

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ВОЛИНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ЛЕСІ
УКРАЇНКИ

МАРТА КРАВЕЦЬ

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА МАГІСТРА

**ВПЛИВ ХОЛОДОВОГО СТРЕСУ НА
ЦИТОАРХІТЕКТОНІКУ ГІПОКАМПУ ЩУРІВ**

Спеціальність: 091 «Біологія»
Освітньо-професійна програма: «Лабораторна діагностика»
Робота на здобуття освітнього ступеня «магістр»

Науковий керівник:
Мотузюк Олександр Петрович
Доцент кафедри фізіології людини і тварин,
кандидат біологічних наук

РЕКОМЕНДОВАНО ДО ЗАХИСТУ
Протокол № _____
засідання кафедри фізіології людини і тварин
від _____ 2023 р.
завідувач кафедри доц. Качинська Т. В.

Луцьк – 2023
АНОТАЦІЯ

Більшість досліджень, проведених на тваринних моделях депресії свідчать про морфологічні зміни в лімбічних структурах, індукованих стресом. Під впливом тривалого стресу у гризунів відбуваються зміни в об'ємі гіпокампа. Гіпокамп є основний ланцюг емоційних реакцій є однією з ключових структур лімбічної системи, відповідальних за розвиток стійких адаптаційних реакції мозку на стрес.

Щурів було розподілено на дві групи: контрольну та експериментальну, по три особини. Перша група утримувалася в звичайних віварних умовах без контактів з експериментальними тваринами, друга група – піддавалася впливові хронічного холодового стресу протягом 18 днів (1 година у водяній бані при температурі +4С), де тварина була занурена по шию і не мала можливості вибиратися на стінки резервуару. Після 18-денного експерименту тварин забивали декапітацією під епітаміналовим наркозом та відбирали для досліджень головний мозок, з якого за загальноприйнятими методами готували гістологічні зрізи. Зафарбовували розчином гематоксилін-еозином. Вимірювання ширини структур та окремих цитоархітектонічних шарів проводили за допомогою Морфологія 5.

Виявлено, що товщина нейронного шару експериментальної групи значно збільшилась порівняно з контрольною групою. Щільність нервових клітин у всіх субрегіонах експериментальної групи знизилася, що свідчить про спад функціональної активності даної ділянки у відповідь на холододовий стрес. У субрегіона контрольної групи тварин такі зміни: СА1 має вищу щільність нейронів порівняно з іншими, розміри нейронного шару (181,46±1,17 мкм), експериментальної - до (224,15±1,17 мкм); СА2 контрольної групи - (163,42±1,17 мкм), експериментальної групи тварин - СА2 (198,22±1,17); розміри субрегіона СА3: контрольної групи - (147,62±1,17 мкм), експериментальної групи – (193,32 ±1,17 мкм).

У тварин, які не піддавалися впливові холодового стресу у субрегіонах СА1, СА2, СА3 спостерігалися чітка вираженість нейронного шару. Субрегіон СА1 відрізняється щільно розташованими нейронами, а клітини субрегіона СА3 низькою щільністю. Аналізуючи дані які ми отримали, бачимо, що розміри чітко вираженого нейронного шару субрегіону СА2, порівняно з іншими, займають середину між цими даними. Зменшення щільності клітин стресованих тварин у всіх субрегіонах свідчить про негативну дію стресу, який призводить до гибелі нейронів.

MASTER'S QUALIFICATION WORK

MARTA KRAVETS

THE INFLUENCE OF COLD STRESS ON CYTOARCHITECTONICS OF THE RATS HIPPOCAMPUS

ABSTRACT

Most studies conducted on animal models of depression indicate morphological changes in limbic structures induced by stress. Changes in the volume of the hippocampus occur in rodents under the influence of long-term stress. The hippocampus is the main chain of emotional reactions and is one of the key structures of the limbic system responsible for the development of stable adaptive responses of the brain to stress.

Rats were divided into two groups: control and experimental, three individuals each. The first group was kept in normal vivarium conditions without contact with experimental animals, the second group was exposed to chronic cold stress for 18 days (1 hour in a water bath at a temperature of +4°C), where the animal was immersed up to the neck and did not have the opportunity to climb the walls of the tank. After the 18-day experiment, the animals were killed by decapitation under epidural anesthesia, and the brain was taken for research, from which histological sections were prepared according to generally accepted methods. Stained with hematoxylin-eosin solution. Measurement of the width of structures and individual cytoarchitectonic layers was carried out using Morphology 5.

It was found that the thickness of the neural layer of the experimental group significantly increased compared to the control group. The density of nerve cells in all subregions of the experimental group decreased, which indicates a decline in the functional activity of this area in response to cold stress. The subregion of the control group of animals has the following changes: CA1 has a higher density of neurons compared to others, the size of the neuronal layer ($181.46 \pm 1.17 \mu\text{m}$), the experimental one - up to ($224.15 \pm 1.17 \mu\text{m}$); CA2 of the control group - ($163.42 \pm 1.17 \mu\text{m}$), experimental group of animals - CA2 (198.22 ± 1.17); the dimensions of the CA3 subregion: the control group - ($147.62 \pm 1.17 \mu\text{m}$), the experimental group - ($193.32 \pm 1.17 \mu\text{m}$).

In animals that were not exposed to the influence of cold stress, a clear expression of the neuronal layer was observed in the CA1, CA2, CA3 subregions. The CA1 subregion is characterized by densely located neurons, and the cells of the CA3 subregion are characterized by low density. Analyzing the data we received, we see that the size of the well-defined neuronal layer of the CA2 subregion, compared to the others, is in the middle between these data. A decrease in the density of cells of stressed animals in all subregions indicates the negative effect of stress, which leads to the death of neurons.

| | |
|--|----|
| ВСТУП..... | 5 |
| РОЗДІЛ 1.ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ..... | 8 |
| 1.1.Вивчення поняття стресу..... | 8 |
| 1.2.Біологічні стреси..... | 10 |
| 1.3.Фізіологічні стреси..... | 13 |
| 1.3.1.Холодовий стрес..... | 14 |
| 1.4.Патологічні стреси..... | 15 |
| 1.5.Вплив стресу на головний мозок..... | 16 |
| 1.6. Гіпокамп..... | 15 |
| 1.7. Вплив стресу на гіпокамп | 25 |
| | |
| РОЗДІЛ 2.МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕНЬ..... | 36 |
| РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ..... | 39 |
| ВИСНОВКИ..... | 53 |
| СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ..... | 54 |

ВСТУП

Стрес (від англ. Stress – тиск, напруга) - стан індивіду, який виникає як відповідь на різні екстремальні види впливу зовнішнього і внутрішнього

середовища, які виводять з рівноваги фізичні чи психологічні функції людини.

Термін «стрес» вперше введений в патології канадським ученим Г.Сельє в 1936 р. і одержав широке розповсюдження в зв'язку з підвищеною цікавістю до концепції Сельє, розбираючи чимало питань в сучасній патології. В багатьох експериментах на різних лабораторних тваринах Сельє встановив, що різноманітні впливи, викликаючи різні патологічні процеси – інфекцію, інтоксикацію, опік, травму і т.д., призводять до появи в організмі змін. Ці неспецифічні зміни визначають стан організму і відзначаються як стрес. Подразники, які викликають стрес, Сельє назвав стресорами[12].

Актуальність дослідження. На сьогодні тяжко уявити, що питання стресу може не розглядатись, сучасна людина постійно відчуває підвищене психічне навантаження, вплив факторів навколишнього середовища. Їй доводиться дуже багато бачити, чути, відчувати, оцінювати, приймати рішення, бігати, втомлюватися і т.д.

Виявилось, що на різний вид впливу – холод, біг, втомленість, страх, біль, ліки - організм відповідає не тільки захисною реакцією, а й деякими загальними одноманітними фізіологічними процесами, не залежно від того які саме подразники діють на нього в цю хвилину. Організм за допомогою цього процесу ніби повністю себе мобілізує на самозахист, на пристосування до нової ситуації[8]. Це стресова ситуація. При таких стресових ситуаціях в кров виділяються гормони, через вплив яких змінюється режим роботи багатьох органів і систем.

Більшість досліджень, проведених на тваринних моделях депресії свідчать про морфологічні зміни в лімбічних структурах, індукованих стресом. Під впливом тривалого стресу у гризунів відбуваються зміни в об'ємі гіпокампа. Гіпокамп є основний ланцюг емоційних реакцій є однією з ключових структур лімбічної системи, відповідальних за розвиток стійких адаптаційних реакції мозку на стрес [19]. Існують докази безпосередньої участі гіпокампа в організації відповіді на стрес.

Питання «холодового стресу» є дуже важливе, адже при зміні температури в організмі відбуваються зміни, які можуть призвести до гибелі організму. Щоб цьому запобігти проводяться різноманітні дослідження.

Об'єкт дослідження – субрегіони гіпокампу щура.

Предмет дослідження – зміни нейронів у гіпокампі щура при холоддовому стресі.

Мета роботи – вивчити морфологічні зміни в гіпокампі щурів при холоддовому стресі.

Методи дослідження: в роботі був використаний комплексний підхід, що поєднав у собі методи теоретичного аналізу і лабораторного експерименту. Для обробки даних використані сучасні комп'ютерні програми та статистичні методи.

Завдання.

1. Дослідити зміни у цитоархітектоніці субрегіонів CA1, CA2, CA3 гіпокампа внаслідок дії холоддового стресу.

2. Проаналізувати зміни у цитоархітектоніці субрегіонів CA1, CA2, CA3 гіпокампа внаслідок дії холоддового стресу.

На сьогоднішній день, питання стресу залишається відкритим, проводяться великі дослідження для запобігання впливу стресових ситуацій на живі організми [3]. Адаптація до стресу, тренування нервової системи, чітко налагоджена ритмічна робота має велике профілактичне значення і являє собою необхідні умови життєдіяльності в епоху науково-технічного прогресу.

Наукова новизна: показано зміни в гіпокампі, різних його субрегіонах, а саме кількісні зміни та зменшення щільності нейронів, під час впливу холоддового стресу.

Практичне значення: результати досліджень гіпокампа можуть бути використані у подальших морфологічних дослідженнях, при викладанні курсу фізіології, анатомії, гістології та цитології.

Структура роботи. Робота складається зі вступу, трьох розділів, що розкривають теоретичне та експериментальне дослідження теми роботи,

висновків, переліку використаних джерел. Загальний обсяг роботи – 54 сторінки.

РОЗДІЛ І. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Вивчення поняття стресу

Не дивлячись на те, що є багато численні роботи по вивченню стресових реакцій, немає загальноприйнятої класифікації стресу. Багато авторів розрізняють фізіологічні і патологічні стреси. Інші розділяють форми стресу в залежності від виду подразників і порушень функцій організму.

Перша класифікація запропонована Alen et al (1970). Вони ділять стреси на дві групи: системні і нервові[12].

Відомо, що головними для класифікації повинні бути критерії, які дозволяють бачити різні форми стресу. Оскільки стрес – це наслідок певних впливів на організм і на центральну нервову систему тварин і людини, можна вважати що в основному існує три групи стресів а)біологічні; б)фізіологічні; в)патологічні. При цьому необхідно врахувати, що стресові стани проявляються по різному в залежності від рівня розвитку нейроендокринної системи в різних груп тварин. Стресові стани у тварин з примітивною нервовою системою, у яких несформовані гіпоталамус і гіпофіз, відрізняються від таких які мають гіпоталамо – гіпофізарну систему[1].

Вчення про стрес отримало досить широку популярність, а дослідження стали проводитися систематично [12]. Г. Сельє та його співробітники опублікували по проблемі стресу близько двох тисяч робіт. При цьому поняття "стрес" трактується Г. Сельє по-різному. Якщо в перших роботах під стресом розуміється сукупність всіх неспецифічних змін, що виникають в організмі під впливом будь-яких сильних факторів і супроводжуються перебудовою захисних систем організму, то в пізніших працях під стресом розуміється неспецифічна реакція організму на будь-яку пред'явлену до нього вимогу, тобто відбувається свого роду спрощення поняття "стрес".

Існує досить велика кількість різновидів стресів:

Хронічний стрес припускає наявність постійного (або такого, що існує тривалий час) значного фізичного і морального навантаження на людину (тривалий пошук роботи, постійний успіх, з'ясування відносин), в результаті якого її нервово-психологічний чи фізіологічний стан є надзвичайно напруженим.

Гострий стрес - стан людини після події чи явища, в результаті якого вона втратила психологічну рівновагу (конфлікту з керівником, сварки з близькими людьми) [6].

Фізіологічний стрес виникає від фізичного перевантаження організму і (або) впливу на нього шкідливих факторів навколишнього середовища (зависока чи занижка температура в робочому приміщенні, різкі запахи, недостатнє освітлення, підвищений рівень шуму)[10].

Психологічний стрес є наслідком порушення психологічної стійкості особистості з цілого ряду причин: ображене самолюбство, образи, робота, що не відповідає кваліфікації. Крім того, такий стрес може бути результатом психологічного перевантаження особи: виконання занадто великого обсягу робіт та відповідальності за якість складної й тривалої роботи. Варіантом психологічного стресу є емоційний стрес, який виникає в ситуаціях загрози, небезпеки, образи. Інформаційний стрес виникає в ситуаціях інформаційних перевантажень чи від інформаційного вакууму[6].

Крім того, на сьогодні виділяють так званий «менеджерський тип стресу», зумовлений багатьма факторами, пов'язаними з діяльністю менеджерів і їхніми взаєминами з людьми в умовах складних ринкових відносин, коли динамічно змінюється навколишнє середовище і кон'юнктура ринку, посилюється конкурентна боротьба, і тому необхідно приймати оперативні адекватні управлінські рішення для забезпечення стійкого розвитку підприємства і його конкурентноздатності.

В даний час порівняно добре вивчені стадії стресу, присвячені нечисленні дослідження.

1.2. Біологічний стрес

Біологічні стреси спостерігаються в організмі з примітивною нервовою системою. Згідно сучасному уявленню про походження життя первинні організми були гетеротрофами і вживали готові органічні сполуки, потім з'явилися фототрофи і на кінець гетеротрофи, до яких відносяться сучасні тварини. Поступово із первинних гетеротрофних організмів розвелися фото – автотрофи і окремі хіміоавтотрофи. Фотосинтез збагатив атмосферу киснем і головну роль стали відігравати аеробні процеси. В подальшому ці організми відчували дію різних стресових факторів [1].

Існування багатьох поколінь в середовищі з низьким вмістом кисню призвело до розвитку у тварин ряду пристосувальних механізмів, наприклад такі, які забезпечують їх існування при низькому парціальному тиску. Респіраторний стрес спостерігається при гіпоксії і викликається різницею парціального тиску газів в альвеолах легень.

Наслідком впливу екологічних стресових факторів є міграція риб. Риби пристосовані до умов з низьким вмістом кисню. При зниженні концентрації кисню, зменшується резерв крові в тканинах: підвищується вміст міоглобіна і розширюються капіляри. Хеморецептори каротинного синусу стають більш чутливими до гіпоксемії, що призводить до підсилення дихання [9].

Другий фактор, який викликає біологічний стрес – це зміна температури зовнішнього середовища. Вплив холоду активує інтерреналову тканину. Вміст аскорбінової кислоти в цих тканинах зростає, що сприяє підвищенню холодовитривалості. Впродовж перших годин перебування на холоді збільшується вміст гемоглобіну і зменшується об'єм циркулюючої крові. При високих температурах навколишнього середовища спостерігається тісний зв'язок між термічним і водним балансами. Деякі тварини запасують воду і захищаються від жару, впадаючи в літню сплячку. Поведінкові реакції сприяють знаходженню місць з необхідною температурою. Завдяки біохімічним компенсаціям, інтенсивність метаболізму не підвищується так різко, як потрібно було очікувати при перенесенні організму із холодного середовища в тепле. Захист від висихання тісно зв'язаний з захистом від дії високих температур, проте деякі види тварин і комах ефективно охолоджуються шляхом випаровування. В загальному, у тварин менша пристосованість захисту від тепла ніж від холоду [1].

Інший вид стресу викликається пахучими речовинами. Це велика група ароматичних речовин, які виділяються рослинами чи тваринами. Вони діють на спеціальні рецептори (хеморецептори). У комах добре вивчена хеморецепція, яка змінює реакції поведінки. Хеморецептори у комах, а також у бджіл досягли високої спеціалізації.

Друге проявлення стресу – зміна пігментації шкіри у багатьох безхребетних. Woring (1963) розвиває думку, згідно якої гормональна регуляція хроматофорів у холонокровних хребетних з'являється філогенетично стародавнім механізмом, впродовж розвитку замінені швидкою рефлексорною регуляцією[2]. Так у древніх риб і в круглоротих, а також у примітивних амфібій хроматофори регулюються тільки гормонально, тоді як у деяких костистих риб і рептилій – тільки нервовою системою. У костистих риб рефлексорна регуляція має дуже важливе значення. Стресові реакції, які проявляються через гіперпігментацію шкіри, забезпечують різноманітне пристосування тварин в навколишньому середовищі.

В деяких біологічних стресах важливе значення мають функції нервової і м'язової системи. З цієї точки зору, показують цікавість реакції електронного ската. Передача збудження в нервово - м'язових синапсах здійснюється хімічними медіаторами: ацетилхолін, норадреналін, 5 – окситриптамін. Мембрана нервово - м'язового синапсу відрізняється за своїми електричними властивостями від провідної мембрани м'язової клітини. Електричні органи мають різне походження. Висока електрична напруга, розвинута деякими електричними органами, пояснюється сумою різних потенціалів, які виникли в окремих послідовних клітинах в результаті асиметричної деполяризації.

В стресових реакціях у безхребетних велику роль відіграють медіатори. Ацетилхолін знайдений у найпростіших (інфузорій), але відсутній у нерухомих плазмодіїв (спорувиків). Було показано, що тканини цих організмів містять специфічну ацетилхолінстеразу, яка розкладає ацетилхолін. Ацетилхолін міститься у гангліях мозку головоногих молюсків. В реакціях стресу у безхребетних певну роль відіграє медіатор 5 – окситриптамін. Ця сполука ідентична серотоніну і ентераміну, виділеному із ентерохромафінних клітин слинних залоз головоногих молюсків. При впливі діетиламіду лізергінової кислоти на павуків порушується звичайний малюнок павутини, а у котів ця сполука викликає стан гніву [5].

В біологічних стресах у безхребетних приймають участь і інші сполуки, які називають збуджуючі фактори. В моторних реакціях біологічного стресу спостерігаються послідовні і союзні рефлекси. Деякі автори вважають, що інтеграція, яка являє собою основу важкої поведінки, відтворюється головним чином не тільки в нейронах а й в нейроглії гангліїв безхребетних.

Деякі форми біологічного стресу подібні парабіозу: саме у безхребетних вони супроводжуються охоронними зупинками, протікають фазами і зворотно. Такі явища спостерігаються в результаті порушення гомеостазу, водно – сольового і вуглеводного обмінів, температурного режиму. На думку деяких авторів, стресовий адаптаційний синдром можна віднести до нервово – дистрофічних процесів[3].

Біологічні стреси виявлені в тварин з недорозвинутою центральною нервовою системою, неоформленим гіпоталамусом і лімбіко – кортикальними формаціями. Через це біологічні стреси відіграють важливу роль в еволюції організмів і розвитку центральної нервової системи.

1.3.Фізіологічні стреси

Після становлення нейрогуморальних функцій і різних форм гомеостазу, які забезпечують процеси саморегуляцію і збереженні сталості внутрішнього середовища, спостерігаються фізіологічні стреси. Такі форми стресу викликають періодичні функціональні зміни, інколи порушуються нормальні функції організму [25].

Л. Х. Гаркаві, Е.Б.Квакіна, М.А.Уколов (1968 – 1980) встановили, що в залежності від сили впливу в організмі можуть розвиватися різні фізіологічні реакції 1) при слабких впливах – реакція тренування; 2) середня сила – реакція активації; 3) сильних – реакція стресу.

Добові і сезонні біоритми викликають зміни гомеостазу, які виражаються в стресових реакціях. Немале значення мають різні фази

онтогенезу. Вікові зміни можуть відображатися на гомеостазі, викликаючи стресоподібні явища. З іншого боку, відзначають фізіологічні процеси, які змінюють характер стресу. Оскільки гіпоталамус є головним регулятором гомеостазу, від його розвитку і залежить форма фізіологічного стресу[4].

Добові і сезонні ритми супроводжуються змінами гомеостазу гормонів. Через це розрізняють і гормональний стрес. Гомеостаз водно – сольового, вуглеводного, жирового і білкового обмінів тісно пов'язані з різними фізіологічними процесами. В зв'язку з цим можна говорити і про обмінні стреси. У вищих тварин важливу роль відіграють нейровегетативні гомеостазу – поведінкові і емоційні реакції набувають життєво важливого значення.

При фізіологічному стресі адаптаційний синдром виникає в момент зустрічі з подразником, а при психічному — адаптація передуює ситуації і настає передчасно. Поділ на фізіологічний і психічний стреси умовний, оскільки у фізіологічному стресі завжди є елементи психічного і навпаки.

1.3.1. Холодовий стрес

Розрізняють холодний і тепловий стреси. Гіпотермічний стрес у тварин зазвичай протікає сезонно. Застосовується він і в хірургічних операціях на серце. В основному охолоджена кров впливає на медіальні і мамілярні центри гіпоталамуса. При цьому підвищується тонус симпатичної нервової системи підсилюється виділення катехоламінів, стимулюються окислювальні процеси, глікогеноліз, і поліз, гліколіз. Під впливом хімічної терморегуляції зберігається відносна сталість температури тіла [5].

Холодовий стрес вивчається для виявлення нервових і нейрогуморальних процесів. При охолодженні гіпоталамічних центрів після субокципітального введення спинномозкової рідини відбувається десинхронізація ритму в ядрах мамілярних і медіальних частин. При зростанні охолодження імпульси розповсюджуються на мигдальні ядра, викликаючи мотиваційно-поведінкові

реакції. Гіпотермічна реакція супроводжується підсиленням виділенням адреналіну, норадреналіну, тиреоїдних гормонів(Додаток№1). Змінюються функції медіальної еміненції гіпоталамуса. Холодові подразнення шкіри підвищує кількість ацетилхоліну в крові. Гіпотермія впливає на рівень мочевины в мозку, деякою мірою вона допомагає тваринам виживати після стресового впливу.

Таким чином гіпотермія викликає катаболічну фазу – виділення катехоламінів і тиреоїдних гормонів, а потім анаболічну фазу – виділення АКТГ і кортикостероїдів [30].

Еволюція терморегуляції показує, що спочатку у тварин формується адренергічні центри гіпоталамуса, які забезпечують пристосування до холоду, а після того лише – центри передньої частини гіпоталамуса, регулюючи появу перегріву.

1.4. Патологічні стреси

Коли Сельє вперше описав стресову реакцію, він мав на увазі патологічні процеси. Коли стресова реакція протікає з проявами адаптації організму, тоді можна говорити про біологічний чи фізіологічний стреси. Потрібно також врахувати, що стресова реакція була виявлена як доповнення до імунних пристосувань організму. Патологічний процес супроводжується специфічними і неспецифічними (нейрогуморальними) імунними реакціями. Патологічний стрес інакше ще називають – дистрес.

На даний час виявленні стреси, у яких стресовий фактор викликає патологічний стрес. Через це патологічні стреси можна поділити на два типи: 1) первинно стресовий фактор викликає патологічний процес; 2) первинно розвивається патологічний процес, який протікає з елементами стресу (гіпоталамо – адренкортикальними) [16].

Незворотні порушення гомеостазу ведуть до патологічних стресів. Стрессова реакція - первинна причина патологічних розладів різних функцій організму. Деякі патологічні порушення протікають з елементами стресу. Велике значення набуває запитання про профілактику стресів. Сильний тип вищої нервової діяльності вважається найбільш здібним до адаптації в стресових ситуаціях [17].

Дистрес - патологічний стрес - це горе, нещастя. За вченням Сельє, людина не може повноцінно жити і працювати, якщо на його органи чуття не діє потрібну кількість відповідних подразників. Організм реагує на це станом стресу, який має позитивну роль. Але, з іншого боку, надмірні подразники можуть викликати дистрес, який потягне за собою соматичне захворювання або деформацію психіки. Сельє це докладно пояснює: організм, стикаючись з подразниками, спочатку відповідає на нього реакцією тривоги, потім виникає фаза опору стрессорам. Але якщо вони і далі продовжують свою дію, то настає третя фаза - фаза виснаження – наслідки.

1.5.Вплив стресу на головний мозок

Стрес негативно впливає на всі сторони життя, а стрес перенесений в дитинстві – особливо. Його наслідки відображаються на психіці, поведінці інтелектуальних здібностях дорослої людини[23].

Деструктивний вплив на мозок, стрес проводить за допомогою гормонів, до яких відносяться кортикостероїди, які виробляються в наднирниках, а також гормони гіпофіза і щитовидної залози. Підвищення їхньої кількості викликає морфологічні зміни в дендритах – коротких відростках нейронів, знижує синаптичну пластичність, особливо в гіпокампі, сповільнює утворення нових нервових клітин в зубчастій звивині гіпокампа і взагалі. Такі порушення в період розвитку головного мозку, відбуваються з наслідками.

Проводилися велика кількість досліджень, стосовно змін в мозку. Вчених зацікавили молекули клітинної адгезії (СAM) – це зв'язані з

плазматичною мембраною білки, які забезпечують механічні взаємодії клітин одна з одною. Завдяки своїй структурі і хімічним властивостям вони приймають участь в багатьох міжклітинних процесах. Застосовуючи до нейронів білка CAM, а саме представники сім'ї іммуглобуліноподібних CAM (L1-CAM) забезпечують нейрон-нейронні взаємодії в розвиваючому і працюючому мозку. Склад молекули L1-CAM вчені виявляли в різних частинах мозку: в перфональній корі, базально-латеральному комплексі мигдалевого тіла, верхній частині гіпокампа і таламусі. Але в гіпокампі рівень L1-CAM виявився найвищий [31].

Біохімічні дані вчені оцінюють як показник підвищеної активності гіпоталамо-гіпофізарно-адреналової системи стресу.[34] Рівень L1-CAM підвищується в тих частинах мозку, які в більшій мірі, зв'язані з відповіддю на стрес.

Численні дослідження довели, що стрес негативно впливає на мозок, послаблюючи короточасну пам'ять де зберігаються короточасні спогади.

Гіпокамп має вирішальне значення для формування та відтворення довготривалих спогадів про людей, місця, предмети та події. Починаючи з 1950-х років, гіпокамп широко вивчався у гризунів як потужна модель схеми для навчання формування пам'яті [1,2] і просторової навігації [3–6]. Контури гіпокампу мають дивовижну здатність обробляти потоки мультисенсорної інформації та колективно кодувати їх як довгострокові спогади. Така обробка має вирішальне значення для нашої здатності розпізнавати мінливе середовище та змінювати свою поведінку відповідно до цих контекстуальних змін.

Просторова та епізодична пам'ять про людей, місця, об'єкти та події є критичним функціональним виходом гіпокампу [1,7–9]. Ранні дослідження уражень показали, що основна роль гіпокампу полягає в кодуванні довгострокових спогадів, тоді як вважалося, що довгострокове зберігання цих спогадів покладається на кортикальні ділянки [10–12].

Формування епізодичної пам'яті та пригадування вимагають взаємодії між дорсальним гіпокампом і сусідньою енторинальною корою головного

мозку [6,13,14], яка обробляє мультисенсорну інформацію. Загальноприйнята модель цього кортико-гіпокампального контуру припускає, що гіпокампотримує мультисенсорні дані від поверхневих шарів енторинальної кори безпосередньо до області CA1 (від шару III, LIII EC) і зубчастої звивини (DG від шару II, LII EC). DG направляє ці сенсорні сигнали через CA3 через колатеральні синапси Шаффератрисинаптичного шляху до CA1 [15,16]. CA1 і субікулум повертають оброблений вихід пам'яті в глибокий шар V енторинальної кори (рис. 1), а також спілкуються з різними іншими структурами мозку. За останні кілька років було досліджено кілька нових шляхів великої відстані до гіпокампу та від нього [17,18,19,20,21,22]. Ці нещодавні дослідження, що використовують передову спеціальну візуалізацію, електрофізіологію та оптогенетичні маніпуляції на моделях гризунів, показують, що залежне від гіпокампу отримання, консолідація та відкликання спогадів вимагає функціональної взаємодії з областями, що лежать в основі сенсорної, виконавчої, емоційної обробки та обробки винагороди.

Гіпокампальні ансамблі: кодування епізодичної, просторової та контекстної інформації

Під час формування епізодичної пам'яті гіпокамп об'єднує сенсорну, просторову та часову інформацію за допомогою дальніх і локальних взаємодій. Уявлення про простір, час і контекст виникають як послідовні моделі активності в нейронних ансамблях (рис. 2). Тут ми визначаємо нейронні ансамблі як групи нейронів, які є коактивними під час поведінки та відображають функціональну властивість схеми. Маніпулювання діяльністю ансамблю призводить до порушення поведінки.

Просторово-залежні ансамблеві послідовності

Дослідження просторово залежних клітин гіпокампу, просторово залежних ансамблів у гіпокампі, почалося з першої *in vivo* реєстрації клітин гіпокампа щурів у 1971 році [3]. Наступні десятиліття роботи продовжували розширювати ці висновки і призвели до відкриття фазової прецесії [31,32] у клітинах гіпокампу та клітинах сітки в медіальній енторинальній корі (MEC)

[33,34]. Нобелівська премія з фізіології та медицини 2014 року визнала важливість відкриття комірок місця та клітинок сітки. Клітини місця представляють собою ансамбль пірамідальних нейронів, які формують когнітивну карту простору, збільшуючи свою активність у визначених просторових місцях тварини, які називаються полями місць [3,35,36,37], (рис. 2). Активність клітини місця також організована в часі тета-коливанням і є динамічною по відношенню до тета-фази. Окремі клітини місця спрацьовують на все більш ранніх фазах тета-циклу, коли тварина входить і перетинає поле місця цієї клітини — явище, описане як прецесія фази [32,38,39]. Хоча механізм фазової прецесії неясний, він може включати залучення відносно швидших нейронів [38].

У тварин, які бігають у космосі, сильна тета-коливальна активність була зареєстрована в гіпокампі, і вона вважається важливою для просторової навігації та отримання довготривалої просторової пам'яті. Також було продемонстровано, що тета-послідовності передбачають просторову траєкторію під час поведінки, спрямованої на винагороду [40]. У задачі просторової навігації, орієнтованої на винагороду, було виявлено, що клітини місця, що стріляють уздовж цільової траєкторії, стріляють попереду своїх полів місця, що свідчить про те, що вони можуть брати участь у прогностичній поведінці [40]. Тета-модульовані послідовні ансамблі, здається, є каркасом для організації нейронної активності, що підтримує пам'ять, просторову поведінку та поведінку, орієнтовану на винагороду.

Механізм генерації просторово налаштованих ансамблів є давнім питанням у цій галузі. Хоча традиційно вважається, що клітини сітки МЕС передають просторову інформацію для формування та стабільності клітин гіпокампу, експериментальні дані свідчать про інше. Пошкодження МЕС мають напрочуд незначний вплив на поля місць [41], але можуть порушити фазову прецесію ансамблів клітин місця в гіпокампі [42]. Двофотонна візуалізація кальцію *in vivo*, а також внутрішньоклітинні записи з клітин-посадок дорсальної області гіпокампу CA1 у тварин із нерухомою головою, які переміщуються у віртуальному середовищі, додатково підтвердили

попередні електрофізіологічні висновки щодо клітин-місцевостей [43,44]. Ці дослідження пропонують не тільки субклітинну роздільну здатність, але й кращий контроль поведінки та показують, як просторово модульована активність відображається на підпорогових мембранних властивостях і внутрішньоклітинному Ca^{2+} в ідентифікованих популяціях нейронів.

Майже одночасне двоплощинне зображення глибоких і поверхневих шарів пірамідних нейронів CA1 виявляє функціональне розділення, за допомогою якого поверхневі ансамблі кодують більш стабільні поля місця незалежно від поведінкових вимог [45]. Подібне об'ємне зображення соми пірамідального нейрона CA1 і базальних дендритів свідчить про те, що залежні від NMDAR дендритні спайки Ca^{2+} можуть передувати просторово налаштованому соматичному виходу, щоб діяти як прогностичний сигнал для активності клітин місця [46]. Цю ідею підтверджує серія досліджень на основі внутрішньоклітинних записів *in vivo*, які показують, що спади мембранного потенціалу та потенціали дендритних плато (ще один спосіб опису дендритних шипів) необхідні для прототипного вибуху клітини, коли щур або миша входять у це місце. поле цієї комірки [47,48]. Вони подібні до прогинів мембрани, які спостерігаються в клітинах сітки в МЕС [49]. Крім того, ін'єкції штучного соматичного струму деполяризуючих кроків [50], а також ті, що імітують розповсюджену дендритну спайкову форму хвилі, здатні перетворювати «мовчазні» нейрони в клітини місця, налаштовані на місце ін'єкції струму [47].

У той час як більшість досліджень ансамблів клітин місця проводилися в дорсальній частині CA1, записи кількох одиниць із сусідніх областей CA2 і CA3 також виявили ансамблі клітин місця під час просторової навігації [37,51–53]. Цікаво, що клітинки з розмітками в CA2 мали ширші поля з розмітками порівняно з клітинками з розмітками CA1 і CA3 [54]. Функціональне розділення CA1 і CA2 вже давно обговорюється, але нещодавні молекулярні, фізіологічні характеристики [55–60] пірамідальних нейронів CA2 встановили, що CA2 відрізняється від CA1. Нещодавне відкриття нейронів, які виявляють високу активність під час повільного сну

та нерухомих станів [61] – на відміну від гострохвильових пульсуючих модульованих клітин CA1 – свідчить про те, що обчислення в CA2 можуть відображати інформацію про поточне місцезнаходження тварини за відсутності пересування. Було також показано, що CA2 є важливим для непросторової функції, такої як соціальна пам'ять [58], і демонструє високу щільність нейромодуляторних рецепторів окситоцину та вазопресину [59].

Контекстні ансамблі

Дослідження вище продемонстрували, що гіпокамп може представляти просторову та епізодичну інформацію в певних нейронних ансамблях. Проте те, чи можуть ансамблі гіпокампа також представляти поведінково-релевантну контекстну інформацію, було недостатньо зрозумілим до недавніх досліджень, які оптогенетично маніпулювали контекстно-активованими ансамблями та виявили їх важливість у контекстному навчанні [62,63]. Трансгенно або вірусно-керувана експресія каналродопсину (ChR2) під контролем залежних від активності ранніх генів, таких як промотори *c-Fos* або *Arc*, уможлиблювала позначення «коактивних» або функціонально пов'язаних нейронних ансамблів під час різних фаз поведінки, таких як навчання та згадати [62]. Мічені ансамблі згодом реактивували за допомогою цільової фотостимуляції.

Було показано, що ансамблі в областях CA3 і DG беруть участь у кодуванні контекстуальних уявлень [64]. Фотостимуляції оптогенетично активованого ансамблю DG у контексті страху достатньо для індукції пригадування пам'яті страху в нейтральному контексті [63]. Подібним чином повідомлялося про ансамблі пам'яті в сусідній області CA3, де активації розрідженої мережі ансамблю при висококорельованому вузлі було достатньо, щоб викликати реакцію страху в нейтральному контексті [20]. Цікаво, що активація цих вузлових точок була викликана новою групою збудливих проєкцій з передньої поясної кори [20].

Хоча CA3 і DG, здається, кодують контекстні представлення, їхні представлення ансамблю відрізняються. В експерименті з подвійним

обертанням невідповідності репліки, де локальні репліки вздовж кругової доріжки обертаються відносно глобальних еталонних меток, що оточують доріжку, просторові поля активації ансамблю СА3 слідуєть локальним або глобальним реплікам. Це свідчить про те, що СА3 функціонує для підтримки стабільного представлення середовища, незважаючи на тонкі зміни, що відповідає функції завершення шаблону [65]. На відміну від СА3, DG показує зростаючу деградацію в представленому ансамблі, оскільки розбіжність між локальними та глобальними ознаками зростає, що відповідає функції поділу шаблонів [65].

Стабільність ансамблів пам'яті, а також їх анатомічний розподіл у гіпокампі недостатньо вивчені. Нещодавні експерименти із зображенням мікроендоскопії, що вільно рухається, показали, що події навчання страху в різних контекстах, які відбуваються протягом 5 годин одна від одної, викликають активність Ca^{2+} у значно перекриваючих ансамблях пірамідальних нейронів СА1. Однак це накладання значно зменшується, коли події навчання страху розділені 7 днями [66] (рис. 2). Це свідчить про те, що нейрони, потенційовані попередньою діяльністю, з більшою ймовірністю будуть рекрутовані в рамках наступних ансамблів пам'яті. На додаток до тимчасового компонента, який регулює перекривання ансамблю, розмір і стабільність нейронних ансамблів також, здається, контролюються, наприклад, у ДГ локальними ланцюгами гальмування націлювання на дендрити [67].

Вхідні сигнали збуджуючої проекції на великі відстані

Загальноприйнята ланцюгова модель описує прямі збудливі проекції з медіального енторинального шару кори ІІІ (МЕС ІІІ), спрямовані на дистальний дендритний відділ СА1 [68]. Крім того, вона описує проекції збудження від зірчастих клітин МЕС шару ІІ (ІІ), які націлені на DG і СА3. СА3 потім опосередковано направляє цю інформацію до проксимальних дендритів СА1 через колатеральні синапси трисинаптичного шляху Шаффера.

Приглушення пірамідних нейронів МЕС LIII за допомогою правцевого токсину або оптогенетично спричиняє дефіциту навчання, але має менший вплив на довгострокову просторову та контекстну поведінку, навчання та пам'ять [68,69]. У той час як глушіння вхідних сигналів МЕС LIII зменшує просторово модульовані дендритні спайки та активність тета-вибухів у клітинах місця CA1, пікова швидкість активації клітини місця CA1 лише трохи знижується [47,68].

Недавнє дослідження показує, що нейрони шару II (LII) МЕС і LEC також безпосередньо проектується на CA1. Цікаво, що ці пірамідні нейрони LII (також їх називають острівними клітинами через їх структурну організацію по відношенню до зірчастих клітин LII) націлені переважно на локальні інтернейрони, які керують гальмуванням прямої подачі на пірамідні нейрони CA1 [69]. У результаті вони зменшують збудження, що забезпечується входами пірамідального нейрона МЕС LIII на CA1. Оптогенетична активація вхідних сигналів LII має протилежний вплив на активацію вхідних сигналів LIII і, отже, зменшує популяційні спайки пірамідних нейронів CA1 і погіршує навчання слідовому страху [69].

Продемонстрована участь входів МЕС LII та LIII у пам'яті тимчасових асоціацій, а також незначний вплив їх маніпуляцій на довготривалу просторову пам'ять і активність клітин місця [47,68,69] є дивовижною, враховуючи стандартну точку зору, що МЕС передає просторову інформацію до CA1. Ці ефекти значно менші порівняно з більш неспецифічними дослідженнями ураження МЕС, у яких клітинні поля були частково деградовані [41,42,70] і була порушена довготривала просторова пам'ять [71]. Таким чином, збудливі входи від МЕС до CA1 самі по собі не можуть пояснити утворення клітинок місця [47,68], і центральна дискусія в цій галузі щодо причинно-наслідкового зв'язку того, як клітини сітки впливають на активність клітин місця, залишається невирішеною. Недавня оглядова стаття ставить під сумнів давнє переконання, що комірочки сітки необхідні для формування та підтримки комірок місця [72].

Роль збуджувальних вхідних сигналів від латеральної енторинальної кори (LEC), які, як вважають, передають непросторову сенсорну інформацію до гіпокампу, не була досліджена щодо просторової та контекстної функції. Цікаво, однак, що записи *in vivo* з LEC та MEC демонструють переважну настройку на локальні сенсорні сигнали та дистальні візуальні/об'єктні сигнали, відповідно, що свідчить про те, що активність клітини місця в гіпокампі може виникати з додаткової сенсорної інформації, яку надає LEC [73]. Нещодавнє дослідження продемонструвало важливість довгострокових гальмівних проєкцій від LEC до CA1 у контекстній дискримінації та виявленні новизни, що свідчить про важливу роль вхідних даних LEC у формуванні функції гіпокампа. Крім того, нейрони LEC, що проєктуються до гіпокампу, демонструють виражену селективну настройку на запах [74], що відповідає попереднім висновкам щодо реагування на запах у LEC [75] і підвищений коливальний зв'язок між LEC і дистальною частиною CA1 під час просторового завдання, залежного від запаху [75, 76].

DG отримує потужні прямі кортикальні дані від LII латеральної та медіальної кори головного мозку та проєктує цей інтегрований вихід на CA3. Величезна популяція зернистих клітин DG демонструє відносно низьку збудливість і сильне гальмування прямого зв'язку та зворотного зв'язку, що призводить до сильно розсіяного та розрідженого вихідного перетворення для просторових і сенсорних входів EC [77]. Є також докази слабого, але прямого збудження від енторинальної кори до області CA3 [78], хоча поведінкова функція цих прямих входів EC до DG і CA3 невідома.

На відміну від CA3, CA2 сильно збуджується прямими входами від EC LII [56–58] і слабо CA3 [55]. Недавні дослідження *in vivo* із записами кількох одиниць і зображенням Arcsat FISH показують, що прямі сенсорні введення EC можуть змінювати просторово налаштовані клітини в CA2 незалежно від введення CA3 і DG [79,80]. Ці результати привели до ідеї в галузі, що CA2 діє як канал для енторинальної коркової інформації, що надходить до CA1. Однак невідомо, як глушіння CA2 може вплинути на вихід або функцію CA1.

Далекі гальмівні проєкційні входи

На додаток до прямих збудливих вхідних сигналів, два недавніх дослідження показали, що і LEC [19], і MEC [81] посиляють прямі довгострокові гальмівні проєкції до CA1. Обидва ці дослідження демонструють, що гальмівні входи переважно спрямовані на локальні ГАМК-ергічні інтернейрони в гіпокампі. Пригнічуючи локальне гальмування прямої подачі дистальних дендритів пірамідальних нейронів CA1 (рис. 3), LRIPs полегшують запуск дендритних спайків у цих нейронах [19]. Приглушення LRIP зменшує збудження та спайки Ca²⁺ у дендритах, а також запобігає пластичності соми, залежній від часу введення індукції (ITDP)

DG отримує потужні прямі кортикальні дані від LII латеральної та медіальної кори головного мозку та проєктує цей інтегрований вихід на CA3. Величезна популяція зернистих клітин DG демонструє відносно низьку збудливість і сильне гальмування прямого зв'язку та зворотного зв'язку, що призводить до сильно розсіяного та розрідженого вихідного перетворення для просторових і сенсорних входів EC [77]. Є також докази слабкого, але прямого збудження від енторинальної кори до області CA3 [78], хоча поведінкова функція цих прямих входів EC до DG і CA3 невідома.

1. 7. Вплив стресу на функції та структуру гіпокампу

Стресові події активують вісь гіпоталамус-гіпофіз-надниркова залоза (НРА), що призводить, серед іншого, до викиду кортикостероїдних гормонів з надниркових залоз у кровообіг (DeKloetetal., 1998). Кортикостероїди (кортикостерон у більшості гризунів) діють на численні периферичні органи, але також проникають у мозок, де зв'язуються з дискретно локалізованими внутрішньоклітинними рецепторами. У мозку було виявлено два основних підтипи рецепторів (ReulanddeKloet, 1985): (1) мінералокортикоїдний рецептор (MR) з високою спорідненістю до альдостерону та кортикостерону. Цих рецепторів багато у деяких лімбічних областях, таких як гіпокамп, латеральна перегородка, медіальна мигдалина та в моторних ядрах стовбура

мозку. Його експресія значно нижча в інших областях мозку, таких як коркові шари. (2) Глюкокортикоїдний рецептор (GR), який має в десять разів меншу спорідненість до кортикостерону більш поширений, хоча його багато спостерігається в певних областях мозку, таких як деякі шари гіпокампу та паравентрикулярне ядро гіпоталамуса (PVN), тобто головний сайт зворотного зв'язку, через який кортикостерон регулює своє власне вивільнення. Через різницю в спорідненості двох підтипів рецепторів для кортикостерону ступінь зв'язування із MR і GR протягом дня відрізняється залежно від рівня циркулюючого гормону. Вранці та під час відпочинку низький рівень циркулюючого гормону достатній для активації значної кількості MR мозку, але займатиме лише невелику частину GR. Лише після дії стресу або на піку циркадного періоду GR активуються значною мірою. Змінне співвідношення між активацією MR і GR особливо стосується тих нейронів, які експресують рецептори обох типів, наприклад, пірамідальних нейронів у полі гіпокампу CA1 та гранулярних нейронів у зубчастій звивинію. Активовані кортикостероїдні рецептори переміщуються до ядра, де вони регулюють транскрипцію реагуючих генів або у вигляді гомодимерів, що безпосередньо зв'язуються з елементами відповіді в ДНК, або у вигляді мономерів, взаємодіючи з іншими факторами транскрипції, які зв'язуються з ДНК (Beato and Sanchez-Pacheco, 1996; McEwan et al., 1997). Отже, зміни в ступені активації MR і GR спричинять специфічну для клітини зміну моделі експресії генів. У перекладі на рівень білка це може призвести до повільної, але стійкої зміни характеристик клітини. Більш ранні дослідження показали, як тимчасові зміни в активації MR і GR впливають на активність нейронів (Joels, 1997), зосереджуючись на CA1 пірамідальних і гранулярних нейронах DG, які експресують рецептори обох типів. Нас особливо цікавили властивості клітин, які значною мірою визначають зв'язок між нейронами, тобто канали, що залежать від напруги, іонотропні рецептори та рецептори, зв'язані з G-білком. За допомогою електрофізіологічних вимірювань було виявлено, що кортикостероїдні гормони змінюють багато властивостей нейронів гіпокампу, хоча все ж спостерігалася чітка вибірковість. Наприклад,

було виявлено, що з усіх досліджених струмів, залежних від напруги, на тривалі, активовані високою напругою (ймовірно, L-типу) кальцієві струми впливає ступінь активації гормональних рецепторів. Функції інших кальцієвих струмів, а також калієвих і натрієвих каналів не змінювалися настільки послідовно. Іонні канали, керовані лігандом, тобто іонотропні рецептори, детально не досліджувалися, але наявні звіти здебільшого описують швидку, а не повільну генну модуляцію кортикостероїдами цього класу каналів. Нарешті, після диференціальної активації MR та GR було вивчено функцію кількох зв'язаних з G-білком рецепторів. З них, зокрема, рецептор серотоніну (5-гідрокситриптаміну, 5-НТ) типу 1A було виявлено чутливим до активації рецептора кортикостероїдів. Цікаво, що для майже всіх повільних (і тому, ймовірно, генно-опосередкованих) ефектів спостерігалася U-подібна залежність від дози кортикостероїдів (Jones, 1997). Таким чином, за відсутності кортикостероїдів, а також після екстенсивної активації як MR, так і GR спостерігалися великі відповіді, опосередковані рецептором 5-НТ1A, і тривалі струми кальцію, тоді як низькі рівні гормонів, що призводили до переважної активації MR, зберігали ці клітинні властивості на низькому рівні.

У сукупності отримані на даний момент дані показали, що через кілька годин після впливу стресу деякі властивості клітин гіпокампа помітно змінюються. Ці функціональні зміни можуть сприяти зміні функції мережі та, отже, тих поведінкових процесів, у яких мережа гіпокампу відіграє вирішальну роль, наприклад формування пам'яті. Окрім цих уповільнених дій кортикостерону, накопичуються докази того, що гормон також здійснює швидкі негеномні ефекти в мозку (Loiselet et al., 2003), включаючи гіпокамп, але наразі це не розглядатиметься. Хоча короткочасний вплив на стрес впливає на роботу мозку таким чином, що організм може адаптуватися до викликів навколишнього середовища; тривалий вплив стресу може зрештою призвести до неправильної адаптації та, зрештою, до захворювання. Відомо, що тривалий стрес є критичним фактором ризику виникнення кількох

захворювань мозку, включаючи депресію, у генетично схильних осіб (HolsboerandBarden, 1996; GoldandChrousos, 2002).

Молекулярні та клітинні зміни, спричинені хронічним стресом призводять до цього вразливого стану (McEwen, 1999). Щоб отримати більше інформації з цього питання, була проведена серію експериментів, у яких досліджували, як щури піддавалися непередбачуваним стресовим факторам двічі на день протягом 21 день і змінювалися клітинні та молекулярні властивості нейронів гіпокампа та гіпоталамуса. У цій парадигмі щури піддавалися різним стресовим факторам двічі на день, як описано нижче: День 1: холодова іммобілізація протягом 1 години при 48С, примусове плавання протягом 30 хвилин при 25 С; 2-й день: іммобілізація 1 год при кімнатній температурі, ущільнення 24 год; 3-й день: холодне примусове плавання 5 хв, ізоляція 24 год; 4-й день: іммобілізація на 1 год при кімнатній температурі, розміщення на струшуванні на 1 год; день 5: примусове плавання 30 хв при 25 С, іммобілізація 1 год при 4 С; день 6: холодне примусове плавання протягом 5 хвилин, скупчення людей протягом 24 годин; 7 день: поміщення на струшування на 1 год, ізоляція на 24 год. Цей графік повторювався тричі, щоб щури отримували непередбачувані стреси протягом 21 дня. Усі експерименті дослідники вибрали цю модель, а не модель щоденного стримування, яка частіше використовується, оскільки попередні дослідження (Hermanet ін., 1995; Cullinan і Wolfe, 2000) показали, що непередбачувані стреси призводять до характерних ознак хронічного надмірного впливу глюкокортикоїдів, таких як збільшення ваги надниркових залоз, зменшення вилочкової залози, зниження збільшення маси тіла та підвищення базальних рівнів кортикостерону. Усіх тварин досліджували через день після останнього стресового фактора, у стані спокою, щоб досліджувати лише ефекти, спричинені хронічним стресом, а не гострим стресом. Деяким тваринам після глибокої анестезії проводили транскардіальну перфузію для подальшого гістологічного дослідження. З тварин, використаних для електрофізіологічних вимірювань, половина була призначена для підготовки корональних зрізів, що містять PVN, а інша

половина для підготовки поперечних зрізів гіпокампу. Щоб вивчити реакцію на GR, у деяких експериментах *in vitro* додавали високу дозу кортикостерону. Були досліджені такі параметри: (а) ГАМК-ергічний вхід до парвоцелюлярних нейронів у PVN; відомо, що цей вхідний сигнал є важливим регулятором активності парвоцелюлярних нейронів (Cole and Sawchenko, 2002), і тому він має пряме відношення до активності осі НРА. (b) Нейрогенез і апоптотична загибель клітин у DG. (c) глутаматергічна передача та синаптична пластичність у ДГ, як на рівні однієї клітини, так і на рівні мережі; аналогічно, глутаматергічна передача та синаптична пластичність в області гіпокампу CA1 на мережевому рівні. (d) транскрипція генів у DG, з особливим акцентом на субодиницях рецепторів глутамату, ГАМК та кальцієвих каналів. І (e) відповіді на активацію 5-HT_{1A} рецептора, а також експресію 5-HT_{1A} рецептора. M. JOE L Set al. 222

Активация осі НРА після впливу короткочасного стресора призводить до підвищення рівня циркулюючих кортикостероїдних гормонів, що, з одного боку, допомагає стримувати вивільнення гормону через негативний зворотний зв'язок на рівні PVN, а з іншого боку, дозволяє організму адаптуватися до ситуації. У рамках цієї адаптаційної здатності когнітивні функції змінюються таким чином, що нерелевантна інформація гаситься, а важлива інформація зберігається та може бути відновлена в подібних ситуаціях у майбутньому. У той час як короткочасна активация осі НРА під час гострої стресової ситуації важлива для оптимальної продуктивності, безперервна та неадекватна активация осі може бути дезадаптивною та зрештою призвести до хворобливого стану. Це добре відомо людям, де в генетично схильних індивідуумів гіперактивність, гіперчутливість або гіпоактивність осі НРА може сформувати додатковий фактор ризику для виникнення всіх видів захворювань, включаючи глибоку депресію. Докази останнього походять від багатьох досліджень. По-перше, добре відомо, що деякі пацієнти з депресією демонструють аберації у функції осі НРА, що найбільш очевидно з підвищення базального рівня кортизолу, уникнення пригнічення дексаметазоном або перебільшених відповідей у комбінованому

тесті виклику дексаметазон-CRH (див., наприклад, Holsboer та Барден, 1996; Голд і Хрусос, 2002). Ці аномалії частково нормалізуються, коли клінічні симптоми лікуються фармакотерапією; нормалізація осі фактично негативно корелює з ймовірністю рецидиву. Більше того, дослідження за участю пробандів високого ризику пацієнтів із великою депресією показали, що аномалії функції осі НРА, здається, існують ще до появи клінічних симптомів (Modelletal., 2002), що свідчить про те, що такі аномалії не лише корелюють, але й сприяють розвитку захворювання. Якщо так, то можна передбачити, що лікування, спрямоване безпосередньо на вплив на наслідки аномалій НРА, швидко змінює клінічні симптоми. Нещодавні дослідження пацієнтів із психотичною депресією справді показують, що лікування високими дозами антагоніста GR може полегшити клінічні симптоми протягом одного тижня (Belanoff et al., 2002). Депресія - це складне захворювання, яке включає сукупність клінічних симптомів. Серед них: розлади настрою, такі як ангедонія, і когнітивний дефіцит, включаючи процеси пам'яті, які включають префронтальну кору головного мозку та формування гіпокампу.

Анатомічні дослідження показали, що у деяких пацієнтів клінічні симптоми супроводжуються (оборотними) змінами об'єму гіпокампа (Sapolsky, 2000). Передбачається, що такі зміни об'єму пов'язані з індукованим стресом зниженням проліферації та нейрогенезу DG у дорослих. Цікаво, що спричинене стресом пригнічення проліферації запобігає антидепресант тіанептин (Malbergetal., 2000; Czehetal., 2001). Було навіть припущено, що антидепресанти можуть проявляти свою дію через стимуляцію нейрогенезу (Santarellietal., 2003). Сучасна фармакотерапія використовує сполуки, які зазвичай підвищують біодоступність або біоактивність моноамінів, зокрема 5-НТ (CryanandLeonard, 2000). Це може свідчити про те, що на початку захворювання відбувається поступова дисфункція ендогенної системи 5-НТ, хоча це питання все ще є предметом серйозних дискусій. Якщо аксиальна гіперактивність НРА є фактором ризику для виникнення глибокої депресії, можна задатися питанням, чи справді

надмірне опромінення мозку кортикостероїдними гормонами призводить до змін у структурі та функціях мозку; і якщо так, то як це досягається.

У дослідженні Hermanet ін.. використовували модель щурів для непередбачуваного стресу, щоб викликати тривалий стан гіперактивності HPAxis (Hermanet ін., 1995). Непередбачуване поєднання (психо)соціальних і фізичних стресорів не тільки зменшує шанс адаптації, але також краще імітує мінливість стресорів, які зустрічаються в повсякденному житті, ніж при використанні протоколу щоденного стримування стресу. Той факт, що тварини продемонстрували гіперплазію надниркових залоз, зменшення маси тіла та підвищений базальний рівень кортикостерону підтверджують достовірність даної моделі. Дані вказують на те, що тривала надмірна експозиція мозку гормонами старесу справді призводить до змін у структурі та функціях, які нагадують те, що спостерігається у людей із гіперактивністю HPAxis. По-перше, після цього періоду стресу ГАМК-ергічне інгібування напівклітинних нейронів PVN зменшується. Зрозуміло, що ці клітини отримують численні вхідні дані, включаючи опосередкований GR шлях негативного зворотного зв'язку, який, однак, не відіграє ключової ролі в умовах спокою, а також нейронні вхідні дані, які використовують або нейропептиди, моноаміни, ГАМК-орглутамат як передавач (Swanson and Sawchenko, 1980). ; Герман і Куллінан, 1997). Наразі не має інформації про те, чи функціональні властивості не-ГАМКергічних входів також сильно змінюються після хронічного стресу. Однак, незалежно від цих передбачуваних ефектів, зниження гальмівної сили схилить терези в бік вищого рівня активності нейронів. Якщо це також стосується парвоклітинних нейронів, що продукують CRH, це може бути одним із пояснень того, чому рівень CRH і, опосередковано, рівень базалькортикостерону підвищується після хронічного стресу. По-друге, відмічено, що після хронічного стресу відповіді, опосередковані рецептором 5-HT_{1A}, послаблюються. Порівняно з контрольними тваринами відповіді на 5-HT були знижені як за умов низького рівня кортикостерону (переважна активація MP), так і при підвищенні рівнів стероїдів *in vitro*, що призвело до повної активації GR. Ці спостереження

збігаються з більш ранніми висновками, які показують поступове зниження відповіді 5-НТ у тварин, які отримували щоденну ін'єкцію високої дози кортикостерону. Поступове ослаблення може бути одним із механізмів, за допомогою якого надмірний вплив кортикостерону призводить до появи розладів настрою. По-третє, ми спостерігали, що хронічний стрес призводить до стійкого зниження проліферації дорослої людини в DG, яке лише частково скасовується після кількох тижнів відпочинку. Цікаво, що це так не призводять до зменшення об'єму ДГ, можливо, через одночасне зменшення апоптозу.

Вплив хронічного стресу на структурні параметри DG, об'єм і кількість клітин, досить помірний і може вимагати більш тривалого та серйозного впливу, перш ніж зниження (5–9%) стане помітним (Czehetal., 2001; Phametal., 2003). Незважаючи на те, що анатомічні зміни невеликі, це не обов'язково означає, що функціональні наслідки таких змін також скромні. Зрозуміло, що тимчасове уповільнення структурної зміни DG після хронічного стресу змінює загальний склад, середній вік та ідентичність клітин DG, які можуть мати значну кількість наслідки для їх зв'язку і, отже, для функції гіпокампу. Стосовно глутаматергічної передачі та синаптичної пластичності то стверджується, що поєднання хронічного стресу та гострої активації GR викликає великі відповіді на глутамат, опосередковані АМРА-рецепторами. Дослідження експресії генів показало, що не тільки субодиниці рецептора глутамату, але також і склад субодиниці рецептора ГАМК і кальцієвих каналів можуть бути змінені таким чином, що ймовірно клітини піддаються більш помітному збудженню в поєднанні з більш тривалим припливом кальцію. Це може призвести до підвищеної вразливості зернистих клітин DG осіб, які страждають від хронічного стресу, під час складних ситуацій. Нарешті, синаптична потенціація в DG, а також в області CA1 була явно утруднена після хронічного стресу. Зміни в структурі, передачі глутамату та синаптичній пластичності можуть лежати в основі деяких аспектів когнітивних порушень, що спостерігаються після хронічного стресу. Ми робимо висновок, що тривалий період стресу справді викликає

структурні та функціональні зміни в мозку, які схожі на симптоми та можуть сприяти їм.

DG (підвищений після гострого стресу та зменшений після хронічного стресу), а також відповіді нейронів CA1 на 5-HT (підвищений після гострого стресу та ослаблений після хронічного стресу). Очевидно, що постійна активація GR, що виникає при гіперактивності осі HPA, дає результати, відмінні від результатів після одного короткого періоду активації GR. Було припущено, що хронічний стрес викликає «опір GR», тобто ситуацію, коли клітини менш сильно реагують на активацію GR (DeRijk і Sternberg, 1997; Milleret *ін.*, 1999). Особливо це було припущено для нейронів, що продукують CRH, у PVN, де резистентність GR зробила б клітини менш чутливими до негативного зворотного зв'язку кортикостероїдів

Очевидний (непрямий) опір може постулюватися для тих реакцій, які після хронічного стресу вже здаються насиченими низькими рівнями циркулюючого кортикостерону, як це спостерігається у випадку LTP, де навіть при низьких рівнях гормону синаптична потенціація у тканинах хронічно перешкоджає стресові щурів, так що більш високі рівні гормону (активації решти GRs) більше не можуть викликати додатковий ефект. Але інші спостереження, здається, явно свідчать проти існування генералізованої резистентності GR в гіпокампі. Таким чином, активація GR шляхом введення кортикостерону *in vitro* на зрізи щурів із хронічним стресом все ще ефективно посилювала реакцію на 5-HT порівняно з реакціями, які спостерігалися з переважною активацією MR, подібно до того, що було виявлено у контрольних тварин.

У випадку відповідей, опосередкованих AMPA-рецепторами, у гранульованих клітинах DG, реакції, які спостерігалися після екстенсивної активації GR у тканині щурів із хронічним стресом, були навіть набагато більшими, ніж спостерігалися після активації GR у контрольній тканині. Слід зазначити, що в умовах реєстрації кортикостерон завжди застосовувався в надлишку, тому біодоступність не була чинником, що обмежує швидкість. Зміни біодоступності, напр. викликані зниженим доступом кортикостерону

до нейронів гіпокампа внаслідок зміненої функції Р-глікопротеїнів (Pariante, 2003) або ферментів, таких як 11- β -гідроксистероїд дегідрогеназа (Holmes et al., 2003), звичайно, може призвести до непрямой стійкості до GR. Проте, незважаючи на такі механізми, структура і функція нейронів гіпокампа та PVN, здається, змінюються після хронічного стресу, навіть якщо тканину вивчають за умов, коли рівень циркулюючих гормонів низький, так що опір GR (непрямий) не відіграє важливої ролі. Одним із підходів, який може дати більше розуміння механізму, що лежить в основі спостережуваних на даний момент змін у структурі та функції після хронічного стресу, є обширний скринінг змін у експресії генів.

У деяких випадках (субодиниці рецептора AMPA) існували докази того, що хронічний стрес змінює експресію специфічних субодиниць, викликаючи спостережувані функціональні зміни. Тим не менш, в інших прикладах, таких як відповіді 5-HT в області CA1, не було отримано доказів прямої регуляції транскрипції білків, залучених до функціональних відповідей. Ми робимо висновок, що хронічний стрес у багатьох випадках може викликати зміни в експресії генів, які непрямим чином впливатимуть на білки, залучені до функціональних властивостей, напр. через посттрансляційну модифікацію. Такі гени-кандидати можна виявити лише за допомогою набагато більш широкого підходу до скринінгу генів, такого як ті, що досягаються за допомогою мікрочипів. Експресія цих генів-кандидатів може бути змінена лише після кількох періодів тривалої активації GR або вимагає багатьох проміжних етапів, які отримують шанс розвинутиися, лише якщо рівні кортикостероїдів залишатимуться високими протягом значного періоду часу. Безсумнівно, такі масштабні дослідження генів будуть проведені в найближчі роки, сподіваючись виявити цікаві гени-кандидати, які відіграють ключову роль у структурних і функціональних змінах, що спостерігаються зараз після хронічного стресу. Точне визначення цих генів, що представляють інтерес, може стати можливим безпосередньо маніпулювати їх експресією, тим самим нібито перешкоджаючи наслідкам хронічного стресу для мозку. Згодом це може відкрити нові шляхи для

раціонального та специфічного лікування розладів мозку, пов'язаних зі стресом.

РОЗДІЛ II.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проводилися на шести статевозрілих самцях білих щурів лінії Вістар масою 200 – 250 грам.

Тварин утримували в стандартних умовах віварію при сталій температурі та вологості повітря та вільному доступі до води і їжі. Щурів було розподілено на дві групи: контрольну та експериментальну, по три особини. Перша група утримувалася в звичайних віварних умовах без контактів з експериментальними тваринами, друга група – піддавалася впливові хронічного холодового стресу.

Зокрема, експериментальну групу протягом 18 днів на 1 годину поміщали у водяну баню при температурі +4С, де тварина була занурена по шию і не мала можливості вибиратися на стінки резервуару. Щурі поміщалися у водяну баню без попередньої адаптаційної підготовки до впливу холодового стресу. У процесі проведення методики здійснювався контроль температури за допомогою термометра [26].

Проведений дослід показав, що в експериментальних тварин спостерігалися ознаки тріади Сельє. За перші чотири доби проходила стадія тривоги (зменшенням розмірів тимуса, наявність крововиливів і виразок в слизовій оболонці шлунково-кишкового тракту, підвищена секреція адренокортикотропного гормону (АКТГ) гіпофіза), за 5-14 діб стадія резистентності (нормалізація діяльності залоз внутрішньої секреції і тимусо-лімфатичної системи), а після 15 діб – виснаження (глюкокортикоїди переважають над мінералкортикоїдами, понижена активність щитовидної залози і статевих залоз, пригноблена тимусо-лімфатичної системи) [7].

Після 18-денного експерименту тварин забивали декапітацією під епітаміналовим наркозом та відбирали для досліджень головний мозок та надниркові залози, які фіксували у 10%-вому нейтральному формаліні на фосфатному буфері при кімнатній температурі.

Дослідження на лабораторних тваринах проведені з дотриманням відповідних рекомендацій та положень “Європейської конвенції хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей”

Фіксований матеріал промивали під струменем проточної води протягом однієї доби для звільнення від фіксатора. Після цього матеріал зневоднювали. Для цього використовували спирти зростаючих концентрацій: 60% спирт – 6 годин, 70% - 6 годин, 80% - 6 годин, 90% - 4 години, 100% - 2 години. Як правило, матеріал перебував в спирті не менше 24 години, оскільки повне зневоднювання – найважливіша умова успішної заливки [22].

Для того, щоб приготувати зрізи, ми заливали матеріал у парафін-воскову суміш (95% парафіну і 5% очищеного воску). Перед цим поміщали його в суміш різних частин абсолютного спирту і ксилолу на 1 годину. Потім переносили матеріал в о-ксилол на 30-40 хвилин. Після цього поміщали в насичений розчин парафіну в о-ксилолі при 37°C на одну годину, переносили в перший чистий парафін до 2-х годин при 57°C, а потім в другий чистий парафін до 1 години при 57°C. Заливали матеріал чистим парафіном у формочки із паперу, охолоджували у воді і вирізали блок, який наклеювали розплавленим парафіном на дерев'яний кубик.

Різку блоків проводили серійно, у горизонтальній площині, на санному мікротомі (МС-2), товщиною 10-15 мкм під кутом 15°. Для кращого приклеювання парафінових зрізів предметні скельця ми змазували сумішшю білка з гліцерином, після чого нагрівали над полум'ям спиртівки. З отриманих зрізів за допомогою ксилолу видаляли парафін. Для цього зрізи поміщали на 3 хвилин в ксилол, в якому проходило розчинення парафіну. Після розчинення парафіну ми переносили препарати в 100% спирт на 2 хвилин, а потім поміщали в 90%, 80% і 70% спирт на 2 хвилин в кожній і, на кінець, в дистильовану воду. Зафарбовували розчином гематоксилін-еозином за класичним методом Ф. Після та заливали в канадський бальзам.

Топографічну приналежність нейронів до окремих полів гіпокампа картували згідно зі стереотаксичним атласом мозку щура (Paxinos G. D., Watson C. S., 2005)

Фотографування гістологічних препаратів, та їх збільшення здійснювали за допомогою світлового мікроскопа Axioskop – 40 (Carl Zeiss) з відеокамерою[31].

Вимірювання ширини структур та окремих цитоархітектонічних шарів проводили за допомогою комп'ютерного програмного забезпечення, а саме програми „Морфологія 5”.

Статистичну обробку одержаних результатів проводили за допомогою ПК в М. Ехсел, використовуючи критерій вірогідності Стюдента.

РОЗДІЛ III.

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Численними дослідженнями встановлено, що гіпокамп, будучи підкірковим вегетативним центром, тісно пов'язаний зі скроневими частками мозку, які значно більше впливають на регуляцію вегетативних функцій в організмі, ніж інші ділянки мозку.

Проведені морфологічні дослідження гіпокампу шести статевозрілих самців білих щурів лінії Вістар масою 200 – 250 грам. Ми аналізували зміни при стресі. Нами були встановлені відмінності у щільності нейронів контрольної та експериментальної групи. У стресованих тварин спостерігається чітка вираженість нейронів по цілому гіпокампі. Щільність нейронів в експериментальній групі є меншою ніж у контрольній. Загальний вигляд гіпокампа змінюється – збільшується об'єм (Рис.1.1, Рис.1.2.) [27].

У тварин, які не піддавалися впливові холодного стресу у субрегіонах CA1, CA2, CA3 спостерігалися чітка вираженість нейронного шару. Субрегіон CA1 відрізняється щільно розташованими нейронами, а клітини субрегіона CA3 меншою щільністю.[30] Аналізуючи отримані дані, бачимо, що розміри чітко вираженого нейронного шару субрегіону CA2, порівняно з іншими, займають середину між цими даними.(Табл. 3.1)

Після аналізу зрізів, а саме заміру чітко вираженого нейронного шару контрольної групи виявилось, що товщина нейронного шару гіпокампа у субрегіонах становить (Табл.3.1).

Таблиця 3.1.

Товщина нейронного шару субрегіонів контрольної групи тварин, мкм.

| | Товщина | | |
|-----------|--------------|-------------|-------------|
| | ± | | |
| Субрегіон | CA1 | CA2 | CA3 |
| | 181,46 ±1,17 | 163,42±1,17 | 147,62±1,17 |

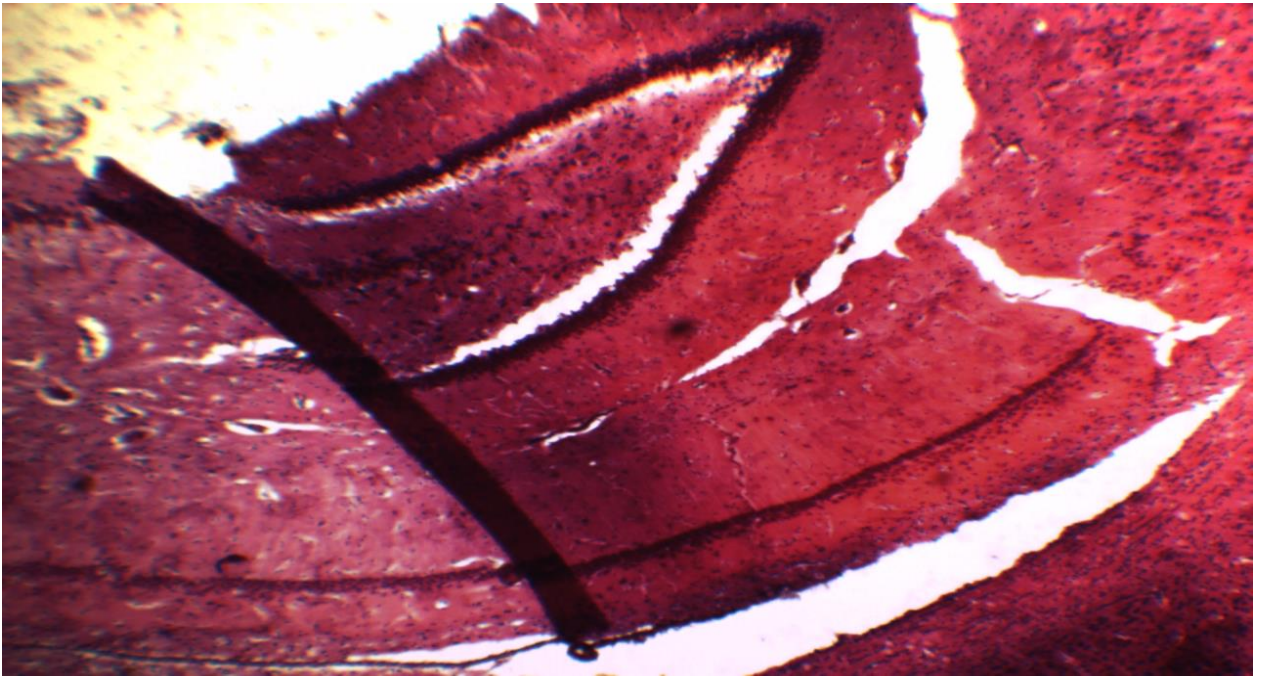


Рис.1.1. Гіпокамп контрольної групи щурів x 40

Порівнюючи зміни в контрольній і експериментальній групі можна стверджувати що: субрегіон CA1 контрольної групи є менших розмірів ніж стресованої та чітко відрізняється від інших субрегіонів обох груп тварин.[32] Не дивлячись на зменшення товщини, субрегіон CA2 експериментальних тварин, добре відмежований та має низьку щільність нейронів, порівняно з контрольною групою тварин. Зменшення щільності клітин стресованих тварин у всіх субрегіонах свідчить про негативну дію стресу, який призводить до наслідків – відповідь нейронів не є чіткою, бо втрачаються дендрити (Табл. 3.2.).

Отже, аналізуючи чіткий виражений нейронний шар гіпокампу контрольної та експериментальної групи тварин, можна відзначити негативний вплив холодного стресу. Товщина чіткого вираженого нейронного шару гіпокампу експериментальної групи збільшилася, знизилася щільність нейронів.

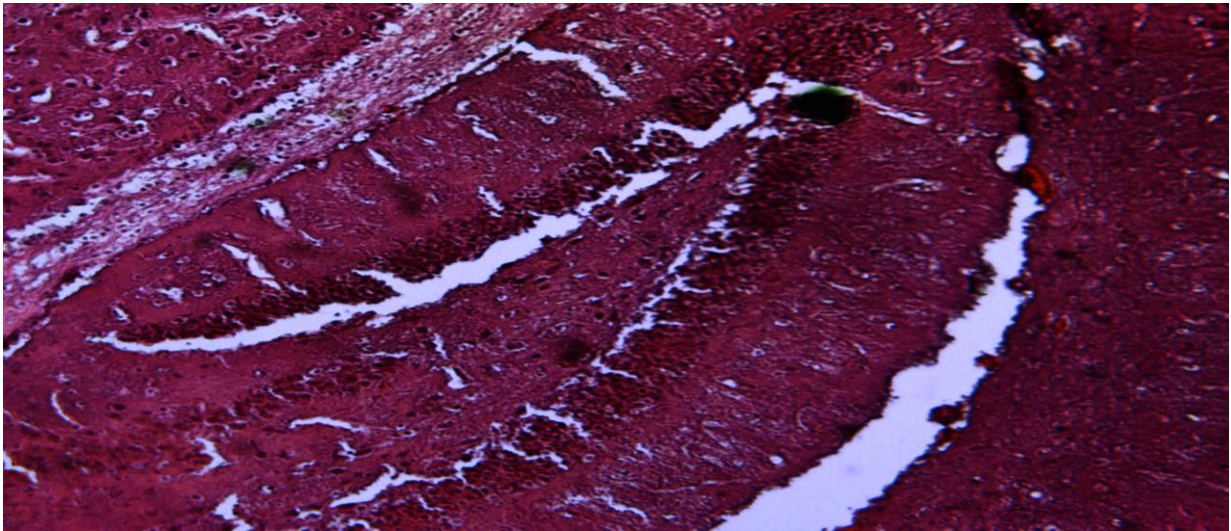


Рис.1.2. Гіпокамп експериментальної групи щурів х40

Таблиця 3.2.

**Товщина нейронного шару субрегіонів експериментальної групи тварин,
мкм.**

| | Товщина | | |
|-----------|-------------|-------------|--------------|
| | ± | | |
| Субрегіон | CA1 | CA2 | CA3 |
| | 224,15±1,17 | 198,22±1,17 | 193,32 ±1,17 |

Проводячи дослідження гіпокампу, було виявлене чітке розмежування на шари: I, II, III, IV-V, VI. Порівнюючи зміни в контрольній і експериментальній групі можна стверджувати що: I шар контрольної групи є менших розмірів ніж стресованої та чітко відмежований від II шару в обох групах тварин, маючи при цьому високу щільність нейронів. Слабо диференційованими в контрольній та експериментальній групі є IV – V. Не дивлячись на зменшення товщини, III шар гіпокампа тварин, добре відмежований та має високу щільність нейронів. Збільшення щільності клітин стресованих тварин, у всіх шарах, свідчить про зростання функціонального навантаження на нейрони, а зменшення товщини про негативну дію стресу.

При дослідженні гіпокампа контрольної групи тварин виявлено, що середні розміри пірамідальних нейронів шарів становить 34 - 62 мкм. В

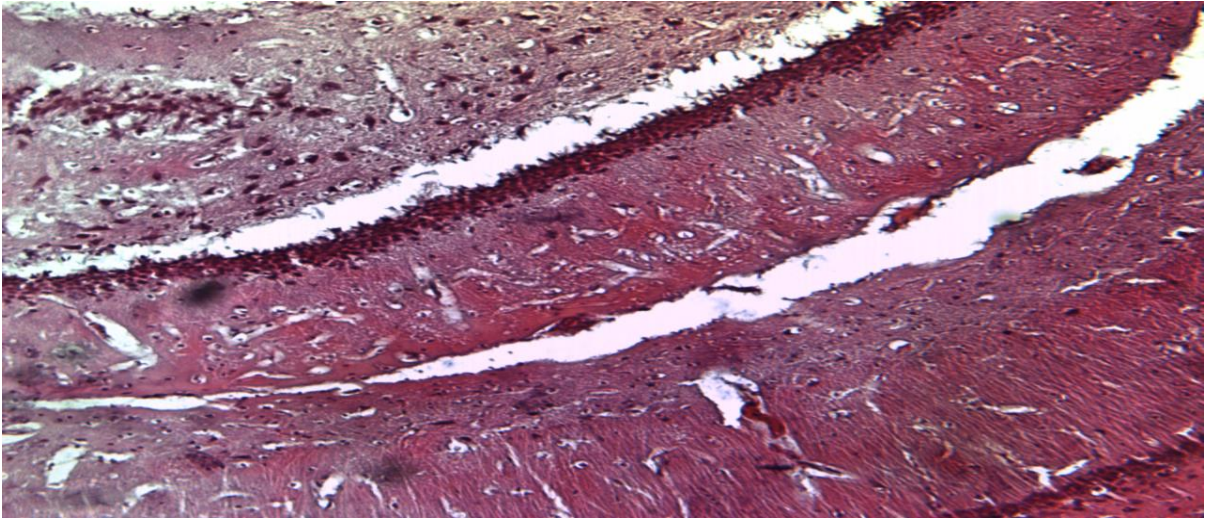
експериментальній групі тварин ядро і цитоплазма клітин вже не має чіткої структурованості. Встановлено зменшення розмірів і зміна будови пірамідних нейронів. В порівнянні з контрольною групою кількість цих клітин зменшується. Відмічено також, що такі зменшення кількості пірамідних нейронів і у всіх ділянках та шарах гіпокампа. Також, в нижніх шарах з'являються нейрони з добре розвиненим та вузьким обідком цитоплазми навколо ядра.

Отже, порівнюючи гіпокамп контрольної та експериментальної групи тварин можна відзначити негативний вплив холодного стресу. Товщина гіпокампу експериментальної групи збільшилася, змінилася диференціація на шари. Нейрони теж зазнали суттєвих змін: зменшилися їх розміри та змінилася будова.

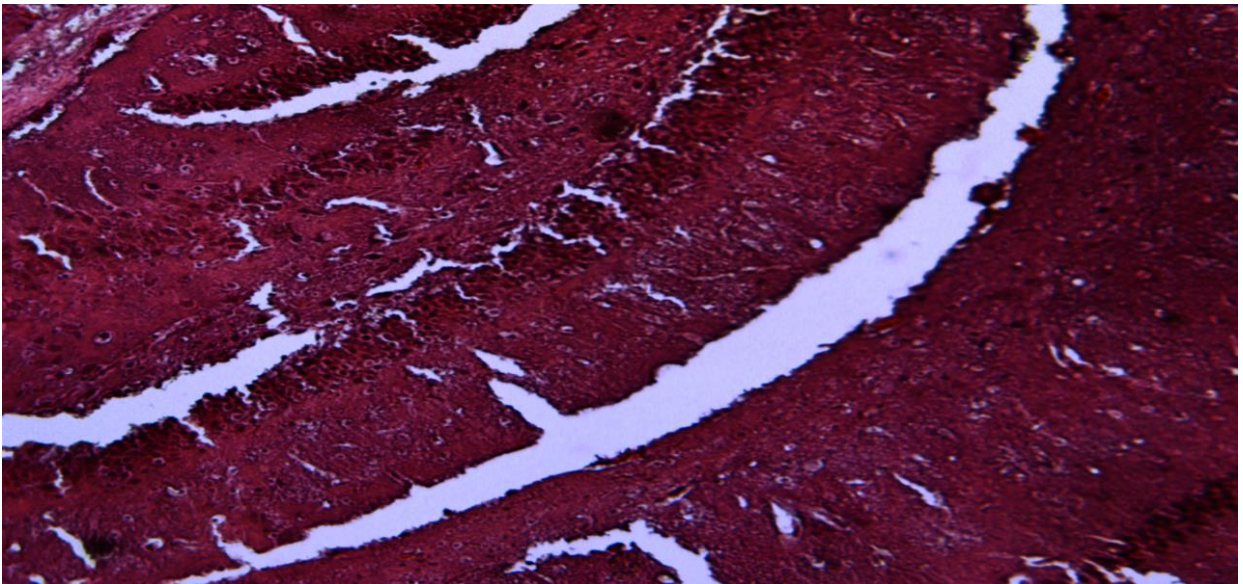
3.1. Цитоархітектоніка субрегіона CA1 гіпокампа щурів, який зазнав впливу холодного стресу

Аналізуючи цитоархітектоніку субрегіона CA1 (Рис.1.3.) гіпокампа експериментальних і контрольних тварин виявлено зміни нейронних шарів. У субрегіона контрольної групи тварин такі зміни: CA1 має вищу щільність нейронів порівняно з іншими, розміри нейронного шару ($181,46 \pm 1,17$ мкм). Спостерігаючи експериментальну групу видно, що відбувається гибель частки нейронів, що призводить до зменшення щільності нейронів і збільшенні самого шару в субрегіоні CA1 – до ($224,15 \pm 1,17$ мкм) (Рис.1.3.1).

Проводячи дослідження гіпокампу, було виявлене чітке розмежування на шари. Порівнюючи зміни в групах можна стверджувати що: контрольна група є менших розмірів ніж стресована, маючи при цьому високу щільність нейронів. Слабо диференційованими в контрольній та експериментальній групі є IV – V.



А



Б

Рис.1.3. Цитоархітектонічні особливості субрегіона гіпокампа СА1 х 100
А- контрольної групи щурів.
Б-експериментальна група.

ІІІ шар гіпокампа тварин, добре відмежований та має високу щільність нейронів. Збільшення щільності клітин стресованих тварин, у всіх шарах, свідчить про зростання функціонального навантаження на нейрони, а зменшення товщини про негативну дію стресу.

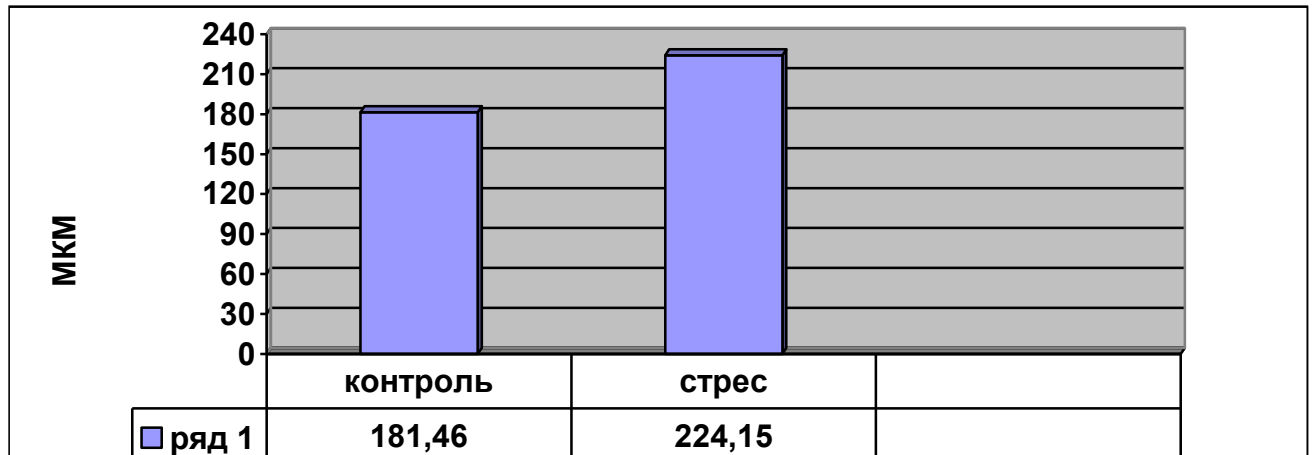


Рис.1.3.1. Зміни товщини субрегіона СА1 контрольної і експериментальної групи, мкм.

Товщина I – шару становить $24,09 \pm 1,17$ мкм. I шар має чіткі межі та щільно розміщені нейрони. II – шар, з товщиною в $30,02 \pm 1,17$ мкм з невеликою щільністю нейронів (Табл. 3.3.).

Таблиця 3.3.

Товщина шарів субрегіона СА1 контрольної групи тварин, мкм.

| | Товщина | | | | |
|-----|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | ± | | | | |
| Шар | I | II | III | IV – V | VI |
| | $24,09 \pm 1,17$ | $30,02 \pm 1,17$ | $29,03 \pm 1,17$ | $72,27 \pm 1,17$ | $26,05 \pm 1,17$ |

Негативна дія стресу на експериментальну групу тварин, в першу чергу відображається на диференціації шарів. Товщина VI шару тварин, які піддавалися дії стресу становить $39,25 \pm 1,17$ мкм.

Таблиця 3.4.

Товщина шарів субрегіона CA1 експериментальної групи тварин, мкм.

| | Товщина | | | | |
|-----|-------------|-------------|------------|-------------|------------|
| | ± | | | | |
| Шар | I | II | III | IV – V | VI |
| | 37,36 ±1,17 | 42,02 ±1,17 | 40,64±1,17 | 64,88 ±1,17 | 39,25±1,17 |

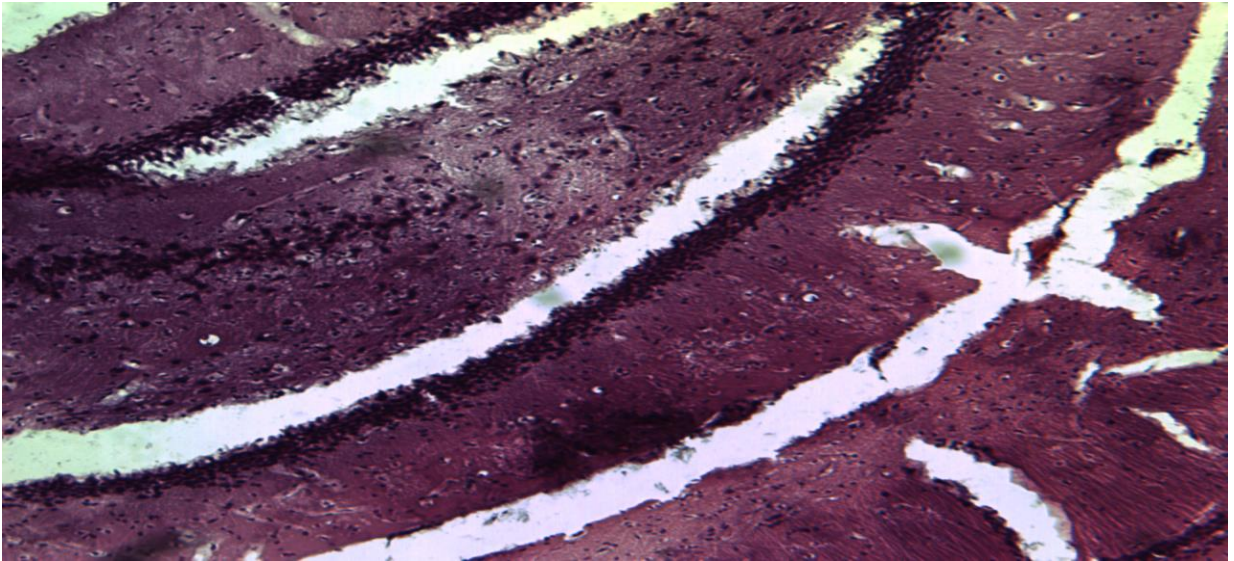
Порівнюючи зміни в контрольній і експериментальній групі можна стверджувати що: I шар контрольної групи є більших розмірів ніж стресованої та чітко відмежований від II шару в обох групах тварин. Слабо диференційованими в контрольній групі і експериментальній IV – V шари клітин. Такі зміни стосуються усіх шарів (Табл. 3.4.).

3.2. Цитоархітектоніка субрегіона CA2 гіпокампа щурів, який зазнав впливу холодового стресу

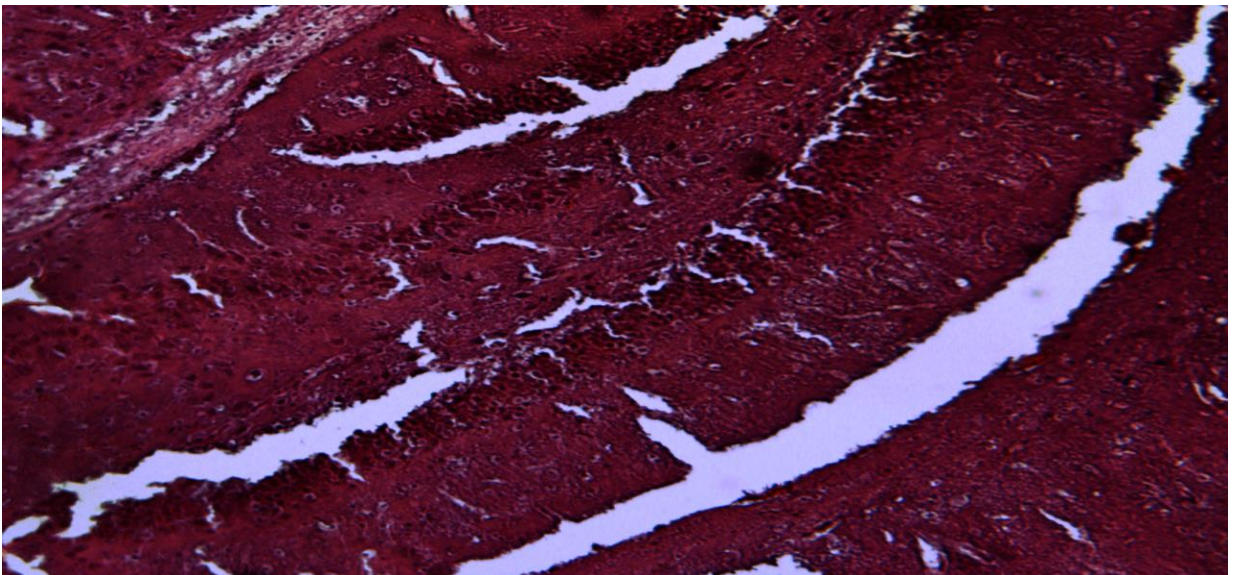
Ділянка CA2(Рис.1.4) - спостерігаємо зміни, які характерні і першій ділянці. Розміри нейронного шару субрегіона CA2 контрольної групи - (163,42±1,17 мкм). Вплив стресу має свої наслідки, розмір нейронного шару експериментальної групи тварин - CA2 (198,22 ±1,17). Порівняно з першою зоною, збільшуються розміри шару, але зменшується щільність нейронів [33].

Оглянувши ділянку гіпокампа – субрегіон CA2 (Рис.1.4.1) можна зробити такі висновки: щільність нейронів контрольної групи щурів вища ніж у експериментальної групи, при цьому видно зміни у розмірах шару.

Субрегіон CA2 двох груп поділяється на VI шарів. У контрольній групі тварин вираженими є такі шари: I, II, III, IV-V та VI. I шар відзначається товщиною в 24,03±1,17мкм.



А



Б

Рис.1.4.Цитоархітектонічні особливості субрегіона гіпокампа СА3 x100

А- контрольної групи щурів

Б -експериментальна група.

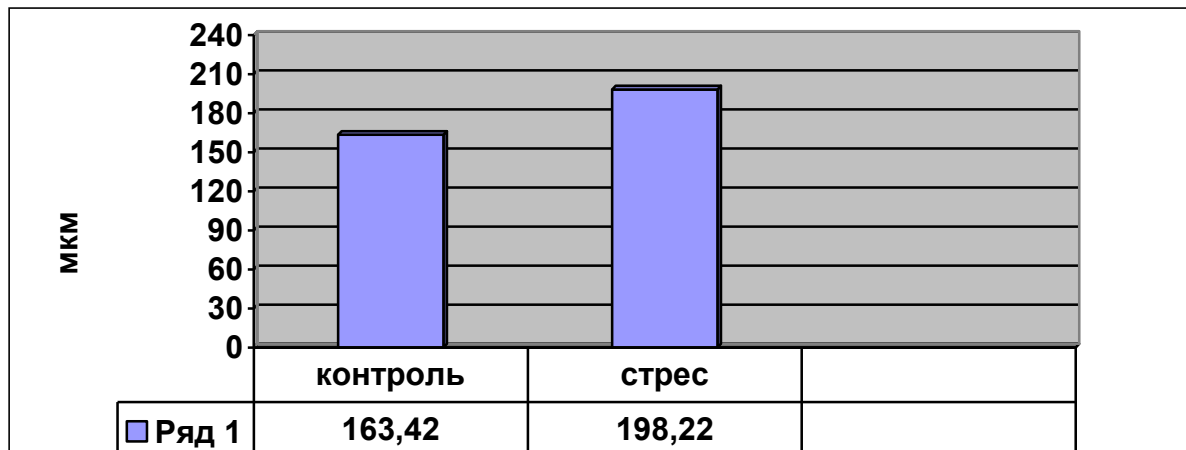


Рис.1.4.1. Зміни товщини субрегіона CA2 контрольної і експериментальної групи, мкм.

Характерною особливістю цитоархітекτονіки субрегіона щурів слабка диференціація IV- V шарів. Загальна товщина цих шарів становить $59,15 \pm 1,17$ мкм. VI –шар контрольної групи тварин добре виражений, щільність нейронів є більшою у порівнянні з іншими шарами. Найвища щільність серед усіх шарів у I шару. (Табл.3.5)

Таблиця.3.5.

Товщина шарів субрегіона CA2 контрольної групи тварин, мкм.

| | Товщина | | | | |
|-----|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | ± | | | | |
| Шар | I | II | III | IV – V | VI |
| | $24,03 \pm 1,17$ | $28,07 \pm 1,17$ | $27,12 \pm 1,17$ | $59,15 \pm 1,17$ | $25,05 \pm 1,17$ |

Експериментальна група характеризується чіткою стратифікацією на такі шари: I, II, III – IV - V, VI. Товщина I шару стресованих тварин становить $33,03 \pm 1,17$ мкм. Він має чіткі межі щільно розміщені нейрони. II шар добре диференційований ($36,18 \pm 1,17$ мкм) та характеризується не дуже

високою щільністю розташування нейронів. IV – V шари субрегіона тварин, що піддавалися дії стресу, товщиною в $60,74 \pm 1,17$ мкм не чітко розділені. VI шар експериментальної групи чітко виражений ($34,2 \pm 1,17$ мкм) та має вищу щільність нейронів (Табл.3.6).

Таблиця.3.6.

**Товщина шарів субрегіона СА2 експериментальної групи тварин,
мкм.**

| | Товщина | | | | |
|-----|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | ± | | | | |
| Шар | I | II | III | IV – V | VI |
| | $33,03 \pm 1,17$ | $36,18 \pm 1,17$ | $35,07 \pm 1,17$ | $60,74 \pm 1,17$ | $34,02 \pm 1,17$ |

Порівнюючи зміни даних в контрольній і експериментальній групі можна стверджувати що: I шар стресованої групи має велику кількість нейронів порівняно з контрольним.

Отже, внаслідок дії холодового стресу субрегіон експериментальної групи тварин зазнає суттєвих змін: у всіх шарах кори відбулося збільшення товщини; будові нейронів – зменшення ядер; зменшення щільності нервових клітин.

3.3. Цитоархітектоніка субрегіона СА3 гіпокампа щурів, який зазнав впливу холодового стресу

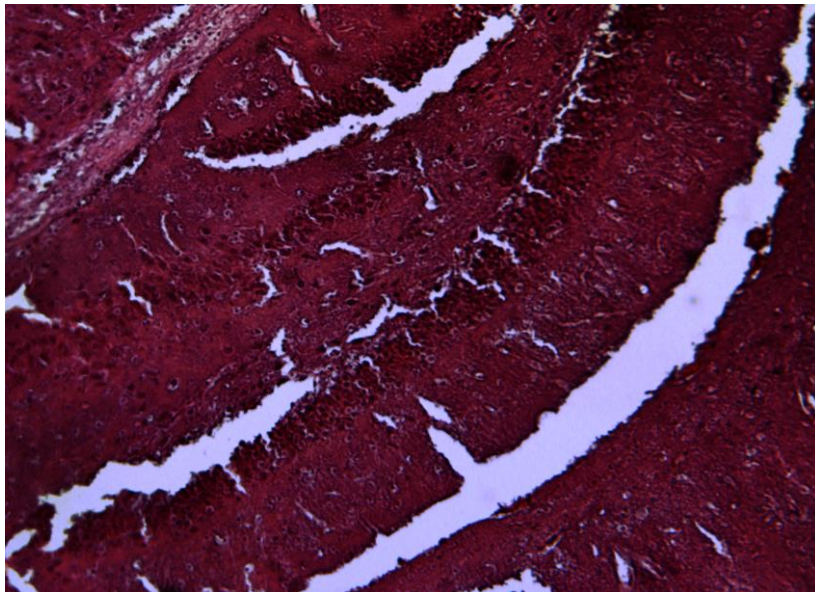
Розміри субрегіона СА3(Рис.1.5): контрольної групи - ($147,62 \pm 1,17$ мкм), експериментальної групи – ($193,32 \pm 1,17$ мкм).

Порівнюючи зміни субрегіона СА3(Рис.1.5.1) в контрольній і експериментальній групі можна стверджувати що: нейронний шар стресованої групи є більших розмірів ніж контрольної. Не дивлячись на збільшення товщини, нейронний шар гіпокампу експериментальних тварин,

має низьку щільність нейронів. Зменшення щільності клітин стресованих тварин свідчить про негативну дію стресу[32].



А



Б

Рис.1.5.Цитоархітектонічні особливості субрегіона гіпокампа СА3 x100

А- контрольної групи щурів

Б -експериментальна група.

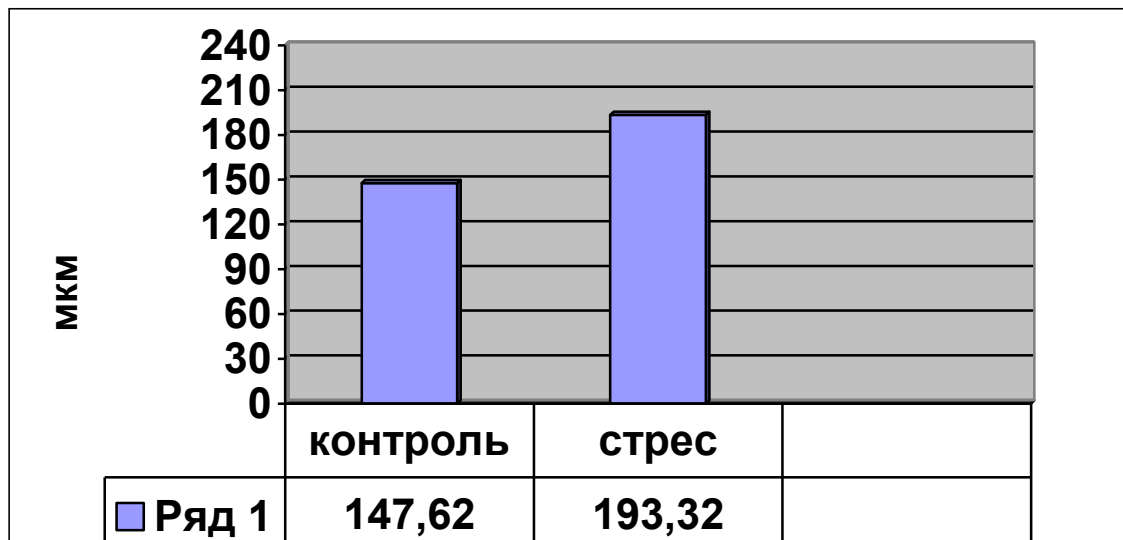


Рис.1.5.1. Зміни товщини субрегіона СА3 контрольної і експериментальної групи, мкм.

Як і попередні, субрегіон СА3 включає VI шарів. Що стосується контрольної групи, то можна стверджувати, що чітко відмежованими є I, II, III, VI, а V і IV слабо диференційовані.

I шар чіткий, його товщина становить $20,18 \pm 1,17$ мкм. Товщина II шару субрегіона СА3 становить $24,22 \pm 1,17$ мкм. Нейрони розміщені досить щільно. III шар – $25,2 \pm 1,17$, в порівнянні з іншими, він має меншу щільність клітин. Товщина IV і V шарів контрольної групи $54,85 \pm 1,17$ мкм. VI шар відмежований, товщина $23,17 \pm 1,17$ мкм (Табл.3.7).

Таблиця 3.7.

Товщина шарів субрегіона СА3 контрольної групи тварин, мкм.

| | Товщина | | | | |
|-----|------------------|------------------|-----------------|------------------|------------------|
| | ± | | | | |
| Шар | I | II | III | IV – V | VI |
| | $20,18 \pm 1,17$ | $24,22 \pm 1,17$ | $25,2 \pm 1,17$ | $54,85 \pm 1,17$ | $23,17 \pm 1,17$ |

Експериментальна група тварин також має такі шари, що і контрольна. Товщина I шару становить $32,22 \pm 1,17$ мкм. II – $36,15 \pm 1,17$ мкм. III шар

субрегіона СА3 становить 34,1. VI шар з низькою щільністю нейронів. Його товщина складає $33,18 \pm 1,17$ мкм. IV – V шари слобо розмежовані, їхня товщина становить $57,67 \pm 1,17$ мкм (Табл.3.8).

Таблиця 3.8.

**Товщина шарів субрегіона СА3 експериментальної групи тварин,
мкм.**

| | Товщина | | | | |
|-----|------------------|------------------|-----------------|------------------|------------------|
| | ± | | | | |
| Шар | I | II | III | IV – V | VI |
| | $32,22 \pm 1,17$ | $36,15 \pm 1,17$ | $34,1 \pm 1,17$ | $57,67 \pm 1,17$ | $33,18 \pm 1,17$ |

Аналізуючи весь обсяг роботи, варто було б зазначити ті дані, які було виявлено іншими вченими. Адже дані нашого дослідження основані на їхніх результатах. У субрегіона контрольної групи тварин такі зміни: СА1 має вищу щільність нейронів порівняно з іншими, розміри нейронного шару ($181,46 \pm 1,17$ мкм), експериментальної - до ($224,15 \pm 1,17$ мкм); СА2 контрольної групи - ($163,42 \pm 1,17$ мкм), експериментальної групи тварин - СА2 ($198,22 \pm 1,17$); розміри субрегіона СА3 (Рис.1.5): контрольної групи - ($147,62 \pm 1,17$ мкм), експериментальної групи – ($193,32 \pm 1,17$ мкм)

Виявилося, що такі зміни основані на таких результатах: у щурів значно зменшилась кількість і щільність розташування дендритних шипиків у ділянці СА1, СА2, СА3. Втрата шипиків супроводжується послабленням нейронних зв'язків. Це й зрозуміло, адже кожен із дендритних шипиків утворює синапс з іншими відростками. За допомогою таких вузликів нейрони утворюють єдину мережу. Але якщо вузлик розрізати, то в мережі утворюється діра. Чим більше таких дір (і менше нейронних зв'язків), тим гірше клітини мозку обмінюються інформацією. Відповідно, нова інформація не тільки не зберігається, але навіть не засвоюється [33].

Загальновідомо, що нейрони спілкуються один з одним через так звані синапси, місця контактів між двома клітинами, передаючи один одному

нервові імпульси, амплітуда яких може змінюватися, у тому числі і під впливом стресу. Особливо це актуально для гіпокампа, області мозку, що бере участь в механізми формування емоцій, консолідації пам'яті. При виникненні стресового стану, імпульси можуть бути настільки сильними, що під їх впливом в нейронах і синапсах гіпокампу відбуваються аномальні зміни[35]. Дендритні шипики, невеликі відростки, що утворюють синоптичні з'єднання між нейронами, просто відмирають. Це призводить до виникнення дірок в нейронних мережах, що перешкоджає передачі імпульсів. У підсумку вижили нейронні мережі нагадують пробки в годину пік - всі необхідні імпульси просто не можуть пробитися крізь них, у результаті чого частина інформації втрачається [26].

ВИСНОВКИ

1. Гіпокамп двох груп має чітку вираженість нейронного шару. Товщина нейронного шару експериментальної групи значно збільшилась порівняно з контрольною групою. Щільність нервових клітин у всіх

субрегіонах експериментальної групи знизилася, що свідчить про запад функціональної активності даної ділянки у відповідь на холодний стрес. У субрегіона контрольної групи тварин такі зміни: СА1 має вищу щільність нейронів порівняно з іншими, розміри нейронного шару ($181,46 \pm 1,17$ мкм), експериментальної - до ($224,15 \pm 1,17$ мкм); СА2 контрольної групи - ($163,42 \pm 1,17$ мкм), експериментальної групи тварин - СА2 ($198,22 \pm 1,17$); розміри субрегіона СА3 (Рис.1.5): контрольної групи - ($147,62 \pm 1,17$ мкм), експериментальної групи – ($193,32 \pm 1,17$ мкм)

2. У тварин, які не піддавалися впливові холодного стресу у субрегіонах СА1, СА2, СА3 спостерігалися чітка вираженість нейронного шару. Субрегіон СА1 відрізняється щільно розташованими нейронами, а клітини субрегіона СА3 низькою щільністю. Аналізуючи дані які ми отримали, бачимо, що розміри чітко вираженого нейронного шару субрегіону СА2, порівняно з іншими, займають середину між цими даними. Зменшення щільності клітин стресованих тварин у всіх субрегіонах свідчить про негативну дію стресу, який призводить до гибелі нейронів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Alexander GM, Farris S, Pirone JR, Zheng C, Colgin LL, Dudek SM. Social and novel contexts modify hippocampal CA2 representations of space. *Nat Commun.* 2016; 7:10300.
2. Amaral DG, Witter MP. The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neuroscience.* 1989; 31:571–591.
3. Bannerman DM, Sprengel R, Sanderson DJ, McHugh SB, Rawlins JN, Monyer H, Seeburg PH. Hippocampal synaptic plasticity, spatial memory and anxiety. *Nat Rev Neurosci.* 2014; 15:181–192.
4. Basu J, Siegelbaum SA. The cortico-hippocampal circuit, synaptic plasticity, and memory. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2015; 7:a021733.

5. Basu J, Srinivas KV, Cheung SK, Taniguchi H, Huang ZJ, Siegelbaum SA. A cortico-hippocampal learning rule shapes inhibitory microcircuit activity to enhance hippocampal information flow. *Neuron*. 2013; 79:1208–1221.
6. Basu J, Zaremba JD, Cheung SK, Hitti FL, Zemelman BV, Losonczy A, Siegelbaum SA. Gating of hippocampal activity, plasticity, and memory by entorhinal cortex long-range inhibition. *Science*. 2016; 351:aaa5694.
7. Bittner KC, Grienberger C, Vaidya SP, Milstein AD, Macklin JJ, Suh J, Tonegawa S, Magee JC. Conjunctive input processing drives feature selectivity in hippocampal CA1 neurons. *Nat Neurosci*. 2015; 18:1133–1142
8. Bodnoff, S.R., Humphreys, A.G., Lehman, J.C., Diamond, D.M., Rose, G.M. and Meaney, M.J. (1995) Enduring effects of chronic corticosterone treatment on spatial learning, synaptic plasticity, and hippocampal neuropathology in young and mid-aged rats, *J. Neurosci*. 15, 61–69.
9. Bonnevie T, Dunn B, Fyhn M, Hafting T, Derdikman D, Kubie JL, Roudi Y, Moser EI, Moser M-B. Grid cells require excitatory drive from the hippocampus. *Nat Neurosci*. 2013; 16:309–317. [PubMed: 23334581]
10. Brun VH, Leutgeb S, Wu HQ, Schwarcz R, Witter MP, Moser EI, Moser MB. Impaired spatial representation in CA1 after lesion of direct input from entorhinal cortex. *Neuron*. 2008; 57:290–302.
11. Burgess N, O'Keefe J. Neuronal computations underlying the firing of place cells and their role in navigation. *Hippocampus*. 1996; 6:749–762.
12. Bush D, Barry C, Burgess N. What do grid cells contribute to place cell firing? *Trends Neurosci*. 2014; 37:136–145.
13. Buzsáki G, Moser EI. Memory, navigation and theta rhythm in the hippocampal-entorhinal system. *Nat Neurosci*. 2013; 16:130–138.
14. Cai DJ, Aharoni D, Shuman T, Shobe J, Biane J, Song W, Wei B, Veshkini M, La-Vu M, Lou J, et al. A shared neural ensemble links distinct contextual memories encoded close in time. *Nature*. 2016; 534:115–118.
15. Canto CB, Wouterlood FG, Witter MP. What does the anatomical organization of the entorhinal cortex tell us? *Neural Plast*. 2008:381243.
16. Chevaleyre V, Siegelbaum SA. Strong CA2 pyramidal neuron synapses define a powerful disinhibitory cortico-hippocampal loop. *Neuron*. 2010; 66:560–572.
17. Ciocchi S, Passecker J, Malagon-Vina H, Mikus N, Klausberger T. Selective information routing by ventral hippocampal CA1 projection neurons. *Science*. 2015; 348:560–563.
18. Couey JJ, Witoelar A, Zhang SJ, Zheng K, Ye J, Dunn B, Czajkowski R, Moser MB, Moser EI, Roudi Y, et al. Recurrent inhibitory circuitry as a mechanism for grid formation. *Nat Neurosci*. 2013; 16:318–324. [PubMed: 23334580]
19. Cowansage KK, Shuman T, Dillingham BC, Chang A, Golshani P, Mayford M. Direct reactivation of a coherent neocortical memory of context. *Neuron*. 2014; 84:432–441. [PubMed: 25308330]
20. Cullinan, W.E. and Wolfe, T.J. (2000) Chronic stress regulates levels of mRNA transcripts encoding beta subunits of the GABA(A) receptor in the rat stress axis, *Brain Res*. 887, 118–124.

21. Czeh, B., Michaelis, T., Watanabe, T., Frahm, J., de Biurrun, G., van Kampen, M., Bartolomucci, A. and Fuchs, E. (2001) Stress-induced changes in cerebral metabolites, hippocampal volume, and cell proliferation are prevented by antidepressant treatment with tianeptine, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 98, 12796–12801.
22. Danielson Nathan B, Zaremba Jeffrey D, Kaifosh P, Bowler J, Ladow M, Losonczy A. Sublayer-specific coding dynamics during spatial navigation and learning in hippocampal area CA1. *Neuron*. 2016; 91:652–665
23. Danielson NB, Kaifosh P, Zaremba JD, Lovett-Barron M, Tsai J, Denny CA, Balough EM, Goldberg AR, Drew LJ, Hen R, et al. Distinct contribution of adult-born hippocampal granule cells to context encoding. *Neuron*. 2016; 90:101–112.
24. De Kloet, E.R., Vreugdenhil, E., Oitzl, M. and Joëls, M. (1998) Brain corticosteroid receptor balance in health and disease, *Endocr. Rev.* 19, 269–301.
25. De Rijk, R. and Sternberg, E.M. (1997) Corticosteroid resistance and disease, *Ann. Med.* 29, 79–82.
26. Denny CA, Kheirbek MA, Alba EL, Tanaka KF, Brachman RA, Laughman KB, Tamm NK, Turi GF, Losonczy A, Hen R. Hippocampal memory traces are differentially modulated by experience, time, and adult neurogenesis. *Neuron*. 2014; 83:189–201.
27. Diamond, D.M., Fleshner, M. and Rose, G.M. (1994) Psychological stress repeatedly blocks hippocampal primed burst potentiation in behaving rats, *Behav. Brain Res.* 62, 1–9.
28. Dombeck DA, Harvey CD, Tian L, Looger LL, Tank DW. Functional imaging of hippocampal place cells at cellular resolution during virtual navigation. *Nat Neurosci.* 2010; 13:1433–1440.
29. Domnisoru C, Kinkhabwala AA, Tank DW. Membrane potential dynamics of grid cells. *Nature*. 2013; 495:199–204.
30. Dudek SM, Alexander GM, Farris S. Rediscovering area CA2: unique properties and functions. *Nat Rev Neurosci.* 2016; 17:89–102.
31. Dudman JT, Tsay D, Siegelbaum SA. A role for synaptic inputs at distal dendrites: instructive signals for hippocampal long-term plasticity. *Neuron*. 2007; 56:866–879.
32. Eichenbaum H. Time Cells in the Hippocampus: A New Dimension for Mapping Memories. 2014:1–13.
Alvarez, D.N., Joëls, M. and Krugers, H.J. (2003) Chronic unpredictable stress impairs long-term potentiation in rat hippocampal CA1 area and dentate gyrus in vitro, *Eur. J. Neurosci.* 17, 1928–1934.
33. Epsztein J, Brecht M, Lee AK. Intracellular determinants of hippocampal CA1 place and silent cell activity in a novel environment. *Neuron*. 2011; 70:109–120. First study to highlight the importance of membrane potential ramps in the generation of place cells.
34. Ergorul C, Eichenbaum H. The hippocampus and memory for “what”, “where”, and “when”. *Learn Mem.* 2004; 11:397–405.

35. Foy, M.R., Stanton, M.E., Levine, S. and Thompson, R.F. (1987) Behavioral stress impairs long-term potentiation in rodent hippocampus, *Behav. Neural Biol.* 48, 138–149.
36. Fyhn M, Molden S, Witter MP, Moser EI, Moser MB. Spatial representation in the entorhinal cortex. *Science*. 2004; 305:1258–1264.
37. Geisler C, Diba K, Pastalkova E, Mizuseki K, Royer S, Buzsaki G. Temporal delays among place cells determine the frequency of population theta oscillations in the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010; 107:7957–7962.
38. Gerges, N.Z., Stringer, J.L. and Alkadhi, K.A. (2001) Combination of hypothyroidism and stress abolishes early LTP in the CA1 but not dentate gyrus of hippocampus of adult rats, *Brain Res.* 922,250–260.
39. Goeders, N.E., De Souza, E.B. and Kuhar, M.J. (1986) Benzodiazepine receptor GABA ratios: regional differences in rat brain and modulation by adrenalectomy, *Eur. J. Pharmacol.* 129, 363–366.
40. Gold, P.W. and Chrousos, G.P. (2002) Organization of the stress system and its dysregulation in melancholic and atypical depression: high vs. low CRH/NE states, *Mol. Psychiatry* 7, 254–275.
41. Gould, E. and McEwen, B.S. (1993) Neuronal birth and death, *Curr. Opin. Neurobiol.* 3, 676–682.
42. Gould, E. and Tanapat, P. (1999) Stress and hippocampal neurogenesis, *Biol. Psychiatry* 46, 1472–1479.
43. Gould, E., Tanapat, P., McEwen, B.S., Flugge, G. and Fuchs, E. (1998) Proliferation of granule cell precursors in the dentate gyrus of adult monkeys is diminished by stress, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 95,3168–3171.
44. Hafting T, Fyhn M, Molden S, Moser MB, Moser EI. Microstructure of a spatial map in the entorhinal cortex. *Nature*. 2005; 436:801–806.
45. Hales JB, Schlesiger MI, Leutgeb JK, Squire LR, Leutgeb S, Clark RE. Medial entorhinal cortex lesions only partially disrupt hippocampal place cells and hippocampus-dependent place memory. *Cell Rep.* 2014; 9:893–901.
46. Harvey CD, Collman F, Dombeck DA, Tank DW. Intracellular dynamics of hippocampal place cells during virtual navigation. *Nature*. 2009; 461:941–946.
47. Heine, V.M., Maslam, S., Zareno, J., Joëls, M. and Lucassen, P.J. (2004) Suppressed proliferation and apoptotic changes in the rat dentate gyrus after acute and chronic stress are reversible, *Eur. J. Neurosci.* 19, 131–144.
48. Herman, J.P. and Cullinan, W.E. (1997) Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis, *Trends Neurosci.* 20, 78–84.
49. Herman, J.P., Adams, D. and Prewitt, C. (1995) Regulatory changes in neuroendocrine stress-integrative circuitry produced by a variable stress paradigm, *Neuroendocrinology* 61, 180–190.
50. Hitti FL, Siegelbaum SA. The hippocampal CA2 region is essential for social memory. *Nature*. 2014; 508:88–92.

51. Igarashi KM, Lu L, Colgin LL, Moser MB, Moser EI. Coordination of entorhinal-hippocampal ensemble activity during associative learning. *Nature*. 2014; 510:143–147. [PubMed: 24739966]
52. Itskov V, Curto C, Pastalkova E, Buzsaki G. Cell assembly sequences arising from spike threshold adaptation keep track of time in the hippocampus. *J Neurosci*. 2011; 31:2828–2834.
53. Jonas P, Lisman J. Structure, function, and plasticity of hippocampal dentate gyrus microcircuits. *Front Neural Circuits*. 2014;8. [PubMed: 24574974]
54. Kaifosh P, Lovett-Barron M, Turi GF, Reardon TR, Losonczy A. Septo-hippocampal GABAergic signaling across multiple modalities in awake mice. *Nat Neurosci*. 2013; 16:1182–1184. [PubMed: 23912949]
55. Kandel ER, Spencer WA. Cellular neurophysiological approaches in the study of learning. *Physiol Rev*. 1968; 48:65–134.
56. Karst, H. and JoeËls, M. (2003) Effect of chronic stress on synaptic
57. Kay K, Sosa M, Chung JE, Karlsson MP, Larkin MC, Frank LM. A hippocampal network for spatial coding during immobility and sleep. *Nature*. 2016; 531:185–190.
58. Kheirbek MA, Hen R. Dorsal vs ventral hippocampal neurogenesis: implications for cognition and mood. *Neuropsychopharmacology*. 2011; 36:373–374. [PubMed: 21116266]
59. Kitamura T, Pignatelli M, Suh J, Kohara K, Yoshiki A, Abe K, Tonegawa S. Island cells control temporal association memory. *Science*. 2014; 343:896–901.
60. Knierim JJ, Neunuebel JP, Deshmukh SS. Functional correlates of the lateral and medial entorhinal cortex: objects, path integration and local–global reference frames. *Philos Trans R Soc B Biol Sci*. 2014; 369:20130369.
61. Kohara K, Pignatelli M, Rivest AJ, Jung HY, Kitamura T, Suh J, Frank D, Kajikawa K, Mise N, Obata Y, et al. Cell type-specific genetic and optogenetic tools reveal hippocampal CA2 circuits. *Nat Neurosci*. 2014; 17:269–279.
62. Kraus BJ, Robinson RJ II, White JA, Eichenbaum H, Hasselmo ME. Hippocampal “Time cells”: time versus path integration. *Neuron*. 2013; 78:1090–1101
63. Krugers, H.J., Douma, B.R.K., Andringa, G., Bohus, B., Korf, J. and Luiten, P.G.M. (1997) Exposure to chronic psychosocial stress and corticosterone in the rat: effects on spatial discrimination learning and hippocampal protein kinase C α immunoreactivity, *Hippocampus* 7,427–436.
64. Lee D, Lin BJ, Lee AK. Hippocampal place fields emerge upon single-cell manipulation of excitability during behavior. *Science*. 2012; 337:849–853.
65. Lee I, Yoganarasimha D, Rao G, Knierim JJ. Comparison of population coherence of place cells in hippocampal subfields CA1 and CA3. *Nature*. 2004; 430:456–459.
66. Leitner FC, Melzer S, Lutcke H, Pinna R, Seeburg PH, Helmchen F, Monyer H. Spatially segregated feedforward and feedback neurons support differential odor processing in the lateral entorhinal cortex. *Nat Neurosci*. 2016; 19:935–944.

67. Lemaire, V., Koehl, M., Le Moal, M. and Abrous, D.N. (2000) Prenatal stress produces learning deficits associated with an inhibition of neurogenesis in the hippocampus, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 97, 11032–11037.
68. Liu X, Ramirez S, Pang PT, Puryear CB, Govindarajan A, Deisseroth K, Tonegawa S. Optogenetic stimulation of a hippocampal engram activates fear memory recall. *Nature*. 2012; 484(7394):381–385.
69. Lovett-Barron M, Kaifosh P, Kheirbek MA, Danielson N, Zaremba JD, Reardon TR, Turi GF, Hen R, Zemelman BV, Losonczy A. Dendritic inhibition in the hippocampus supports fear learning. *Science*. 2014; 343:857–863.
70. Lucassen, P.J., Vollmann-Honsdorf, G.K., Gleisberg, M., Czeh, B., De Kloet, E.R. and Fuchs, E. (2001) Chronic psychosocial stress differentially affects apoptosis in hippocampal subregions and cortex of the adult tree shrew, *Eur. J. Neurosci.* 14, 161–166.
71. Luine, V.N., Martinez, C., Villegas, M. and McEwen, B.S. (1994) Restraint stress reversibly enhances spatial memory performance, *Physiol. Behav.* 59, 27–32.
72. Lupien, S.J. and Lepage, M. (2001) Stress, memory, and the hippocampus: can't live with it, can't live without it, *Behav. Brain Res.* 127, 137–158.
73. L'Éves, R.M., Falkenstein, E., Feuring, M., Schultz, A., Tillmann, H., Rossol-Haseroth, K. and Wehling, M. (2003) Nongenomic steroid action: controversies, questions, and answers, *Physiol. Res.* 83, 965–1016.
74. MacDonald CJ, Lepage KQ, Eden UT, Eichenbaum H. Hippocampal time cells bridge the gap in memory for discontinuous events. *Neuron*. 2011; 71:737–749.
75. Magarinos, A.M. and McEwen, B.S. (1995a) Stress-induced atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3c neurons: comparison of stressors, *Neuroscience* 69, 83–88.
76. Magarinos, A.M. and McEwen, B.S. (1995b) Stress-induced atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3c neurons: involvement of glucocorticoid secretion and excitatory amino acid receptors, *Neuroscience* 69, 89–98.
77. Magarinos, A.M., McEwen, B.S., Flugge, G. and Fuchs, E. (1996) Chronic psychosocial stress causes apical dendritic atrophy of hippocampal CA3 pyramidal neurons in subordinate tree shrews, *J. Neurosci.* 16, 3534–3540.
78. Malberg, J.E., Eisch, A.J., Nestler, E.J. and Duman, R.S. (2000) Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus, *J. Neurosci.* 20, 9104–9110.
79. Mankin EA, Diehl GW, Sparks FT, Leutgeb S, Leutgeb JK. Hippocampal CA2 activity patterns change over time to a larger extent than between spatial contexts. *Neuron*. 2015; 85:190–201.
80. McEwan, I.J., Wright, A.P. and Gustafsson, J.A. (1997) Mechanism of gene expression by the glucocorticoid receptor: role of protein-protein interactions, *Bioessays* 19, 153–160.

81. McEwen, B.S. (1999) Stress and hippocampal plasticity, *Annu. Rev. Neurosci.* 22, 105–122.
82. McKenzie S, Eichenbaum H. Consolidation and reconsolidation: two lives of memories? *Neuron.* 2011; 71:224–233.
83. Melzer S, Michael M, Caputi A, Eliava M, Fuchs EC, Whittington MA, Monyer H. Long-range projecting GABAergic neurons modulate inhibition in hippocampus and entorhinal cortex. *Science.* 2012; 335:1506–1510.
84. Mesches, M.H., Fleshner, M., Herman, K.L., Rose, G.M. and Diamond, D.M. (1999) Exposing rats to a predator blocks primed burst potentiation in the hippocampus in vitro, *J. Neurosci.* 19, RC18.
85. Neunuebel JP, Knierim JJ. CA3 retrieves coherent representations from degraded input: direct evidence for CA3 pattern completion and dentate gyrus pattern separation. *Neuron.* 2014; 81:416–427.
86. Neunuebel JP, Yoganarasimha D, Rao G, Knierim JJ. Conflicts between local and global spatial frameworks dissociate neural representations of the lateral and medial entorhinal cortex. *J Neurosci.* 2013; 33:9246–9258.
87. O’Keefe J, Dostrovsky J. The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Res.* 1971; 34:171–175.
88. O’Keefe J. Do hippocampal pyramidal cells signal non-spatial as well as spatial information? *Hippocampus.* 1999; 9:352–364.
89. O’Keefe J. Place units in the hippocampus of the freely moving rat. *Exp Neurol.* 1976; 51:78–109.
90. Pariente, C.M. (2003) Depression, stress and the adrenal axis, *J. Neuroendocrinol.* 15, 811–812.
91. Park E, Dvorak D, Fenton AA. Ensemble place codes in hippocampus: CA1, CA3, and dentate gyrus place cells have multiple place fields in large environments. *PLoS One.* 2011; 6:e22349.
92. Pastalkova E, Itskov V, Amarasingham A, Buzsáki G. Internally generated cell assembly sequences in the rat hippocampus. *Science.* 2008; 321:1322–1327.
93. Pastoll H, Solanka L, van Rossum MC, Nolan MF. Feedback inhibition enables theta-nested gamma oscillations and grid firing fields. *Neuron.* 2013; 77:141–154. [PubMed: 23312522]
94. Pavlides, C.N., Nivon, L.G. and McEwen, B.S. (2002) Effects of chronic stress on hippocampal long-term potentiation, *Hippocampus* 12, 245–257.
95. Piskorowski RA, Chevaleyre V. Delta-opioid receptors mediate unique plasticity onto parvalbumin-expressing interneurons in area CA2 of the hippocampus. *J Neurosci.* 2013; 33:14567–14578.
96. Rajasethupathy P, Sankaran S, Marshel JH, Kim CK, Ferenczi E, Lee SY, Berndt A, Ramakrishnan C, Jaffe A, Lo M, et al. Projections from neocortex mediate top-down control of memory retrieval. *Nature.* 2015; 526:653–659.
97. Remondes M, Schuman EM. Role for a cortical input to hippocampal area CA1 in the consolidation of a long-term memory. *Nature.* 2004; 431:699–703.

98. Retailleau A, Boraud T. The Michelin red guide of the brain: role of dopamine in goal-oriented navigation. *Front Syst Neurosci.* 2014; 8:32.
99. Roozendaal, B., Phillips, R.G., Power, A.E., Brooke, S.M., Sapolsky, R.M. and McGaugh, J.L. (2001) Memory retrieval impairment induced by hippocampal CA3 lesions is blocked by adrenocortical suppression, *Nat. Neurosci.* 4, 1169–1171.
100. Rowland DC, Weible AP, Wickersham IR, Wu H, Mayford M, Witter MP, Kentros CG. Transgenically targeted rabies virus demonstrates a major monosynaptic projection from hippocampal area CA2 to medial entorhinal layer II neurons. *J Neurosci.* 2013; 33:14889–14898.
101. Royer S, Zemelman BV, Losonczy A, Kim J, Chance F, Magee JC, Buzsáki G. Control of timing, rate and bursts of hippocampal place cells by dendritic and somatic inhibition. *Nat Neurosci.* 2012; 15:769–775
102. Santarelli, L., Saxe, M., Gross, C., Surget, A., Battaglia, F., Dulawa, S., Weisstaub, N., Lee, J., Duman, R., Arancio, O., Belzung, C. and Hen, R. (2003) Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants, *Science* 301, 805–809.
103. Sapolsky, R.M. (1999) Glucocorticoids, stress, and their adverse neurological effects: relevance to aging, *Exp. Gerontol.* 34, 721–732.
104. Schlesiger MI, Cannova CC, Boubilil BL, Hales JB, Mankin EA, Brandon MP, Leutgeb JK, Leibold C, Leutgeb S. The medial entorhinal cortex is necessary for temporal organization of hippocampal neuronal activity. *Nat Neurosci.* 2015; 18:1123–1132.
105. Sheffield ME, Dombeck DA. Calcium transient prevalence across the dendritic arbour predicts place field properties. *Nature.* 2015; 517:200–204.
106. Spellman T, Rigotti M, Ahmari SE, Fusi S, Gogos JA, Gordon JA. Hippocampal-prefrontal input supports spatial encoding in working memory. *Nature.* 2015; 522:309–314.
107. Squire LR, Genzel L, Wixted JT, Morris RG. Memory consolidation. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2015:7.
108. Squire LR. Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. *Neurobiol Learn Mem.* 2004; 82:171–177. [PubMed: 15464402]
109. Stefanelli T, Bertollini C, Löscher C, Müller D, Mendez P. Hippocampal somatostatin interneurons control the size of neuronal memory ensembles. *Neuron.* 2016; 89:1074–1085.
110. Suh J, Rivest AJ, Nakashiba T, Tominaga T, Tonegawa S. Entorhinal cortex layer III input to the hippocampus is crucial for temporal association memory. *Science.* 2011; 334:1415–1420.
111. Tulving E, Markowitsch HJ. Episodic and declarative memory: role of the hippocampus. *Hippocampus.* 1998; 8:198–204.
112. Van Riel, E., Meijer, O.C., Steenbergen, P.J. and Joëls, M. (2003) Chronic unpredictable stress causes attenuation of serotonin responses in cornu ammonis 1 pyramidal neurons, *Neuroscience* 120, 649–658.

113. van Strien NM, Cappaert NL, Witter MP. The anatomy of memory: an interactive overview of the parahippocampal-hippocampal network. *Nat Rev Neurosci.* 2009; 10:272–282.
114. Villette V, Malvache A, Tressard T, Dupuy N, Cossart R. Internally recurring hippocampal sequences as a population template of spatiotemporal information. *Neuron.* 2015; 88:357–366.