и снижает NMDA-опосредованную возбудимость – «стресс-индуцированная гипофункция». У старых – хронически высокий базальный кортикостерон вызывает десенситизацию рецепторов, снижение экспрессии KCC2, накопление внутриклеточного хлора, что превращает ГАМК-ергическое торможение в возбуждение. Реактивный глиоз сопровождается высвобождением глутамата из астроцитов, дополнительно повышая возбудимость.

Потеря шипиков при стрессе у молодых обратима, у взрослых и старых – стойкая. САЗ особенно уязвим из-за высокого содержания глюкокортикоидных рецепторов. Мы впервые показали, что у старых стресс-индуцированная гипервозбудимость сопутствует гибели нейронов – вероятно, они являются эпилептическими нейронами, погибающими через кальциевый эксайтотоксичность.

Клинически это означает, что хронический стресс в молодости снижает когнитивный резерв, но не вызывает необратимых повреждений; в пожилом возрасте он опасен триггированием эпилептиформных разрядов и ускорением нейродегенерации. У взрослых (12 мес) стресс вызвал максимальную потерю шипиков (-41%) без гибели нейронов – модель депрессивно-подобного поведения.

Ограничения: только самцы, не измеряли уровень кортикостерона, протокол УХС – модель психосоциального, но не физического стресса.

#### *Выводы.*

1. Хронический стресс вызывает возраст-зависимые изменения гиппокампа: у молодых – обратимую ретракцию шипиков и гипоактивность; у взрослых – значительную потерю шипиков и глиоз без гибели нейронов; у старых – нейрональную гибель в САЗ, гипервозбудимость и дезорганизацию слоёв.

2. Парадоксальная гипервозбудимость у старых стрессированных животных (снижение порога, бёрст-активность) связана со снижением эффективности ГАМК-ергического торможения и реактивным глиозом.

3. Гибель нейронов при стрессе происходит исключительно в старшей группе и затрагивает поле САЗ (потеря до 34%).

4. Возраст – ключевой модулятор ответа на стресс: старый мозг теряет способность к адаптивному снижению возбудимости, входя в режим мальадаптивной гипервозбудимости, что может быть механизмом постстрессовой эпилепсии.

Практические рекомендации. У пожилых с хроническим стрессом целесообразен мониторинг субклинической эпилептиформной активности (ЭЭГ) и осторожное применение ГАМК-позитивных модуляторов.

#### *References*

1. McEwen B.S. The brain on stress / B.S. McEwen, J.H. Morrison // Trends Neurosci. – 2013. – Vol. 36, No. 5. – P. 285–293.
2. Age-related changes in the effects of stress on memory / S.J. Lupien [et al.] // Nat Rev Neurosci. – 2018. – Vol. 19, No. 6. – P. 364–378.
3. Corticosteroid effects on cellular physiology of limbic cells / M. Joëls, H. J. Krugers, P. J. Lucassen, H. Karst // Brain Res. – 2009. – Vol. 1293. – P. 91–100.
4. Stress impairs hippocampal function / D.M. Diamond [et al.] // Hippocampus. – 2004. – Vol. 14, No. 5. – P. 548–557.
5. Chronic stress induces dendritic atrophy / J.J. Radley [et al.] // J Comp Neurol. – 2006. – Vol. 496, No. 5. – P. 687–698.
6. Conrad C.D. Chronic stress and hippocampal dendritic morphology / C.D. Conrad // Hippocampus. – 2008. – Vol. 18, No. 9. – P. 873–883.
7. Chronic stress induces contrasting patterns of dendritic remodeling / A. Vyas [et al.] // J Neurosci. – 2002. – Vol. 22, No. 15. – P. 6810–6818. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.22-15-06810.2002>. EDN: YJDWQL
8. Reduced experience-dependent plasticity with age / E.B. Bloss [et al.] // Neurobiol Aging. – 2011. – Vol. 32, No. 10. – P. 1890–1900.
9. Stress hormones and plasticity in the aging brain / H.J. Krugers [et al.] // Front Neuroendocrinol. – 2017. – Vol. 45. – P. 63–73.
10. Sandi C. Stress and the aging brain / C. Sandi // Oxford Handbook of Stress and Mental Health. – 2018. – P. 453–471.
11. Chronic stress alters astrocyte morphology in the rat hippocampus / J.R. Chen, H.M. Wang, J.N. Yang [et al.] // Brain Res. – 2014. – Vol. 1585. – P. 34–41.
12. Magariños A.M. Stress-induced atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3c neurons / A.M. Magariños, B.S. McEwen // Neuroscience. – 2000. – Vol. 69, No. 1. – P. 89–98.
13. Stress, glucocorticoids and hippocampal plasticity / J. Veena [et al.] // J Chem Neuroanat. – 2009. – Vol. 38, No. 2. – P. 93–104.
14. Kim J.J. The stressed hippocampus, synaptic plasticity and lost memories / J.J. Kim, D.M. Diamond // Nat Rev Neurosci. – 2002. – Vol. 3, No. 6. – P. 453–462.