

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ЧЕЛЯБИНСКОЙ ОБЛАСТИ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ЧЕЛЯБИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ
ФЕДЕРАЛЬНОГО АГЕНТСТВА ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ
И СОЦИАЛЬНОМУ РАЗВИТИЮ»
(ГОУ ВПО ЧелГМА РОСЗДРАВА)

МАТЕРИАЛЫ II МЕЖДУНАРОДНОЙ (IX ИТОГОВОЙ)
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ

Издательство «Челябинская государственная медицинская академия»

Челябинск, 2011

УДК 61+57
ББК 51+28

М 45 Материалы II международной (IX итоговой) научно-практической конференции молодых ученых. — Челябинск: Изд-во «Челябинская государственная медицинская академия», 2011. — 304 с.

ISBN 978-5-94507-138-4

Редакционная коллегия:
профессор, д. м. н. Л.Ф. Телешева
профессор, д. м. н. А.В. Привалов
к. м. н. Д.В. Богданов
к. м. н. М.В. Пешикова
к. м. н. О.В. Пешиков

В сборнике представлены материалы II международной (IX итоговой) научно-практической конференции молодых ученых, состоявшейся 17 мая 2011 года. Оргкомитет сохранил отобранные для публикации статьи в авторском исполнении.

УДК 61+57
ББК 51+28

ISBN 978-5-94507-138-4

© Коллектив авторов, 2011
© Изд-во «Челябинская государственная медицинская академия», 2011

МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГИСТАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ МОЗГА КРЫСЫ

В.Б. Кузнецова, А.И. Захарко

Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Республика Беларусь

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии

Научный руководитель: проф., д. б. н. С.М. Зиматкин

Биохимические и электрофизиологические исследования, методы перерезки мозга и введения метки доказали существование центральной гистаминергической нейронной системы [1]. Иммуногистохимическими методами с антителами против фермента синтеза гистамина — гистидиндекарбоксилазы и самого гистамина показано, что тела гистаминергических нейронов находятся только в заднем гипоталамусе, а их отростки идут во все отделы мозга, в совокупности образуя гистаминергическую систему мозга [4]. Её нейромедиатором является гистамин, который действует через три типа рецепторов, широко распространённых в мозге: H_1 , H_2 (постсинаптические) и H_3 (пресинаптические рецепторы, опосредующие автоингибирование синтеза и выделения гистамина). Одним из основных ферментов метаболизма гистамина в мозге является моноаминоксидаза типа Б (МАОБ). Её высокая активность гистохимически выявляется в гистаминергических нейронах гипоталамуса крысы [2]. Гистаминергическая система мозга участвует в регуляции деятельности других нейротрансмиттерных систем мозга и многих функций, систем и реакций организма: нейроэндокринной и сердечно-сосудистой систем, кровотока мозга, температуры тела, гibernации, сна и бодрствования, пищевого и питьевого поведения, памяти и обучения и др. Её считают одним из центров регуляции активности всего мозга. Предполагается участие гистаминовой нейронной системы мозга в патогенезе ряда патологических состояний и заболеваний: мышечная слабость, болезни Альцгеймера и Паркинсона, эпилепсия, морфиновая наркомания и др. Подробное описание гистаминергической нейронной системы мозга дано в обзорах [1]. Поскольку морфометрические параметры гистаминергических нейронов и ядер мозга крысы остаются неизученными, целью настоящего исследования явилась оценка размеров и формы нейронов гистаминергических ядер гипоталамуса крысы.

Материал и методы. Исследования проведены на белых крысах-самцах Вистар массой 180–220 г с соблюдением всех правил работы с лабораторными животными. Крыс забивали декапитацией под глубоким тиопенталовым наркозом. Образцы гипоталамуса сразу либо после фиксации в 4 % 1-этил-3-(3-диметил-аминопропил)-карбодимиде (для выявления гистамина) замораживали в жидком азоте, затем готовили серийные криостатные срезы толщиной 20 мкм. Соседние срезы исследовали иммуногистохимически на гистамин [4], гистохимически для выявления активности МАОБ [2] или окрашивали 0,1 % раствором толуидинового синего по Нисслю. Полученные препараты изучали параллельно с помощью микроскопа Biolar (Германия) при разных увеличениях. Идентификация структур головного мозга крысы осуществлялась по схемам стереотаксического атласа [5], а идентификация гистаминергических ядер — по соответствующим топографическим схемам [3]. С помощью компьютерного анализатора изображения «Биоскан» были определены размеры (максимальный и минимальный диаметры, периметр, площадь, объем, форм-фактор и фактор элонгации) МАОБ-активных нейронов всех гистаминергических ядер гипоталамуса. Результаты морфометрических исследований обрабатывали методами непараметрической статистики с помощью программы Statistica 6.0 для Windows.

Результаты исследования и их обсуждение. Известен способ выявления гистаминергических нейронов с использованием антител против гистамина, авидин-биотинового комплекса и пероксидазы хрена [4]. Недостатками способа являются: сложность, многоэтапность, длительность — 2–4 суток, трудоёмкость; ненадёжность, плохая воспроизводимость. Установлено, что нейроны всех гистаминергических ядер гипоталамуса (E1–E5) имеют высокую активность МАОБ (рис. 1). Сравнительное изучение соседних срезов гипоталамуса показало идентичность МАОБ-активных нейронов, окрашенных по Нисслю и иммуногистохимически, на выявление гистамина, как по количеству, так и по форме, размерам и расположению перикарионов во всех гистаминергических ядрах. Имеется высокая корреляция между количеством МАОБ-активных и гистаминиммунореактивных нейронов, выявленных в ядрах E1–E5 на различных уровнях ($r = 0,998$; $p < 0,01$). Вне гистаминергических ядер МАОБ-активные нейроны в гипоталамусе крысы не встречаются. Следовательно, активность МАОБ является хорошим маркером гистаминергических нейронов и их скоплений (ядер) в гипоталамусе крысы, который может быть использован для компьютерной реконструкции этих ядер и морфометрии гистаминергических нейронов.

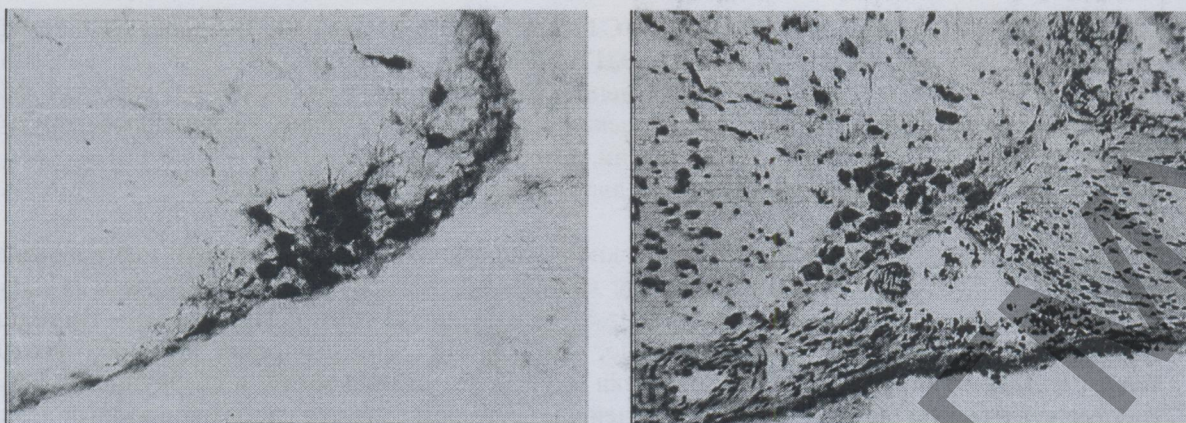


Рис. 1. Ядро E1, окраска MAOB (слева), окраска по Нисслю (справа). А. Б. А. E1 (MAOB) (P -4,80 mm) ×48. Микрофотография (окраска по методу С.М. Зиматкина, В.Ф. Цыдика, 1994) Б. E1 (Ниссль) (P -4,80 mm) ×48. Микрофотография окраска по Нисслю

Средние размеры MAOB-активных нейронов гипоталамуса крысы по всем ядрам представлены в таблице 1.

Размеры перикарионов MAOB-активных нейронов в гистаминергических ядрах гипоталамуса крысы

Таблица 1

	E1	E2	E3	E4	E5
Максимальный диаметр (в мкм)	27,4 ± 2,5	29,5 ± 3,1	27,1 ± 1,9	30,4 ± 2,2	58,3 ± 3,8*
Минимальный диаметр (в мкм)	17,88 ± 1,8	17,6 ± 1,8	16,4 ± 2,3	16,6 ± 1,1	16,2 ± 2,9
Периметр (в мкм)	75,54 ± 7,1	77,2 ± 8,1	71,1 ± 4,8	88,1 ± 8,3	141,2 ± 10,1*
Площадь (в мкм ²)	340,55 ± 60,8	349,9 ± 68	303,4 ± 72,7	322,8 ± 25,0	431,7 ± 42,5*
Объем (в мкм ³)	4 937 ± 1 293	5 113 ± 1 493	4 194 ± 1 552	4 593 ± 540	7 023 ± 1 970**

* — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$ при сравнении с другими гистаминергическими ядрами.

Установлено, что максимальный диаметр, периметр, площадь и объем нейронов ядра E5 в 1,5–2 раза больше, чем в остальных гистаминергических ядрах, которые между собой по размерам не отличаются. Анализ гистограмм показал, что в ядрах E1–E4 преобладают мелкие и средние по размерам, а в ядре E5 — крупные нейроны. Кроме того, в ядрах E4 и E5 выявлена субпопуляция гигантских ($> 11\ 000\ \mu\text{m}^3$) нейронов: она составляет в этих ядрах соответственно 10 и 25 % от общего количества нейронов и менее 3 % от общего количества гистаминергических нейронов в гипоталамусе крысы. Неизвестно, имеет ли эта субпопуляция нейронов какие-либо функциональные особенности.

Гистаминергические нейроны значительно варьируют по форме: от округлой до резко вытянутой, веретеновидной, которые неравномерно распределены по разным гистаминергическим ядрам. Большинство перикарионов нейронов ядер E1–E3 имеет округлую форму, а в диффузной части E5 — веретеновидную форму. Нейроны E4 по форм-фактору и фактору элонгации занимают промежуточное положение (табл. 2, рис. 2).

Статистически достоверно эти показатели перикарионов гистаминергических нейронов ядра E4 в 1,5 раза, а E5 в 2 раза отличаются от нейронов ядер E1–E3. В E5 выявлена положительная корреляция между объемом и фактором элонгации нейронов ($r = 0,5$; $p < 0,05$ (корреляционный анализ по Spearman)).

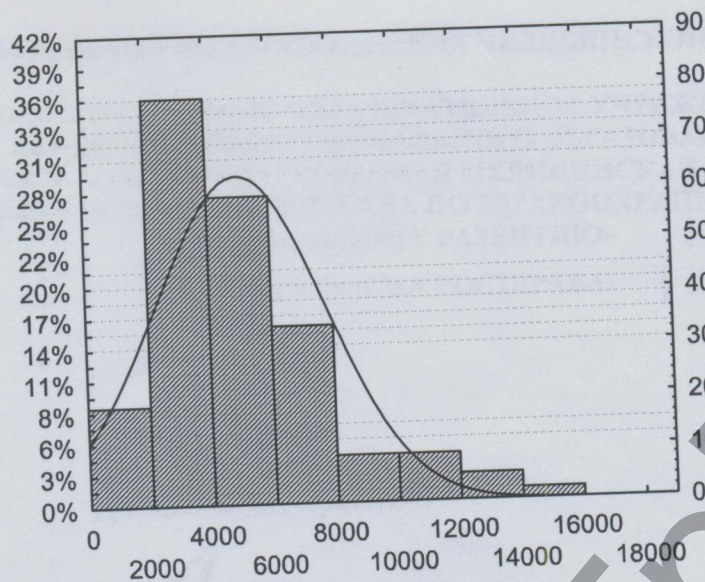


Рис. 2. Гистограмма распределения объема в популяции перикарионов гистаминергических нейронов

Следовательно, более крупные нейроны этого ядра являются одновременно и более вытянутыми, веретеновидными. Возможно, форма и размеры гистаминергических нейронов связаны с плотностью их расположения.

Таблица 2

Форм-фактор (FF1) и фактор элонгации (EL) перикарионов нейронов гистаминергических ядер гипоталамуса крысы

	E1	E2	E3	E4	E5
FF1	0,68 ± 0,1	0,66 ± 0,1	0,67 ± 0,1	0,47 ± 0,1	0,37 ± 0,0
EL	1,6 ± 0,1	1,7 ± 0,1	1,69 ± 0,2	2,0 ± 0,2	3,33 ± 0,4

Популяция MAOB-активных (гистаминергических) нейронов гипоталамуса крысы гетерогенна по размерам и форме. Причём если в ядрах E1–E3 преобладают мелкие и средние нейроны округлой формы, то в диффузной части — крупные нейроны веретеновидной формы. Обнаружена субпопуляция гигантских гистаминергических нейронов в E4–E5. Пока не ясно, связаны ли различия в размерах и форме гистаминергических нейронов с их функциональной гетерогенностью.

Выводы. В 95 % нейронов всех гистаминергических ядер (E1–E5) гипоталамуса крысы обнаружена высокая активность моноаминоксидазы B. Все гистаминиммуноположительные нейроны гипоталамуса крысы являются MAOB-активными. Вне гистаминергических ядер MAOB-активные и гистаминиммунопозитивные нейроны в гипоталамусе не встречаются. Следовательно, гистохимический способ выявления активности MAOB может быть использован для исследования гистаминергических нейронов и их скоплений (ядер) в гипоталамусе крысы.

Популяция гистаминергических нейронов неоднородна по размерам и форме. Субпопуляция гигантских (> 11 тыс. мкм³) нейронов находится только в ядрах E4 и E5, где они составляют соответственно 10 и 25 % всех нейронов. Максимальный диаметр, периметр, площадь и объём нейронов ядра E5 значительно больше, чем нейронов остальных гистаминергических ядер. Большинство нейронов E5 имеют веретеновидную форму. Нейроны ядер E1–E3 имеют преимущественно округлую форму. Нейроны E4 по форм-фактору и фактору элонгации занимают промежуточное положение.

Список литературы:

1. Зиматкин, С.М. Гистаминергическая нейронная система мозга / С.М. Зиматкин, В.Б. Кузнецова, О.В. Анищик // Морфология. — 2003. — Т. 123. — № 2. — С. 97–105.
2. Зиматкин, С.М. Гистохимический метод исследования активности моноаминоксидазы А и В в мозге / С.М. Зиматкин, В.Ф. Цыдик // Морфология. — 1994. — № 4. — С. 157–161.
3. The five subgroups of the tuberomammillary nucleus of the rat: an analysis of the histaminergic efferent projections to the medial preoptic area and inferior colliculus / N. Inagaki [et al.] // Exp. Brain Res. — 1990. — V. 80. — P. 374–380.