

*Федина Е. М., Павлова Д. В.*

## **МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ГИСТАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНАХ ГИПОТАЛАМУСА ПОСЛЕ СЕМИДНЕВНОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ**

*Гродненский государственный медицинский университет, Республика Беларусь*

Гистаминергические нейроны головного мозга млекопитающих располагаются в туберомамиллярной области гипоталамуса, откуда их аксоны распространяются практически во все отделы мозга, где могут координировать другие нейронные системы. Вырабатываемый этими клетками нейрональный гистамин участвует в поддержании гомеостаза мозговой ткани, в регуляции нейроэндокринных функций, поведения, биоритмов, репродукции, температуры и массы тела, энергетического обмена и водного баланса, эмоциональности, обучения и памяти, в реакции на стресс, в сенсорных и моторных реакциях. Центральный гистамин играет важную роль в патогенезе различных заболеваний, в том числе связанных с действием алкоголя [1].

Цель проведенного исследования — оценка влияния субхронического введения наркотической дозы этанола на морфофункциональные показатели гистаминергических нейронов мозга крыс.

Исследование выполнено на 88 половозрелых беспородных белых крысах-самцах. Опытным животным ежедневно на протяжении 7 дней вводили внутривенно 20 % раствор этанола в дозе 4 г/кг. Контрольным животным вводили эквивалентный объем физ. раствора. Декапитацию проводили через 1 час и 24 часа после последнего введения этанола или физ. раствора.

После декапитации животным вскрывали черепную коробку, извлекали головной мозг и выделяли гипоталамус, который замораживали и хранили в жидком азоте для дальнейшего исследования. В криостате готовили серийные фронтальные срезы заднего гипоталамуса, окрашивали по методу Ниссля (0,1 % водным раствором тионина) и на выявление активности ключевых цитоплазматических ферментов: моноаминоксидазы типа Б (МАО Б), сукцинатдегидрогеназы (СДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), НАДН-дегидрогеназы (НАДН-ДГ), глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (Г-6-Ф-ДГ), НАДФН-дегидрогеназы (НАДФН-ДГ) и кислой фосфатазы (КФ) [2].

Для количественной оценки размеров и формы перикарионов и ядер нейронов измеряли их минимальный и максимальный диаметры, периметр, площадь, объем, форм-фактор и фактор элонгации на препаратах, окрашенных по методу Ниссля. Количественную оценку активности изучаемых ферментов проводили цитофотометрически, определяя оптическую плотность полученного осадка хромогена в цитоплазме нейронов на максимуме поглощения окрашенных продуктов реакций. Относительную активность ферментов выражали в единицах оптической плотности. Изучение гистологических препаратов, микрофотографирование, морфометрию и цитофотометрию проводили с помощью микроскопа Axioskop 2 plus (Zeiss, Германия), цифровой видеокамеры Leica DFC 320 (Leica Microsystems GmbH, Германия) и программы компьютерного анализа изображения Image Warp (Bit Flow, США).

Для электронно-микроскопического исследования гипоталамус префиксировали иммерсией в 2,5 % растворе глутарового альдегида, приготовленном на буфере Миллонига в течение 4 часов при 4°C. Затем вырезали нижнебоковые участки заднего гипоталамуса, где располагаются гистаминергические нейроны, помещали их в 1 % осмиевый фиксатор на буфере Миллонига, дегидратировали в спиртах восходящей концентрации и ацетоне и заливали в эпоксидную смолу. Препараты для электронно-микроскопического исследования изготавливали на ультрамикротоме MT-7000 (США), контрастировали солями тяжелых металлов (ацетатом урана и цитратом свинца), далее изучали в электронном микроскопе JEM-1011 (JEOL, Япония) и фотографировали цифровой камерой Olympus MegaView III (Olympus Soft Imaging Solutions, Германия).

Полученные результаты обрабатывали методами непараметрической статистики с помощью лицензионной программы 6.0 для Windows Statistica.

Установлено, что семикратное воздействие этанолом в дозе 4 г/кг/сутки вызывает существенные структурные изменения гистаминергических нейронов гипоталамуса. Так, подострая алкогольная интоксикация приводит к округлению перикарионов данных нейронов (в среднем на 7–9 %). При этом спустя 1 час после последнего введения этанола размеры исследуемых клеток увеличиваются (на 5–6 %). Размеры и форма ядер нейронов претерпевают схожие изменения. При этом через сутки после семидневной алкогольной интоксикации перикарионы нервных клеток сжимаются (на 5–15 %). Напротив, их ядра, уменьшаясь (на 6–14 %), становятся менее сферичными (на 4 %) и несколько вытягиваются (на 4 %).

Обнаруженное возрастание сферичности и округление перикарионов и ядер гистаминергических нейронов гипоталамуса спустя 1 час после 7-кратного воздействия большой (наркотической) дозы алкоголя может быть связано с токсическим набуханием и нарушением цитоскелета нейронов. А уменьшение размеров клеток, наблюдаемое нами через 24 часа после последнего 7-го введения большой дозы этанола, может являться одной из форм адаптационных перестроек cito- и кариоскелета нейронов к последующему ожидаемому токсическому набуханию.

Под влиянием алкоголя происходит значительная перестройка метаболизма гистаминергических нейронов. Так, при 7-кратном воздействии этанола в дозе 4 г/кг через 1 час после последнего его введения наблюдается уменьшение активности СДГ (на 20 %), НАДН-ДГ (на 12 %), НАДФН-ДГ (на 17 %) и Г-6-Ф-ДГ (на 10 %), увеличение активности МАО Б (на 10 %), ЛДГ (на 22 %) и КФ (на 37 %). Уменьшение активности СДГ указывает на угнетение окислительно-восстановительных реакций в цикле Кребса, снижение уровня энергообмена и отражает процессы, происходящие в митохондриях исследуемых нервных клеток — их набухание и деструкцию. НАДН-ДГ является ключевым цитоплазматическим ферментом системы транспорта электронов, участвующим в производстве энергии в клетке. НАДФН-ДГ выступает в качестве показателя активности ферментативных реакций окисления и принимает участие в процессах восстановительного синтеза. Г-6-Ф-ДГ отвечает за успешное протекание пентозофосфатного пути. Уменьшение активности данных ферментов характеризует подавление

ние перечисленных процессов при поступлении алкоголя в клетку. ЛДГ участвует в конечных этапах превращения глюкозы в анаэробных условиях. Повышенный уровень активности ЛДГ говорит о недостаточном снабжении клетки кислородом и указывает на перестройку энергетического метаболизма нейронов в условиях субхронической алкоголизации, когда основным энергетическим субстратом для мозга вместо глюкозы становится метаболит этанола — ацетат [3]. MAO B выступает в роли ключевого фермента метаболизма гистамина. Поэтому увеличение данного показателя может свидетельствовать о модулирующем действии алкоголя на окислительное дезаминирование гистамина. КФ является маркерным ферментом лизосом, в связи с чем повышение активности КФ следует интерпретировать как проявление усиления процессов аутофагии.

Через 24 часа после последнего введения алкоголя активность СДГ, НАДН-ДГ и НАДФН-ДГ остается сниженной по сравнению с контрольными животными (на 14 %, 7 % и 16 % соответственно). Сохраняется повышенная активность ЛДГ (на 23 %) и КФ (на 31 %). Однако активность Г-6-Ф-ДГ и MAO B уже существенно не отличается от нормы, что можно рассматривать как частичную стабилизацию метаболических процессов.

Перечисленные гистохимические изменения согласуются с отмеченными в гистаминергических нейронах ультраструктурными нарушениями. Так, этанол приводит к активации ядерного аппарата исследуемых нейронов, проявляющейся в перемещении ядрышек к ядерной оболочке, конденсации субъединиц рибосом вблизи внутренней ядерной мембраны, увеличении складчатости кариолеммы, расширении перинуклеарного пространства. Под действием алкоголя происходит повреждение и нарушение организации митохондрий — их набухание, фрагментация и деструкция крист, расширение цистерн эндоплазматической сети, формирование миелоноподобных фигур из митохондрий, эндоплазматической сети и комплекса Гольджи, образование слоистых структур на основе комплекса Гольджи и эндоплазматической сети, появление ядрышкоподобных телец в цитоплазме, гипертрофия и гиперплазия лизосом. Перечисленные изменения определяются в исследованных клетках как через 1 час, так и спустя 24 часа после субхронической алкогольной интоксикации. Это может говорить о долговременности и устойчивости выявленных модификаций. При этом гистаминергические нейроны проявляют достаточную устойчивость, поскольку большинство выявленных ультраструктурных изменений нельзя отнести к признакам необратимой деструкции [4].

Таким образом, субхроническая алкоголизация вызывает деструктивные и адаптационные изменения в структуре гистаминергических нейронов. Метаболическая активность исследованных нейронов снижается. Данные процессы сопровождаются компенсаторной активацией анаэробного гликолиза и усилением процессов аутофагии.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Nuutinen, S. Histamine in neurotransmission and brain diseases / S. Nuutinen, P. Panula // Adv. Exp. Med. Biol. 2010. Vol. 709. P. 95–107.
2. Пирс, Э. Гистохимия теоретическая и прикладная / Э. Пирс. М. : Издательство иностранной литературы, 1962. 962 с.

3. Зиматкин, С. М. Ацетатзависимые механизмы толерантности к этанолу : монография / С. М. Зиматкин, Н. А. Оганесян, Ю. В. Киселевский. Гродно : ГрГМУ, 2010. 252 с.

4. Манина, А. А. Ультраструктурные изменения и репаративные процессы в центральной нервной системе при различных воздействиях / А. А. Манина. Л. : Медицина, 1971. 198 с.

*Phedina K., Paulava D.*

### **Histological changes in histaminergic neurons following seven-day alcoholization**

*Grodno State Medical University, Belarus*

Various destructive and adaptation histological, histochemical and ultrastructural changes in histaminergic neurons following *seven-day alcoholization* were found.

**Key words:** brain, histaminergic neurons, alcohol.

*Фетисов С. О., Никитюк Д. Б., Алексеева Н. Т.*

### **СОСТОЯНИЕ АФФЕРЕНТНЫХ НЕЙРОНОВ СПИНОМОЗГОВЫХ УЗЛОВ ПРИ СТИМУЛЯЦИИ ЗАЖИВЛЕНИЯ ГНОЙНОЙ РАНЫ, ОБОГАЩЕННОЙ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМОЙ КРОВИ**

*Воронежский государственный медицинский университет им. Н. Н. Бурденко, Россия*

Изучение возможности применения обогащенной тромбоцитами плазмы крови (ОТПК) для регуляции полноты заживления ран в настоящее время является актуальным и перспективным вопросом [1]. Тромбоциты содержат различные белки, цитокины и другие биоактивные факторы, которые стимулируют и регулируют основные звенья в цепи процессов заживления повреждений. При этом денервация поврежденного участка приводит к постоянному сенсорному и функциональному дефициту, подавляет признаки воспаления и приводит, в конечном счёте, к торможению регенерации поврежденного участка [3]. В этой связи значительный интерес представляет исследование нейронов СМУ при использовании инновационных методов ускорения заживления кожных ран вследствие прямой связи между их морфофункциональным состоянием и скоростью реиннервации поврежденного участка.

Для изучения реакций нейронов спинномозговых узлов (СМУ) и динамики изменения их структурно-функционального состояния при нанесении экспериментальной раны было проведено сравнительное исследование нейронов СМУ иннервирующих гнойную рану без лечения и после местного применения гидроримпульсной санации (ГИС) раны в комплексе с применением тромбоцитарного концентрата (ОТПК). Особое внимание уделялось морфологическим характеристикам нейронов СМУ, что позволило не только более точно определить степень деструктивных и регенераторных процессов, возникающих в ганглии после травмы, но и объективно проанализировать полученные данные для возможно-