

С.М. Зиматкин

ГИСТАМИНЕРГИЧЕСКИЕ НЕЙРОНЫ МОЗГА



МИНСК «НОВОЕ ЗНАНИЕ» 2015

Зиматкин, С.М. Гистаминергические нейроны мозга / С.М. Зиматкин. — Минск : Новое знание, 2015. — 319 с. : ил. — ISBN 978-5-94735-172-9.

Монография посвящена гистаминергическим нейронам мозга, их локализации, пространственной организации и проекциям, строению, особенностям метаболизма и функциям; гистаминовым рецепторам и их внутриклеточным сигнальным путям. Анализируется роль гистаминергических нейронов в деятельности мозга, их участие в регуляции систем и реакций организма в норме, изменения при различных экспериментальных воздействиях и патологических состояниях, особенно подробно при остром и хроническом воздействии алкоголя.

Книга предназначена для научных сотрудников, студентов, аспирантов, врачей — всех, кто работает в области нейробиологии, нейроморфологии, нейрофизиологии, неврологии, психиатрии и интересуется строением, организацией и деятельностью мозга, его нейротрансмиссивных систем, действием алкоголя на нейроны мозга.

Табл. 61. Ил. 137. Библиогр.: 443 назв.

*Рекомендовано Редакционно-издательским советом
Гродненского государственного медицинского университета
(протокол № 06 от 12.05.2014 г.).*

Р е ц е н з е н т ы:

профессор кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии Гродненского государственного медицинского университета, д-р биол. наук, проф. *Я.Р. Мацюк*;
и.о. директора Института биохимии биологически активных соединений
НАН Беларуси, д-р биол. наук, доц. *П.С. Пронько*;
зав. кафедрой биохимии Гродненского государственного университета
имени Я. Купалы, д-р биол. наук, доц. *И.Б. Заводник*.

Zimatkin S.M.

Histaminergic brain neurons: research monograph.

2014, 319 p.

Summary

The research monograph is devoted to the brain histaminergic neurons, its structure, spatial organization and projections, interactions with other brain neurotransmitter systems, specificities of its metabolism and functioning, histamine receptors and its signal pathways. The role of histaminergic brain system in the integrative brain activity, in regulation of various systems and reactions of the body in normal state and under various experimental conditions and pathology is also analysed. Five chapters devoted to acute, subchronic and chronic alcohol action to brain histamine neurons structure and metabolism. Two final chapters cover the involvement of histaminergic brain system in the alcohol craving and tolerance.

The book is intended to researchers, students, physicians, who work in the field of neurobiology, neuromorphology, neurophysiology, neurology, psychiatry, drug dependence and are interested in a structure, organization and functioning of the brain.

The book includes 443 references and illustrated by 137 figures and 61 tables.

Оглавление

Список сокращений	9
Предисловие	10
Введение	11
Глава 1. Локализация тел гистаминергических нейронов в мозге	14
1.1. Иммуногистохимический метод выявления гистамина	14
1.2. Расположение перикарионов гистаминергических нейронов в мозге крысы	16
1.3. Гистаминергические нейроны мозга других видов животных и человека	21
Глава 2. Моноаминоксидаза Б как маркер гистаминергических нейронов мозга	24
2.1. Гистохимический метод выявления активности моноаминоксидазы типа Б	24
2.2. Соответствие МАО Б-активных нейронов нейронам известных гистаминергических ядер	25
2.3. Оценка идентичности МАО Б-активных нейронов гистаминиммунореактивным нейронам в гипоталамусе крысы	30
Глава 3. Трехмерная компьютерная реконструкция и морфометрия гистаминергических ядер мозга крысы	34
3.1. Объем гистаминергических ядер мозга крысы	38
3.2. Плотность расположения МАО Б-активных нейронов в гистаминергических ядрах гипоталамуса крысы	40
3.3. Абсолютное количество нейронов в гистаминергических ядрах	42
Глава 4. Размеры и форма гистаминергических нейронов мозга крысы	44
4.1. Размеры нейронов гистаминергических ядер гипоталамуса крысы	44
4.2. Форма гистаминергических нейронов гипоталамуса крысы	51

Глава 5. Ультраструктура гистаминергических нейронов мозга крысы	53
5.1. Способ электронно-микроскопического исследования нейронов гистаминергических ядер гипоталамуса крысы.....	54
5.2. Ультраструктура перикарионов нейронов гистаминергического ядра E2.....	56
5.3. Ультраструктура нейропиля гистаминергических ядер гипоталамуса крысы.....	62
 Глава 6. Транспорт и метаболизм гистамина в мозге	67
6.1. Транспорт гистидина	68
6.2. Синтез нейронального гистамина. Гистидиндекарбоксилаза	68
6.3. Выделение гистамина нейронами.....	69
6.4. Гистаминкатаболизирующие ферменты мозга	70
6.5. Гистамин-N-метилтрансфераза.....	71
6.6. Топография MAO Б в мозге	72
6.7. Активность MAO Б в нейронах различных гистаминергических ядер гипоталамуса крысы.....	74
6.8. Локализация в мозге альдегиддегидрогеназы	78
6.9. Кругооборот и период полужизни гистамина в мозге	80
 Глава 7. Особенности энергетического метаболизма гистаминергических нейронов мозга.....	83
7.1. Содержание в гистаминергических нейронах мозга других медиаторов или их ферментов, прямо не связанных с обменом гистамина	83
7.2. Особенности окислительного и энергетического метаболизма гистаминергических нейронов мозга	84
7.3. Активность НАДН-дегидрогеназы в нейронах гистаминергических ядер мозга крысы.....	84
7.4. Активность лактатдегидрогеназы в нейронах гистаминергических ядер гипоталамуса крысы.....	88
7.5. Активность дегидрогеназы глюкозо-6-фосфата в нейронах гистаминергических ядер гипоталамуса крысы.....	91
7.6. Активность сукцинатдегидрогеназы в нейронах гистаминергических ядер мозга крысы.....	94
7.7. Активность дегидрогеназы восстановленного НАДФ в нейронах гистаминергических ядер гипоталамуса крысы	98

Глава 8. Физиология и проекции гистаминергических нейронов мозга.....	104
8.1. Физиология гистаминергических нейронов	104
8.2. Эфферентные связи (проекции) гистаминергических нейронов мозга	106
8.3. Распространение отростков гистаминергических нейронов.....	109
8.4. Telencephalon	111
8.5. Diencephalon	112
8.6. Mesencephalon	113
8.7. Rombencephalon	113
8.8. Другие области мозга	114
8.9. Влияние центрального гистамина и гистаминергических нейронов гипоталамуса на другие типы нейронов мозга.....	115
8.10. Афферентная иннервация и регуляция гистаминергических нейронов мозга	117
 Глава 9. Гистаминовые рецепторы мозга.....	123
9.1. Гистаминовый H ₁ -рецептор	123
9.2. Гистаминовый H ₂ -рецептор	126
9.3. Гистаминовый H ₃ -рецептор	128
9.4. Гистаминовый H ₄ -рецептор	130
 Глава 10. Роль гистаминергических нейронов в интегративных функциях мозга и поведении.....	134
10.1. Регуляция циркадных ритмов, цикла сна и бодрствования, гибернации	134
10.2. Регуляция двигательной (локомоторной) активности	140
10.3. Регуляция энергетического баланса, пищевого и питьевого поведения	142
10.4. Гистаминергические нейроны и аддикция.....	145
10.5. Участие в процессах памяти и обучения.....	145
10.6. Нейроэндокринная регуляция.....	148
10.7. Сердечно-сосудистая регуляция.....	149
10.8. Терморегуляция	149
10.9. Роль центрального гистамина в эмбриогенезе.....	150

Глава 11. Гистаминергические нейроны мозга при экспериментальных воздействиях и патологических состояниях.....	153
11.1. Защита от ишемического повреждения мозга.....	154
11.2. Защита от нейротоксичности, индуцируемой NMDA и каиновой кислотой.....	155
11.3. Участие гистамина в общей анестезии.....	156
11.4. Стресс и беспокойство.....	157
11.5. Влияние гистамина на синаптическую пластичность.....	157
11.6. Противосудорожное действие.....	158
11.7. Структурно-метаболические изменения гистаминергических нейронов мозга при холестазе.....	159
11.8. Изменения в центральной гистаминергической системе при нейродегенеративных заболеваниях.....	160
11.9. Болезнь Паркинсона.....	160
11.10. Болезнь Альцгеймера.....	163
 Глава 12. Морфофункциональные изменения гистаминергических нейронов мозга под действием лигандов гистаминовых рецепторов.....	165
12.1. Изменения в гистаминергических нейронах мозга крысы после введения антагониста H ₁ -гистаминовых рецепторов.....	165
12.2. Изменения гистаминергических нейронов мозга крысы после введения антагониста H ₂ -гистаминовых рецепторов ранитидина.....	168
12.3. Изменения гистаминергических нейронов мозга крысы под действием агониста гистаминовых H ₃ -рецепторов R- α -метилгистамина.....	171
12.4. Морфофункциональная характеристика гистаминергических нейронов мозга крыс после введения антагониста H ₃ -гистаминовых рецепторов тиоперамида.....	176
 Глава 13. Изменения гистаминергических нейронов мозга при нарушении транспорта и метаболизма гистамина.....	180
13.1. Морфофункциональная характеристика гистаминергических нейронов мозга крысы после введения колхицина.....	180
13.2. Морфофункциональная характеристика гистаминергических нейронов мозга крысы после введения L-гистидина.....	183
13.3. Морфофункциональная характеристика гистаминергических нейронов мозга крысы после введения ингибитора MAO Б депринила.....	185

Глава 14. Структурные и гистохимические изменения в гистаминергических нейронах мозга крыс через 1 час после однократного введения алкоголя.....	189
14.1. Влияние алкоголя на центральный гистамин	189
14.2. Гистаминергические нейроны через 1 час после однократного введения алкоголя в дозе 1 г/кг.....	191
 Глава 15. Структурные и гистохимические изменения в гистаминергических нейронах гипоталамуса крыс через 6 часов после однократного введения алкоголя.....	227
15.1. Гистаминергические нейроны через 6 часов после однократного введения алкоголя в дозе 4 г/кг.....	227
15.2. Сравнение влияния на гистаминергические нейроны разных доз и сроков после однократного введения этанола	236
 Глава 16. Структурные и гистохимические изменения в гистаминергических нейронах гипоталамуса крыс после семидневной алкогольной интоксикации	240
 Глава 17. Морфофункциональные изменения в гистаминергических нейронах гипоталамуса крыс после хронического потребления алкоголя	257
 Глава 18. Зависимость действия этанола на гистаминергические нейроны мозга от его дозы и продолжительности введения	269
 Заключение	275
 Литература	285

Список сокращений

АТР	—	аденозинтрифосфат
Г-6-Ф-ДГ	—	глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа
ГАМК	—	γ-аминомасляная кислота
ГДК	—	гистидиндекарбоксилаза
ГМТ	—	гистамин-N-метилтрансфераза
ГлЭС	—	гладкая эндоплазматическая сеть
ГрЭС	—	гранулярная эндоплазматическая сеть
ГЭБ	—	гемато-энцефалический барьер
Ед.	—	условная единица оптической плотности
КГ	—	комплекс Гольджи
КФ	—	кислая фосфатаза
ЛДГ	—	лактатдегидрогеназа
МАО Б	—	моноаминоксидаза типа Б
мРНК	—	матричная рибонуклеиновая кислота
НАДН-ДГ	—	дегидрогеназа восстановленного НАД
НАДФН-ДГ	—	дегидрогеназа восстановленного НАДФ
Об.	—	объектив
СДГ	—	сукцинатдегидрогеназа
ТМ	—	туберомамиллярные
Ув.	—	увеличение
ЦНС	—	центральная нервная система
α-FMN	—	α-флюорометилгистамин
EDAC	—	1-этил-3-(3-диметил-аминопропил)-карбодиимид
H ₁ -H ₄	—	гистаминовые рецепторы
НА 19С	—	антигистаминовые антитела
Р	—	Posterior (расстояние кзади от Брегмы в мм)
PBS	—	фосфатный буфер на солевом растворе (0,85% NaCl)
PBS-T	—	PBS Triton X-100

Предисловие

Монография посвящена гистаминергическим нейронам мозга, их пространственной организации, микроскопическому строению, особенностям метаболизма и функции, роли в деятельности мозга, регуляции систем и реакций организма в норме, при различных экспериментальных воздействиях и патологии. В ней проанализированы данные мировой литературы и обобщены результаты, полученные автором и его сотрудниками на кафедре гистологии, цитологии и эмбриологии Гродненского государственного медицинского университета.

Данную книгу можно рассматривать как продолжение или исправленное и дополненное издание моей предыдущей монографии — «Гистаминергическая система мозга», вышедшей в 2007 г. в издательстве Гродненского госмедуниверситета малым тиражом (50 экз.) и недоступной широкой научной общественности. За прошедший период появилось большое количество наших собственных результатов и данных зарубежных исследователей по гистаминергическим нейронам мозга, нуждающихся в анализе, обобщении и оценке, которые и вошли в новую книгу. В частности, монография дополнена пятью главами новых результатов о действии алкоголя на гистаминергические нейроны мозга, а глава «Влияние гистаминергической системы мозга на влечение и устойчивость к этанолу» не включена в новое издание, поскольку она выходит за рамки этой книги. Следует отметить, что другие монографии по данной тематике в мировой литературе отсутствуют.

Выражаю искреннюю благодарность моим ученикам: В.Ф. Цыдику — за совместные исследования моноаминоксидазы мозга, В.Б. Кузнецовой — за детальное морфометрическое исследование гистаминергических нейронов гипоталамуса крысы, О.Н. Стрику — за компьютерную реконструкцию гистаминергических ядер мозга, Е.М. Фединой — за исследования действия алкоголя на гистаминергические нейроны мозга, доктору О.В. Анищiku — за совместные обзоры литературы и иммуногистохимические данные, а также другим коллегам за плодотворное сотрудничество.

Профессор *С.М. Зиматкин*

ВВЕДЕНИЕ

Гистамин — биогенный диамин, широко распространенный в тканях животных и человека. Он является биологически активным соединением, участвующим в передаче межклеточных сигналов, в том числе и в головном мозге, где он выполняет функции нейромедиатора. Поскольку гистамин не проходит через гематоэнцефалический барьер, в организме выделяют два относительно независимых его пула: периферический и центральный. Главным местом синтеза и депонирования гистамина на периферии являются тучные клетки рыхлой соединительной ткани, базофильные лейкоциты крови и энтерохромаффиноподобные (ECL) клетки эпителия желудочно-кишечного тракта. Периферический гистамин вызывает сокращение гладкой мускулатуры, расширение и увеличение проницаемости кровеносных капилляров, участвует в аллергических реакциях, стимулирует желудочную секрецию. В головном мозге гистамин локализуется главным образом в гистаминергических нейронах; небольшое количество гистамина находится в тучных клетках оболочек мозга и прослоек рыхлой соединительной ткани.

Доказательством существования нейронального гистамина явилось его обнаружение в мозге линейных мышей без тучных клеток [401]. Максимальная его концентрация обнаружена в гипоталамусе. Биохимические и электрофизиологические исследования, методы перерезки мозга и введения метки доказали существование центральной гистаминергической системы, с расположением тел нейронов и единственного места синтеза нейронального гистамина в заднем гипоталамусе [75]. С получением антител против фермента синтеза гистамина гистидиндекарбоксилазы и самого гистамина стала возможной прямая иммуногистохимическая демонстрация гистаминергических нейронов и точное описание их локализации и пространственной организации в ЦНС [112, 143, 320]. Тогда впервые было показано, что тела этих гистаминергических нейронов мозга находятся только в туберомамиллярном гипоталамусе, где они образуют пять скоплений — ядер (E1–E5), а их аксоны

распространяются во все отделы мозга, участвуя в регуляции других нейротрансмиттерных и морфофункциональных систем ЦНС. Гистаминергические нейроны мозга реализуют свое действие через четыре типа рецепторов: H_1 – H_4 . Гистаминовые рецепторы широко и гетерогенно распределены в мозге и принадлежат к семейству рецепторов, связанных с G-белками [167].

Гистамин синтезируется в гистаминергических нейронах из аминокислоты L-гистидина с помощью фермента гистидиндекарбоксилазы. Специфические и эффективные системы обратного захвата гистамина в ЦНС не обнаружены. Поэтому единственным путем инактивации гистамина после выделения в терминалях является его метаболизм. Гистамин метаболизируется ферментом гистамин-N-метилтрансферазой до теле-метилгистамина, который затем превращается с помощью МАО Б в N-теле-метилимидазолацетальдегид, а затем с помощью фермента альдегиддегидрогеназы — в N-теле-метилимидазолуксую кислоту.

Гистаминергическая система мозга играет важную роль в регуляции многих функций, систем и реакций организма: нейроэндокринной и сердечно-сосудистой, кровотока мозга, температуры тела, сна и бодрствования, пищевого и питьевого поведения, памяти и обучения. Предполагается участие центрального гистамина в патогенезе многих патологических состояний и заболеваний: мышечная слабость, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, эпилепсия, морфинная наркомания, алкоголизм и др.

Организация гистаминергической системы мозга и ее роль в жизнедеятельности организма в нормальных и патологических условиях освещена во многих обзорах, опубликованных в международных научных изданиях [71, 167, 168, 189, 196, 207, 210, 297, 303–305, 335, 365, 379, 409, 413]. Обзоры по этой проблеме в русскоязычной литературе отсутствуют, за исключением наших собственных [2, 8, 10].

Гистаминергическая нейронная система мозга в последние десятилетия привлекает большое внимание и изучается во многих странах. Эти исследования особенно интенсивно и плодотворно проводятся в нескольких международных научных центрах. К ним относятся: Отдел биологии Академического университета Турку, Финляндия (Department of Biology, Abo Akademi University, Biocity, Turku, Finland), руководитель — проф. Перрти Панула (Perri Panula);

Отдел фармакологии медицинской школы университета Тохоку, Япония (Department of Pharmacology, Tohoku University, Graduate School of Medicine, Sendai, Japan), руководитель — проф. Такехико Ватанабе (Takehiko Watanabe); Институт биогенных аминов Польской Академии наук (Institute of Biogenic Amines, Polish Academy of Sciences, Lodz), руководитель — проф. В.А. Фогель (W.A. Fogel); Отдел нейрофизиологии Университета Генриха Гейне, Дюссельдорф, Германия (Department of Neurophysiology, Heinrich Heine University, Dusseldorf, Germany), руководитель — проф. Гельмут Хаас (Helmut Haas).

Гистаминергическая нейронная система мозга в Беларуси и других странах СНГ изучается недостаточно. Она некоторое время исследовалась в Институте биохимии НАНБ (лаборатория морфологии и нейрохимии); в настоящее время эти исследования продолжаются на кафедре гистологии, цитологии и эмбриологии Гродненского государственного медицинского университета (руководитель — проф. С.М. Зиматкин).

Глава 1

ЛОКАЛИЗАЦИЯ ТЕЛ ГИСТАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ В МОЗГЕ

Биохимические и электрофизиологические исследования, методы перерезки мозга и введения метки доказали существование центральной гистаминергической нейронной системы, с расположением тел гистаминергических нейронов и единственного места синтеза нейронального гистамина — в заднем гипоталамусе [71]. Однако показать там гистаминергические нейроны с помощью гистохимических методов удалось не сразу.

Простыми, классическими методами, основанными на циклизации катехоламинов и индоламинов с формальдегидом (метод Фалька — Хилларпа), который прекрасно выявляет катехоламиновые и серотонинергические нейроны, гистамин и гистаминергические нейроны выявить не удалось. Метод, использующий ортофталевый альдегид, который давал интенсивную флуоресценцию гистамина в тучных и ECL клетках на периферии, оказался недостаточно чувствительным и специфическим для мозга [393]. Только с получением антител против ГДК и самого гистамина стала возможной прямая гистохимическая демонстрация гистаминергических нейронов и точное описание их локализации в ЦНС [112, 143, 320].

1.1. Иммуногистохимический метод выявления гистамина

Впервые антитела против гистамина были получены путем иммунизации белых морских свинок комплексом гистамина с метилированным бычьим сывороточным альбумином. Характеристика антисыворотки и предварительное картирование гистаминергических нейронов мозга было проведено у крыс. При использовании этого метода гистаминиммунореактивные нейроны были обнаружены только в латеральном гипоталамусе и срединном возвышении, соответствующие нервные волокна были обнаружены в гипоталамусе, коре, миндалине и гиппокампе [419]. Однако позднее

стало ясно, что эти данные о локализации тел гистаминергических нейронов являются артефактом.

Более эффективными оказались специфические поликлональные антитела, полученные у кроликов путем иммунизации комплексом гистамина с сукцинированным гемоцианином [320]. Получаемое иммуноокрашивание было высоко специфичным и не устранялось преабсорбцией сыворотки с гистидином, гистидинсодержащими пептидами, серотонном или катехоламинами, в то время как преабсорбция с гистамином полностью предотвращала окрашивание. Иммуноглобулины этой антисыворотки, очищенные аффинной хроматографией, окрашивали те же клетки, что и исходная антисыворотка, в то время как фракция сыворотки, абсорбированная гистамином, не окрашивала эти нейроны. При использовании этого метода гистаминиммунореактивные тела нейронов были обнаружены только в гипоталамусе и преаммиллярной области крыс, которым за 48 ч до этого вводили колхицин (70 мкг в 20 мкл в желудочки мозга). Животных перфузировали через левый желудочек сердца 4% параформальдегидом, затем кусочки гипоталамуса 2 ч постфиксировали иммерсией в этом же растворе. Самая большая группа клеток наблюдалась в каудальном крупноклеточном ядре и медиально на дорсальной и вентральной частях преаммиллярных ядер. Иммунореактивные нервные волокна были обнаружены во многих отделах мозга. Результаты предполагают, что гистаминсодержащие нейроны локализованы только в маленькой части заднего гипоталамуса и эти клетки, вероятно, являются источником восходящих и нисходящих волокон, выявляемых в других областях мозга [320].

Затем были получены антитела против гистамина, конъюгированного с карбодиимидом. Они позволили выявлять гистаминергические нейроны и нервные волокна в большем количестве и у животных без предварительного введения блокатора быстрого аксонального транспорта, колхицина [81]. Для выявления гистаминергических нейронов этим методом крыс, после анестезии пентобарбиталом натрия, перфузировали транскардиально через левый желудочек сердца последовательно 200 мл 0,1 М фосфатно-солевого буфера pH 7,4 (PBS), далее перфузировали 150 мл холодного раствора 1-этил-3-(3-диметил-аминопропил)-карбодиимида (EDAC, Sigma) в PBS, а затем отмывали в 200 мл PBS. Мозг немедленно

извлекался и погружался на 3 часа в аналогичный перфузионному фиксирующий раствор EDAC, после чего переносился на сутки в 20% раствор сахарозы в PBS при +4 °C. Иммунореактивность по гистамину определялась иммунофлюоресцентным методом со вторичными антителами, меченными FITC, и авидин-биотиновым методом с пероксидазой хрена [81]. В последующих моделях для экономии фиксатора EDAC нами апробирована и применена схема фиксации без внутрисердечной перфузии. После декапитации мозг на холоде извлекали из черепной коробки, вырезали кусочки кубической формы, содержащие гипоталамус, которые на трое суток помещались в аналогичный вышеописанному фиксирующий раствор, после чего на ночь в 20% раствор сахарозы в PBS при +4 °C (В.Ф. Цыдик).

Позднее были получены моноклональные антитела против гистамина, конъюгированного с глютаровым альдегидом, позволяющие проводить более детальные исследования гистаминергических нейронов мозга по сравнению с ранее полученными поликлональными антителами против гистамина, конъюгированного с карбодиимидом [188].

1.2. Расположение перикарионов гистаминергических нейронов в мозге крысы

У взрослых млекопитающих и человека тела гистаминергических нейронов головного мозга расположены исключительно в гипоталамусе, преимущественно в его туберомамиллярных ядрах (n. tuberomammillaris, ТМ). Особенно хорошо изучена организация гистаминергических нейронов в мозге крысы. Эти нейроны сконцентрированы в трех ядрах заднего гипоталамуса: туберальное крупноклеточное ядро (tuberalis magnocellularis, ТМС), каудальное крупноклеточное ядро (caudalis magnocellularis, СМС) и постмамиллярное каудальное крупноклеточное ядро (postmammillaris caudalis magnocellularis, РМС) [69].

В 1985 Kohler и др. [392] объединили эти клеточные группы в одном названии — «туберомамиллярное» (tuberomammillaris) (ТМ). Это название появилось потому, что это скопление клеток расположено в вентральной части серого бугра (tuber cinereum),

кпереди от мамиллярного тела. В 1987 г. в результате иммуногистохимического исследования с использованием антител против гистидиндекарбоксилазы как маркера гистаминергических нейронов ТМ-ядро у крысы было разделено на три группы и пять частей: 1) медиальная туберомамиллярная (*tuberomammillaris medialis*, ТММ), состоящая примерно из 600 гистаминергических нейронов, расположенных с обеих сторон 3-го желудочка (кармана) в сосцевидном теле; она подразделяется на вентральную и дорсальную части (ТММ_v и ТММ_d); 2) вентральная туберомамиллярная группа (*tuberomammillaris ventralis*, ТМВ), состоящая примерно из 1500 нейронов, расположенных вокруг сосцевидных тел; она подразделяется на каудальную и ростральную части (ТМ_c и ТМ_r) и 3) диффузная часть ТМ (*tuberomammillaris diffusum*, ТМ_{diff}), которая состоит примерно из 100 перикарионов гистаминовых нейронов, разбросанных в медиобазальном гипоталамусе [136] (табл. 1.1).

Таблица 1.1

Классификации ядер гистаминергических нейронов в мозге крысы

Подгруппы ТМ					Ссылки
PMC	CMC		TMC		[Blier et al, 1979]
TMVc	TMVr	TMMv	TMMd	TMdiff	[Ericson et al., 1987]
Ps	Ls	Vs	Ts	Is	[Staines et al., 1987]
E1	E2	E3	E4	E5	[Inagaki et al., 1990]

Использование антител против аденозиндиаминазы, содержащейся в гистаминергических нейронах, также позволило выделить пять подгрупп нейронов в ТМ-области: Posterior subdivision — Ps, Lateral subdivision — Ls, Ventral subdivision — Vs, Tuberal subdivision — Ts, Interstitial subdivision — Is [Staines et al., 1987]. Они точно соответствуют указанным выше пяти частям ТМ, выделенным Эриксоном [136] (рис. 1.1).

Наконец в 1990 г. описанным пяти скоплениям гистаминовых нейронов было дано специальное буквенное обозначение (Е1–Е5) (табл. 1.1; рис. 1.1), по аналогии с номенклатурой других аминергических нейронных систем: норадренергической (А1–А7), дофаминергической (А8–А17), серотонинергической (В1–В9) и адренергической (С1–С3). При этом ТММ_d обозначили как Е4,

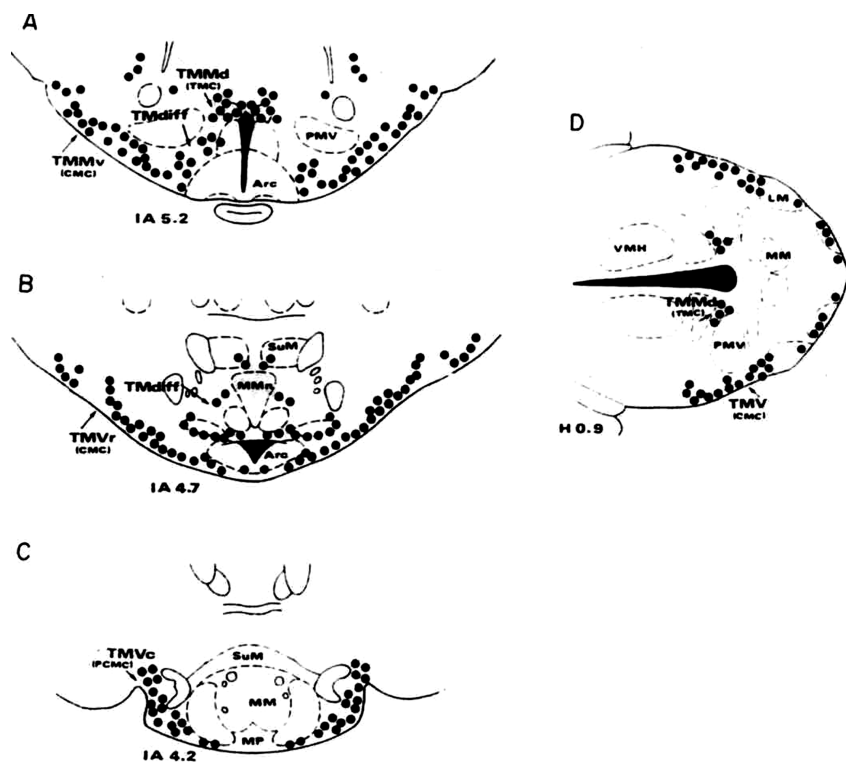


Рис. 1.1. Локализация гистаминергических нейронов в мозге крысы [по 136]. Представлены схемы фронтальных срезов мозга от уровня медиобазального гипоталамуса до мамиллярного тела (А–С). D — горизонтальный срез. Arc — аркуатное ядро; MM — медиальное мамиллярное ядро; SuM — супрамамиллярное ядро; LM — латеральное мамиллярное ядро [394]

TMMv — как E3, TMVr — E2, TMVc — E1, а TMDiff обозначили как E5 [394]. Соответствие между известными классификациями гистаминергических нейронов легко найти в табл. 1.1.

Локализация гистаминергических нейронов и образованных ими скоплений показана на схемах (рис. 1.1, 1.2).

Группы E1 и E2 расположены на латеральной поверхности мамиллярного тела и разделены негистаминергическим латеральным мамиллярным ядром. Основываясь на подобном соотношении групп нейронов E1 и E2, предполагают, что они возникли из общей группы и были разделены в процессе эмбриогенеза лате-

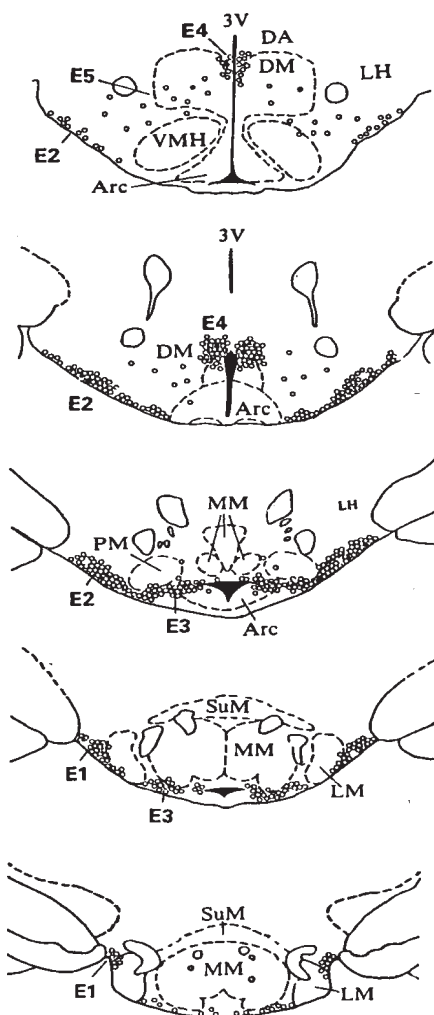


Рис. 1.2. Локализация гистаминергических нейронов на фронтальных срезах мозга крысы [по Yamatodani et al., 1991]. Представлены схемы фронтальных срезов мозга от уровня медиобазального гипоталамуса до маммиллярного тела (сверху вниз). E1–E5 — группы гистаминергических нейронов. 3V — третий желудочек; DM — дорсомедиальное ядро; VMH — вентрамедиальное ядро; LH — латеральный гипоталамус; Arc — аркуатное ядро; MM — медиальное маммиллярное ядро; SuM — супрамаммиллярное ядро; LM — латеральное маммиллярное ядро

ральным маммиллярным ядром. Группа нейронов E3 простирается горизонтально от аркуатного ядра до вентральной области премаммиллярного ядра.

Нейроны, принадлежащие к группе E3, соответствуют гистаминергическим нейронам, расположенным в аркуатном ядре, вентральной части премаммиллярного ядра, в области, расположенной только вентрально к этому ядру и вентрально к части медиального маммиллярного ядра [278, 339, 427], а также вентральному компоненту медиальной части ТМ-зоны (*Tuberamammillaris medialis ventralis*) (TMMv) [136] и вентральному отделу ТМ-зоны (*Tuberamammillaris ventralis*) (Vs) [31]. Группа E4 расположена в дорсомедиальной части ТМ-зоны и соответствует ТМС [278, 338], дорсальному компоненту медиальной части ТМ (*Tuberamammillaris medialis dorsalis*) (TMMd) [136], и туберальному отделу (*tuberal subdivision*) (Ts) ТМ [31].

Клетки группы E5 рассеяны между E4 и E2, в латеральном гипоталамусе и дорсомедиальном гипоталамическом ядре [278, 338, 386, 403]. Это диффузная часть ТМ-зоны (*Tuberamammillaris medialis diffusum*) (TMMdiff) [136] и интерстициального подраздела раздела ТМ (Is) [31]. Они рассеяны в дорсомедиальном гипоталамическом ядре, каудальной части латерального гипоталамуса, аркуатном ядре, вентральном отделе премаммиллярных ядер, вентральной части премаммиллярного ядра, латеральном маммиллярном ядре и вентральной части медиального маммиллярного ядра [278].

Поскольку в настоящее время нет достаточных подтверждений того, что описанные пять групп гистаминергических нейронов играют различные роли, их можно рассматривать как единую функциональную группу [143]. Это мнение подтверждается также и тем, что нейроны каждой из этих подгрупп иннервируют почти все отделы мозга и их проекции в значительной степени перекрываются.

Вместе с тем появляются данные, указывающие на функциональную гетерогенность гистаминергических нейронов. Так, экспрессия c-Fos при гиперкапнии (при вдыхании животными газовой смеси с повышенным содержанием CO₂) обнаружена только в нейронах ядра E2 гипоталамуса, что свидетельствует о том, что именно эти нейроны приходят в состояние возбуждения и обеспечивают пробуждение животных [54]. В другом исследовании экс-

прессия с-Fos в ГДК-иммунореактивных нейронах разных гистаминергических ядер гипоталамуса при разных видах стресса также была гетерогенной [267].

Используя прижизненный микродиализ с двумя канюлями у свободно двигающихся крыс для исследования двух соединений действующих прямо на гистаминергические нейроны, вызывая повышение электроимпульсной активности (тиоперамид и бикикулин, антагонисты гистаминовых H_3 и ГАМК-рецепторов), выясняли, могут ли различные группы гистаминергических нейронов влиять на различные области мозга. Интрагипоталамическая перфузия обоих соединений усиливала выделение гистамина в ТМ-ядре и коре, но не в стриатуме. Тиоперамид, но не бикикулин усиливал выделение гистамина в крупноклеточном базальном ядре, и наоборот — в п. *assumbens*. Тиоперамид усиливал продолжительность бодрствования. Иммуногистохимически показано, что все гистаминергические нейроны были иммуноположительны для H_3 . Эти данные подтверждают, что гистаминергические нейроны организованы в функционально определенные круги, влияющие на различные области мозга и имеют избирательные контрольные механизмы [172].

Среди гистаминергических нейронов в ТМ зоне расположены лишь единичные нейроны другой нейромедиаторной природы. Между ними отмечены межклеточные контакты, хотя неизвестно, существуют ли между ними функциональные взаимоотношения [152, 278, 424].

1.3. Гистаминергические нейроны мозга других видов животных и человека

В мозге мышей экспрессия ГДК напоминала картину, наблюдаемую в мозге крыс: мРНК ГДК располагалась только ТМ-области гипоталамуса в 5 группах гистаминергических нейронов (Е1–Е5). Кроме того, в отличие от крыс, она обнаружена также в эпендимокитах 3-го желудочка [283].

В мозге человека тела гистаминергических нейронов также обнаружены только в гипоталамусе, где они образуют обширную клеточную систему, обозначаемую как туберомамиллярный ком-

плекс. Он распространяется от супраоптических ядер и преоптической области впереди до вентральной тегментальной области и черной субстанции сзади, между ножками мозжечка и внутренней капсулой латерально, до аркуатных ядер гипоталамуса и 3-го желудочка медиально и от дорсомедиальных ядер гипоталамуса дорсально до базальной поверхности гипоталамуса вентрально. Крупные ТМ-клетки распространяются от крупноклеточных супрооптических нейронов спереди до крупных клеток черной субстанции сзади. Некоторые гистаминергические нейроны были найдены даже в передней части черной субстанции, среди нейронов, содержащих нейромеланин [29].

ТМ-комплекс у человека подразделяется структурами, находящимися внутри него (мамиллярные и туберальные ядра, мамиллоталамический тракт и свод) на четыре подгруппы: медиальную (ТМм), вентральную (ТМv), каудальную (ТМс) и латеральную (ТМl). Медиальная часть отделяется от вентральной и каудальной частей сводом и мамиллярными ядрами; каудальная и вентральная части разделяются мамиллярными ядрами. Латеральная часть отделена от вентральной части латеральными туберальными ядрами. Небольшое число клеток, рассеянных между и снаружи этих групп (среди нескольких ядер гипоталамуса), рассматриваются как диффузная часть ТМ-комплекса (ТМdiff) [29].

Общее число гистаминергических нейронов в ТМ-комплексе человека около 64 000. Приблизительное число (и процент) нейронов в каждой группе: 4500 (14 %) в ТМс, 2000 (7 %) в ТМl, 8000 (25 %) в ТМм, 17 500 (54 %) в ТМv и 500 (1 %) в ТМdiff. Размер гистаминергических нейронов варьируется от 20 до 40 мкм. Большинство из них мультиполярны и имеют 3–6 дендритов. По своему виду гистаминергические нейроны в различных группах не различались [29].

Гистаминергическая нейронная система головного мозга изучена также и у многих других видов позвоночных животных: мышей, морских свинок, овец [400], землеройки, лягушек [29], змей [342], черепах [394], птиц [342], золотых рыбок, аквариумной рыбки *Danio rerio* [104], *Trachurus trachurus* — ставриды, *Lampetra fluviatilis* — миноги, *Gasterosteus aculeatus* — трехиглой колюшки [110, 131, 313, 342]. У этих трех рыб показана только организация волокон и нейронов, и только у *Danio rerio* еще и рецепторы. У взрослых

рыбок *Danio regio* обнаружено 40–45 гистаминергических нейронов. Часть из них имеет в качестве ко-трансмиттеров галанин, ГАМК, тиротропин-релизинг гормон [382].

Установлено, что принципиальная организация центральной гистаминергической системы у низших позвоночных похожа на таковую у млекопитающих: нисходящие и восходящие волокна, иннервирующие большинство областей мозга, а перикарионы гистаминергических нейронов локализуются только в области дорсальных или вентральных гипоталамических ядер [41, 110, 135, 272, 313]. Минога (*Lampetra fluviatilis*) — единственная разновидность, у взрослых особей которой тела гистаминергических нейронов идентифицированы также и вне гипоталамуса, в области перешейки ствола мозга [110].

Результаты иммуноцитохимического исследования указывают на то, что гистамин присутствует в зрительной системе у некоторых видов насекомых, включая двукрылых, сверчка, таракана, саранчу и медоносную пчелу [272, 288]. Это предполагает роль гистамина как нейротрансмиттера фоторецепторов насекомых [132, 161, 272]. Были идентифицированы места связывания H_1 -рецептора в ЦНС этих животных [355]. Показано также, что часть нейронов моллюсков является гистаминергическими; гистамин как нейромедиатор был впервые выявлен у моллюска *Aplysia* [416].

Таким образом, перикарионы (тела) гистаминергических нейронов мозга человека, млекопитающих и большинства позвоночных животных расположены только в одной области мозга — tuberomammillaryном гипоталамусе, где они образуют пять скоплений (ядер) — E1–E5. Они хорошо выявляются иммуногистохимически на ГДК и гистамин, а также аденозиндиаминазу. Как будет описано в следующей главе, гистаминергические нейроны хорошо и достаточно специфично окрашиваются также и гистохимически, на выявление активности МАО Б.

Глава 2

МОНОАМИНООКСИДАЗА Б КАК МАРКЕР ГИСТАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ МОЗГА

МАО Б является ключевым ферментом метаболизма гистамина в мозге, где отсутствует гистаминоксидаза (гистаминаза), окисляющая до 40 % гистамина на периферии. Метаболизм является единственным способом удаления гистамина после завершения нейротрансмиссии гистаминергическими нейронами мозга, поскольку система обратного захвата гистамина в них отсутствует, в отличие от других типов аминергических нейронов, имеющих специфические транспортеры своих медиаторов для их обратного захвата [75, 167]. Это послужило предпосылкой для изучения возможности использования МАО Б в качестве маркера гистаминергических нейронов мозга.

2.1. Гистохимический метод выявления активности моноаминоксидазы типа Б

Активность МАО Б в гистаминергических нейронах головного мозга выявляют с помощью разработанного нами количественного гистохимического метода дифференциального выявления в мозге изоформ МАО [11]. Ниже описана его модификация для выявления МАО Б в гистаминергических нейронах мозга.

Животных под глубоким наркозом забивают декапитацией. Головной мозг быстро извлекают из черепной коробки и вырезают кусочки, содержащие гипоталамус. Их помещают на полоски фильтровальной бумаги, замораживают в жидком азоте, переносят в криостат ($-10\ldots-15\text{ }^{\circ}\text{C}$), где готовят серийные срезы толщиной 20–25 μm , монтируют их на предметные стекла, быстро расправляют и размораживают, а затем подсушивают при комнатной температуре. Срезы преинкубируют параллельно в течение 30 мин в 0,05 М фосфатном буфере (pH 7,6) на 0,85% NaCl с ингибитором МАО А хлоргилином 10^{-7} (сохраняется только активность МАО Б). Затем срезы высушивают фильтровальной бумагой и на них нака-

пывают инкубационный раствор, состоящий из 0,08 мг диаминобензидина тетрахлорида (Fluca), 1 мг пероксидазы хрена (Sigma, type II), 6 мг никель-аммоний сульфата (Aldrich), 0,65 мг азид натрия (Merck), 1 мг тирамина гидрохлорида (Sigma), последовательно растворенных в 1 мл 0,05 М Трис-HCl буфера (pH 7,6). Инкубацию проводят в герметически закрытой влажной камере при 37 °С 90 мин. Реакцию прекращают помещением срезов в Трис-HCl буфер, затем срезы обезвреживают в спиртах возрастающей концентрации, просветляют в ксилолах и заключают в полистирол.

Специфичность метода подтверждается полным отсутствием окраски гистаминергических нейронов при инкубации срезов без субстрата или без пероксидазы, а также после преинкубации с ингибитором MAO Б депренилом в концентрации 10^{-6} М.

При инкубации срезов в течение 90 мин выявляются все гистаминергические нейроны гипоталамуса, даже с низкой активностью MAO Б. Это позволяет проводить морфометрию и посчитать количество этих нейронов. Однако для количественной оценки активности MAO Б в цитоплазме этих нейронов путем цитофотометрии лучше ограничить продолжительность инкубации до 45 мин.

2.2. Соответствие MAO Б-активных нейронов нейронам известных гистаминергических ядер

Для выяснения того, какая часть нейронов гистаминергических ядер (E1–E5) гипоталамуса крысы является MAO Б-активными (с высокой активностью MAO Б), серийные фронтальные криостатные срезы гипоталамуса окрашивали на MAO Б вышеописанным методом. При этом соседние срезы окрашивали 0,1% раствором толуидинового синего по методу Ниссля. Полученные препараты изучали параллельно при разных увеличениях микроскопа. Сравнивали расположение, форму, размеры и количество нейронов в области E1–E5 гистаминергических ядер на срезах, обработанных на MAO Б и по Ниссля. Затем вычисляли процент MAO Б-активных нейронов по отношению к общему числу нейронов, окрашенных по Ниссля, в соответствующей зоне и на такой же площади ядра.

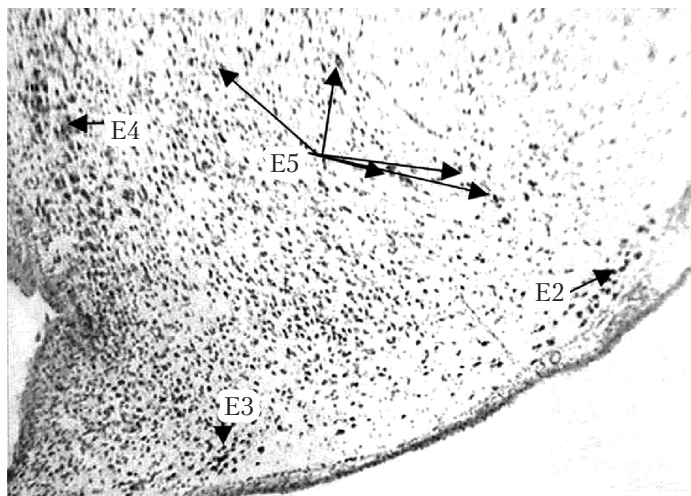


Рис. 2.1. Фронтальный срез головного мозга в области гистаминергических ядер E2–E5 заднебазального гипоталамуса ($P = -3,80$ мм). Окраска по Ниссля. Об. $\times 10$. Цифровая микрофотография

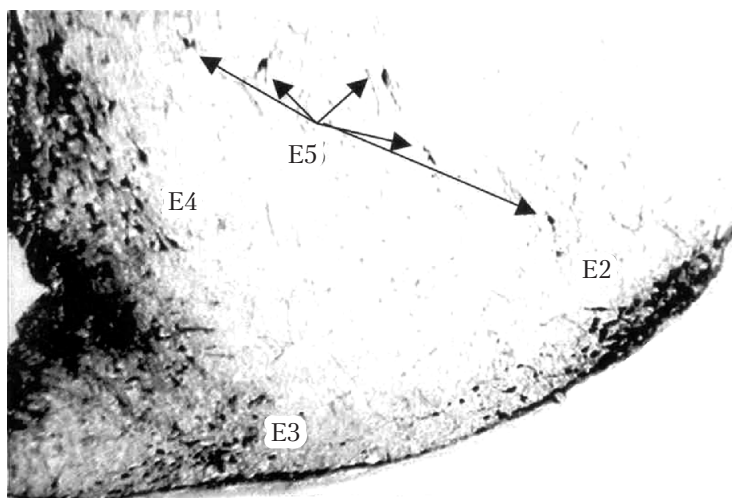


Рис. 2.2. MAO Б-активные нейроны в гистаминергических ядрах E2–E5 гипоталамуса крысы ($P = -3,80$ мм). Гистохимический метод [9]. Об. $\times 10$. Цифровая микрофотография

Результаты изучения МАО Б-активных нейронов в гистаминергических ядрах гипоталамуса показали относительную их идентичность нейронам, окрашенным по Нисслю, как по количеству, так и по форме, размерам и расположению (рис. 2.1, 2.2). Различия между количеством нейронов, окрашенных по Нисслю и на МАО Б в ядрах Е1–Е5 на различных уровнях в диапазоне –4,80...–3,60, были незначительны. Исключение составило лишь ядро Е3 на уровне Р –4,16, где количество МАО Б-позитивных нейронов было на 5 %, но статистически достоверно меньше по сравнению с количеством нейронов, окрашенных по Нисслю (табл. 2.1).

Таблица 2.1

Количество нейронов, выявленных во фронтальных срезах гипоталамуса крысы на различных уровнях при окраске на МАО Б и по методу Ниссля, и их процентное соотношение

Название ядра	Р	Количество МАО Б-активных нейронов	Количество нейронов, выявленных по Нисслю	Количество МАО Б-активных нейронов в процентах к числу нейронов, выявленных по Нисслю
Е1	–4,80	19,80 ± 4,92	20,60 ± 5,59	96,7 ± 3,4
	–4,52	3,40 ± 1,5	4,20 ± 2,17	84,3 ± 15,57
Е2	–4,30	25,80 ± 3,56	26,00 ± 3,16	99,0 ± 2,13
	–4,16	23,0 ± 3,67	24,8 ± 4,60	93,6 ± 9,70
	–3,80	38,4 ± 5,60	39,2 ± 5,85	98,0 ± 1,94
	–3,60	18,0 ± 5,96	19,0 ± 6,25	95,3 ± 7,57
Е3	–4,52	11,00 ± 6,08	12,00 ± 6,20	90,2 ± 10,53
	–4,30	25,8 ± 3,56	26,0 ± 3,16	97,9 ± 2,23
	–4,16	35,2 ± 5,54	37,0 ± 4,69	94,8* ± 4,44
Е4	–4,16	17,6 ± 4,28	19,2 ± 2,78	91,1 ± 13,96
	–3,80	17,6 ± 8,07	19,2 ± 8,96	97,5 ± 2,47
	–3,60	15,2 ± 1,48	16,0 ± 1,73	95,3 ± 6,44
Е5	–3,80	3,40 ± 0,748	3,40 ± 0,748	100 ± 0
	–3,60	2,20 ± 0,374	2,20 ± 0,375	100 ± 0

* $p < 0,05$ по сравнению с количеством нейронов, окрашенных по Нисслю.

Таким образом, в гистаминергических ядрах гипоталамуса количество нейронов, окрашенных по Нисслю и на МАО Б, практически совпадает. Следовательно, большинство нейронов гистаминергических ядер гипоталамуса являются МАО Б-активными. Это позволило использовать МАО Б-активные нейроны для пространственной реконструкции гистаминергических ядер, оценки их размеров и подсчета количества в них нейронов (рис. 2.3–2.7).

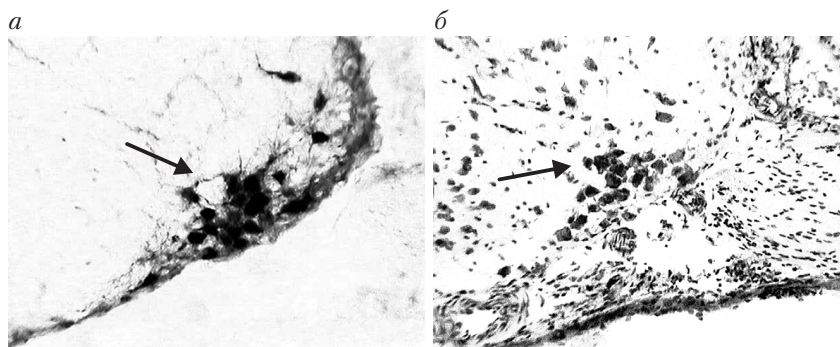


Рис. 2.3. Ядро Е1 ($P = -4,80$ мм):
a — активность МАО Б [11]; *б* — окраска по Нисслю. Об. $\times 40$.
 Цифровая микрофотография

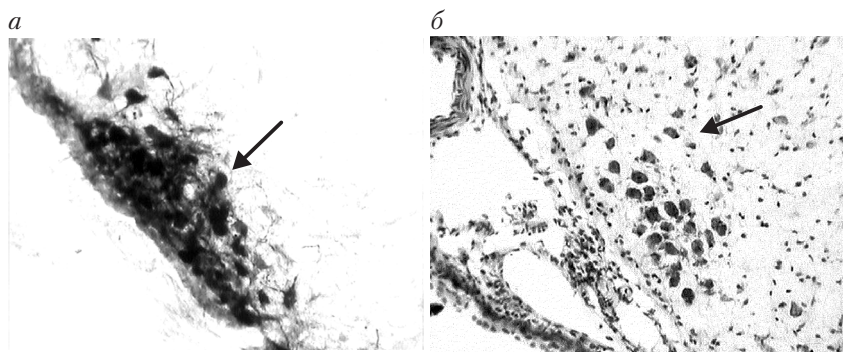


Рис. 2.4. Ядро Е2 ($P = -4,30$ мм):
a — активность МАО Б (окраска по методу Зиматкина, Цыдика, 1994) [11].
б — окраска по Нисслю. Об. $\times 40$. Цифровая микрофотография

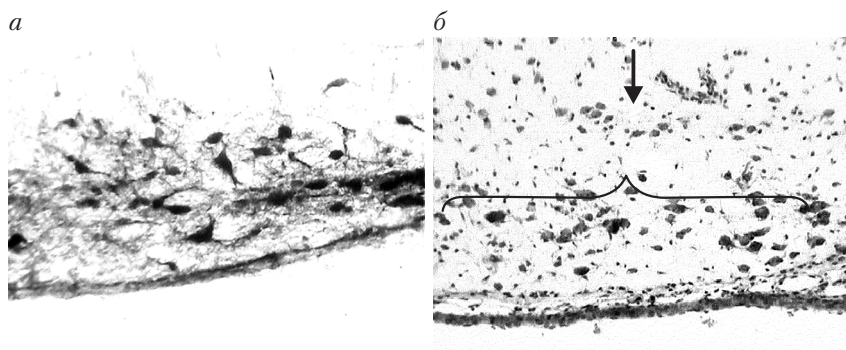


Рис. 2.5. Ядро Е3 ($P = -4,30$ мм):
a — активность МАО Б [11]; *б* — окраска по Нисслю. Об. $\times 40$.
Цифровая микрофотография

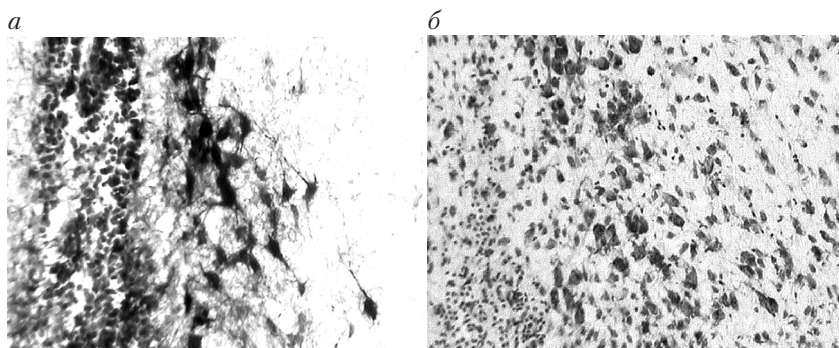


Рис. 2.6. Ядро Е4 ($P = -3,60$ мм):
a — активность МАО Б [11]; *б* — окраска по Нисслю. Об. $\times 40$.
Цифровая микрофотография

Количество нейронов, выявленных во фронтальных срезах гипоталамуса крысы на различных уровнях при окраске на МАО Б, положительно коррелирует с количеством нейронов, выявленных в соседних срезах по методу Ниссля, при $r = 0,99$ и $p < 0,01$ (корреляционный анализ по Spearman).

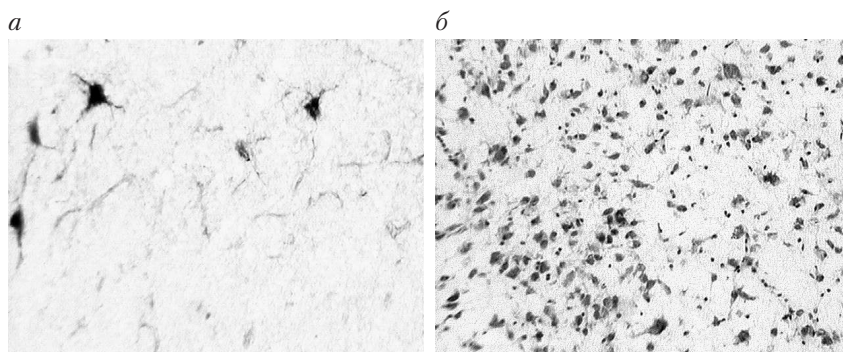


Рис. 2.7. Ядро E5 ($P = -3,60$ мм):
a — активность МАО Б [11]; *б* — окраска по Нисслю. Об. $\times 40$.
Цифровая микрофотография

2.3. Оценка идентичности МАО Б-активных нейронов гистаминиммунореактивным нейронам в гипоталамусе крысы

Для выяснения того, какая часть гистаминиммунопозитивных нейронов в области локализации гистаминергических ядер гипоталамуса (E1–E5) соответствует МАО Б-активным нейронам, выделенный гипоталамус фиксировали 3 ч в 4% растворе 1-этил-3-(3-диметил-аминопропил)-карбодиимида (EDAC, фирмы Sigma) с последующим помещением в 20% раствор сахарозы. Далее материал подвергался быстрому замораживанию в жидком азоте, соседние серийные криостатные срезы гипоталамуса толщиной 20 мкм окрашивали на МАО Б и иммуногистохимическим методом с антителами против гистамина. Использовали метод иммунофлюоресценции: инкубация с FITC-конъюгатом (разведение 1:40 в PBS-T) в темноте, с предварительным мечением гистаминовыми антителами (HA 19C (разведение 1:1000, 1:2000)). Затем препараты заключали в PBS-глицерол (1:1) и хранили в холодильнике (+4 °C). Полученные гистохимические и иммуногистохимические препараты изучали параллельно с помощью универсального исследовательского микроскопа AxioPlan (Карл Цейс, Германия) при разных увеличениях. Сравнивали расположение, форму, размеры и коли-

чество нейронов в области E1–E5 гистаминергических ядер на срезах, обработанных на MAO Б и иммунофлюоресцентным методом. Затем вычисляли процент MAO Б-позитивных нейронов по отношению к общему числу гистаминергических нейронов, окрашенных на выявление гистамина, в соответствующей зоне и на соответствующей площади ядра. Идентификацию структур головного мозга крысы осуществляли по схемам стереотаксического атласа [323]. Для идентификации ядер гистаминергической нейронной системы мозга крысы использовали соответствующие топографические схемы скоплений (ядер) гистаминергических нейронов [394]. Результаты изучения MAO Б-активных нейронов в гистаминергических ядрах гипоталамуса показали относительную их идентичность гистаминиммунореактивным нейронам как по количеству, так и по форме, размерам и расположению (рис. 2.8, 2.9; табл. 2.2).

Количество нейронов, выявленных во фронтальных срезах гипоталамуса крысы на различных уровнях при окраске на MAO Б, положительно коррелирует с количеством гистаминиммунореактивных нейронов при $r = 0,998$ и $p < 0,01$ (корреляционный анализ по Spearman).

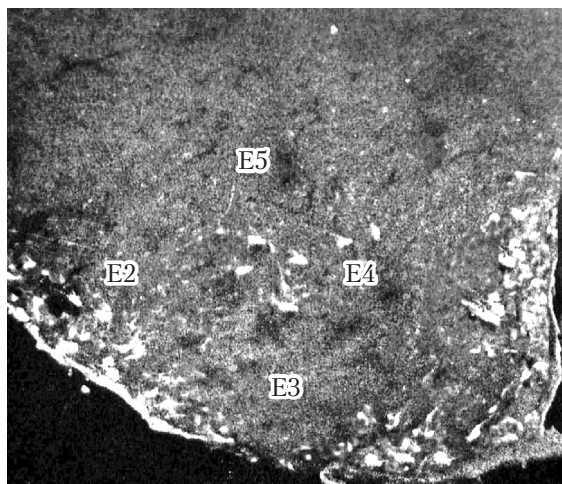


Рис. 2.8. Гистаминиммунореактивные нейроны ($P = -3,80$ мм). Флюоресцентная микроскопия с использованием антител против гистамина [по 297]. Об. $\times 10$. Цифровая микрофотография

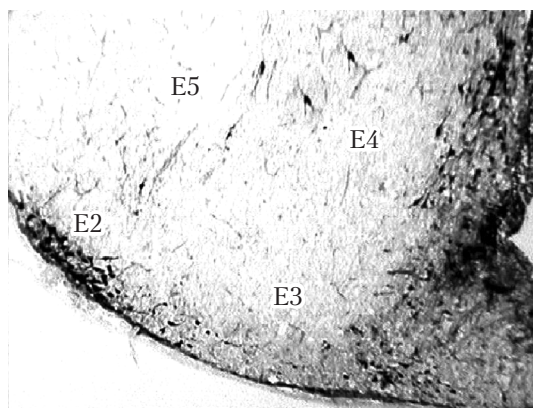


Рис. 2.9. МАО Б-активные нейроны в области E1–E5 гистаминергических ядер гипоталамуса крысы ($P = -3,80$ мм) [11]. Об. $\times 10$. Цифровая микрофотография

Таблица 2.2

Количество нейронов, выявленных во фронтальных срезах гипоталамуса крысы на различных уровнях при окраске на МАО Б и иммунофлюоресцентным методом с использованием антител против гистамина, и их процентное соотношение

Название ядра	P	Количество МАО Б-активных нейронов	Количество гистаминим-мунореактивных нейронов	Количество гистаминим-мунореактивных нейронов в процентах к числу МАО Б-активных нейронов
E1	–4,80	$17,8 \pm 2,9$	$16,8 \pm 2,6$	$94,5 \pm 3,7$
	–4,52	$5,0 \pm 1,6$	$4,0 \pm 1,6$	$79,8 \pm 18,3$
E2	–4,30	$25,6 \pm 3,97$	$24,8 \pm 3,42$	$97,1 \pm 2,99$
	–4,16	$22,8 \pm 2,39$	$21,6 \pm 2,39$	$94,6 \pm 3,9$
	–3,80	$38,2 \pm 5,5$	$36,8 \pm 4,81$	$96,5 \pm 1,7$
	–3,60	$20,2 \pm 6,14$	$18,6 \pm 5,73$	$92,5 \pm 6,2$
E3	–4,52	$10,4 \pm 1,6$	$9,4 \pm 1,82$	$90,5 \pm 10,4$
	–4,30	$22,8 \pm 2,39$	$21,6 \pm 2,07$	$95,03 \pm 6,9$
	–4,16	$38,2 \pm 3,03$	$37,0 \pm 3,54$	$96,7 \pm 2,4$
E4	–4,16	$19,8 \pm 3,56$	$18,2 \pm 3,27$	$92,1 \pm 6,6$
	–3,80	$32,4 \pm 4,77$	$30,4 \pm 5,94$	$93,2 \pm 5,1$
	–3,60	$16,4 \pm 1,52$	$15,4 \pm 2,3$	$93,6 \pm 6,7$

Окончание табл. 2.2

Название ядра	Р	Количество МАО Б-активных нейронов	Количество гистаминиммунореактивных нейронов	Количество гистаминиммунореактивных нейронов в процентах к числу МАО Б-активных нейронов
Е5	–3,80	$3,6 \pm 1,82$	$3,20 \pm 1,64$	$90 \pm 14,9$
	–3,60	$2,80 \pm 0,44$	$2,20 \pm 0,44$	$80 \pm 18,26$

Поскольку абсолютное большинство гистаминергических нейронов является МАО Б-активными, можно считать этот фермент хорошим маркером гистаминергических нейронов гипоталамуса крысы. Его можно использовать для дальнейших морфометрических исследований гистаминергических ядер.

Выявленные нами места локализации МАО Б-активных нейронов в точности соответствуют известному расположению гистаминергических ядер в гипоталамусе крысы [31, 136, 394]. Следует отметить, что гистохимический метод выявления МАО Б-активных нейронов является более воспроизводимым, менее трудоемким и продолжительным, а также более экономичным, чем иммуногистохимические методы выявления гистаминергических нейронов с использованием в качестве маркеров гистамина и гистидиндекарбоксилазы. Кроме того, гистохимический метод на МАО Б не требует предварительной специфической фиксации тканей и использования малодоступных реактивов.

Таким образом, в 95 % нейронов всех гистаминергических ядер (Е1–Е5) гипоталамуса крысы обнаружена высокая активность моноаминоксидазы Б. Все гистаминиммуноположительные нейроны гипоталамуса крысы являются МАО Б-активными. Следовательно, гистаминергические ядра гипоталамуса являются довольно однородными по нейромедиаторному составу нейронов: абсолютное большинство их (> 95 %) составляют МАО Б-активные гистаминергические нейроны. Вне гистаминергических ядер МАО Б-активные и гистаминиммунопозитивные нейроны в гипоталамусе не встречаются. Следовательно, гистохимический способ выявления активности МАО Б может быть использован для исследования гистаминергических нейронов и их скоплений (ядер) в гипоталамусе крысы.

Глава 3

ТРЕХМЕРНАЯ КОМПЬЮТЕРНАЯ РЕКОНСТРУКЦИЯ И МОРФОМЕТРИЯ ГИСТАМИНЕРГИЧЕСКИХ ЯДЕР МОЗГА КРЫСЫ

Для трехмерной компьютерной реконструкции гистаминергических ядер гипоталамуса расположение каждого МАО Б-активного нейрона, видимое под микроскопом в гистохимических препаратах, с помощью манипулятора «мышь» вносили на мониторе в соответствующие электронные схемы фронтальных срезов головного мозга крысы из стереотаксического атласа [323] (рис. 3.1).

Таким образом создавалась база данных пространственного расположения МАО Б-активных нейронов в мозге крысы, которая использовалась разработанной компьютерной программой для их интегральной трехмерной визуализации и реконструкции скоплений (ядер) гистаминергических нейронов гипоталамуса [15, 441].

Результаты исследования с использованием МАО Б в качестве маркера подтвердили локализацию гистаминергических нейронов в виде пяти скоплений (ядер E1–E5) в заднем гипоталамусе крысы (рис. 3.2). В результате компьютерной реконструкции изображения МАО Б-активных нейронов на серийных срезах гипоталамуса крысы создано интегральное трехмерное изображение скоплений МАО Б-активных нейронов (гистаминергических ядер) мозга крысы, которые можно изучать в любых проекциях (рис. 3.3, 3.4).

При этом на полученных рисунках отчетливо видно, что эти ядра взаимосвязаны между собой, постепенно переходят одно в другое и, в совокупности, образуют трехмерную геометрическую фигуру сложной конфигурации (см. рис. 3.3, 3.4). Это указывает на то, что все гистаминергические нейроны мозга пространственно взаимосвязаны и образуют единую клеточную популяцию. Возможно, она может иметь единый эмбриональный источник развития в заднем гипоталамусе, из которого могла происходить их миграция в роstralном направлении. Это соответствует мнению других ученых [136, 229, 394] о том, что гистаминергические нейроны формировались в эмбриогенезе как единая группа и имеют сходные гистотопографические проекции и функции.

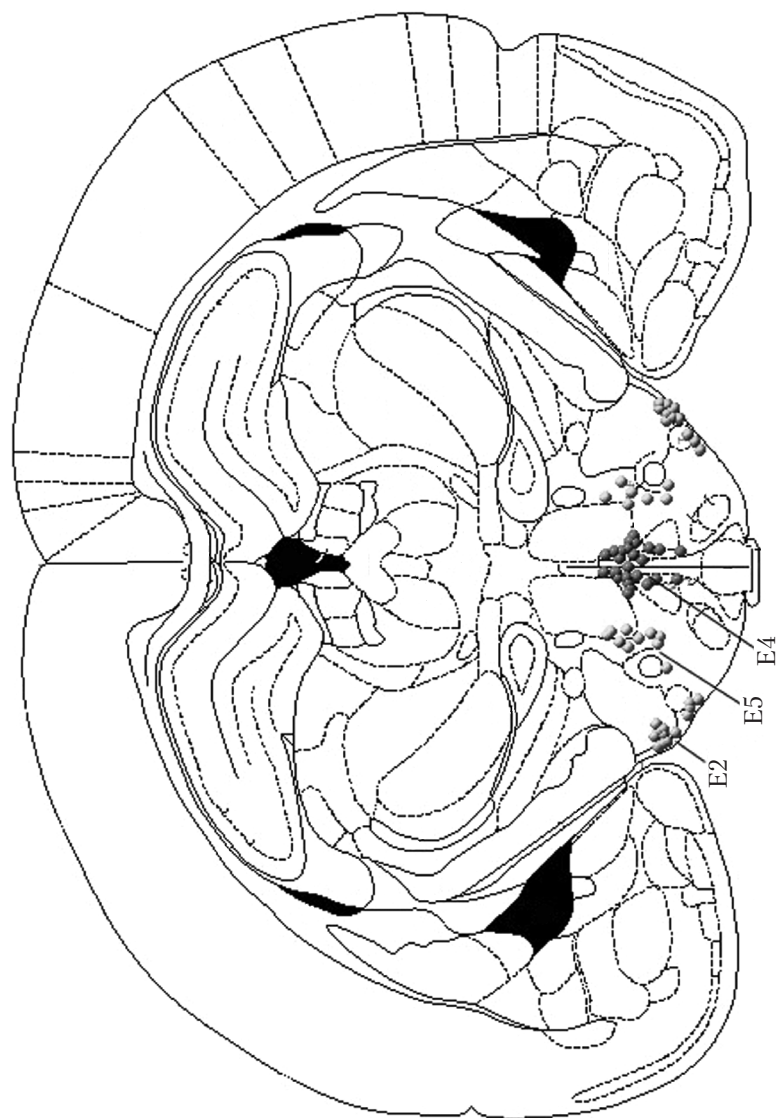


Рис. 3.1. Локализация MAO B-активных нейронов в гистаминергических ядрах заднего гипоталамуса на схеме фронтального среза мозга крысы [323]

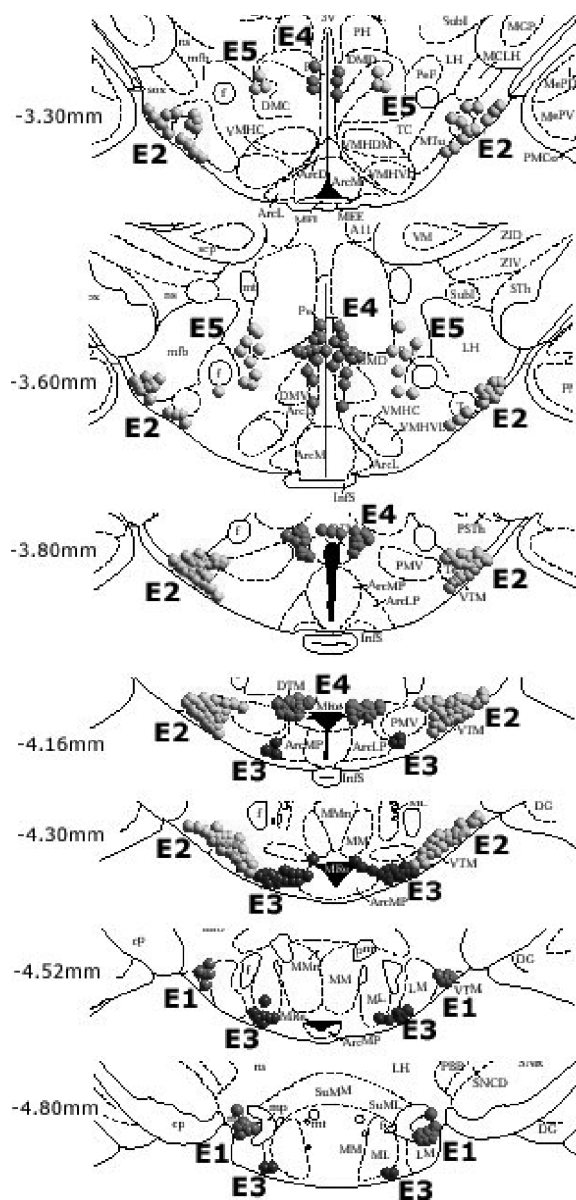


Рис. 3.2. Локализация гистаминергических ядер (маркер MAO Б) на схемах фронтальных срезов заднего гипоталамуса крысы

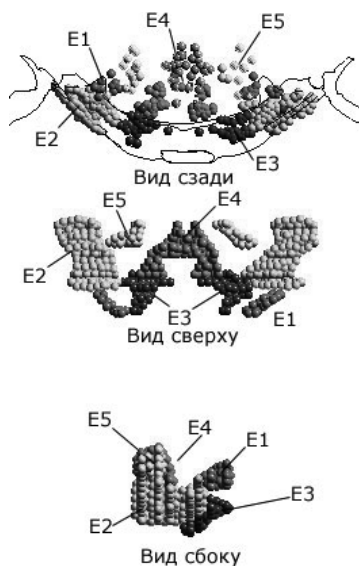


Рис. 3.3. Компьютерные изображения гистаминергических ядер гипоталамуса в трех плоскостях

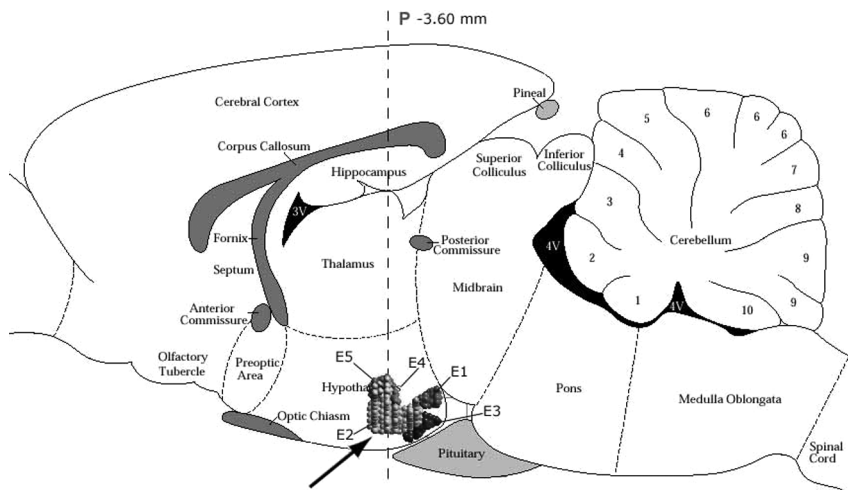


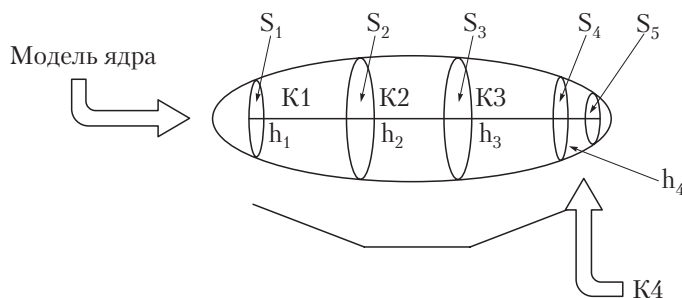
Рис. 3.4. Наложение компьютерного изображения гистаминергических ядер (вид сбоку) на схему сагиттального среза мозга крысы [323]

Разработанная графическая база данных и компьютерная программа могут быть использованы для трехмерной компьютерной реконструкции любых других скоплений нейронов в мозге.

3.1. Объем гистаминергических ядер мозга крысы

Для определения объема гистаминергические ядра рассматривали в виде суммы усеченных конусов, малое и большое основания которых были представлены площадями гистаминергических ядер, выявляемых на соседних срезах. При этом высоты этих усеченных конусов являлись расстоянием между срезами. Точные координаты каждого среза устанавливали по схемам стереотаксического атласа [323]. Объем каждого гистаминергического ядра рассчитывался по формуле, исходя из суммы составляющих его усеченных конусов.

Способ подсчета:



K1 — усеченный конус 1

K2 — усеченный конус 2

K3 — усеченный конус 3

K4 — усеченный конус 4

$$V_E = V_1 + V_2 + V_3 + \dots + V_n$$

$$V_1 = h_1 : 3 \cdot (S_1 + S_2 + \sqrt{S_1 \cdot S_2})$$

$$V_2 = h_2 : 3 \cdot (S_2 + S_3 + \sqrt{S_2 \cdot S_3})$$

$$V_3 = h_3 : 3 \cdot (S_3 + S_4 + \sqrt{S_3 \cdot S_4})$$

$$V_{\dots} = h_{\dots} : 3 \cdot (S_{\dots} + S_{\dots+1} + \sqrt{S_{\dots} \cdot S_{\dots+1}}),$$

где V_E — объем ядра; $V_1, V_2, V_3, \dots, V_n$ — объемы усеченных конусов, на которые разбито ядро; h_1, h_2, h_3, h_{\dots} — высота усеченных конусов, на которые разбито ядро, которая является расстоянием между ближайшими уровнями в мкм; $S_1, S_2, S_3, S_4, S_{\dots}, S_{\dots+1}$ — площади ядра на ближайших уровнях по Bregma в мкм².

Установлено, что общий двусторонний объем гистаминергических ядер гипоталамуса крысы составляет $499,4 \times 10^6 \pm 27,2 \times 10^6$ мкм³ или 0,50 мм³. Приблизительные расчеты показывают, что это менее 1/1000 общего объема мозга крысы.

При этом ядро E2 является самым крупным и составляет 40 % от общего объема гистаминергических ядер, а E1 — самым маленьким, составляя всего 3 % их общего объема (табл. 3.1; рис. 3.5). В порядке убывания размеров отдельные гистаминергические ядра располагались следующим образом: E2 > E4 > E3 > E5 > E1.

Таблица 3.1

Объем гистаминергических ядер мозга крысы (в мкм³ × 10⁶)

Название ядра	E1	E2	E3	E4	E5
$M \pm m$	$17,4 \pm 1,8$	$194,6 \pm 13,8$	$65,2 \pm 0,4$	$176,4 \pm 17,8$	$46,0 \pm 1,6$
E1		**	**	**	**
E2			**	—	**
E3				**	**
E4					**

** — различия между объемами ядер достоверны ($p < 0,01$).

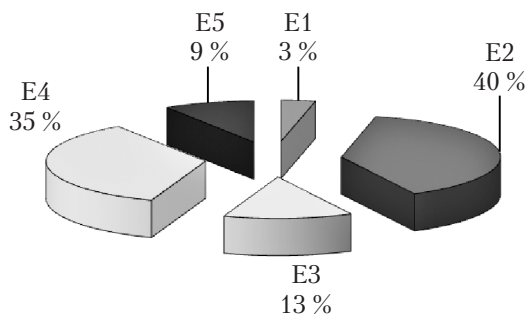


Рис. 3.5. Объем отдельных гистаминергических ядер (в % к их общему объему)

3.2. Плотность расположения МАО Б-активных нейронов в гистаминергических ядрах гипоталамуса крысы

На серийных фронтальных криостатных срезах мозга проводился подсчет количества МАО Б-активных нейронов на 1 мм^2 площади среза во всех гистаминергических ядрах гипоталамуса (плотность их расположения).

Подсчет абсолютного количества нейронов в гистаминергических ядрах проводился с помощью методики определения количества микрообъектов [1].

$$Nat = (Vp : 1000) \cdot Nv$$

$$Nv = n_s^{3/2} : \beta \cdot (Vv + 0,66)$$

$$Vv = Ss$$

$$Ss = (n_s \cdot s) : S$$

$$\beta \rightarrow \varepsilon$$

$$\varepsilon = b : a,$$

где Nat — общее число микрообъектов/число клеток в ядре; Vp — средний объем структуры в которой содержатся микрообъекты/объем ядра; Nv — количество микрообъектов в единице объема препарата; n_s — число микрообъектов на единице площади поверхности среза/число нейронов на 1000 мкм^2 ядра; β — коэффициент конфигурации; Vv — удельный объем; Ss — удельная площадь; s — площадь микрообъекта/средняя площадь нейрона; S — площадь исследуемой зоны/ 1000 мкм^2 ядра; ε — отношение между короткой и длинной осями микрообъекта; b — короткая ось микрообъекта/минимальный диаметр нейрона; a — длинная ось микрообъекта/максимальный диаметр нейрона.

Результаты исследования показали, что плотность расположения нейронов (их количество на мм^2) в различных гистаминергических ядрах отличается. В ядре Е1 она наибольшая, а в ядре Е5 — наименьшая (табл. 3.2; рис. 3.6).

Это количественно подтверждает диффузное расположение нейронов в ядре Е5 по сравнению с остальными гистаминергическими ядрами, которые можно назвать «компактными». Ядро Е4 занимает в этом отношении промежуточное положение.

Таблица 3.2

**Плотность расположения (количество на мм²) нейронов
в гистаминергических ядрах гипоталамуса крысы**

Название ядра	E1	E2	E3	E4	E5
$M \pm m$	$333,3 \pm 14,7$	$263,1 \pm 147,6$	$313,8 \pm 213,6$	$124,6 \pm 70,2$	$26,7 \pm 10,8$
E1		—	—	—	**
E2			—	—	**
E3				—	**
E4					*

* — различия между показателями отдельных ядер достоверны ($p < 0,05$);

** — различия между показателями отдельных ядер достоверны ($p < 0,01$).

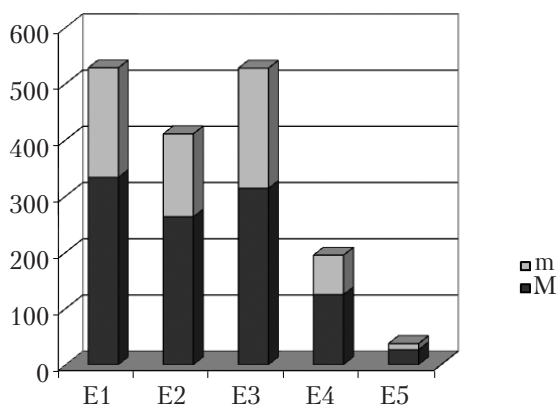


Рис. 3.6. Плотность расположения МАО Б-активных нейронов в гистаминергических ядрах гипоталамуса крысы (на 1 мм²)

Возможно, при формировании популяции гистаминергических нейронов гипоталамуса крысы миграция нейробластов могла идти в ростральном направлении от задних ядер E1–E3 (с наибольшей плотностью расположения нейронов) к месту расположения групп E4 и E5 (с наименьшей плотностью) в передней части. Для проверки этой гипотезы необходимо проследить место первоначального появления в гипоталамусе и пути миграции гистаминергических нейронов в эмбриогенезе.

3.3. Абсолютное количество нейронов в гистаминергических ядрах

Общее двустороннее количество нейронов в гистаминергических ядрах гипоталамуса крысы составляет, по нашим данным, $37\,162,96 \pm 2760,4$. Число нейронов в гистаминергических ядрах E1–E5 значительно различается (табл. 3.3; рис. 3.7). Общее количество гистаминергических нейронов в гипоталамусе человека почти в два раза больше и составляет около 64 000 [42, 318]. Это примерно соответствует количеству катехоламиновых нейронов у взрослого человека в голубом пятне [42]. Соотношение нейронов в разных гистаминергических ядрах человека значительно отличается от того, что мы обнаружили у крысы [29]. Это объясняется видовыми особенностями строения мозга у человека и крысы.

Таблица 3.3

Количество MAO Б-активных нейронов в гистаминергических ядрах гипоталамуса крысы

Показатель	E1	E2	E3	E4	E5
Количество нейронов	2558 ± 360	19726 ± 260	8658 ± 932	6104 ± 960	120 ± 11
Процент от общего количества MAO Б-активных нейронов	7	54	23	16	0,32

В мозге крысы [136] в ядре TMM (TMMd или E4 + TMMv или E3) было выделено 600 нейронов; в ядре TMV (TMVr или E2 + TMVc или E1) — 1500 нейронов и в ядре TMDiff (E5) —

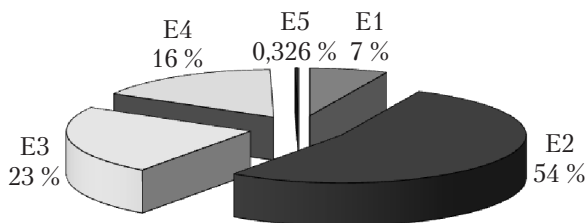


Рис. 3.7. Количество MAO Б-активных нейронов в различных гистаминергических ядрах гипоталамуса крысы (в % к их общему количеству)

100 нейронов. То есть, всего с двух сторон эти исследователи обнаружили 4400 гистаминергических нейронов. Разница в количестве перикарионов нейронов в гистаминергических ядрах, полученном в нашем исследовании и результатами, полученными ранее, может быть объяснена тем, что в процессе исследований, проведенных Эриксоном с использованием иммуногистохимического метода выявления ГДК не было четкой визуализации отдельных нейронов в плотных частях ядер [136].

Таким образом, гистаминергические ядра мозга крысы пространственно взаимосвязаны между собой, постепенно переходят одно в другое и в совокупности образуют геометрическую фигуру сложной конфигурации, что указывает на пространственное единство популяции гистаминергических нейронов гипоталамуса крысы.

Установлено, что общий объем скоплений перикарионов МАО Б-активных нейронов гипоталамуса крысы (гистаминергических ядер) составляет около $0,5 \text{ мм}^3$. В порядке убывания размеров отдельные гистаминергические ядра располагались следующим образом: $E2 > E4 > E3 > E5 > E1$.

Установлено, что перикарионы в ядре E5 расположены диффузно по сравнению с более компактным расположением перикарионов в остальных гистаминергических ядрах. Абсолютное количество нейронов в гистаминергических ядрах гипоталамуса крысы составляет 37164 ± 2760 . При этом большая часть нейронов (54 %) сосредоточена в ядре E2, 23 % — в ядре E3, 16 % — в ядре E4, 7 % — в ядре E1 и лишь 0,32 % — в диффузной части ядра E5.

Глава 4

РАЗМЕРЫ И ФОРМА ГИСТАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ МОЗГА КРЫСЫ

Морфологически гистаминергические нейроны — это в основном крупные клетки овальной формы размером 25–30 мкм [287, 338]. Нами впервые проведено сравнительное морфометрическое исследование этих нейронов в различных гистаминергических ядрах гипоталамуса крысы [15, 441].

Для этого при помощи компьютерного анализатора изображения «Биоскан» (Беларусь) определяли размеры (максимальный и минимальный диаметры, периметр, площадь, объем) и форму (формфактор и фактор элонгации) МАО Б-активных нейронов всех гистаминергических ядер гипоталамуса крысы. Оценка всех этих взаимосвязанных и взаимодополняющих параметров одних и тех же нейронов позволяет более глубоко и точно оценить их морфометрические характеристики. Размеры ядер и ядерно-цитоплазматическое соотношение нейронов оценить не представлялось возможным из-за того, что исследования проводились на относительно толстых (20 мкм) криостатных срезах, в которых границы ядер нейронов выявляются недостаточно четко.

4.1. Размеры нейронов гистаминергических ядер гипоталамуса крысы

Результаты морфометрии нейронов гистаминергических нейронов гипоталамуса крыс показали, что максимальный диаметр клеток в ядре Е5 в 2 раза больше, чем во всех других гистаминергических ядрах. Средний максимальный диаметр нейронов в Е1–Е4 гистаминергических ядрах статистически между собой не различается (табл. 4.1; рис. 4.1).

Средний минимальный диаметр клеток разных гистаминергических ядер статистически между собой не отличается (табл. 4.1; рис. 4.2).

Таблица 4.1

Размеры нейронов гистаминергических ядер гипоталамуса крысы

Морфометрический показатель	E1	E2	E3	E4	E5
Максимальный диаметр, мкм	27,4 ± 2,5	29,5 ± 3,1	27,1 ± 1,9	30,4 ± 2,2* ¹	58,3 ± 3,8** ³
Минимальный диаметр, мкм	17,88 ± 1,8	17,6 ± 1,8	16,4 ± 2,3	16,6 ± 1,1	16,2 ± 2,9
Периметр, мкм	75,54 ± 7,1	77,2 ± 8,1	71,1 ± 4,8	88,1 ± 8,3** ¹ ; * ²	141,2 ± 10,1** ³
Площадь, мкм ²	340,55 ± 60,8	349,9 ± 67,9	303,4 ± 72,7	322,8 ± 25,05* ¹	431,7 ± 42,5** ³
Объем, мкм ³	4937,45 ± 1293,2	5112,86 ± 1493,3	4194 ± 1552,4	4592,96 ± 540,6	7023,3 ± 1970* ³

* — различия достоверны ($p < 0,01$);

** — различия достоверны ($p < 0,05$);

¹ — различия между ядром E3 и E4;

² — различия между ядром E1 и E4;

³ — различия между ядром E5 и остальными гистаминергическими ядрами.

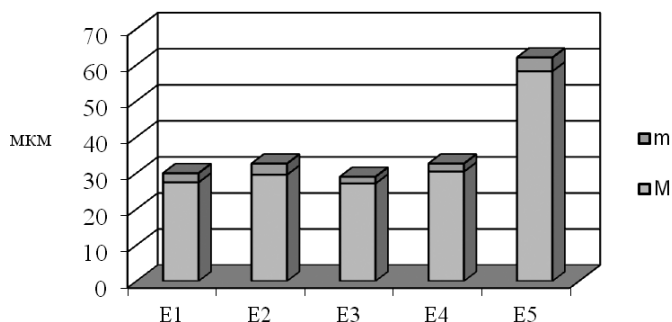


Рис. 4.1. Максимальный диаметр гистаминергических нейронов E1–E5 ядер

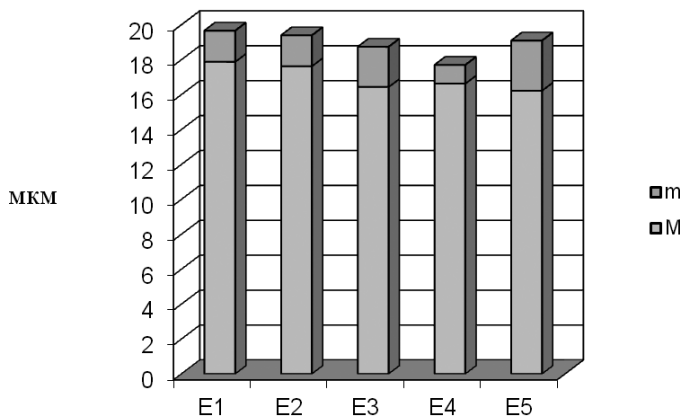


Рис. 4.2. Минимальный диаметр нейронов гистаминергических E1–E5 ядер гипоталамуса крысы

Периметр нейронов в ядре E5 в 2 раза больше, чем периметр клеток во всех остальных гистаминергических ядрах. Периметр нейронов в ядре E4 статистически достоверно в 1,2 раза больше, чем периметр клеток в E1 и E3 гистаминергических ядрах. Периметр клеток остальных гистаминергических ядер между собой статистически не различается (табл. 4.1; рис. 4.3).

Площадь нейронов в ядре E5 статистически достоверно в 1,2–1,6 раза больше, чем площадь нейронов во всех остальных гистаминергических ядрах. Площадь нейронов в ядре E4 статисти-

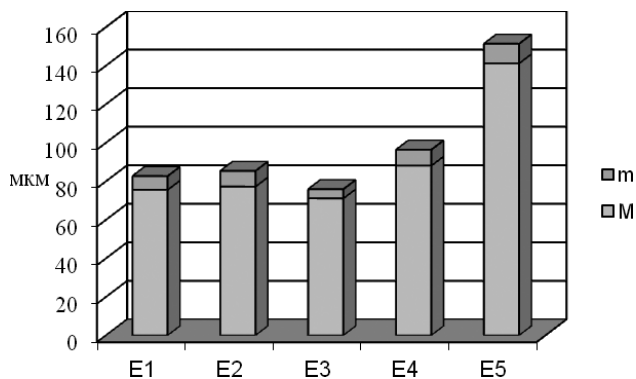


Рис. 4.3. Периметр нейронов гистаминергических E1–E5 ядер гипоталамуса крысы

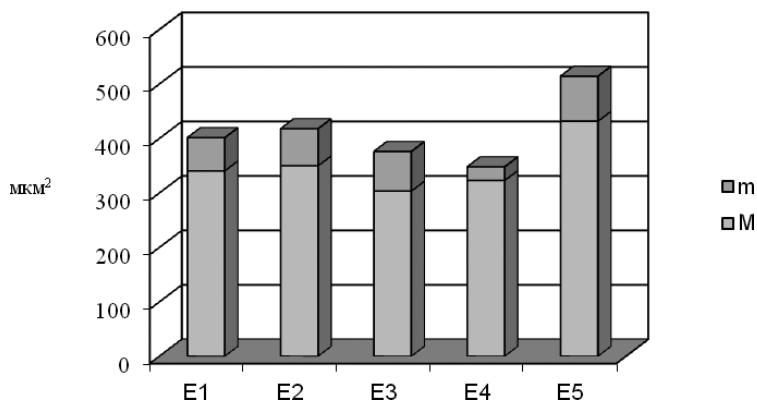


Рис. 4.4. Площадь нейронов гистаминергических E1–E5 ядер гипоталамуса крысы

чески достоверно в 1,1 раза больше, чем площадь нейронов в E3 гистаминергических ядрах. Площадь нейронов остальных ядер статистически не отличалась (табл. 4.1; рис. 4.4).

Анализ распределения нейронов по площади их тел в гистаминергических ядрах гипоталамуса крысы показал неоднородность размеров площади нейронов не только в разных ядрах, но и внутри отдельных ядер.

Объем нейронов ядра E5 достоверно больше в 1,4–2 раза, чем во всех гистаминергических ядрах, которые между собой не раз-

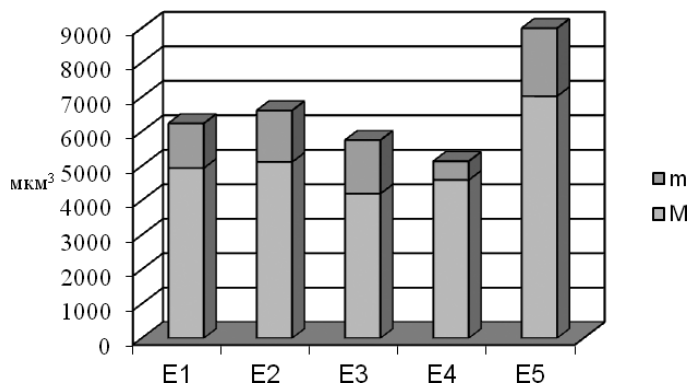


Рис. 4.5. Объем гистаминергических нейронов E1–E5 ядер гипоталамуса крысы

личались (табл. 4.1; рис. 4.5). Объем нейронов аркуатного ядра статистически достоверно в 8–13 раз меньше, чем объем нейронов гистаминергических ядер.

В целом в гистаминергических ядрах отчетливо выделяются три субпопуляции нейронов: мелкие (до 4000 мкм³), средние (4000–8000 мкм³) и крупные (8000–11 000 мкм³) (рис. 4.6). Их вклад в состав разных ядер различен (рис. 4.7).

Средний размер нейронов гистаминергических ядер в мозге крысы, по нашим данным, варьирует от 17 до 30 мкм. В результате исследований, проведенных Эриксоном в 1987 году на крысах, было установлено, что большинство ГДК-иммунореактивных перикарионов в TMv и TMVc зонах имеет средний размер от 18 до 25 мкм, что в целом совпадает с результатами, полученными в нашем исследовании. Размер этих же нейронов у человека варьирует от 20 до 40 мкм в диаметре [29, 75, 278, 367]. Гистаминсодержащие нейроны у всех млекопитающих преимущественно крупные, биполярные или мультиполярные клетки в диаметре примерно 30 мкм [320]. В сравнении с другими известными нейротрансмиттерными системами мозга человека, гистаминергические нейроны морфологически схожи с норадренергическими нейронами в голубом пятне или крупными холинергическими нейронами (Ch4-6) в основании переднего мозга или ретикулярной формации среднего мозга [29]. Следовательно, размеры гистаминергических нейронов

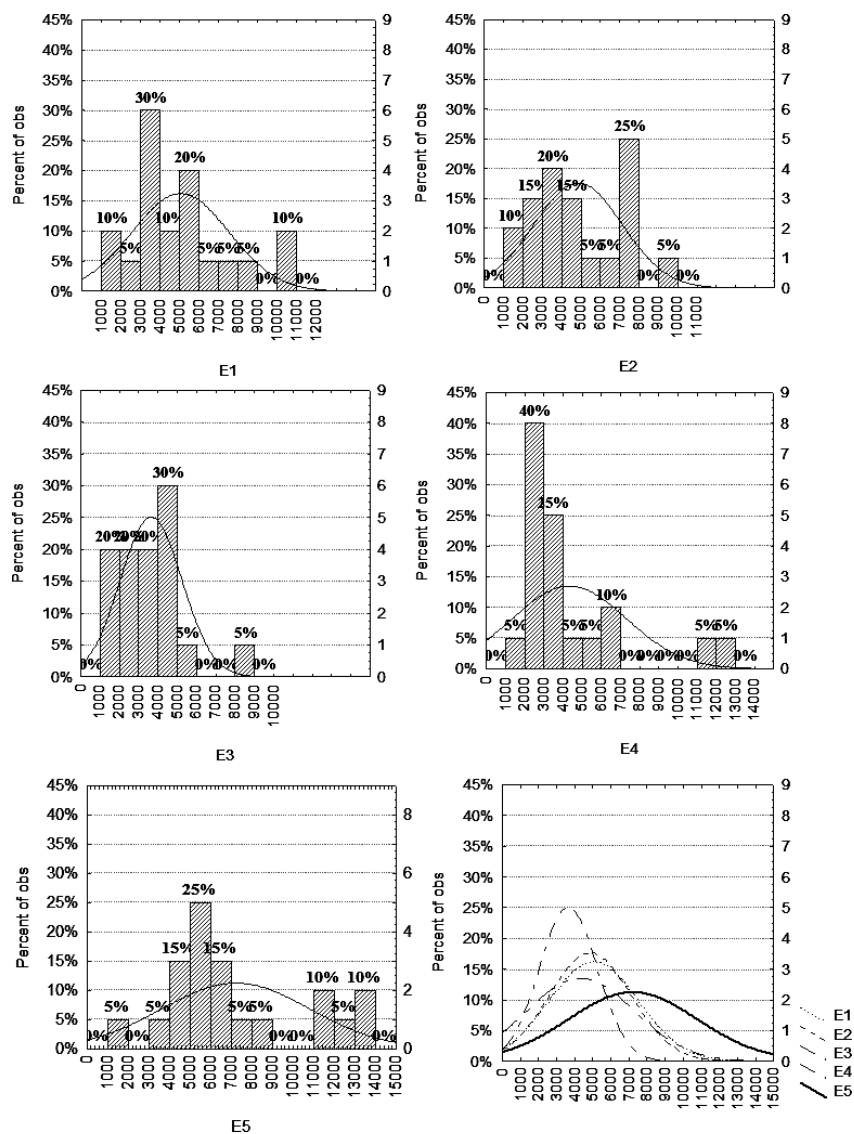


Рис. 4.6. Гистограммы распределения объема перикарионов нейронов в ядрах E1–E5 гипоталамуса крысы

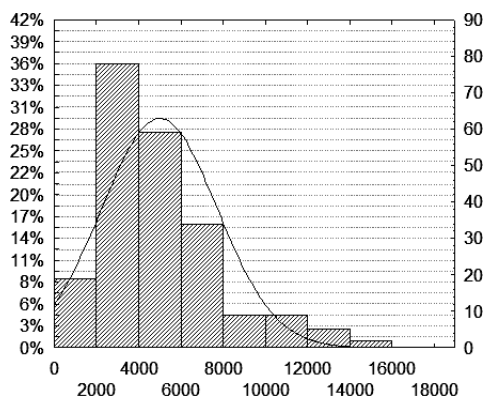


Рис. 4.7. Гистограмма распределения объема в общей популяции МАО Б-активных нейронов гистаминергических ядер гипоталамуса крысы

крысы меньше, чем у человека, и принципиально не отличаются от нейронов другой нейротрансмиттерной природы.

Нами установлено, что нейроны всех гистаминергических ядер мультиполярны и имеют от 3 до 6 отростков с множеством варикозных утолщений. Это совпадает с результатами, полученными предыдущими исследователями [69, 278, 367].

В гистаминергических ядрах отчетливо выделяются три субпопуляции нейронов: мелкие, средние и крупные. Их вклад в состав разных ядер различен. Кроме того, в гистаминергических ядрах E4 и E5 встречается еще субпопуляция гигантских ($> 11\,000\text{ мкм}^3$) нейронов. Она составляет соответственно 10 % и 25 % от общего количества нейронов в E4 и E5 ядрах, но менее 5 % от общего количества гистаминергических нейронов в гипоталамусе крысы. Благодаря этой группе нейронов максимальный диаметр, периметр, площадь и средний объем нейронов ядра E5 значительно больше, чем нейронов остальных гистаминергических ядер. Поскольку минимальный диаметр нейронов различных гистаминергических ядер не различается, можно предполагать и значительные отличия формы нейронов ядра E5.

4.2. Форма гистаминергических нейронов гипоталамуса крысы

Установлено, что формфактор гистаминергических нейронов ядра E4 в 1,5 раз меньше, а ядра E5 в 2 раза меньше, чем нейронов E1–E3 ядер.

Фактор элонгации E1–E5 ядер гистаминергических нейронов ядра E4 в среднем в 1,2 раза больше, а нейронов ядра E5 в 2 раза больше, чем нейронов E1–E3 ядер. Установлено, что большинство гистаминергических нейронов ядра E5 имеют веретеновидную форму. Второе место по средней величине фактора элонгации занимает ядро E4. Нейроны остальных (E1–E3) гистаминергических ядер имеют округлую или эллипсоидную форму и между собой по этому признаку практически не различаются (табл. 4.2).

Таблица 4.2

Формфактор (FF1) и фактор элонгации (EL) нейронов гистаминергических ядер гипоталамуса

Название ядра	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
E1				*	*
E2				**	*
E3				**	**
E4				*	
EL	1,6 ± 0,1	1,7 ± 0,1	1,69 ± 0,2	2 ± 0,2	3,33 ± 0,4
E1				**	**
E2				**	*
E3				**	*
E4				**	

* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ по сравнению с другими ядрами.

Следовательно, нейроны ядра E4, и особенно E5, по форме менее сферические и более вытянутые, чем в других ядрах. Ранее другим исследователям не удавалось обнаружить закономерные различия размеров и формы нейронов в разных гистаминергических ядрах [29, 136].

Поскольку в нашем исследовании найдена прямая корреляция между площадью, объемом и фактором элонгации нейронов группы Е5, можно предполагать, что образование здесь крупных и гигантских нейронов происходило за счет их роста (вытягивания) в длину. Именно в Е5 плотность расположения гистаминергических нейронов минимальна, и, возможно, это область наибольшего удаления от эпицентра образования нейронов этой нейромедиаторной природы в эмбриогенезе.

Таким образом, установлено, что размеры нейронов гистаминергического ядра Е5 (максимальный диаметр, периметр, площадь и объем нейронов) значительно больше, чем в остальных гистаминергических ядрах гипоталамуса крысы. При этом минимальный диаметр гистаминергических нейронов в различных ядрах не различается. Выявлена гетерогенность распределения нейронов разных размеров по гистаминергическим ядрам. Гигантские нейроны ($> 11\,000\text{ мкм}^3$) составляют в ядре Е4 и Е5 соответственно 10 % и 25 % всех нейронов и не встречаются в остальных гистаминергических ядрах. Присутствием этих нейронов и обусловлен более высокий, по сравнению с другими ядрами, средний объем нейронов. Установлено, что нейроны различных гистаминергических ядер отличаются по форме. Так, нейроны Е1–Е3 гистаминергических ядер имеют округлую или эллипсоидную форму, а нейроны ядра Е4, и особенно Е5, — значительно более вытянутую, веретеновидную форму.

Глава 5

УЛЬТРАСТРУКТУРА ГИСТАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ МОЗГА КРЫСЫ

Hayashi et al. (1984), используя ГДК в качестве маркера, первыми описали ультраструктуру гистаминергических нейронов группы E4. По их данным, ядра этих клеток круглые, обычно с ровными контурами ядерной оболочки. Ядро расположено в центре тела клетки и окружено относительно большим количеством цитоплазмы, которая содержит довольно хорошо развитый комплекс Гольджи и множество митохондрий. В цитоплазме отмечалась хорошо развитая гранулярная эндоплазматическая сеть. Митохондрии, как правило, мелких размеров, диффузно распределены по цитоплазме. Часто выявлялись мультивезикулярные тельца. Дендриты гистаминовых нейронов редко образуют шипики [152, 278].

Гистаминергические нейроны визуализировали на вибротомных срезах мозга крысы иммуногистохимически на выявление ГДК. Клеточные тела ГДК-иммунореактивных нейронов располагались исключительно в заднем гипоталамусе. На электронно-микроскопическом уровне иммунореактивный продукт выявления ГДК в цитоплазме нейронов распределяется диффузно, ядро крупное и светлое, с высоким ядерно-цитоплазматическим отношением, хорошо выраженный комплекс Гольджи, многочисленные митохондрии, эндоплазматический ретикулум фрагментирован на мелкие цистерны, выявляются редкие аксосоматические синаптические контакты. Нейроны из ТМ-области, выявляемые обычным электронно-микроскопическим методом, имели такие же характеристики [423].

По данным других исследователей, дендриты и тела гистаминергических нейронов образуют синаптические контакты с иммунореактивными терминалями среднего размера (от 0,4 до 0,9 мкм в диаметре), которые содержат маленькие округлые или полиморфные синаптические пузырьки. Некоторые из этих терминалей содержат нейропептид Y или субстанцию P [200, 314].

В дополнение к синаптическим контактам имеются участки несинаптических контактов, которые были обнаружены не только

между гистаминовыми нейронами и неиммунореактивными нейронами, но также и между самими гистаминергическими нейронами. Обычно контакты этого типа встречались между гистаминиммунореактивными и неиммунореактивными дендритами, а также между телами гистаминиммунореактивных нейронов и неиммунореактивными дендритами. Такие контакты часто имели место между гистаминовыми нейронами и глиальными клетками. Впоследствии эти же ультраструктурные характеристики гистаминергических нейронов были показаны для РСМ (группа E1), СМС (группа E2) [424], и ТМС (группа E4) [278].

Разработан специальный протокол подготовки тканей для иммуноэлектронномикроскопического исследования гистаминергических нейронов, включающий перфузию мозга карбодиимидом, изготовление вибраторных срезов и последующую иммуногистохимическую реакцию, используя авидин-биотин-пероксидазный метод [411].

5.1. Способ электронно-микроскопического исследования нейронов гистаминергических ядер гипоталамуса крысы

Для электронно-микроскопического исследования нами выбрано гистаминергическое ядро E2, как самое репрезентативное (54 % гистаминергических нейронов гипоталамуса). Для его изучения нами специально разработан метод подготовки образцов мозга. После декапитации крысы быстро вскрывали черепную коробку, извлекали головной мозг, выделяли гипоталамус, замораживали в жидком азоте. Два фронтальных криостатных среза гипоталамуса, толщиной 20 мкм и 60 мкм, готовили при -15°C на уровне $P \approx -3,80$ (3,8 мм кзади от Брегмы). Первый срез монтировали на предметное стекло, быстро расправляли и размораживали, а затем подсушивали при комнатной температуре. Затем его окрашивали на выявление активности МАО Б [11]. Второй срез в камере криостата помещали в предварительно охлажденный до $+4^{\circ}\text{C}$ 1% Os-фиксатор. После чего его извлекали из камеры криостата во флаконе с фиксатором и фиксировали в течение 2 часов при $+4^{\circ}\text{C}$ в двух порциях 1% Os-фиксатора, приготовленного на буфере Миллонига (рН 7,4) [268]. В дальнейшем после промывки в рас-

творе (буфер Миллонига pH 7,4; 20 мл) + сахара (900 мг) проводили обезвоживание этих срезов в 50% и 70% спиртах, после чего под контролем маркированного среза (окрашенного на выявление МАО Б) в них выделяли зону, содержащую изучаемое гистаминергическое ядро E2 гипоталамуса.

Далее материал выдерживали 12 часов при +4 °С в 2% уранилацетате на 70° спирте. Обезвоживание материала проводили в спиртах возрастающей концентрации, смеси ацетона и спирта, ацетоне, после чего его заключали в заливочную смолу с предварительной проводкой через смеси смолы (аралдит М + аралдит Н + + дибутилфталат + ДМР-30) и ацетона. Срезы изготавливали на ультрамикротоме МТ-7000 (США). На окрашенных метиленовым синим полутонких срезах уточняли локализацию гистаминергического ядра E2 с учетом локализации его на соседнем срезе, окрашенном на МАО Б. Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом [414] и цитратом свинца [352]. Сеточки со срезами опускали в каплю уранилацетата и выдерживали 30 мин в темноте при комнатной температуре. Затем промывали 50° спиртом 3 секунды, в двух порциях бидистиллированной воды по 5 секунд. Контрастировали цитратом свинца 10 минут, затем промывали в трех порциях воды по 5 секунд. Полученные препараты изучали в электронном микроскопе ПЭМ-100 (Украина). Получаемые изображения фотографировали при помощи цифровой видеокамеры Canon S45 (Япония) с разрешением 4 мегапиксела.

Результаты исследования показали, что разработанный нами метод подготовки образцов мозга для электронно-микроскопического исследования с использованием криостатных срезов и гистохимического контроля позволяет избирательно изучать ультраструктуру нейронов гистаминергических ядер гипоталамуса крысы.

В целом, несмотря на замораживание образцов, в полученных препаратах ультраструктура перикарионов нейронов и нейропиля гистаминергического ядра E2 выявляется достаточно хорошо. При этом сохраняется целостность биологических мембран клеток, в том числе во всех мембранных органеллах, включая и митохондрии. Получаемая при этом электронно-микроскопическая картина принципиально не отличается от таковой при традиционной подготовке образцов для электронно-микроскопического исследования.

5.2. Ультраструктура перикарионов нейронов гистаминергического ядра E2

Установлено, что ядра гистаминергических нейронов крупные, располагаются в центре перикарионов. Они отличаются неправильной формой: чаще всего веретеновидной, реже палочковидной, иногда подковообразной (рис. 5.2, 5.9, 5.10). Хроматин мелкозернистый, с формированием рыхлых гранулярных скоплений в центре и более плотных на периферии ядра. Ядрышки компактные, с преимущественно гранулярным компонентом, имеющее, как правило, эксцентричное положение в ядре (см. рис. 5.2). Мембраны, образующие ядерную оболочку, местами смыкаются и образуют многочисленные поры. Небольшое количество рибосом прикрепляются к наружной поверхности ядерной оболочки.

Цитолемма нейронов гистаминергического ядра E2 крысы имеет типичную структуру, местами с немногочисленными неглубокими инвагинациями. Локальные отклонения от основной структуры плазматической мембраны встречаются в области синапсов и плотных контактов, а также в местах образования сложных пузырьков (рис. 5.1, 5.2, 5.5, 5.6, 5.8).

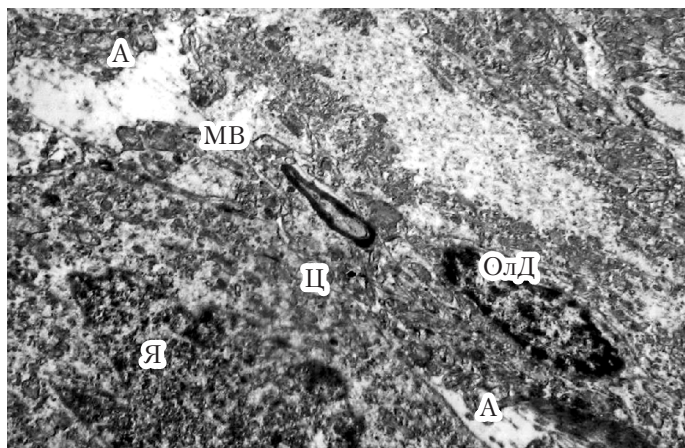


Рис. 5.1. Нервная и глиальная клетка гистаминергического ядра E2 гипоталамуса крысы. Видны складчатое ядро нейрона (Я), его цитолемма (Ц), лежащие рядом олигодендроцит (ОлД) и миелиновое нервное волокно (МВ), отростки астроцитов (А). Цифровая электронограмма. Ув. $\times 7000$

Цитоплазма нейронов гистаминергического ядра гипоталамуса крысы богата органеллами. Митохондрии многочисленны, овальной и круглой формы, преимущественно мелких и средних размеров, окружены двойной мембраной (наружной и внутренней) и имеют внутренний матрикс умеренной электронной плотности. Наружная мембрана митохондрий гладкая, внутренняя образует складки в виде немногочисленных крист (см. рис. 5.5–5.7).

Хорошо развита эндоплазматическая сеть, как гладкая (ГлЭС), так и гранулярная (ГрЭС), цистерны которой, как правило, располагаются упорядоченно, с содержанием на наружной поверхности умеренного количества связанных рибосом. Помимо упорядоченной ГрЭС, встречаются небольшие, беспорядочно разбросанные каналы и цистерны. В цитоплазматическом матриксе между мембранами ГрЭС выявляется значительное количество свободных рибосом, преимущественно в виде полисом. В цитоплазме перикарионов нейронов хорошо развит комплекс Гольджи (КГ), представленный как пластинчатыми структурами, так и большим количеством крупных и мелких вакуолей. КГ чаще всего локализуется возле ядра (см. рис. 5.6).

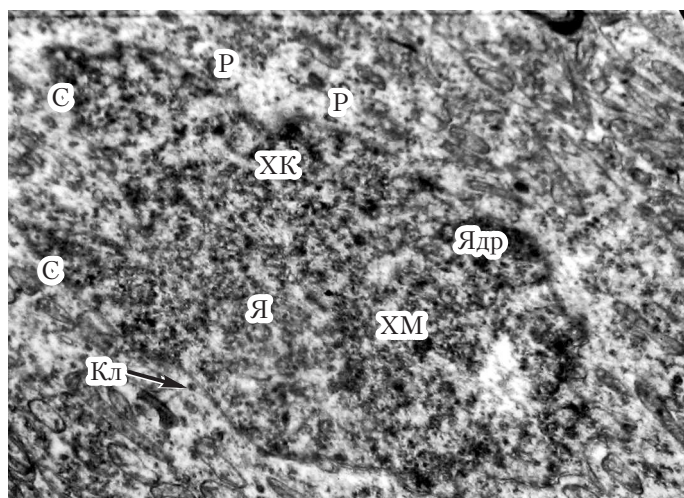


Рис. 5.2. Ядро гистаминергического нейрона (Я). Фрагмент рис. 5.1. Кариолемма (Кл) образует большие складки (С). Видны мелкозернистый хроматин (ХМ) в центре, по периферии конденсированный хроматин (ХК), ядрышко (Ядр). Цифровая электронограмма. Ув. $\times 12\,000$

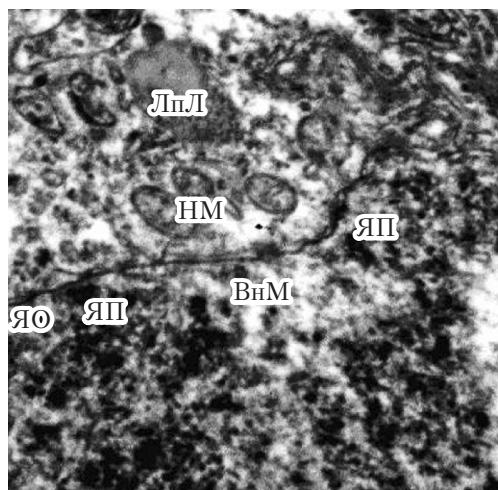


Рис. 5.3. Участок перикариона нейрона гистаминергического ядра Е2. Видны ядерная оболочка (ЯО), внутренняя (ВнМ) и наружная (НМ) мембраны кариолеммы, ядерные поры (ЯП), затянутые диафрагмой, липидолизосомы (ЛпЛ). Цифровая электронограмма. Ув. $\times 25\,000$

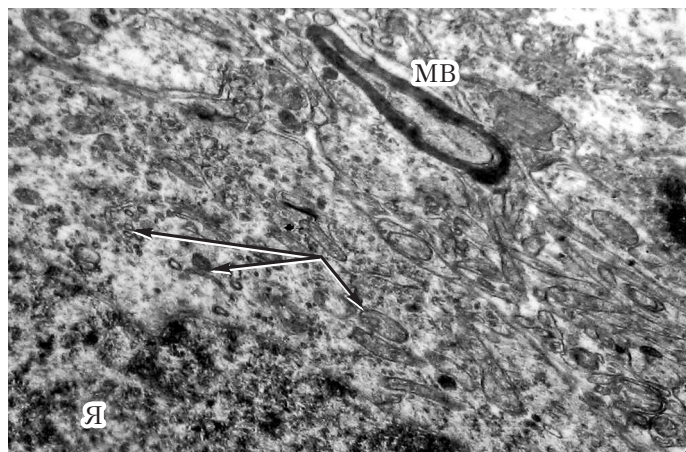


Рис. 5.4. Фрагмент перикариона нейрона гистаминергического ядра Е2. Видны ядро (Я) и органоиды в цитоплазме (указаны стрелками), миелиновое нервное волокно (МВ) в нейропиле. Цифровая электронограмма. Ув. $\times 9000$

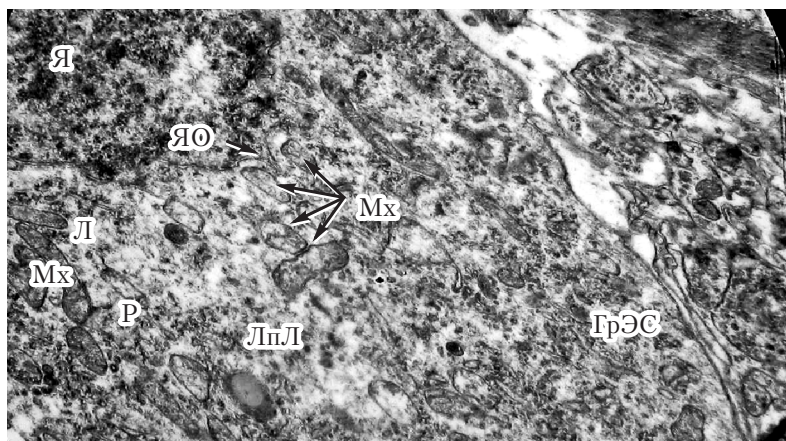


Рис. 5.5. Фрагмент нейрона гистаминергического ядра E2 гипоталамуса крысы. Видны ядро (Я), ядерная оболочка (ЯО). Многочисленные митохондрии (Мх), хорошо развитая гранулярная эндоплазматическая сеть (ГрЭС), значительное количество свободных рибосом (Р) и липидолизомы (ЛпЛ). Цифровая электронограмма. Ув. $\times 10\,000$

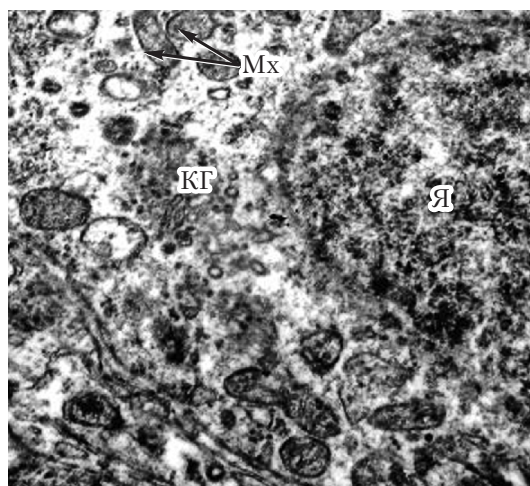


Рис. 5.6. Фрагмент перикариона нейрона гистаминергического ядра. Выявляются ядро (Я), многочисленные митохондрии (Мх), хорошо развитый комплекс Гольджи (КГ). Цифровая электронограмма. Ув. $\times 20\,000$

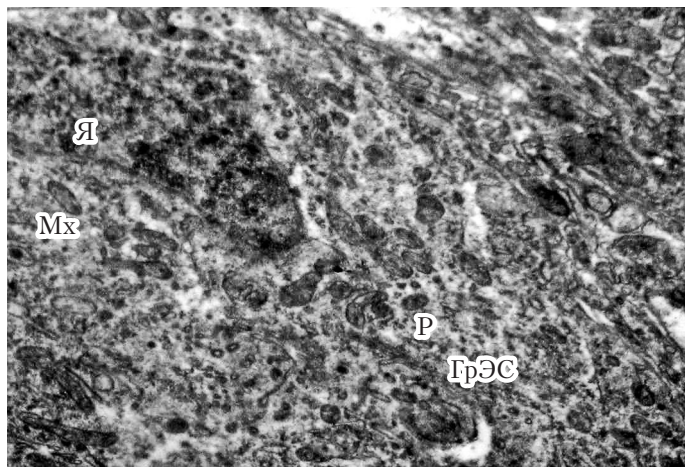


Рис. 5.7. Участок перикариона нейрона гистаминергического ядра E2. Виден край палочковидного ядра (Я), хорошо выраженные митохондрии (Мх), гранулярная эндоплазматическая сеть (ГрЭС), значительное количество свободных рибосом (Р). Цифровая электронограмма. Ув. $\times 13\,000$

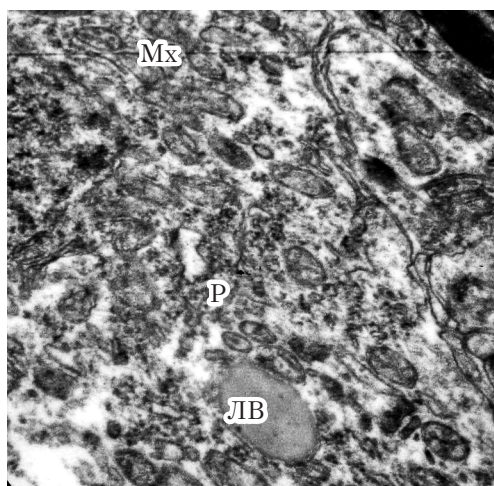


Рис. 5.8. Цитоплазма ядра нейрона ядра E2 гипоталамуса крысы. Видны митохондрии (Мх), значительное количество свободных рибосом (Р), преимущественно в виде полисом, крупные липидные включения (ЛВ). Цифровая электронограмма. Ув. $\times 25\,000$

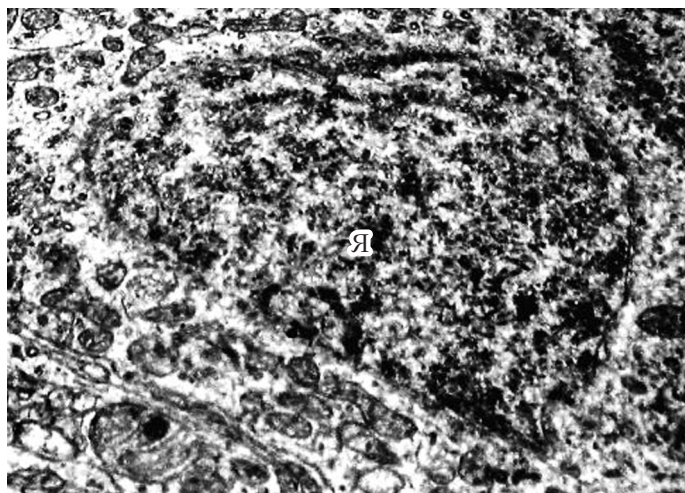


Рис. 5.9. Перикарион нейрона гистаминергического ядра E2 гипоталамуса крысы. Выявляется крупное округлое ядро (Я), многочисленные митохондрии в цитоплазме. Цифровая электронограмма. Ув. $\times 7000$

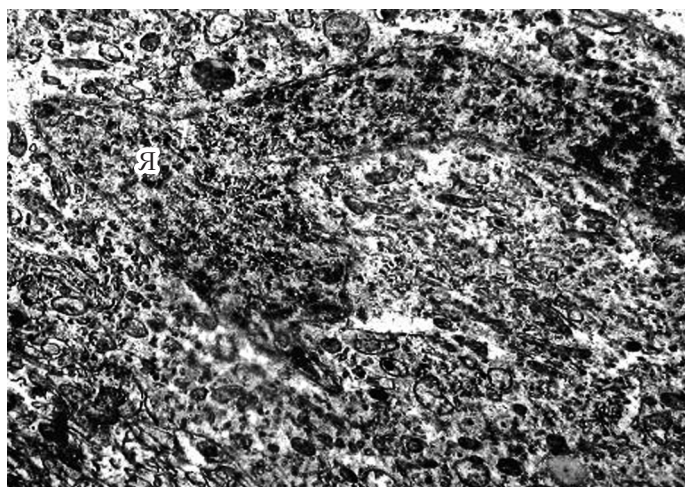


Рис. 5.10. Перикарион крупного гистаминергического нейрона с подковообразным ядром (Я) и многочисленными органеллами в цитоплазме. Цифровая электронограмма. Ув. $\times 6000$

В цитоплазме нейронов гистаминергических ядер гипоталамуса крысы встречаются многочисленные первичные лизосомы мелких размеров, заполненные гомогенным зернистым веществом равномерной плотности, и лизосомы более крупных размеров и с более гетерогенным содержимым (вторичные лизосомы). Некоторые из последних содержат расположенные по периферии вакуоли низкой плотности — липидолизосомы (см. рис. 5.3, 5.8).

В цитоплазме нейронов часто встречаются мультивезикулярные тельца. Это сферические образования, окруженные мембраной, содержащие различные количества небольших округлых или эллипсоидных мембранных пузырьков, а также другие включения, среди которых могут быть гранулы, филаменты, неправильной формы плотные массы и мембраны.

5.3. Ультраструктура нейропиля гистаминергических ядер гипоталамуса крысы

В нейропиле гистаминергических ядер гипоталамуса крысы встречаются немногочисленные миелиновые нервные волокна, большое количество фрагментов дендритов, не покрытых миелиновой оболочкой, окруженных глиальными клетками: олигодендроцитами и отростками астроцитов (см. рис. 5.1). Ядра олигодендроцитов овальной формы. Хроматин в них часто образует глыбки, преимущественно по периферии кариоплазмы ядра. Цитоплазма окружает ядро тонким ободком. Цитоплазматический матрикс отличается довольно высокой плотностью. ГрЭС в перикарионе олигодендроцитов развита хорошо, часто встречаются одиночные цистерны. В цитоплазме относительно много свободных рибосом. КГ развит хорошо, митохондрии плохо заметны на фоне плотной цитоплазмы. Часто встречаются отростки астроцитов (см. рис. 5.1), цитоплазма которых обладает низкой электронной плотностью. В ней часто содержатся гранулы гликогена, рибосомы и пучки фибрилл.

При изучении синаптического аппарата гистаминергических нейронов хорошо выявляются аксосоматические, аксодендритические и изредка аксо-аксональные синапсы (рис. 5.11–5.13).

В аксосоматических синапсах пост- и пресинаптические мембраны имеют одинаковую толщину. Синаптическая щель равна расстоянию между мембранами соседних с областью синапса участков (см. рис. 5.11, 5.12). Два этих признака позволяют отнести аксосоматические синапсы, характерные для гистаминергических нейронов, ко II типу межнейрональных контактов по строению синаптических мембран [162] или симметричным межнейрональным контактам [96].

Синаптические пузырьки в этих синапсах светлые (незначительно осмиофильны по сравнению с окружающей цитоплазмой), округлые, крупные ($\approx 80\text{--}120\text{ нм}$), распределены по всей площади просвета аксона. Небольшое количество пузырьков (8–20) находится у пресинаптической мембраны.

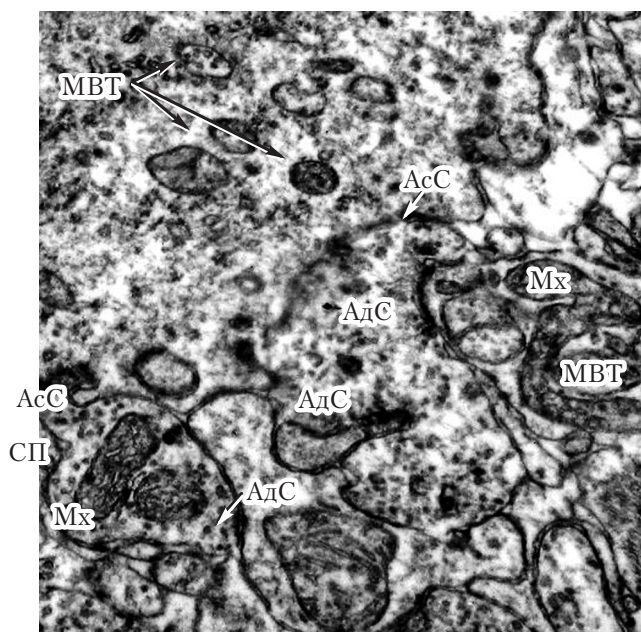


Рис. 5.11. Край перикариона нейрона и нейропиль гистаминергического ядра E2. Видны мультивезикулярные тельца (MBT), аксосоматические (AcC) и аксодендритические (AdC) синапсы с синаптическими пузырьками (СП) и крупными митохондриями (Mx). Цифровая электронограмма.
Ув. $\times 22\,000$

Для аксодендритических синапсов характерны следующие особенности: постсинаптическая мембрана толще пресинаптической; утолщение постсинаптической мембраны представлено субсинаптической сетью, скоплением электронно-плотных точечных

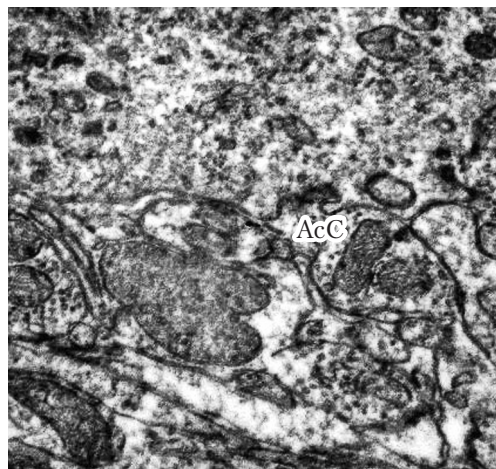


Рис. 5.12. Аксосоматический синапс (AcC) в гистаминергическом ядре (E2) гипоталамуса. Цифровая электронограмма. Ув. $\times 18\,000$

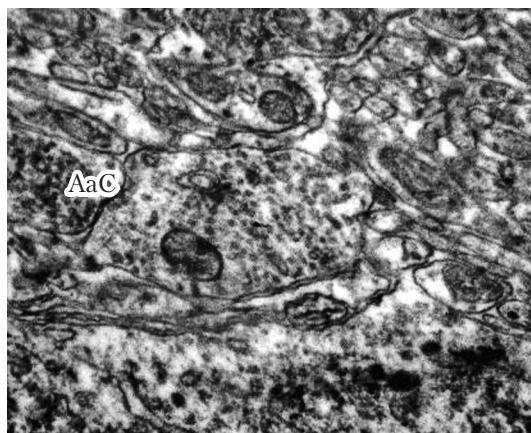


Рис. 5.13. Аксо-аксональный синапс (AaC) в нейрониле гистаминергического ядра гипоталамуса. Цифровая электронограмма. Ув. $\times 22\,000$

и нитевидных субстанций; межсинаптическая щель больше чем расстояние между мембранами соседних с областью синапса участков. Оба вышеперечисленных признака позволяют отнести аксо-дендритические синапсы, характерные для гистаминергических нейронов, к I типу межнейрональных контактов [162], или асимметричным межнейрональным контактам [96]. Синаптические пузырьки в этих синапсах светлые (незначительно осмиофильны по сравнению с окружающей цитоплазмой), округлые, крупные (80–120 нм), неравномерно распределены по всей площади просвета аксона с незначительным количеством пузырьков (8–20) у пресинаптической мембраны.

В немногочисленных аксо-аксональных синапсах постсинаптическая мембрана равна по толщине пресинаптической. Межсинаптическая щель не превышает по ширине расстояние между мембранами соседних с областью синапса участков. Оба вышеперечисленных признака позволяют отнести аксо-аксональные синапсы, характерные для нейропиля гистаминергических ядер, ко II типу межнейрональных контактов по строению синаптических мембран [162], или симметричным межнейрональным контактам [96].

Полученная нами электронно-микроскопическая картина репрезентативного гистаминергического ядра E2 в целом не отличается от таковой, полученной предыдущими исследователями с использованием маркеров гистаминергических нейронов [152, 240, 278]. Показано, что ядра гистаминергических нейронов складчатые, содержат мелкозернистый хроматин и ядрышко, прилежащее к ядерной оболочке, имеющей много пор. Цитоплазма богата органеллами: митохондрии многочисленны, ГрЭС и комплекс Гольджи хорошо развиты. Выявляется значительное количество свободных рибосом, большое количество вторичных лизосом, в том числе и липидолизосом. Часто встречаются мультивезикулярные тельца. В нейропиле гистаминергических нейронов выявляются многочисленные активные аксосоматические, аксодендритические и единичные аксо-аксональные синапсы, причем первые и третьи относятся к симметричным межнейрональным контактам, а вторые — к асимметричным.

Ультраструктура нейронов гистаминергического ядра E2 хорошо согласуется с высокой метаболической активностью этих нейронов, выявленных в нашем исследовании гистохимически. В част-

ности, высокой активности маркерных ферментов митохондрии, сукцинатдегидрогеназы и МАО соответствует большое количество митохондрии в их цитоплазме, а высокой активности дегидрогеназы восстановленного НАДФ — развитая гладкая цитоплазматическая сеть. Кроме того, ярко выраженная способность кариолеммы к образованию крупных складок и большое количество в ней ядерных пор, а также хорошо развитая эндоплазматическая сеть и комплекс Гольджи говорят о выраженных синтетических и энергетических процессах, протекающих в этих нейронах. В целом, ультраструктура гистаминергических нейронов свидетельствует об их высокой метаболической и функциональной активности.

Таким образом, предложенный метод подготовки образцов мозга для электронно-микроскопического исследования с использованием криостатных срезов и гистохимического контроля на МАО Б позволяет избирательно изучать ультраструктуру мелких гистаминергических ядер гипоталамуса крысы. Ядра гистаминергических нейронов крупные, палочковидной, иногда изогнутой (подковообразной) формы, располагаются в центре перикарионов. Хроматин мелкозернистый, образует скопления в центре и на периферии ядра. Ядрышко компактное, расположено эксцентрично. Цитоплазма богата органеллами. Митохондрии многочисленны, округлой и овальной формы, мелких и средних размеров. Эндоплазматическая сеть и комплекс Гольджи хорошо развиты. Выявляется значительное количество свободных рибосом, лизосом, в том числе и липидолизосом. Часто встречаются мультивезикулярные тельца. В нейропиле гистаминергических нейронов выявляются аксосоматические, аксодендритические и аксо-аксональные синапсы, причем первые и третьи относятся к симметричным межнейрональным контактам, а вторые — к асимметричным. Синаптические пузырьки в этих синапсах светлые, округлые, крупные. В целом ультраструктура гистаминергических нейронов свидетельствует об их высокой метаболической и функциональной активности.

Глава 6

ТРАНСПОРТ И МЕТАБОЛИЗМ ГИСТАМИНА В МОЗГЕ

Доказательством существования нейронального гистамина явилось его обнаружение в мозге линейных мышей без тучных клеток [401]. Показано, что у мышей с врожденным отсутствием тучных клеток содержание гистамина и его первого метаболита телеметилгистамина (за исключением гипоталамуса) не отличается от их уровней у контрольных мышей с нормальным содержанием тучных клеток в мозге [211]. Аналогичные данные были получены и в другом исследовании [315], в котором авторы не обнаружили различий в содержании гистамина в целом мозге, его отделах и субклеточных фракциях мозга линейных мышей с генетической недостаточностью тучных клеток по сравнению с нормальными мышами. Это убедительно подтверждает большой вклад гистаминергических нейронов в образование гистамина и его метаболитов в мозге, хотя ранее было показано, что около половины гистамина мозга содержится в ненейрональном компартменте мозга, с низкой активностью ГДК — в тучных клетках [114].

У многих видов животных соотношение общемозгового гистамина и гистамина тучных клеток меняется в зависимости от того, где происходит синтез амина и реализация его действия на нейрональные рецепторы. Например, во время воспаления это отношение уменьшается, так как обмен гистамина в тучных клетках происходит намного медленнее, чем в нейронах [167, 367]. Была отмечена выраженная миграция тучных клеток в головной мозг голубя в период ухаживания [167], хотя нет доказательств, что гистамин, синтезированный данными тучными клетками, явился причиной подобного поведения.

Результаты многочисленных исследований распределения нейронального гистамина среди микроотделов мозга у разных видов млекопитающих суммированы в обзоре [401]. Максимальная концентрация гистамина обнаружена в гипоталамусе.

6.1. Транспорт гистидина

Метаболический предшественник гистамина — гистидин — свободно проникает через ГЭБ, а затем с помощью белка-транспортера L-аминокислот в гистаминергические нейроны мозга [71]. Транспорт гистидина в мозге не зависит от ионов натрия, кальция и магния, но зависит от ионов калия и хлора, является энергозависимым и связан с субклеточной фракцией синапсом. Обнаружен высоко- ($K_m = 35 \text{ мкМ}$) и низкоаффинный (мМ уровень) захват гистидина. Выраженность высокоаффинного захвата гистидина в областях мозга коррелирует с предполагаемой плотностью там гистаминергических волокон. Поскольку транспорт гистидина не нарушается предварительной деполяризацией синапсом, авторы считают, что он не играет регуляторную роль в синтезе гистамина [90].

6.2. Синтез нейронального гистамина. Гистидиндекарбоксилаза

Гистамин синтезируется в мозге из аминокислоты L-гистидина с помощью фермента гистидиндекарбоксилазы (ГДК). Единственным местом синтеза нейронального гистамина в мозге является задний гипоталамус, где расположены тела гистаминергических нейронов. Здесь обнаружена максимальная в мозге активность ГДК [290].

Распределение ГДК в мозге впервые исследовано непрямым иммунофлюоресцентным методом с помощью поликлональных антител против этого фермента, полученных Т. Watanabe [112, 143]. При этом иммунореактивность ГДК обнаружена в телах гистаминергических нейронов заднего гипоталамуса и в их отростках в различных отделах мозга, расположение которых подробно описано соответственно в 1 и 8 главах этой книги.

С помощью синтетических олигонуклеотидных проб мРНК ГДК выявляется также только в телах гистаминергических нейронов заднего гипоталамуса [82].

(S)- α -флюорометилгистидин ((S)- α -fluoromethylhistidine) является специфическим и эффективным необратимым ингибито-

ром ГДК. После его введения наблюдается резкое снижение уровня гистамина в мозге. В исследованиях также используются и активаторы ГДК, например обнаруженный японскими учеными стрептококковый эндотоксин, тетрадеcanoильфобол (tetradecanoylphobol acetate). Клонирован человеческий ген ГДК; среди нейронов мозга он экспрессируется только в ТМ-нейронах гипоталамуса. Выведены также ГДК-нокаутные мыши [412].

6.3. Выделение гистамина нейронами

Гистаминергические аксоны редко образуют типичные синапсы; вместо этого они выделяют гистамин через варикозные расширения — цепочки утолщений аксонов, содержащих синаптические пузырьки [115, 296] (рис. 6.1). Гистаминергические нервные волокна, как и у других аминергических нейротрансмиттерных систем, имеют множество варикозных расширений, что предполагает

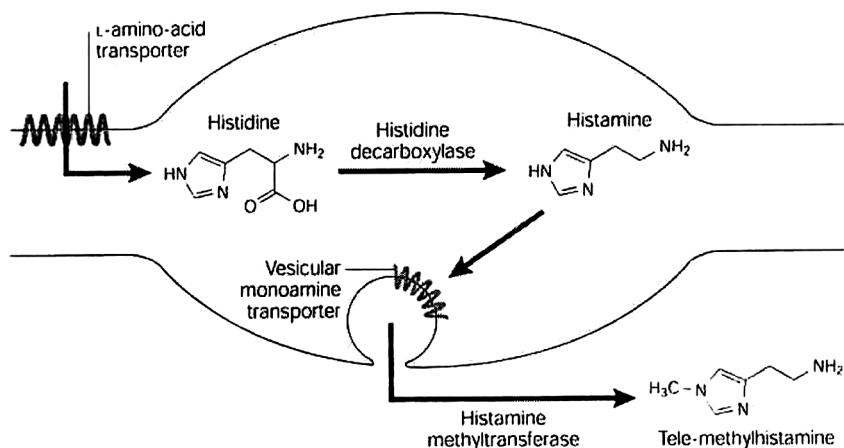


Рис. 6.1. Транспорт и метаболизм гистамина в нейронах [по 167]. Транспорт L-аминокислот переносит L-гистидин в нейрон, где с помощью специфического фермента ГДК синтезируется гистамин. Последний захватывается пузырьками с помощью везикулярного транспортера моноаминов. После выделения гистамин метилируется гистаминметилтрансферазой, которая локализуется постсинаптически и в глиальных клетках, до теле-метилгистамина, не обладающего эффектами гистамина

преимущественно внесинаптический путь выброса гистамина [167]. Считают, что гистамин в большей степени действует на нейроны, глиальные клетки и кровеносные сосуды как местный гормон [112].

Синтез и выделение гистамина находится под контролем H_3 -гистаминовых ауторецепторов, находящихся на телах и аксонных терминалях гистаминергических нейронов [57, 58, 74, 271]. Кроме того, выделение гистамина в терминалях контролируется холино-, адрено-, опиоидными, галаниновыми рецепторами на гистаминергических нейронах, а также NO в соответствии с циркадными и другими ритмами [75].

6.4. Гистаминкатаболизирующие ферменты мозга

Специфические и эффективные системы обратного захвата гистамина в ЦНС не обнаружены. Поэтому единственным путем инактивации гистамина после его выделения из аксонов гистаминергических нейронов мозга считается его катаболизм [75, 167]. Однако недавно во фракции P2 гомогенатов мозга крысы показана возможность захвата меченого гистамина с K_m 0,16 и 1,2 μM . Этот процесс зависел от концентрации ионов в среде и температуры. Эти данные указывают на присутствие специфической системы обратного захвата гистамина в мозге, хотя молекулярные механизмы этого процесса еще не установлены [144].

В мозге гистамин превращается ферментом гистамин-N-метилтрансферазой в теле-метилгистамин. Этот фермент обнаруживают во всех областях мозга, его локализация в общих чертах сходна с гистаминергической иннервацией, но более однородна, так как фермент находится как в нейронах, так и в глиальных клетках [71]. Теле-метилгистамин затем превращается с помощью MAO Б в N-телеметил-имидазол-ацетальдегид, а затем с помощью фермента альдегиддегидрогеназы в N-теле-метилимидазолуксусную кислоту [47].

На периферии около 30–40 % гистамина окисляется диаминооксидазой (гистаминазой) и альдегидоксидазой до имидазолуксусной кислоты, которая является полным агонистом ГАМК-рецепторов типа A. Это может иметь место и в головном мозге при угнетении гистаминметилтрансферазы [228].

В отличие от гистидиндекарбоксилазы, топография гистаминкатаболизирующих ферментов в мозге описана недостаточно.

6.5. Гистамин-N-метилтрансфераза

Гистамин-N-метилтрансфераза (ГМТ) (КФ 2.1.1.8) является первым гистаминкатаболизирующим ферментом мозга. Она катализирует метилирование гистамина, в результате чего образуется теле-метилгистамин, неактивный в отношении гистаминовых рецепторов. При угнетении ГМТ уровень гистамина в мозге возрастает. При системном введении ингибиторов ГМТ методом прижизненного микродиализа в межклеточной жидкости заднего гипоталамуса обнаружено увеличение уровня гистамина. Этот эффект усиливается при дополнительном введении антагониста гистаминовых H_3 -рецепторов тиоперамида, который усиливает синтез гистамина в гистаминергических нейронах гипоталамуса [57]. Введение ингибиторов ГМТ также усиливает фармакологическое действие экзогенного гистамина в мозге, что указывает на важную роль фермента в прекращении действия гистамина [290].

Исследование регионального распределения активности ГМТ и ее белка (Western blotting) в мозге быка показало, что ГМТ максимальна в среднем мозге и мозжечке и минимальна в заднем гипоталамусе. Топографическое распределение ГМТ в мозге быка исследовано иммуногистохимически с помощью кроличьих поликлональных антител против ГМТ мозга быка. В перикарионах гистаминергических нейронов заднего гипоталамуса обнаружена только слабая ее иммунореактивность; она была даже ниже, чем в нейронах других ядер гипоталамуса, например паравентрикулярного. Сильно иммунореактивные нейроны были обнаружены в глазодвигательных и красных ядрах среднего мозга, лицевом ядре моста, в дорсальном ядре вагуса и подъязычном ядре продолговатого мозга, а также в переднем роге спинного мозга [209]. Следовательно, высокую активность ГМТ в мозге быка имеют мотонейроны ствола мозга, то есть эффекторные нейроны, регулирующие двигательную активность. Интересно, что в этих же типах нейронов ствола мозга ранее нами обнаружена и очень высокая активность альдегиддегидрогеназы — третьего гистаминкатаболизирующего фермента мозга [7].

Нейроны со средней иммунореактивностью обнаружены в периформной коре и ядрах нижней оливы. Серое вещество переднего мозга было диффузно и слабо окрашено. В мозжечке и стриатуме

иммунопозитивны нервные волокна белого вещества. Другими иммунопозитивными структурами в ЦНС были кровеносные сосуды. Положительная иммуногистохимическая реакция в них наблюдалась во всех слоях артерий и вен. Она может быть связана с метаболизмом гистамина тучных клеток, сопровождающих кровеносные сосуды мозга. ГМТ может предупреждать проникновение гистамина из крови в мозг, входя в состав гемато-энцефалического барьера, в частности метаболического барьера для гистамина. Астроциты не окрашивались при выявлении иммунореактивности ГМТ. На основании этого авторы считают, что гистамин, выделяемый из варикозных расширений аксонами гистаминергических нейронов, метаболизируется преимущественно не глиоцитами, а постсинаптическими нейронами [209]. По нашим гистохимическим данным, высокая активность альдегиддегидрогеназы также выявлялась в стенках всех кровеносных сосудов, но также и в астроцитах [439].

Высокая активность ГМТ обнаружена и биохимически в эндотелии микрососудов коры головного мозга и периферических органов морской свинки [354].

Было принято считать, что ГМТ является растворимым цитозольным ферментом. Однако неясно, как гистамин, выделяемый в межклеточное пространство, достигает ГМТ. Показано, что синапсомы мозга мыши содержат мембраносвязанную ГМТ, обеспечивающую внеклеточный метаболизм гистамина в терминалях [62].

В астроцитах мозга человека с помощью иммуногистохимии и субклеточного фракционирования показана локализация ГМТ в цитозоле. В астроцитах установлены два транспортера гистамина с высоким сродством, $\text{Na}(+)$, $\text{Cl}(-)$ независимые: транспортер органических катионов (ОСТ3) и транспортер моноаминов плазматической мембраны (РМАТ), обеспечивающие регуляцию концентрации экстранейронального гистамина и активность гистаминергических нейронов [274].

6.6. Топография MAO Б в мозге

Активность MAO Б присутствует в серотонинергических нейронах ствола головного мозга, причем она возрастает в ростральном направлении. Так, умеренную активность MAO В имеют нейроны *n. raphe pallidus* продолговатого мозга, более активны нейроны

n. raphe obscurus и *n. raphe magnus*, а наибольшая активность обнаружена в нейронах групп В5 (*n. raphe pontis*), В6 (над *n. tegmentalis dorsalis*), В7 (*n. raphe dorsalis*), В8 (*n. raphe medianus*), В9 (над *lemniscus medialis*).

Очень высокая активность МАО Б обнаружена в гистаминергических нейронах гипоталамуса, особенно в *n. tuberomammillaris*, *dorsomedialis* и *ventromedialis*. Активность МАО Б выявляется и в неаминаергических нейронах таламуса и переднего мозга, нейронах *n. olivaris inferior*, ростральной части *fasciculus longitudinalis medialis*, *n. parabrachialis medialis*, *n. interpeduncularis* задней части мозга [25, 26]. Интерес вызывает присутствие активности МАО Б в нейронах вблизи *canalis centralis* и *aqueductus*, так как эти нейроны предположительно ликвор-контактны и могут иметь отношение к барьерным структурам мозга [55].

В целом полученные нами результаты вполне соответствуют данным предыдущих гистохимических исследований общей суммарной активности МАО А и Б, определяемой как на предварительно фиксированном мозге крысы [53], так и с применением ингибиторов на свежемороженом нефиксированном мозге крысы [420]. Однако ввиду более высокой чувствительности нашей модификации гистохимического метода были выявлены некоторые новые группы нейронов, которые ранее в мозге крысы определить не удавалось. Это коррелирует с данными других исследователей. К примеру, клеточную группу нейронов вокруг *canalis centralis* на уровне перехода спинного мозга в продолговатый и ростральнее, четко выявляемую нашим методом как позитивную по МАО Б, ранее удалось определить в мозге кошки иммуногистохимически с предварительным введением в латеральные желудочки мозга колхицина, блокирующего аксональный транспорт нейромедиаторов [113].

Иммуногистохимические исследования также обнаружили присутствие МАО Б в серотонинергических нейронах мозга крысы [248], приматов [108] и человека [408]. Вероятно, преобладание МАО Б в серотонинергических нейронах ядер шва мозга, несмотря на то что в физиологических концентрациях серотонин дезаминируется другим изоферментом, говорит как о каких-то важных физиологических функциях этих нейронов, не имеющих отношения к непосредственному функционированию серотонинергической нейромедиаторной системы, так и о вероятности каких-то особых, малоизученных функций МАО Б [289, 430].

В циркумвентрикулярных органах (*area postrema*, субфornикальный и субкомиссуральный орган, эпифиз) выявляется высокая активность МАО Б. Активность МАО А в этих структурах мозга не выявляется. Высокая активность МАО Б обнаружена в глиальных клетках (в основном в астроцитах) практически во всех регионах мозга. Наибольшее количество глиальных клеток обнаружено в *lamina glomerularis nervi olfactorii* и *n. caudatus* переднего мозга, в несколько меньшем количестве они встречаются в других областях, особенно вблизи желудочков мозга и даже в белом веществе проводящих путей. Можно предполагать, что астроциты вовлекаются в процессы деградации гистамина.

В эпендимоцитах всей ликвор-проводящей системы мозга выявляют очень высокую активность МАО Б, особенно в эпендимоцитах нижней части третьего желудочка мозга (таницитах) и в их отростках, контактирующих с близлежащими нейронами и глиальными клетками [25, 26]. Предполагают [83], что физиологическая роль МАО в эпендимоцитах сводится к регуляции уровня моноаминов в ликворе. МАО Б в глиальных клетках может вовлекаться в деградацию аминов межклеточного пространства как в физиологических условиях, так и при патологических состояниях [148, 364].

Капилляры во всех областях мозга выявляют умеренную активность МАО обеих форм с преобладанием МАО Б. Преобладание МАО Б во всех клетках, относящихся к барьерным структурам мозга, вероятно, свидетельствует о важности именно этого изофермента в их функционировании. МАО Б, по всей вероятности, дезаминирует гистамин и некоторые другие амины крови и ликвора, не пропуская их в ткань мозга [25].

6.7. Активность МАО Б в нейронах различных гистаминергических ядер гипоталамуса крысы

Активность основного гистаминметаболизирующего фермента в нейронах различных ядер гипоталамуса значительно варьирует. Наибольшая активность МАО Б наблюдалась в ядре E2, наименьшая — в E5 (в ядре с самыми крупными нейронами) (табл. 6.1; рис. 6.2–6.4).

Таблица 6.1
Активность МАО Б в нейронах гистаминергических ядер мозга крысы
(в единицах оптической плотности $\times 10^3$)

Название ядра	E1	E2	E3	E4	E5
$M \pm m$	863,33 \pm 64,84	918,45 \pm 13,63	863,55 \pm 15,77	797,83 \pm 20,92	764,50 \pm 39,94
p	E1	E2	E3	E4	E5
E1	—	0,43	0,98	0,36	0,23
E2	—	—	0,03*	0,001**	0,006**
E3	—	—	—	0,04*	0,05*
E4	—	—	—	—	0,48

* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$.

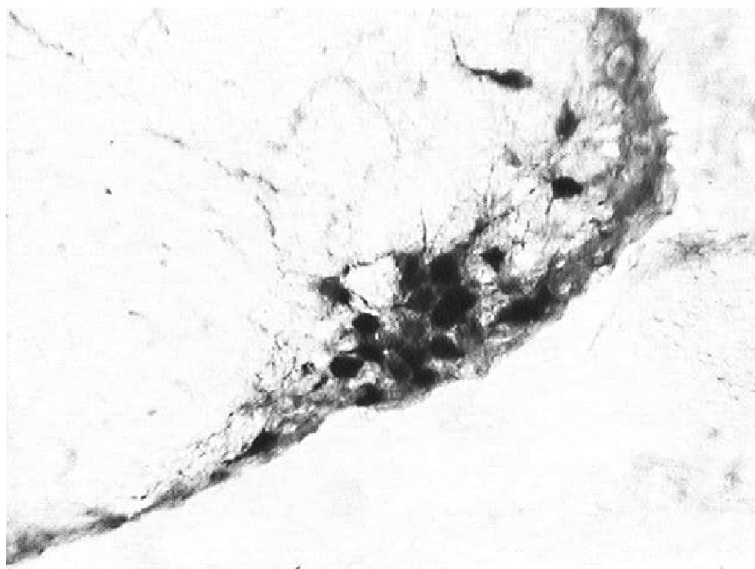


Рис. 6.2. MAO Б-активные нейроны в ядре E1 гистаминергических нейронов по методу Зиматкина, Цыдика (1994). Фронтальный срез в области заднебазального гипоталамуса ($P = -4,80$ мм). Об. $\times 40$. Цифровая микрофотография

Анализ распределения гистаминергических нейронов по активности MAO Б показал, что нейроны с очень высокой активностью фермента встречаются только в ядрах E1–E3. Напротив, в этих ядрах встречаются лишь единичные нейроны с низкой активностью MAO Б тогда как в ядрах E4–E5 их более 20 % (см. рис. 6.3).

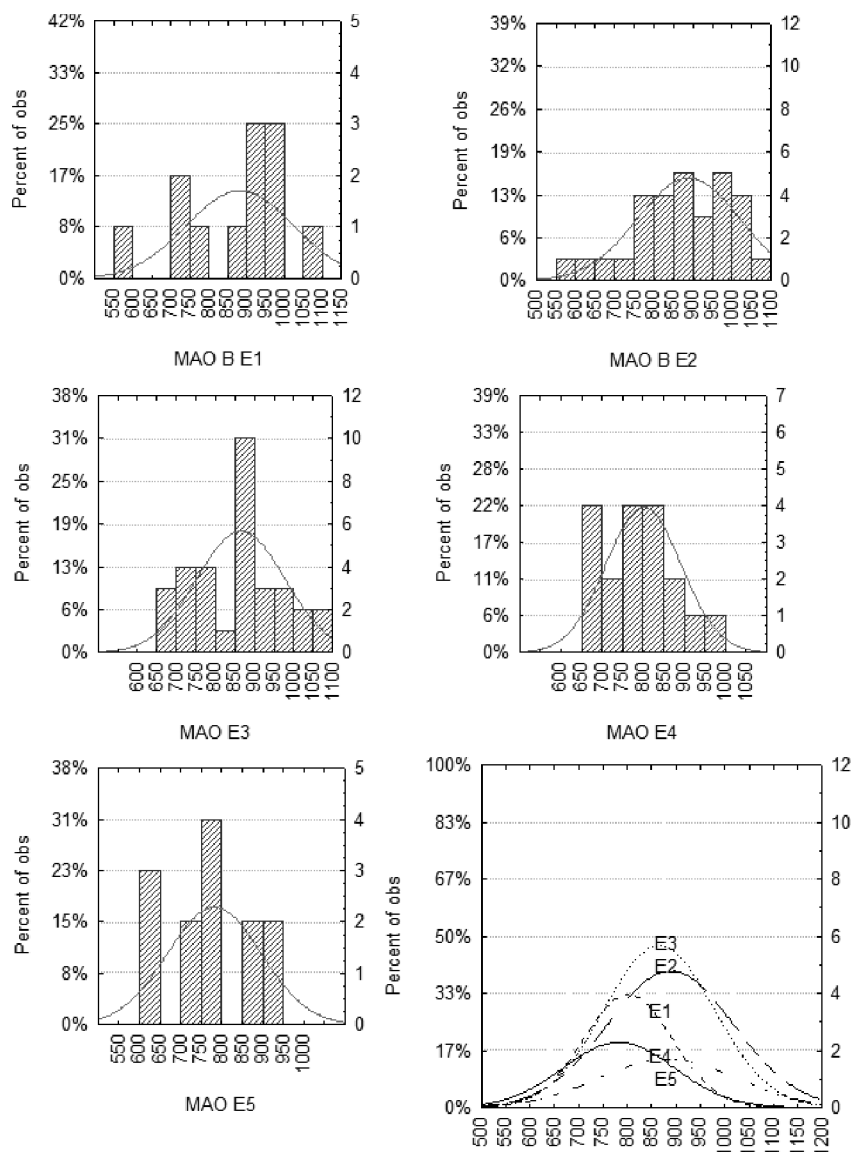


Рис. 6.3. Гистограммы распределения активности MAO Б в нейронах разных гистаминергических ядер мозга крысы

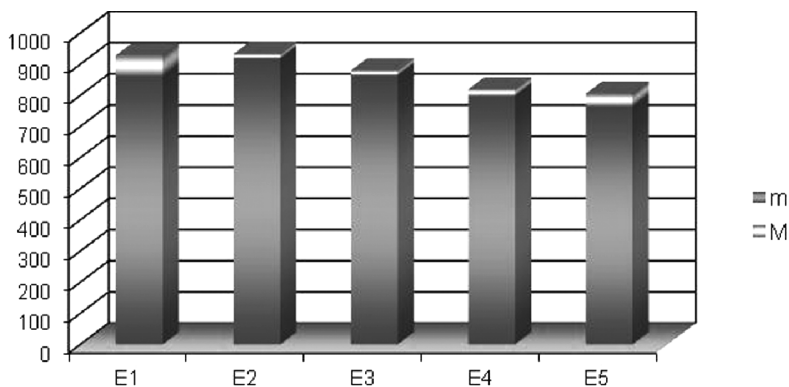


Рис. 6.4. Активность MAO Б в цитоплазме нейронов различных гистаминергических ядер гипоталамуса (в единицах оптической плотности $\times 10^3$)

6.8. Локализация в мозге альдегиддегидрогеназы

Альдегиддегидрогеназа (КФ 1.2.1.3; АльДГ) является основным ферментом, окисляющим альдегиды в головном мозге. Этот фермент мозга недавно подробно описан в монографии [14]. Поэтому здесь будет кратко освещено только топографическое распределение фермента среди микроотделов и разных типов клеток мозга.

Показано, что активность АльДГ распределяется по отделам мозга быка довольно равномерно: мозжечок — 1,8; кора — 3,5; продолговатый мозг — 3,8; хвостатое ядро — 4,9; таламус — 3,4; гипоталамус — 3,2; эпифиз — 2,0 ед. [140]. Среди 17 исследованных областей мозга человека наибольшая активность АльДГ с низким значением Км обнаружена в мозжечке, а с высоким — в зрительных буграх [215]. Активность АльДГ в мозжечке крысы была достоверно выше, чем в коре мозга, подкорковых ядрах, промежуточном мозге и стволе [372]. Во всех этих работах отмечена низкая вариабельность активности АльДГ среди областей мозга: крайние варианты различались между собой всего в 2–4 раза, что указывает на малую информативность исследования гомогенатов крупных

отделов мозга, дающих лишь усредненную активность фермента всех микроотделов и типов клеток, входящих в них.

Многие исследователи пытались связать локализацию АльДГ с аминергическими системами мозга, но при этом были получены прямо противоположные результаты. Так, через 4 недели после односторонней электрокоагуляции нигростриального тракта у кошек [32] и через 8 дней после введения 6-гидроксидофамина в черную субстанцию крыс [40] выявлено отчетливое снижение активности АльДГ в полосатом теле мозга животных. Обе группы авторов сделали вывод о значительном содержании АльДГ в дофаминергических нейронах. Однако при разрушении восходящих дофаминергических путей снижение активности АльДГ в мозге крыс обнаружено не было [32]. Внутрицистернальное введение 6-оксидофамина также не влияло на активность АльДГ, что, по мнению авторов [380], свидетельствует об отсутствии АльДГ в катехоламинергических нервных окончаниях. Применительно к гистаминергическим нейронам мозга этот фермент никто не исследовал.

Биохимическими методами показано, что альдегидокисляющая способность фракции капилляров и глиальных клеток мозга в 5–6 раз выше, чем нервных клеток; активность АльДГ во фракции микрососудов в 1,5 раза больше, чем в сером веществе мозга [325]. Однако в этих исследованиях не исключено присутствие нейронных структур во фракции микрососудов и глиоцитов, а потому они не раскрывают регионарных различий и не очень убедительно подтверждают существование в мозге метаболических барьеров для альдегидов.

Принципиально новые возможности для изучения локализации и топографического распределения, картирования АльДГ в структурах мозга открыл гистохимический метод [12]. Он позволил исследовать активность АльДГ в строго определенных морфофункциональных системах и типах клеток ЦНС, создать представление о пространственной организации АльДГ мозга животных и человека [439]. Было установлено, что АльДГ ЦНС имеют множественную локализацию, а топографическое распределение их активности в мозге носит закономерный характер. Среди нейронных структур наиболее высокая активность АльДГ обнаружена в перикарионах (телах) рецепторных (1100–1300 ед.) и эффекторных (500–800 ед.) нейронов мозга; в промежуточных нейронах она зна-

чительно ниже (100–300 ед.). В нейропиле (отростки и окончания нейронов) активность фермента максимальна в области окончаний рецепторных нейронов (200–500 ед.), а в белом веществе — в проводящих путях, образованных аксонами эффекторных и рецепторных нейронов (90–130 ед.).

Обнаружена прямая связь активности АльДГ с филогенетическим (эволюционным) возрастом структур ЦНС [439]. Активность фермента убывает в коре мозга от древней к старой, промежуточной и новой, а в нервных и глиальных клетках — от спинного и заднего мозга к промежуточному и конечному. В зрительных буграх повышенной активностью АльДГ обладают более древние ядра передней и медиальных групп, а в коре мозжечка — отделы, имеющие больший филогенетический возраст.

АльДГ мозга пространственно сопряжена с дофаминергическими терминалями, моноаминоксидазой, НАДН-дегидрогеназой и областями интенсивного захвата ^{14}C -дезоксиглюкозы, т.е. с зонами повышенного образования биогенных альдегидов различного происхождения, подлежащих дальнейшему окислению [439]. К сожалению, специально в гистаминергических нейронах этот фермент пока не исследовали.

Среди глиальных структур ЦНС максимальная активность АльДГ выявляется в эпендимоцитах сосудистых сплетений (1200–1300 ед.), высокая — в эпендимоцитах, выстилающих желудочки мозга и образующих циркумвентрикулярные органы (600–1100 ед.), средняя — в олигодендроцитах и астроцитах (200–500 ед.), а также в эндотелии капилляров различных областей мозга (150–250 ед.). Это прямо указывает на существование нескольких метаболических барьеров для альдегидов: между кровью, ликвором, интерстициальной жидкостью мозга и нервными клетками, ограничивающими проникновение этих соединений в ЦНС [6, 439].

6.9. Кругооборот и период полужизни гистамина в мозге

Установлено, что среди 9 отделов головного мозга крысы скорость кругооборота гистамина (по накоплению теле-метилгистамина после угнетения МАО паргилином) была максимальной в ги-

поталамусе (108 нг/г/час), очень высокой в стриатуме (80 нг/г/час) и минимальной в мозжечке; в спинном мозге накопление телеметилгистамина не выявлялось. При этом период полужизни гистамина (время уменьшение вдвое содержания гистамина после введения ингибитора ГДК флюорометилгистидина) был наименьшим в стриатуме (7,7 мин) и наибольшим в гипоталамусе и таламусе (около 50 мин) [307].

Сходные данные были получены и в другой работе, где тоже исследовали накопление теле-метилгистамина в 9 отделах мозга крысы после введения паргилина, который не менял содержание гистамина. Наибольший кругооборот гистамина обнаружен в гипоталамусе (1,33 нМ/г/час), а минимальный — в мозжечке (0,029 нМ/г/час). Интересно, что кругооборот гистамина хорошо коррелировал с исходным уровнем в отделах мозга теле-метилгистамина ($r = 0,97$) и гистамина ($r = 0,84$). Период полужизни гистамина был минимальным в стриатуме и фронтальной коре (11 мин) и максимальным в гипоталамусе, что соответствует расположению там тел гистаминергических нейронов. При этом скорость кругооборота гистамина можно считать показателем активности гистаминергической системы мозга [211].

В целом скорость кругооборота нейронального гистамина в мозге довольно высока. В различных отделах мозга мышей время полужизни нейронального гистамина колеблется от 13 до 38 мин, а у морских свинок — от 24 до 37 мин. Исключение составляет гипоталамус морских свинок, имеющий гораздо более продолжительный период полужизни гистамина — 87 мин. [298].

Аналогичные результаты были получены и в более позднем исследовании [379]. Период полужизни нейронального гистамина в мозге млекопитающих составляет 30–60 мин., что значительно меньше, чем в тучных клетках (4 дня). Наибольшая скорость кругооборота гистамина обнаружена в гипоталамусе [379].

Таким образом, метаболический предшественник гистамина, гистидин, свободно поступает из крови в мозг, в гистаминергические нейроны. Только в этих нейронах из аминокислоты L-гистидина с помощью фермента гистидиндекарбоксилазы синтезируется гистамин. Специфические и эффективные системы обратного захвата гистамина в ЦНС не обнаружены, поэтому единственным путем удаления гистамина после его выделения в терминалях

является его катаболизм. Гистамин катаболизируется последовательно тремя ферментами: гистамин-N-метилтрансферазой до теле-митилгистамина (не обладает активностью гистамина, не связывается с гистаминовыми рецепторами), который затем превращается с помощью МАО Б в N-теле-метилимидазолацетальдегид, а затем с помощью фермента альдегиддегидрогеназы в N-теле-метилимидазолуксую кислоту. Топографическое распределение гистаминметаболизирующих ферментов в мозге значительно различается. Скорость кругооборота гистамина, являющаяся показателем активности гистаминергической системы, в мозге довольно высока, с максимумом в гипоталамусе. Период полужизни нейронального гистамина в мозге млекопитающих составляет 30–60 мин., что значительно меньше, чем в тучных клетках (4 дня).

Глава 7

ОСОБЕННОСТИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА ГИСТАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ МОЗГА

7.1. Содержание в гистаминергических нейронах мозга других медиаторов или их ферментов, прямо не связанных с обменом гистамина

Кроме гистамина, ТМ-нейроны содержат некоторые другие нейротрансмиттеры и нейромодуляторы. Гистаминергические нейроны содержат ГАМК-синтезирующий фермент, глутаматдекарбоксилазу и саму ГАМК [135]. Это, по-видимому, имеет функциональное значение, поскольку ТМ-нейроны образуют мощную, широко распространенную систему, опосредующую общее угнетение ЦНС [167].

ГАМК обнаружена во всех гистаминергических нейронах гипоталамуса у крыс, мышей и морских свинок. 14 % гистаминергических нейронов гипоталамуса крыс имеют иммунореактивность тиротропин-релизинг гормона; они располагаются только в медиальной части ТМ-комплекса; у мышей и морских свинок такие нейроны не обнаружены. 45 % гистаминергических нейронов содержали галанин у крыс и 28 % у мышей; они отсутствовали у морских свинок. Большая часть гистаминергических нейронов гипоталамуса у крыс и мышей содержали мет-энкефалин; у морских свинок они не обнаружены. 3 % клеток у мышей и крыс содержали субстанцию Р; они не обнаружены у морских свинок [282]. Функциональные особенности нейронов, содержащих разные нейропептиды, пока не известны.

Методами иммуногистохимического исследования параллельных срезов и двойного-тройного мечения нейронов в одном срезе показана ко-локализация аденозиндиаминазы (АДА), ГДК и глутаматдекарбоксилазы в одних и тех же нейронах гипоталамуса крысы. Среди ТМ-нейронов встречаются отдельные нейроны, содержащие только АДА — фермент, катализирующий превращение аденозина в инозин [94, 375].

Гибридизация *in situ* срезов гипоталамуса крысы выявила 100 % ко-локализации мРНК ГДК и глутаматдекарбоксилазы в гистаминергических нейронах; в 80–97 % мРНК ГДК-содержащих нейронов обнаружена мРНК галанина [168].

7.2. Особенности окислительного и энергетического метаболизма гистаминергических нейронов мозга

Особенности общего и энергетического метаболизма гистаминергических нейронов мозга крысы в литературе не описаны; такое исследование проведено нами впервые [8, 17, 18]. Для этого серийные криостатные срезы гипоталамуса толщиной 20 мкм монтировали на предметные стекла и обрабатывали на выявление активности оксидоредуктаз, связанных с циклом Кребса — сукцинат-дегидрогеназы (сукцинат: акцептор — оксидоредуктаза; КФ 1.3.99.1) [286]; с гликолизом — лактатдегидрогеназы (L-лактат: НАДН-оксидоредуктаза; КФ 1.1.1.27) [171]; с транспортом электронов — НАДН-дегидрогеназы (НАДН: акцептор — оксидоредуктаза; КФ 1.6.99.3) [285]; с пентозофосфатным путем — глюкозо-6-фосфат (D-глюкозо-6-фосфат: НАДФ-оксидоредуктаза; КФ 1.1.1.49) [171], НАДФН-дегидрогеназы [171]. Параллельно на срезах изучали активность МАО Б — ключевого фермента метаболизма гистамина — для более точной локализации гистаминергических нейронов [11].

Для количественной оценки активности изучаемых ферментов проводили цитофотометрию всех гистохимических препаратов на максимуме поглощения окрашенного продукта реакции, формазана (длина волны — 580 нм) с помощью микроабсорбциометр-флюориметра для тонкослойной хроматографии, адаптированного для изучения биологических объектов МФТХ — 2М (ЛОМО, Россия).

7.3. Активность НАДН-дегидрогеназы в нейронах гистаминергических ядер мозга крысы

Самая высокая активность НАДН-ДГ наблюдалась в нейронах ядра E2, самая низкая — в E1. Различия по данному показателю между гистаминергическими ядрами не были статистически достоверны (табл. 7.1; рис. 7.1).

Таблица 7.1
Активность НАДН-ДГ в нейронах гистаминергических ядер и дофаминергическом (аркуатном) ядре (в единицах оптической плотности $\times 10^3$)

Название ядра	E1	E2	E3	E4	E5	Arg
$M \pm m$	$631,33 \pm 54,74$	$710,75 \pm 40,74$ **	$682,52 \pm 44,60$ *	$680,20 \pm 0,02$ **	$642,50 \pm 55,16$	$552 \pm 6,6$
Arg						

* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ по сравнению с аркуатным ядром.

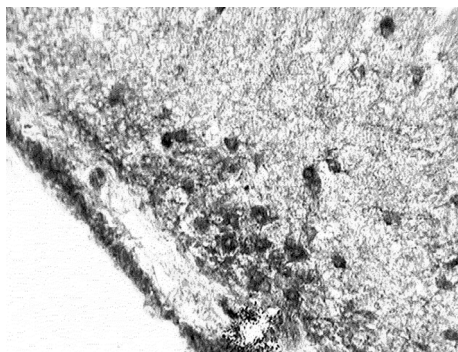


Рис. 7.1. Активность НАДН-ДГ в нейронах ядра E2 крысы по методу Nachlas [285]. Фронтальный срез в области заднебазального гипоталамуса ($P = -4,30$ мм). Об. $\times 40$. Цифровая микрофотография

Активность НАДН-ДГ в нейронах аркуатного ядра статистически достоверно на 22 % ниже, чем активность НАДН-ДГ в ядре E2, на 18 %, чем в ядре E3, и на 12 %, чем в ядре E4 (табл. 7.1; рис. 7.1, 7.2).

Отмечена очень высокая гетерогенность распределения нейронов гистаминергических ядер по активности НАДН-ДГ, по сравнению с нейронами аркуатного ядра гипоталамуса (рис. 7.3).

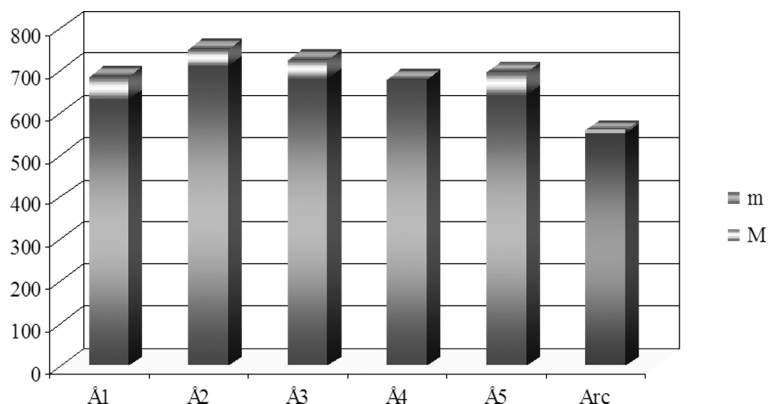


Рис. 7.2. Активность НАДН-ДГ в нейронах гистаминергических (E1–E5) ядер и дофаминергическом (аркуатном) ядре гипоталамуса крысы

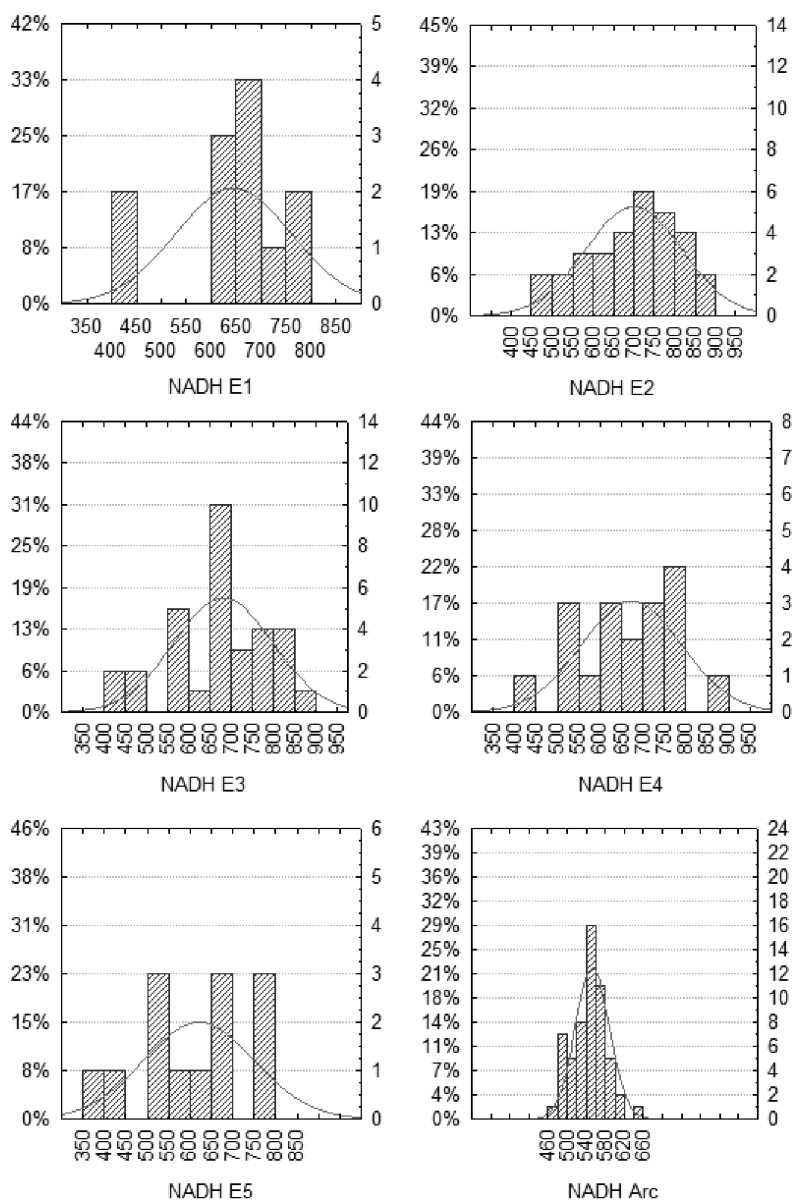


Рис. 7.3. Гистограммы распределения активности НАДН-ДГ в нейронах гистаминергических ядер мозга крысы

7.4. Активность лактатдегидрогеназы в нейронах гистаминергических ядер гипоталамуса крысы

Самая высокая активность ЛДГ наблюдалась в ядре E2, самая низкая — в E1. Уровень активности ЛДГ в E1 был статистически достоверно ниже, по сравнению с E2 на 8 % и с E4 на 5 %. Различия по данному показателю между другими гистаминергическими ядрами не были статистически достоверны (рис. 7.4). Активность ЛДГ в нейронах аркуатного ядра статистически достоверно на 12–20 % ниже, чем активность ЛДГ в гистаминергических ядрах (табл. 7.2; рис. 7.6). Распределение активности ЛДГ в нейронах E1–E4 было сравнительно гомогенным, а в E5 выявлялись две субпопуляции нейронов (рис. 7.5).

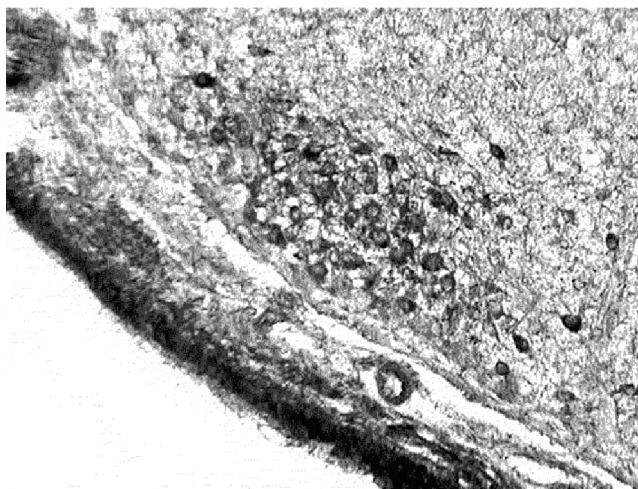


Рис. 7.4. Активность ЛДГ в нейронах ядра E2 по методу Hess [171].
Фронтальный срез в области заднебазального гипоталамуса
($P = -4,30$ мм). Об. $\times 40$. Цифровая микрофотография

Таблица 7.2

Активность ЛДГ в нейронах гистаминергических ядер и аркуатного ядра
(в единицах оптической плотности $\times 10^3$)

Название ядра	E1	E2	E3	E4	E5	Arc
$M \pm m$	$691,33 \pm 10,87$	$748,38 \pm 9,20$	$720,76 \pm 21,53$	$731,50 \pm 10,08$	$729,83 \pm 13,65$	$601,333 \pm 5,4$
p	E1	E2	E3	E4	E5	
E1	—	0,04*	0,26	0,03*	0,06	
E2	—	—	0,27	0,25	0,29	
E3	—	—	—	0,66	0,73	
E4	—	—	—	—	0,92	
Arc	**	**	**	**	**	

* — различия между показателями отдельных ядер достоверны ($p < 0,05$);

** — различия между показателями отдельных ядер достоверны ($p < 0,01$).

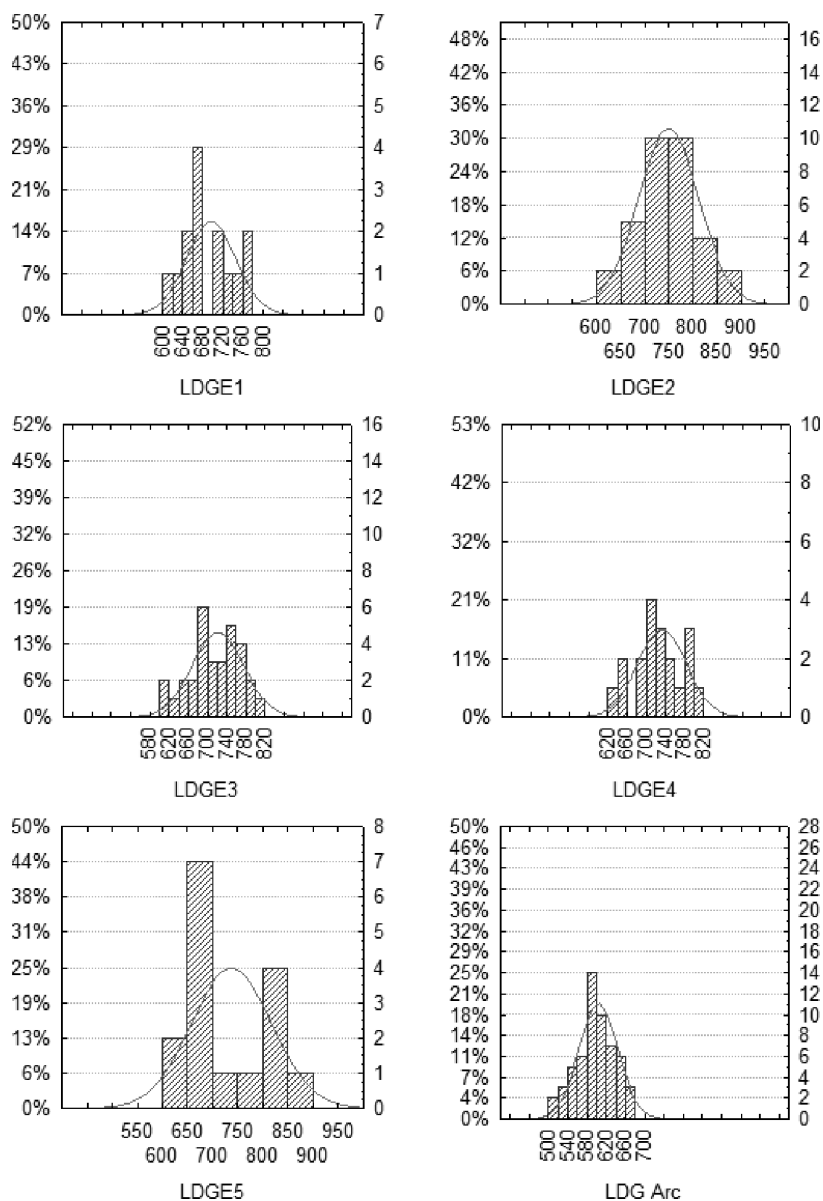


Рис. 7.5. Гистограммы распределения активности ЛДГ в нейронах разных гистаминергических ядер мозга крысы

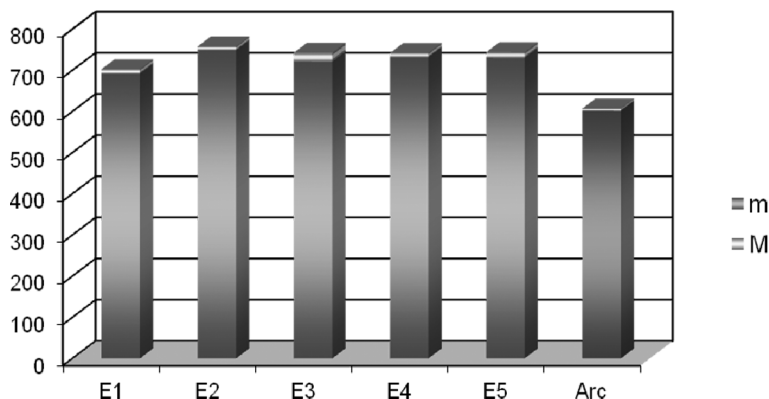


Рис. 7.6. Активность ЛДГ в нейронах гистаминергических E1–E5 ядер и нейронах аркуатного ядра

7.5. Активность дегидрогеназы глюкозо-6-фосфата в нейронах гистаминергических ядер гипоталамуса крысы

Наибольшая активность Г-6-Ф-ДГ наблюдалась в ядре E2, наименьшая — в E5. Уровень активности Г-6-Ф-ДГ в E3 был статистически достоверно выше по сравнению с E5 на 4 %. Различия по данному показателю между другими гистаминергическими ядрами не были статистически достоверны (табл. 7.3; рис. 7.7–7.9).

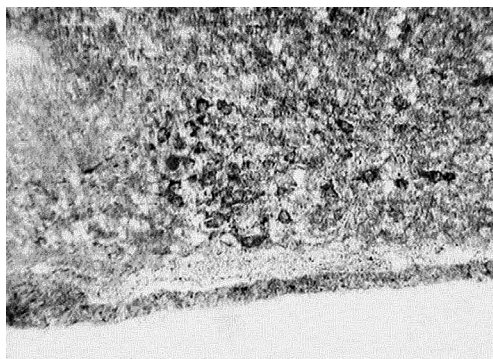


Рис. 7.7. Активность Г-6-Ф-ДГ в нейронах гистаминергического ядра E3 по методу Hess [171]. Срез головного мозга в области заднебазального гипоталамуса ($P = -4,30$ мм). Цифровая микрофотография. Об. $\times 40$

Таблица 7.3
Активность Г-6-Ф-ДГ в нейронах гистаминергических ядер и аркуатного ядра
(в единицах оптической плотности $\times 10^3$)

Название ядра	E1	E2	E3	E4	E5	Arc
$M \pm m$	428,17 \pm 10,04	435,57 \pm 8,31	420,40 \pm 10,09	414,90 \pm 5,25	404,66 \pm 3,89	484,9 \pm 8,7
p	E1	E2	E3	E4	E5	
E1	—	0,59	0,60	0,28	0,06	
E2	—	—	0,28	0,07	0,01*	
E3	—	—	—	0,64	0,18	
E4	—	—	—	—	0,16	
Arc	**	**	**	**	**	

* — различия между показателями отдельных ядер достоверны ($p < 0,05$);

** — различия между показателями отдельных ядер достоверны ($p < 0,01$).

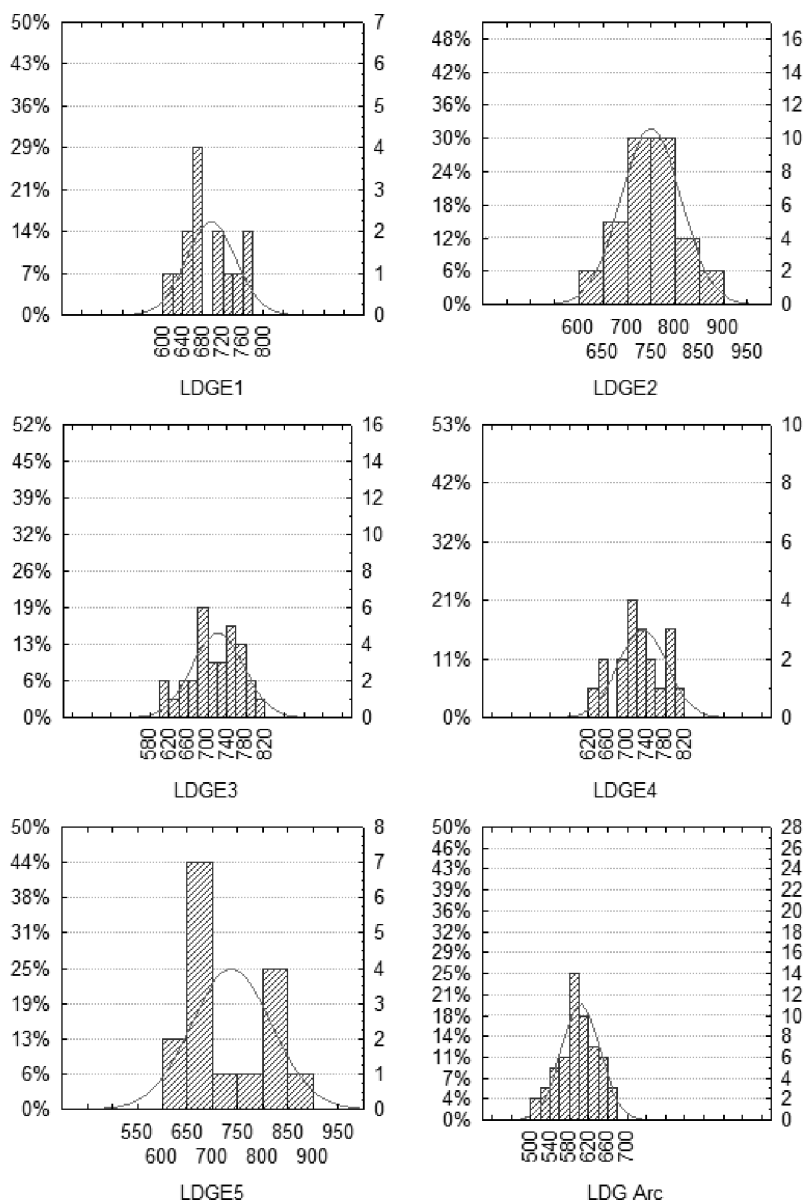


Рис. 7.8. Гистограммы распределения активности ЛДГ в нейронах разных гистаминергических ядер мозга крысы

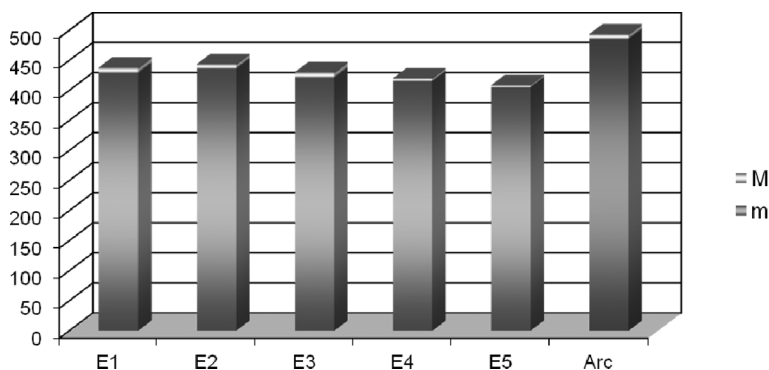


Рис. 7.9. Активность Г-6-Ф-ДГ в нейронах гистаминергических ядер и нейронах аркуатного ядра

Активность Г-6-Ф-ДГ в нейронах аркуатного ядра статистически достоверно (на 12–20 %) выше, чем активность Г-6-Ф-ДГ в гистаминергических ядрах (табл. 7.3; рис. 7.9).

Анализ гистограмм показал неоднородность популяции гистаминергических нейронов по активности Г-6-Ф-ДГ. Так, в ядрах E1 и E2 отчетливо выявляются две субпопуляции нейронов: с высокой и низкой активностью фермента.

7.6. Активность сукцинатдегидрогеназы в нейронах гистаминергических ядер мозга крысы

Самая высокая активность СДГ обнаружена в нейронах ядра E3, самая низкая — в E4. Уровень активности СДГ в E2 был статистически достоверно выше, по сравнению с E4 на 8 %, в E3 — выше по сравнению с E4 на 9 % и в E5 по сравнению с E4 на 9 %. Различия по данному показателю между другими гистаминергическими ядрами не были статистически достоверны. Активность СДГ в нейронах аркуатного ядра статистически достоверно на 7 % ниже, чем активность СДГ в ядрах E2, E3 и E5 (табл. 7.4; рис. 7.10–7.12).

Таблица 7.4

Активность СДГ в нейронах гистаминергических ядер и аркуатного ядра
(в единицах оптической плотности $\times 10^3$)

Название ядра	E1	E2	E3	E4	E5	Arc
$M \pm m$	$433,33 \pm 6,24$	$443,10 \pm 10,22$	$444,47 \pm 4,47$	$405,5 \pm 11,66$	$444,00 \pm 10,19$	$412,4 \pm 16,2$
p	E1	E2	E3	E4	E5	
E1	—	0,04*	0,26	0,03*	0,06	
E2	—	—	0,27	0,25	0,29	
E3	—	—	—	0,66	0,73	
E4	—	—	—	—	0,92	
Arc		*	**		*	

* — различия между показателями отдельных ядер достоверны ($p < 0,05$);

** — различия между показателями отдельных ядер достоверны ($p < 0,01$).

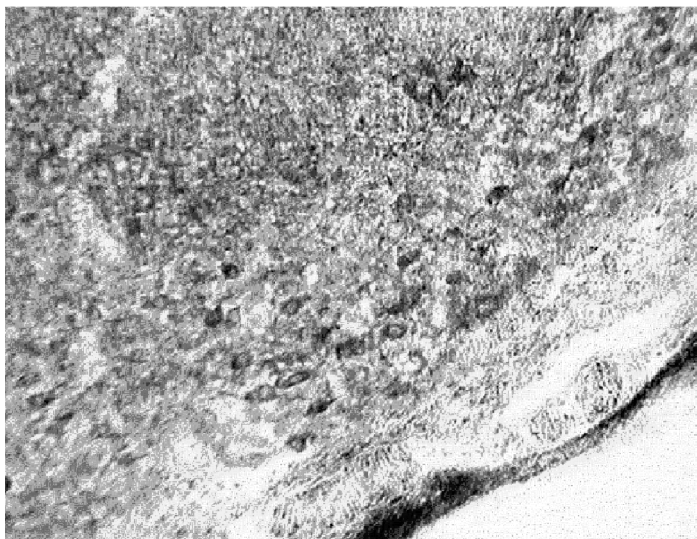


Рис. 7.10. Активность СДГ в нейронах ядра E2 по методу Nachlas [285]. Фронтальный срез в области заднебазального гипоталамуса ($P = -4,30$ мм). Об. $\times 40$. Цифровая микрофотография

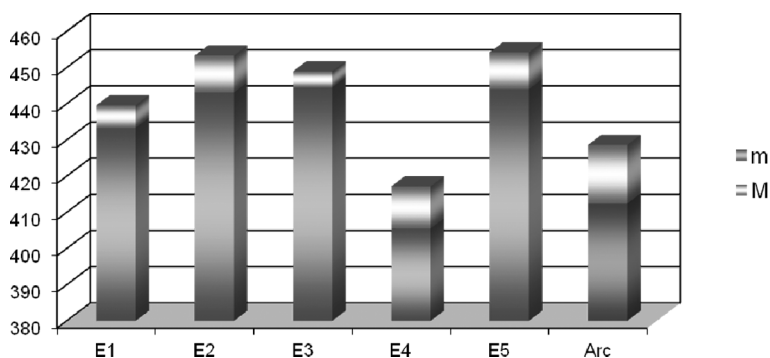


Рис. 7.11. Активность СДГ в нейронах E1–E5 ядер и нейронах аркуатного ядра гипоталамуса крысы

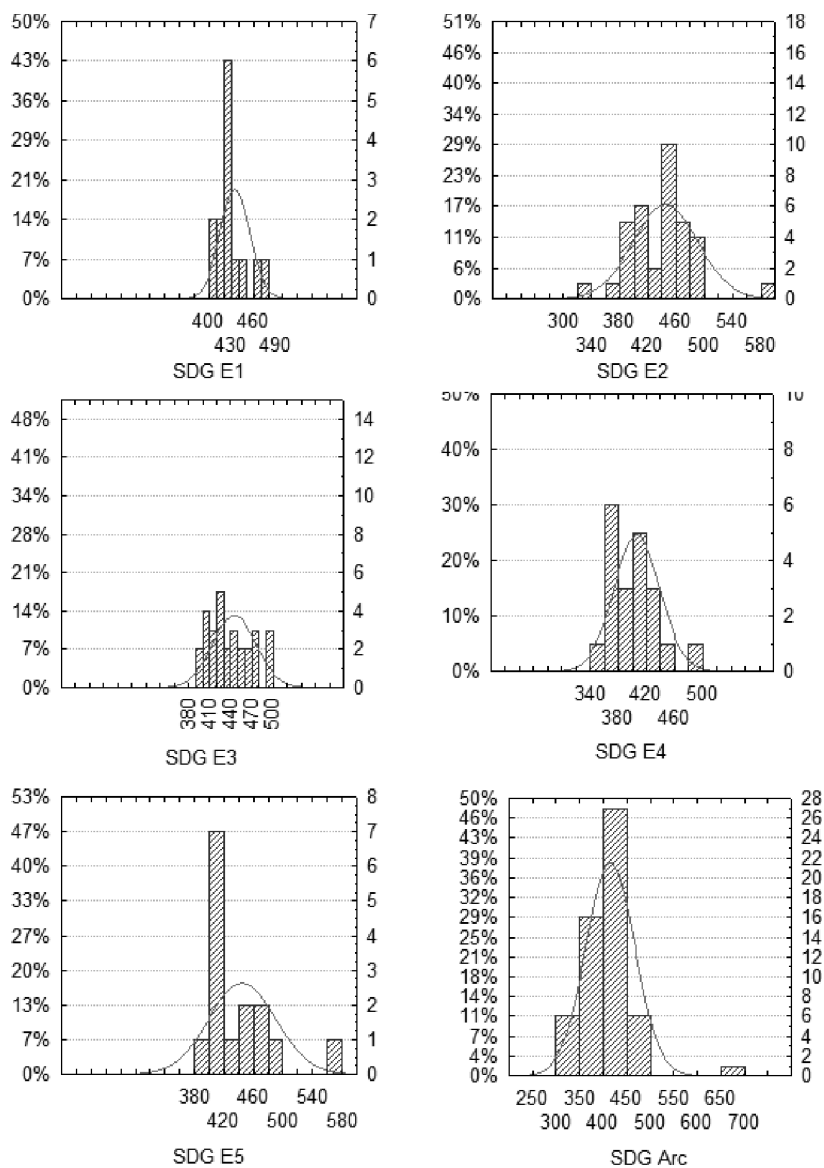


Рис. 7.12. Гистограммы распределения активности СДГ в нейронах гистаминергических ядер и аркуатном ядре гипоталамуса крысы

7.7. Активность дегидрогеназы восстановленного НАДФ в нейронах гистаминергических ядер гипоталамуса крысы

Самая высокая активность НАДФН-ДГ наблюдалась в нейронах ядра Е2, самая низкая — в Е4. Уровень активности НАДФН-ДГ в Е2 был статистически достоверно выше по сравнению с Е4 на 10 %, с Е5 на 8 %, в Е3 — выше по сравнению с Е4 на 7 %. Различия по данному показателю между другими ядрами не были статистически достоверны (табл. 7.5; рис. 7.13–7.15).

Активность НАДФН-ДГ в нейронах аркуатного ядра статистически достоверно на 17–26 % ниже, чем активность этого фермента в нейронах гистаминергических ядер (табл. 7.5; рис. 7.15).

Таким образом, результаты цитофотометрического анализа (табл. 7.6) показали, что в нейронах ядра Е2 активность всех изученных ферментов выше, чем в нейронах других гистаминергических ядер. Активность МАО Б так же высокая в нейронах ядра Е3; кроме того, в нейронах этого же ядра отмечалась более высокая активность НАДФ-ДГ и СДГ по сравнению с клетками ядер Е4 и Е5. Интересно, что в ядрах Е2, Е3, Е4, Е5 активность НАДФ-ДГ положительно коррелирует с активностью Г-6-Ф-ДГ при $r_{Е2} = 0,94$, $r_{Е3} = 0,89$, $r_{Е4} = 0,88$, $r_{Е5} = 0,88$, и $p < 0,05$ (корреляционный анализ по Spearman). Активность НАДФ-ДГ и Г-6-Ф-ДГ в нейронах

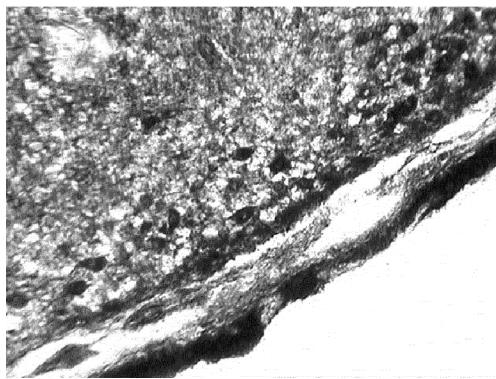


Рис. 7.13. Активность НАДФН-ДГ в гистаминергических нейронах ядра Е2 по методу Гесс [171]. (Р = –4,30 мм). Об. ×40.
Цифровая микрофотография

Таблица 7.5

Активность НАДФН-ДГ в нейронах гистаминергических ядер и аркуатного ядра
(в единицах оптической плотности $\times 10^3$)

Название ядра	E1	E2	E3	E4	E5	Arc
$M \pm m$	964,67 \pm 38,09	1059,36 \pm 29,19	1028,47 \pm 21,54	959,00 \pm 19,84	978,67 \pm 6,55	780,7 \pm 12,3
p	E1	E2	E3	E4	E5	
E1	—	0,08	0,18	0,9	0,73	
E2	—	—	0,42	0,02*	0,03*	
E3	—	—	—	0,05*	0,06	
E4	—	—	—	—	0,37	
Arc	**	**	**	**	**	

* — различия между показателями отдельных ядер достоверны ($p < 0,05$);

** — различия между показателями отдельных ядер достоверны ($p < 0,01$).

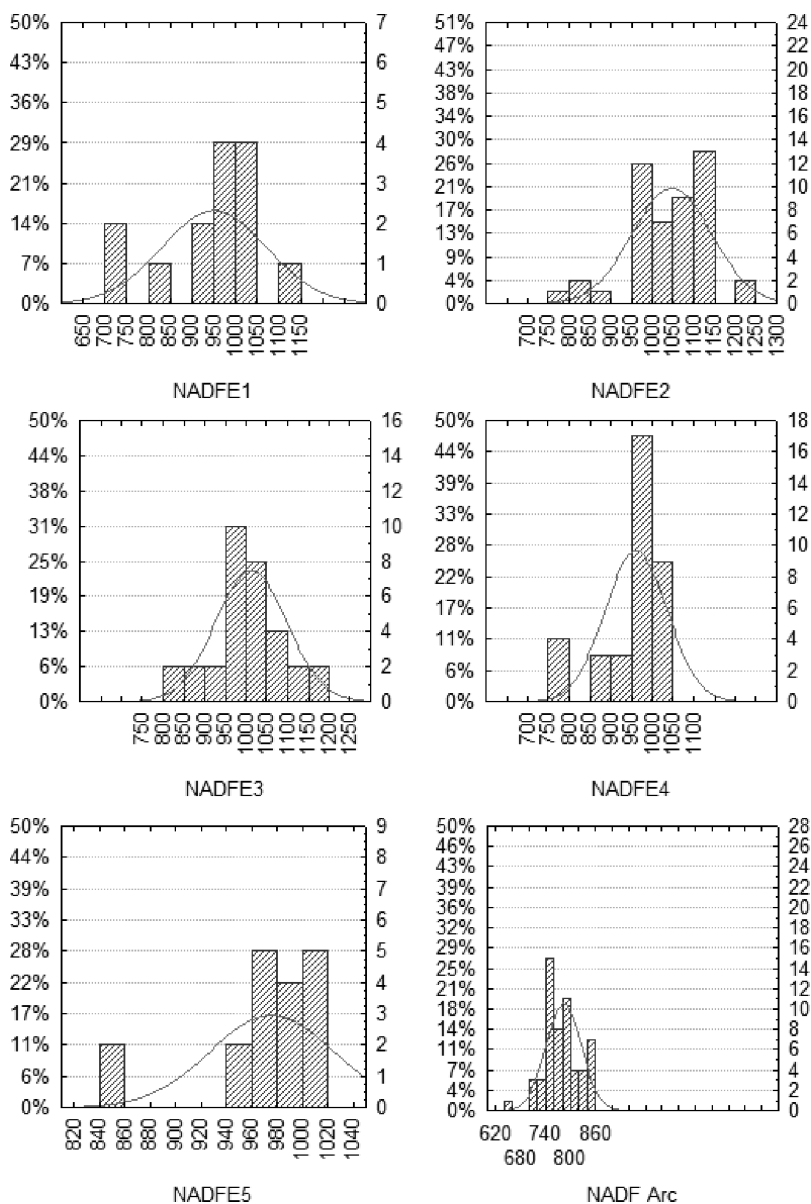


Рис. 7.14. Гистограммы распределения активности НАДФ-ДГ в нейронах гистаминергических ядер и аркуатного ядра мозга крысы

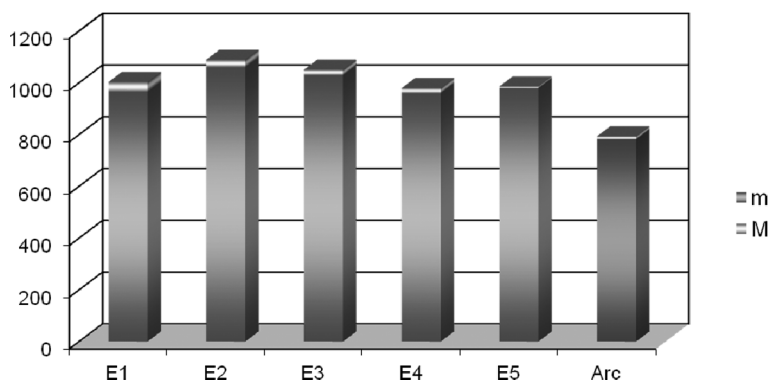


Рис. 7.15. Активность НАДФН-ДГ в гистаминовых нейронах E1–E5 ядер и нейронах аркуатного ядра

ядер E2, E3 значительно выше, чем в нейронах ядер E4, E5. Отмечается повышенная активность ЛДГ в нейронах ядер E2, E4 и низкая в клетках ядра E1.

Установлено, что активность ЛДГ и НАДФН-ДГ во всех гистаминергических ядрах ниже, чем в нейронах аркуатного ядра гипоталамуса, в то время как активность Г-6-Ф-ДГ ниже. Сравнительное гистохимическое исследование нейронов разных ядер гистаминергической системы в мозге крысы показали, что по активности НАДФН- и Г-6-Ф-ДГ внемитохондриальные энергетические процессы наиболее выражены в нейронах ядра E2 и E3. НАДФН-ДГ локализована в эндоплазматической сети и гиалоплазме. С участием Г-6-Ф-ДГ образуются пентозы, идущие на синтез рибонуклеиновых кислот.

Митохондриальные энергетические процессы (по активности СДГ) также более выражены в нейронах ядер E2 и E3 по сравнению с ядрами E4 и E5. Об этом свидетельствует более высокая активность СДГ в клетках ядер E2 и E3 по сравнению с клетками E4 и E5 ядер.

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) является одним из ключевых ферментов поздних этапов гликолиза, протекающих в анаэробных условиях. Основная масса фермента сосредоточена в гиалоплазме, а небольшая часть ЛДГ связана с мембранами митохондрий. Следовательно, процессы анаэробного гликолиза наиболее выражены в клетках E2 и E4, а наименее — в клетках ядра E1. Об этом свиде-

Таблица 7.6
Активность ферментов в нейронах гистаминергических ядер и аркуатного ядра гипоталамуса крысы
(в единицах оптической плотности $\times 10^3$)

Название фермента	E1	E2	E3	E4	E5	Arg
НАДН-ДГ	631,33 \pm 54,74	710,75 \pm 40,74	682,52 \pm 44,60	680,20 \pm 50	642,50 \pm 55,16	552 \pm 6,6
ЛДГ	691,33 \pm 10,87	748,38 \pm 9,20	720,76 \pm 21,53	731,50 \pm 10	729,83 \pm 13,65	601,33 \pm 5,4
Г-6-Ф-ДГ	428,17 \pm 10,04	435,57 \pm 8,31	420,40 \pm 10,09	414,90 \pm 5,3	404,66 \pm 3,89	484,9 \pm 8,7
СДГ	433,33 \pm 6,24	443,10 \pm 10,2	444,47 \pm 4,47	405,5 \pm 11,7	444,00 \pm 10,19	412,4 \pm 16,2
НАДФ-ДГ	964,67 \pm 38,09	1059,36 \pm 29,2	1028,47 \pm 21,54	959 \pm 19,8	978,67 \pm 6,55	780,7 \pm 12,3

тельствуется высокая активность ЛДГ в клетках ядер E2, E4 и низкая в клетках ядра E1.

Исходя из всего вышесказанного, можно заключить, что энергетические процессы в нейронах гистаминергических ядер E2 и E3 более выражены по сравнению с таковыми в ядре E4, и особенно E5. Можно полагать, что эти процессы обеспечивают усиленный синтез гистамина в ядрах E2 и E3. Интересно, что и процессы окислительного дезаминирования гистамина более выражены в этих же ядрах. Об этом свидетельствует более высокая активность МАО Б в клетках ядер E2 и E3 и пониженная — в клетках ядер E4 и E5.

Таким образом, нейроны гистаминергических ядер значительно отличаются по показателям окислительного метаболизма от нейронов дофаминергического аркуатного ядра гипоталамуса крысы: в последних активность сукцинат-, лактат- НАДН- и НАДФН-дегидрогеназ достоверно ниже, а Г-6-Ф-дегидрогеназы выше. Нейроны гистаминергических ядер гипоталамуса крысы метаболически гетерогенны: в разных гистаминергических ядрах гипоталамуса они различаются по активности дегидрогеназ (отражают интенсивность окислительного метаболизма и энергетическое обеспечение процессов биосинтеза). Активность этих ферментов в нейронах ядра E2 максимальна. Нейроны внутри каждого гистаминергического ядра также неоднородны по интенсивности окислительного метаболизма.

Глава 8

ФИЗИОЛОГИЯ И ПРОЕКЦИИ ГИСТАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ МОЗГА

8.1. Физиология гистаминергических нейронов

Гистаминергические нейроны ТМ-ядер гипоталамуса по электрофизиологическим свойствам очень похожи на другие аминергические нейроны, например дофаминергические нейроны черной субстанции или вентральной тегментальной области [75]. Гистаминергические нейроны ТМ-ядер являются пейсмекерными и регулярно приходят в состояние возбуждения с малой периодичностью (меньше 3 герц). Однако периодичность их возбуждения может варьироваться в зависимости от поведения животных.

В последние годы достигнут значительный прогресс в характеристике ионных проводимостей, присутствующих в гистаминергических нейронах мозга [75]. За их пейсмекерные свойства — появление потенциала действия -50 мВ — отвечает проводимость их клеточных мембран для Na^+ , Ca^{2+} и K^+ , а за проведение импульса отвечают Na^+ и Ca^{2+} , дающие пик с широким плечом [169]. Однако это возбуждение гистаминергических нейронов (3–4 герц), которое сопровождается 20-кратным увеличением уровня Ca^{2+} в их цитоплазме, является спонтанным и вызывается холинергическими нейронами через н-холинорецепторы [406]. Методом прижизненного микродиализа в ТМ-гипоталамусе при избирательной стимуляции гистаминергических нейронов, радиоизотопным методом показано выделение гистамина в межклеточную жидкость [384].

Гистаминовые нейроны находятся под тоническим ингибиторным контролем выделяемого в терминалях гистамина, действующего через H_3 -рецепторы, находящиеся на телах гистаминергических нейронов, путем угнетения тока Ca^{2+} [75] (рис. 8.1).

Гистаминовые нейроны дают несколько первичных дендритов, которые делятся на длинные вторичные дендриты [424]. Некоторые дендриты идут в сторону 3-го желудочка сосцевидного тела,

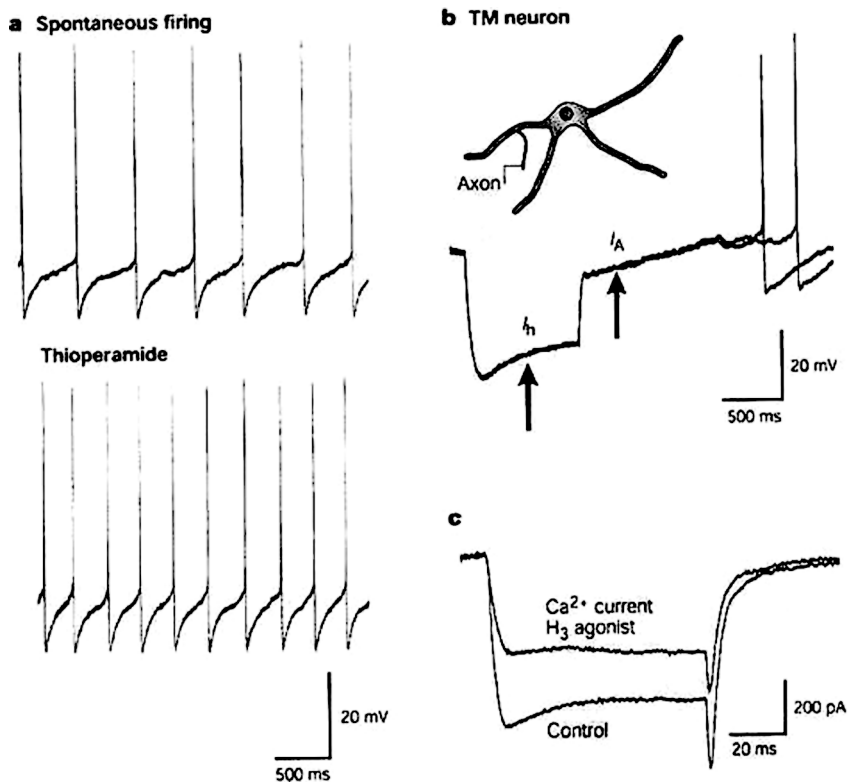


Рис. 8.1. Электроимпульсная активность гистаминергических нейронов [167]:

a — спонтанная электроимпульсная активность ТМ-нейронов, записанная прижизненно, с мембранным потенциалом -50 мВ. После аппликации антагониста гистаминовых H_3 -рецепторов тиоперамида электроимпульсная активность значительно возрастает, демонстрируя угнетение нейрона через его авторецептор; *b* — гиперполяризация мембраны аксона и возвращение к потенциалу покоя; *c* — ток кальция, который значительно уменьшается агонистом гистаминовых H_3 -рецепторов $R\text{-}\alpha$ -метилгистамином

где контактируют со спинномозговой жидкостью [136]. Поэтому находящиеся в последней биологически активные вещества могут влиять на функциональную активность гистаминергических нейронов. Необычно, но аксоны гистаминовых нейронов могут отходить от первичных дендритов, а не только от тел нейронов [136].

Это показано и в более поздних исследованиях [167]. Хотя, возможно, аксон просто плотно прилежат к дендриту, как в псевдониполярных нейронах спинномозговых узлов.

Для изучения эфферентных связей гистаминергических нейронов гипоталамуса используется несколько методических подходов: перерезки на различных уровнях мозга, антероградное и ретроградное мечение, а также специфическое иммуногистохимическое выявление гистаминергических нервных волокон (аксонов гистаминергических нейронов).

8.2. Эфферентные связи (проекции) гистаминергических нейронов мозга

Систематические исследования организации гистаминергической системы мозга были начаты еще в 70-е гг. прошлого века. С помощью метода ретроградного мечения уже давно было доказано, что ТМ-нейроны широко распространяют свои аксоны в области переднего мозга. Источник гистамина коры больших полушарий, как полагали, лежит в подкорковой области, потому что одностороннее рассечение медиального отдела переднего мозга приводило к снижению активности ГДК на 50 % в ипсилатеральных отделах мозговой коры [159]. После пререзки латеральной гипоталамической области, где проходит медиальный пучок переднего мозга, в коре мозга было обнаружено угнетение активности ГДК, а также снижение интенсивности синтеза и содержания гистамина. Эти изменения наблюдались в синапсомальной фракции и по времени соответствовали скорости антероградной дегенерации. Они не происходили после избирательного разрушения катехоламинергических и серотонинергических нейронов [114].

Наличие гистаминергических проводящих путей было установлено при помощи введения в разные области мозга пероксидазы хрена (ретроградное мечение), что приводило к мечению гистаминергических нейронов, локализующихся билатерально — РСМ (группа E1), СМС (группа E2) — и ипсилатерально преимущественно в ТМС (группа E4) [384]. При введении метки в ТМ-область гипоталамуса показано, что двусторонние восходящие пути в большей степени располагаются в медиальной преоптической

области; метились также паравентрикулярное гипоталамическое ядро, гиппокамп и обонятельная луковица [136, 392, 394].

После введения пероксидазы хрена в кору мозга в заднем гипоталамусе обнаружены многочисленные нейроны, расположенные билатерально, содержащие как пероксидазу, так и ГДК [314]. Это указывает на эфферентные связи гистаминергических нейронов гипоталамуса с корой мозга.

Было исследовано соотношение плотности проводящих путей гистаминергических нейронов к общему количеству этих нейронов в зависимости от подгрупп [394]. 12 % от общего количества гистаминергических нейронов, соответственно, являются источником проводящих волокон, идущих ипсилатерально и 7 % контрлатерально к медиальной преоптической области. Это нейроны всех подгрупп ТМ-зоны, при этом от 8 до 17 % их проводящих волокон направляется ипсилатерально, а от 4 до 9 % — контрлатерально. Возможно, что пересечение восходящих гистаминергических волокон происходит на уровне ретрохиазматической области [278, 312, 377].

Имеются и нисходящие эфферентные проводящие пути от гистаминергических нейронов ТМ-зоны до *colliculus superior et inferior* моста, медиального вестибулярного ядра и спинного мозга [136, 394, 423, 424]. Гистаминергические волокна *colliculus inferior* являются эфферентными волокнами 4 % гистаминовых нейронов ТМ-зоны с равным двусторонним участием в пределах от 2 до 6 % от общего количества гистаминергических нейронов согласно подгруппам [394]. Кроме того, Ericson et al. (1987) также продемонстрировали подобную иннервацию гистаминовыми волокнами *colliculus superior*: половина этих волокон идут от контрлатеральных гистаминергических нейронов [136]. Эти данные дают возможность предположить, что половина нисходящих волокон гистаминергической системы пересекает срединную линию до уровня среднего мозга. Возможный путь нисходящих гистаминергических волокон предположительно следующий: нисходящие гистаминергические волокна от ТМ-зоны сначала направляются дорсально к центральному серому веществу заднего промежуточного мозга, впоследствии поворачивают каудально через центральное серое вещество и дорсальный отдел *rhombencephalon* и заканчиваются в спинном мозге [278].

Проекции гистаминергических нейронов человеческого мозга документированы не настолько полно, как у грызунов. Это связано прежде всего с определенными этическими и техническими проблемами. Однако эта работа в настоящее время активно продолжается. Иннервация коры полушарий головного мозга и мозжечка человека сохраняет морфологическую картину, наблюдаемую у грызунов. Стриатум иннервируется очень слабо. Незначительную иннервацию получают также мезенцефальные структуры. Структуры лимбической системы также получают иннервацию гистаминергическими волокнами. Изученные структуры по плотности гистаминергических волокон в порядке убывания можно расположить в следующей последовательности: гипоталамус > гиппокамп > таламус > кора больших полушарий > черная субстанция и прилегающие структуры среднего мозга > стриатум.

Таким образом, все подгруппы гистаминовых нейронов иннервируют практически все области головного мозга и спинной мозг. Это предполагает, что гистаминовые нейроны формировались как единая функциональная группа [136, 229, 394]. Однако небольшая неоднородность среди групп гистаминовых нейронов была все же отмечена, так как неодинаковая часть гистаминовых нейронов в ТМ-зоне выявлялась путем мечения различных областей мозга [227, 394]. Экспериментальные данные, демонстрирующие, что гистаминергические нейроны ТМ-зоны гипоталамуса являются гетерогенными и организованы в функционально определенные группы, регулирующие различные области мозга и обеспечивающие избирательные контрольные механизмы, суммированы в обзоре [227].

Структурная архитектоника гистаминергических нейронов очень схожа со структурной архитектурой нейронов, которые содержат нейроактивные соединения, производные от проопиомеланокортина [158, 284, 415, 443], вазопрессина или окситоцина [206]. Они сконцентрированы в гипоталамусе, а их проводящие пути распределены по всему головному мозгу. Центральная гистаминергическая система, то есть группа ее клеток с широким распределением волокон, напоминает моноаминергические системы мозга (дофаминергическую, адреналинергическую, норадреналинергическую и серотонинергическую). Кроме того, вероятно, гистаминовые и негистаминовые нейроны ТМ-зоны образуют единый

функциональный блок, так как между гистаминовыми нейронами, а также между ними и ГДК-иммунонегативными нейронами были найдены многочисленные межклеточные контакты [152, 167, 240, 278].

8.3. Распространение отростков гистаминергических нейронов

Гистаминергические волокна в мозге крысы были впервые описаны Т. Watanabe непрямым иммунофлюоресцентным методом с помощью поликлональных антител против гистидиндекарбоксилазы [112, 143]. Выраженная сеть ГДК-иммунореактивных волокон была обнаружена во многих отделах мозга. Они были особенно плотно расположены в гипоталамусе, хорошо выражены в коре мозга, обонятельных ядрах, медиальном ядре миндалины, ядре диагонального тракта и *bed nucleus of the stria terminalis*, в центральном сером веществе среднего мозга и моста, слуховой системе, медиальном вестибулярном ядре, парабрахияльном, комиссуральном ядре, ядре солитарного тракта и дорсальном ядре шва [112].

Гистаминергические нейроны гипоталамуса посылают свои отростки практически во все отделы головного мозга [196, 338] (рис. 8.2). По современным представлениям выделяют два восходящих и один нисходящий пути. Вентральный восходящий путь идет по вентральной поверхности мозга, иннервируя гипоталамус, диагональный пучок, перегородку и обонятельные луковицы. Дорсальный восходящий путь иннервирует таламус, гиппокамп, миндалину и передний мозг. Нисходящий путь у крысы связан с медиальным продольным пучком и иннервирует ствол мозга и спинной мозг [397]. Интересно, что нейроны каждой из пяти подгрупп ТМ могут давать проекции во многие отделы мозга. Более того, аксон одного нейрона может давать как восходящие, так и нисходящие коллатерали [198, 362, 392]. Детальное представление о распространении отростков гистаминергических нейронов дает основу для понимания клеточных контактов между гистаминергическими нейронами и другими клетками мозга [196].

Обнаружены значительные различия в плотности гистаминергических нервных волокон в различных областях мозга и у разных

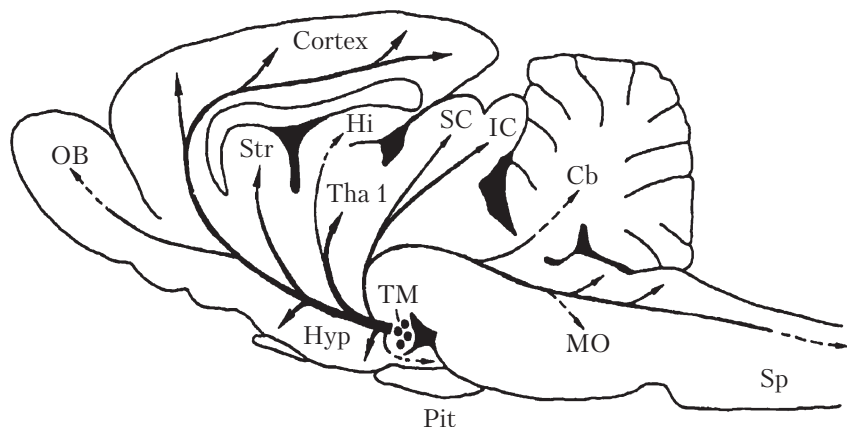


Рис. 8.2. Гистаминергические проводящие пути в мозге крысы [278]: OB — обонятельные луковицы; Cortex — кора больших полушарий; Str — стриатум; Hi — гиппокамп; Thal — зрительные бугры; SC — верхний бугорок четверохолмия; IC — нижний бугорок четверохолмия; Cb — мозжечок; Hyp — гипоталамус; TM — туберомамиллярная область; Pit — гипофиз; MO — продолговатый мозг; SP — спинной мозг. Точками показано место локализации тел гистаминергических нейронов, а стрелками — направления распространения их отростков

видов животных. Большая часть морфологических данных получена у крысы [196, 312, 392, 394, 397]. Максимальная плотность гистаминергических волокон обнаружена в гипоталамусе, все ядра которого имеют сильную или среднюю по выраженности иннервацию, а также в медиальном пучке переднего мозга [312]. Другие структуры мозга (диагональный пучок, перегородка и обонятельные луковицы) получают мощную гистаминергическую иннервацию от вентрального восходящего пути. Структуры, иннервируемые дорсальным восходящим путем имеют меньшую плотность гистаминергических волокон (она максимальна в миндалине).

Кора больших полушарий имеет среднюю плотность волокон во всех областях и слоях с несколько более интенсивной иннервацией наружных слоев. В зрительных буграх иннервируются главным образом перевентрикулярные ядра, а в гиппокампе — субикулум и зубчатая извилина. Средняя или низкая плотность гистаминергических волокон отмечена в стриатуме и п. *assumbens*.

Гистаминергические проекции к стволу мозга, мозжечку и спинному мозгу обычно меньшей плотности, чем восходящие проекции. Группы других типов аминергических нейронов ствола мозга имеют среднюю или высокую плотность гистаминергических волокон. Она особенно высока в черной субстанции и вентральной тегментальной области. Это подтверждает возможность для гистаминергических нейронов регулировать другие аминергические системы мозга.

Наибольшее количество гистаминергических волокон с многочисленными варикозными расширениями обнаружено в заднем гипоталамусе человека. В коре больших полушарий их значительно меньше, и они составляют меньшинство среди расположенных здесь нервных волокон [29].

8.4. Telencephalon

Сплетение гистаминергических волокон средней плотности наблюдалось в коре головного мозга, перегородке, стриатуме и миндалевидном комплексе. В поверхностных слоях коры больших полушарий головного мозга гистаминергические волокна имеют преимущественно параллельное поверхности направление. Поверхностные и более глубокие слои коры мозга имели сходные плотности гистаминергических волокон, но их плотность постепенно уменьшается в каудальном направлении. Ложе ядра *stria terminalis* содержит большое количество гистаминергических волокон. Относительно высокая плотность отмечалась в миндалевидном комплексе, медиальном миндалевидном ядре, очень высокая плотность — в ядре вертикального плеча диагональной полосы. Показано, что около 25 % гистаминергических нейронов каудальных крупноклеточных ядер посылают свои отростки в полосатое тело [206].

Tuberculum olfactorium обладает средним уровнем, а основные формации гиппокампа — низким уровнем плотности гистаминергических волокон [196, 312].

8.5. Diencephalon

Самая высокая плотность гистаминергических волокон мозга идентифицирована в гипоталамусе. Гистаминергическое волоконное сплетение с очень высокой плотностью было замечено в ростральных гипоталамических областях, таких как медиальная преоптическая область, супраоптическое ядро, паравентрикулярное гипоталамическое ядро, перивентрикулярная зона и передняя гипоталамическая область. Высокая плотность гистаминергических волокон наблюдалась в каудальных отделах гипоталамуса — вентромедиальном и дорсомедиальном гипоталамических ядрах и аркуатном ядре. Сплетение гистаминергических волокон со средней плотностью было отмечено в маммиллярном теле и заднем гипоталамическом ядре. Небольшое число их было обнаружено в срединном возвышении.

В таламусе зона высокой плотности гистаминергических волокон располагается в ростральной группе ядер: паравентрикулярные ядра, ромбовидное ядро, *p. paratenialis*, переднедорсальное, переднемедиальное и передневентральное ядра, а также дорсомедиальное ядро. В каудальном направлении плотность гистаминергических волокон постепенно уменьшается: средняя их плотность была замечена в *p. gelatinosus*, латеродорсальном ядре, вентролатеральном ядре и вентромедиальном ядре, и, наконец, низкая плотность отмечалась в вентральном заднелатеральном ядре, вентральном заднемедиальном ядре, латеральном заднем таламическом ядре, медиальном и латеральном коленчатых ядрах и *p. habenularis* [278].

В супрахиазматическом ядре гипоталамуса обнаружены нейроны, содержащие гистамин и способные его выделять. Эти нейроны не содержат ГДК и мРНК ГДК, хотя гистамин в них и не определяется у нокаутных мышей без ГДК. Предполагают, что эти нейроны способны захватывать гистамин, поступающий туда по аксонам гистаминергических нейронов заднего гипоталамуса. Это предполагает существование в нейронах супрахиазматического ядра неизвестного механизма захвата гистамина [197].

8.6. Mesencephalon

Наиболее плотные сети гистаминергических волокон были найдены в мезэнцефалическом ядре тройничного ядра. Центральное серое вещество и *colliculus inferior* имело плотность гистаминергических волокон ниже среднего. *Colliculus superior* и ядра *tractus opticus* обладали низкой плотностью, и несколько волокон были рассеяны в *substantia nigra*, ядре Даршкевича, *n. interpeduncularis* и *n. ponti* [278].

В мезэнцефалическом ядре тройничного ядра крыс многочисленные ГДК-иммунореактивные волокна окружали тела рецепторных нейронов; при этом на электронно-микроскопическом уровне там выявляются многочисленные аксосоматические контакты [396]. В верхнем бугорке четверохолмия кошки также найдена довольно высокая плотность гистаминиммунореактивных волокон [255].

8.7. Rombencephalon

ГДК-позитивные волокна иннервировали больше дорсальную часть *rombencephalon*, чем вентральную. Средняя плотность гистаминергических волокон была отмечена в *n. tractus solitarii* и *n. parabrachialis*; низкая плотность гистаминергических волокон наблюдалась в *n. prepositus hypoglossi*, *n. vestibularis* и вентральном кохлеарном ядре. Несколько гистаминергических волокон были замечены в различных ядрах стволовой области мозга, таких как: сенсорное, спинномозговое и моторное ядра тройничного нерва, ядра лицевого нерва, дорсальное кохлеарное ядро, нижнее оливное ядро, *locus coeruleus*, и комплекс *olivarius superior* [278].

У кролика высокая или средняя плотность расположения гистаминиммунореактивных волокон обнаружена в ядрах шва, нижней оливе, ядре солитарного тракта, вестибулярном ядре, парагигантоклеточном ретикулярном ядре продолговатого мозга и парабрахимальном ядре, синем пятне моста. Они заканчиваются синапсами на дендритах нейронов ядра солитарного тракта [181].

8.8. Другие области мозга

В молекулярном и зернистом слоях коры мозжечка человека обнаружены гистаминиммунореактивные волокна [195].

Одиночные, но сильно ветвящиеся гистаминергические нервные волокна — аксоны туберомамиллярных нейронов, обнаружены в сетчатке глаза. Полагают, что они являются важным компонентом системы пробуждения и играют роль в патологии сетчатки [351].

Сосудистое сплетение *lamina terminalis* имеет среднюю плотность гистаминергических волокон. Задняя доля гипофиза содержит мало этих волокон, а передняя и средняя доли не содержат их вообще [69, 278, 312].

В шишковидной железе обнаружены гистаминиммунореактивные волокна с варикозными расширениями и окончания [266].

Низкая плотность гистаминергических волокон отмечалась в задних рогах спинного мозга и вокруг спинномозгового канала [278].

Таким образом, гетерогенное распределение гистаминергических эфферентных волокон в мозге указывает на неодинаковую роль гистаминергической системы в регуляции разных областей и морфофункциональных систем мозга. Хотя иммуоцитохимическая локализация гистамина не является прямым доказательством функциональной роли гистамина в любой области головного мозга, это распределение предполагает гистаминергическую регуляцию лимбической системы, включая ядра перегородки, гипоталамус и миндалевидное тело. Повышенная плотность гистаминиммунореактивных волокон в *colliculus* и дорсальном кохлеарном ядре указывают на то, что этот амин может играть роль в зрительном и слуховом восприятии [196, 278]. Вестибулярная система содержит высокий процент серотонинергических волокон, умеренное количество норадренергических волокон и только рассеянные гистаминергические волокна [367].

Полагают, что области мозга с сильной гистаминергической иннервацией в период бодрствования получают постоянные тонические импульсы от гистаминергических нейронов, а области со слабой иннервацией — лишь в моменты резкой активации гистаминергических нейронов [112].

8.9. Влияние центрального гистамина и гистаминергических нейронов гипоталамуса на другие типы нейронов мозга

Электрофизиологическим и морфологическими методами показано, что ТМ-нейроны иннервируют супраоптические ядра и могут участвовать в регуляции выделения вазопрессина [417].

Гистаминергические нейроны стимулируют норадреналинергические нейроны, иннервирующие промежуточный мозг. Это заключение основано на том, что внутрижелудочковое введение гистамина ускоряет кругооборот норадреналина в отделах промежуточного мозга, иннервируемых норадреналинергическими нейронами (как индикатор их активности), и этот эффект блокировался антагонистом H_1 -, но не H_2 -рецепторами [153].

Гистамин активирует некоторые группы дофаминергических нейронов гипоталамуса, например те, которые проецируются в супрахиазматическое ядро, каудальное перивентрикулярное и паравентрикулярные ядра. Это действие реализуется через H_1 -, но не H_2 -рецепторы [154].

Гистамин активирует норадреналинергические нейроны переживающих срезов синего пятна (10 мкМ — на 130 %, 100 мкМ — на 260 %) через H_1 - и H_2 -, но не через H_3 -рецепторы. Это указывает на возможность вовлечения норадреналинергических нейронов в процесс пробуждения, в котором участвует гистаминергическая система мозга [179].

Путем двойного иммуногистохимического мечения показаны гистаминергические волокна вблизи холинергических и ГАМК-ергических нейронов септо-гиппокампальной области мозга у крыс. Показано, что гистамин дозозависимо, через H_1 - и H_2 -рецепторы, активирует эти ГАМК-ергические нейроны, а также стимулирует выделение ацетилхолина холинергическими нейронами [186].

Гистамин (ионофоретическая аппликация) возбуждает спонтанно активные нейроны продолговатого мозга через H_2 -, но не H_1 -рецепторы [238].

Гистамин активирует (усиливает электроимпульсную активность) нейроны бледного шара через H_2 -, но не H_1 -рецепторы и G-протеин-аденилатциклазный-протеинкиназный путь [146]. Эти данные раскрывают один из механизмов участия гистаминер-

гических нейронов гипоталамуса в регуляции двигательной активности.

В опытах *in vitro* на срезах мозга показано, что гистамин вызывает деполяризацию холинергических интернейронов стриатума у крыс через H_1 -рецепторы. Показано, что большинство этих нейронов экспрессируют H_1 -рецептор [66]. Гистамин стимулирует холинергические нейроны (по выделению ацетилхолина) вентрального стриатума крыс через H_1 - и H_3 -рецепторы [334].

Микроинъекции гистамина активируют электроимпульсную активность ГАМК-ергических нейронов полосатого тела крыс *in vitro* через H_1 -, но не H_2 - или H_3 -рецепторы [242].

Показано, что гистамин активирует серотонинергические нейроны дорзального ядра шва через H_1 -рецепторы [61].

Гистамин стимулирует электроимпульсную активность нейронов медиального вестибулярного ядра через H_2 -гистаминовые рецепторы при внутриклеточной регистрации активности нейронов в переживающих срезах [326].

Показано, что гистамин может как возбуждать, так и тормозить активность нейронов в различных отделах мозга. Причем активация обычно осуществляется через H_1 -, а торможение через H_2 -гистаминовые рецепторы. При этом показано множественное действие гистамина на мембранный потенциал и проводимость, а также амплитуду и частоту постсинаптического потенциала [160].

Показано модуляторное действие гистамина, опосредованное H_1 -, но не H_2 -рецепторами, на спонтанную электрическую активность части нейронов супрахиазматического ядра гипоталамуса, являющегося главным пейсмекером циркадных ритмов в организме [376].

В наших собственных исследованиях (с участием Е.М. Дорошенко) показано значительное влияние проникающего в мозг антагониста H_1 -гистаминовых рецепторов — клемастина — на содержание биогенных аминов и их метаболитов в стриатуме и среднем мозге крыс (рис. 8.3).

Установлено, что гистамин может оказывать влияние на другие нейроны мозга не только через известные гистаминовые рецепторы, но и модулируя другие рецепторы, например NMDA-рецептор, связываясь с полиаминовым его участком. Кроме того, гистамин

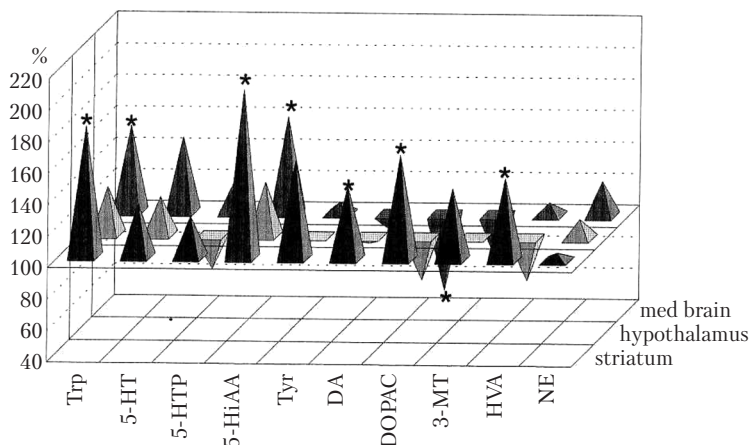


Рис. 8.3. Изменение уровня биогенных аминов и их метаболитов в мозге через 2 часа после введения клемастина (0,4 мг/кг, п/к) (в процентах к контролю). Примечание: striatum — стриатум; hypothalamus — гипоталамус; med brain — средний мозг. Trp — триптофан; 5-HT — серотонин; 5-HTP — 5-гидрокситриптофан; 5-HiAA — 5-гидроксииндолуксусная кислота; Tyr — тирозин; DA — дофамин; DOPAC — 3,4-дигидроксифенилуксусная кислота; 3-MT — 3-метокситирамин; HVA — гомованилиновая кислота; NE — норадреналин

может оказывать прямое действие на калиевые и хлорные каналы клеток [75].

В обзоре Brown et al. (2001) очень подробно описаны и систематизированы данные о влиянии гистамина на такие ключевые отделы и области мозга, как гиппокамп, гипоталамус, аминергические/холинергические клеточные группы, кору мозга, зрительные бугры, базальные ганглии и вестибулярные ядра.

8.10. Афферентная иннервация и регуляция гистаминергических нейронов мозга

Афферентные проекции ТМ-нейронов хорошо выражены и приходят из многих областей мозга. Анатомические методы показали, что ТМ-область получает афферентную иннервацию от префронтальной области коры, всех септальных областей и нескольких

клеточных групп гипоталамуса, особенно передней преоптической области [136, 137, 374, 409, 424]. Так, методом антероградного мечения показана интенсивная иннервация ГДК-иммунореактивных нейронов ТМ-гипоталамуса аксонами нейронов медиальной преоптической области гипоталамуса [424] и нейронов инфраламбической части префронтальной коры [338].

Моноаминергические импульсы поступают к гистаминергическим нейронам из адреналинергических клеточных групп С1–С3, норадреналинергических клеточных групп А1–А2 и серотонинергических клеточных групп В5–В9 ствола мозга [69, 131, 139] (рис. 8.4).

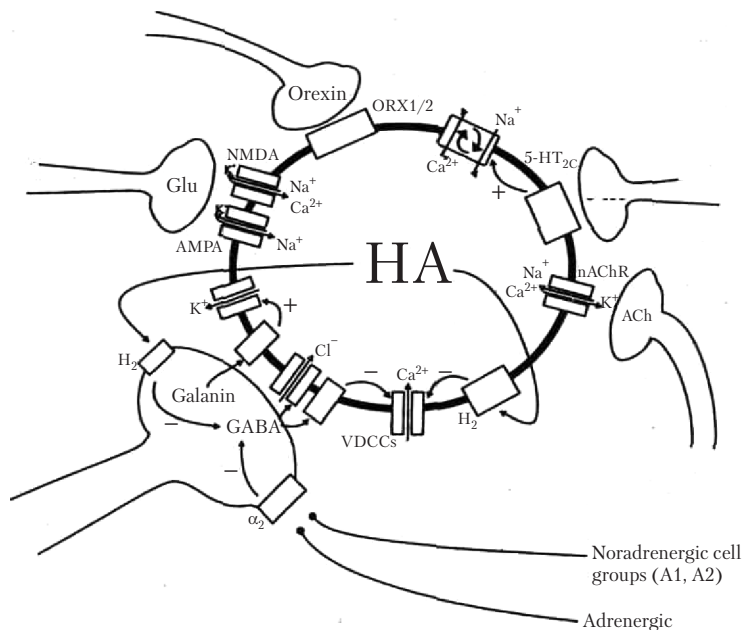


Рис. 8.4. Афферентная иннервация и регуляция гистаминергических нейронов (по [75], с изм.):

I — латеральный гипоталамус; II — латеральная преоптическая зона, латеральный гипоталамус, префронтальная кора; III — вентролатеральная преоптическая зона; IV — серотонинергические ядра ствола мозга (B5–B9); V — покрышка моста и среднего мозга; VI — адреналин- и норадреналинергические нейроны продолговатого мозга (A1, A2; C1–C3). Сокращения: NMDA — N-метил-D-аспартатные рецепторы; ORX1/2 — орексин тип 1 или 2 рецепторы; nAChR — никотиновые ацетилхолиновые рецепторы; VDCCs — вольтаж-зависимые кальцевые каналы

ТМ-нейроны получают интенсивную ГАМК-ергическую иннервацию, которая отвечает за угнетение активности гистаминовых нейронов в состоянии покоя [31, 69, 375, 379, 384]. Анатомические и электрофизиологические методы продемонстрировали путь ГАМК-ергической иннервации от диагонального пучка переднего мозга, латерального гипоталамуса и от вентролатеральной части преоптической области [31, 69, 378]. ГАМК, поступающая из этих областей, ингибирует ТМ-нейроны, действуя через ГАМК_А и ГАМК_В рецепторы [69, 375, 379]. Галанин, который возбуждает, гиперполяризует ТМ-нейроны [367] локализуется в ГАМК-ергических аксонах, идущих от преоптической области [31, 69].

Иммуногистохимическим и электронно-микроскопическим методом показаны прямые синаптические контакты орексинимунореактивных нервных терминалей на ГДК-иммунореактивных нейронах в ТМ-гипоталамусе. Электрофизиологическое исследование показало, что орексин дозозависимо активирует гистаминергические нейроны, свежеизолированные из ТМ-гипоталамуса [311].

ТМ-нейроны получают выраженную холинергическую иннервацию от покрышки среднего мозга и моста [134], которая, вероятно, важна в механизмах возбуждения гистаминовых нейронов. Ацетилхолин быстро стимулирует их уже в низких концентрациях [69, 327]. Норадреналин не влияет на активность ТМ-нейронов *in vitro*, в то время как серотонин вызывает сильную деполяризацию через 5-НТ-рецепторы и модуляцию натрий-кальциевого обмена [139].

Аденозинтрифосфат (АТФ) также воздействует на ТМ-нейроны, открывая неизбирательные (P_{2x}) катионные каналы [157]. Подобная пуринергическая синаптическая передача отмечена в медиальной петле [69, 134].

Недавно показано, что волокна, содержащие гипоталамический пептид орексин (гипокретин), плотно окутывают тела и корневые дендриты ТМ-нейронов. В опытах со срезами мозга установлено, что орексин деполяризует и возбуждает гистаминергические нейроны гипоталамуса прямым постсинаптическим путем. Это действие передается через рецепторы к орексину типа 2, которые отсутствуют у нарколептических собак. На основании этого авторы делают заключение, что гистаминергические нейроны ТМ-гипота-

ламуса представляют ключевой компонент орексиновой системы пробуждения [310].

Опосредованное ГАМК угнетение ТМ-нейронов из латеральной преоптической области находится под контролем ГАМК_B-рецепторов, обеспечивающих обратную связь на терминалях, выделяющих ГАМК [378]. На гистаминергических нейронах найдены также глутаматные и NMDA-рецепторы, однако их физиологическая роль остается неизвестной [167] (см. рис. 8.4).

ТМ-ядра реципрочно связаны с аминергическими, орексинергическими и другими ядрами среднего и промежуточного мозга [134, 139]. Норадреналин и несколько пептидных медиаторов угнетают выделение ГАМК в терминалях на ТМ-нейронах. Серотонин и орексин деполяризуют ТМ-нейроны путем активации в них обмена $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ [139]. Орексиновые нейроны, отсутствие которых ведет к нарколепсии (тяжелое нарушение сна), расположены впереди и снаружи к ТМ-ядрам. АТФ также возбуждает ТМ-нейроны через P2X-рецепторы, но их прямая холинергическая и пептидергическая синаптическая передача не обнаружена [139]. Гистаминергические нейроны гипоталамуса также регулируются глутамином и NO нейронального происхождения [327].

Показано, что ноцицептин/орфаин FQ (10–300 нМ) дозозависимо угнетает электроимпульсную активность ТМ-нейронов в переживающих срезах гипоталамуса. Морфин (20–100 мМ), напротив, деполяризует ТМ-нейроны и усиливает их электроимпульсную активность. Поэтому, возможно, гистаминергические нейроны вовлечены в опиоид-индуцированную аналгезию, а ноцицептин угнетает этот механизм [138].

С помощью электронной иммуногистохимии на дендритах ТМ-нейронов обнаружены многочисленные терминали, содержащие пузырьки с орексином (имели плотную сердцевину и располагались далеко от активной зоны синапсов). Часть терминалей содержала также мелкие синаптические пузырьки с глутаматом, расположенные вблизи активных зон синапса [402].

ТМ-нейроны также содержат аденозиндиаминазу, но они нечувствительны к аденозину, медиатору гомеостатической регуляции сна. Угнетающее действие на ТМ-нейроны оказывают галанин, который экспрессируется в ТМ-нейронах и в ГАМК-афферентах из латеральной преоптической области, а также ноцицептин [139].

Гистаминергические нейроны гипоталамуса имеют сравнительно мало рецепторов к лептину. Возможно, нейроны аркуатного ядра гипоталамуса, секретирующие α -меланоцитстимулирующий гормон, могут опосредовать эффект лептина на гистаминергические нейроны. Это установлено иммуногистохимическим методом с двойным мечением с помощью новых антител против гистамина, конъюгированного с фиксатором для электронной иммуногистохимии акролеином, показана взаимосвязь аксонов, содержащих меланоцитстимулирующий гормон, с гистаминергическими нейронами во всех пяти подгруппах ТМ-ядра; при этом обнаружены как аксосоматические, так и аксодендритические синапсы. Следовательно, гистаминиммунореактивные нейроны имеют синаптический вход от аксонных терминалей нейронов, секретирующих α -меланоцитстимулирующий гормон, которые могут опосредовать действие лептина на гистаминергическую систему мозга [151].

Методом электронной иммуногистохимии показано, что аксоны, содержащие субстанцию Р и нейропептид Y, образуют синаптические контакты на гистаминиммунореактивных нейронах гипоталамуса крысы. На светооптическом уровне на гистаминергических нейронах была обнаружена в виде зернистости также точечная иммунореактивность рецепторов к глицину. На электронно-микроскопическом уровне она была обнаружена в постсинаптических участках перикарионов ГДК-иммунопозитивных нейронов [387].

Иммуногистохимически, методом двойного мечения, на ГДК-иммунореактивных нейронах гипоталамуса обнаружена экспрессия NMDA-рецепторов типов 1, 2A и 2B и нейронального транспортера — глутамата. Некоторые антагонисты NMDA рецепторов значительно активировали гистаминергическую систему, что подтверждалось увеличением уровня теле-метилгистамина в гипоталамусе, коре мозга, стриатуме и гиппокампе и экспрессии mPNC ГДК в ТМ-ядра гипоталамуса. Это указывает на возможную роль гистаминергических нейронов в психотических нарушениях [299].

Показано усиление электроимпульсной активности гистаминергических нейронов гипоталамуса крыс под действием АТФ, АДФ и их производных через активацию рецепторов семейства P2Y. При этом аденозин не оказывал влияния на гистаминергические нейроны. Показано присутствие P2Y1- и P2Y4-рецепторов, а также P2Y1-рецептор иРНК в гистаминергических нейронах.

Однако АТФ может и тормозить электроимпульсную активность гистаминергических нейронов через активацию ГАМК-ергических нейронов [316].

Установлено опосредованное рецепторами возбуждение ТМ-ядер гипоталамуса тиротропин-релизинг гормоном (ТРГ) через неселективные катионные каналы и опосредование гистаминергической системой пробуждающего действия ТРГ [349]. Тиротропин-релизинг гормон нейроны интенсивно иннервируют гистаминергические нейроны всех отделов tuberomammillary ядер, с наиболее плотной иннервацией в E4 и E5 и вероятно оказывают активирующее действие [399].

Таким образом, гистаминергические нейроны гипоталамуса иннервируются нейронами многих отделов мозга и имеют многочисленные синаптические контакты с нейронами другой нейромедиаторной природы. На них оканчиваются терминалы, содержащие ацетилхолин, серотонин, ГАМК, глутамин, орексин, галанин, субстанцию Р, нейропептид Y, меланоцитостимулирующий гормон. В цитолемме гистаминергических нейронов находятся рецепторы ко многим нейромедиаторам и гормонам (ацетилхолину, ГАМК, серотонину, NMDA, орексину, галанину). Следовательно, гистаминергические нейроны находятся под мощным, разнообразным нейрогуморальным контролем и интегрированы в сложные нейрональные сети и морфофункциональные системы мозга.

Глава 9

ГИСТАМИНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ МОЗГА

Гистамин опосредует свои эффекты на клетки в ЦНС через четыре типа гистаминовых рецепторов (H_1 – H_4). Все они принадлежат к группе рецепторов, связанных с G-белком, и имеют ряд сходных структурных особенностей [247]. Гистаминовые рецепторы присутствуют во всех основных типах клеток мозга, включая эндотелий кровеносных сосудов [318]. Методом гибридизации *in situ* детально описано распределение мРНК гистаминовых H_1 -, H_2 - и H_3 -рецепторов в таламусе человека, раскрывающее функциональную роль гистаминаргической системы мозга. В префронтальной коре мозга человека показано специфическое послойное распределение разных гистаминовых рецепторов. При этом мРНК H_1 - и H_3 -рецепторов обнаружена в глубоких слоях коры (H_1 в V и VI, H_3 только в V слое), а экспрессия мРНК H_2 выявлена в поверхностном слое II. Связывание радиолигандов к гистаминовым рецепторам было более диффузным, но для рецепторов H_1 и R_3 оно преобладало в слоях III и IV, а для рецептора H_2 — в слоях I и II [237].

Гистаминовым рецепторам посвящен ряд великолепных обзоров [176, 231, 247, 273, 367], поэтому мы остановимся здесь только на основных моментах и новейших данных.

9.1. Гистаминовый H_1 -рецептор

В мозге H_1 -рецептор распределен относительно равномерно, с наибольшей плотностью белка в V и VI слоях коры, в гиппокампе, таламусе и globus pallidus, а также в области расположения холинергических нейронов в покрывке среднего мозга и вентральной части переднего мозга, адренергических нейронов синего пятна и ядер шва. Кроме того, высокая плотность H_1 -рецепторов присутствует в лимбической системе, включая многие ядра гипоталамуса, большинство ядер перегородки, медиальной части миндалины. Другими областями с высокой плотностью H_1 -рецепторов

являются п. *assumbens*, молекулярный слой мозжечка, ядра черепно-мозговых нервов, *area postrema* и ядро солитарного тракта [176].

Седативные эффекты классических антигистаминных препаратов вызваны в основном блокадой центральных гистаминовых H_1 -рецепторов. Возбуждение H_1 -рецепторов, расположенных на холинергических интернейронах стриатума, ведет к блокаде калиевой проводимости, которая в норме обеспечивает мембранный потенциал покоя (resting membrane potential) [284]. Активация H_1 -рецептора ведет также к усилению активности глутаматных NMDA-рецепторов в коре больших полушарий [Cumming et al., 1989]. Однако во многих нейронах стимуляция H_1 -рецепторов ведет к деполяризации и/или увеличению частоты возбуждения (firing frequency).

Рецептор клонирован для многих видов животных; у человека H_1 -рецептор состоит из 487 аминокислот [367], и последовательность человеческого рецептора на 98 % схожа с обезьяньим, на 84 % с бычьим и на 83 % с крысиным (рис. 9.1).

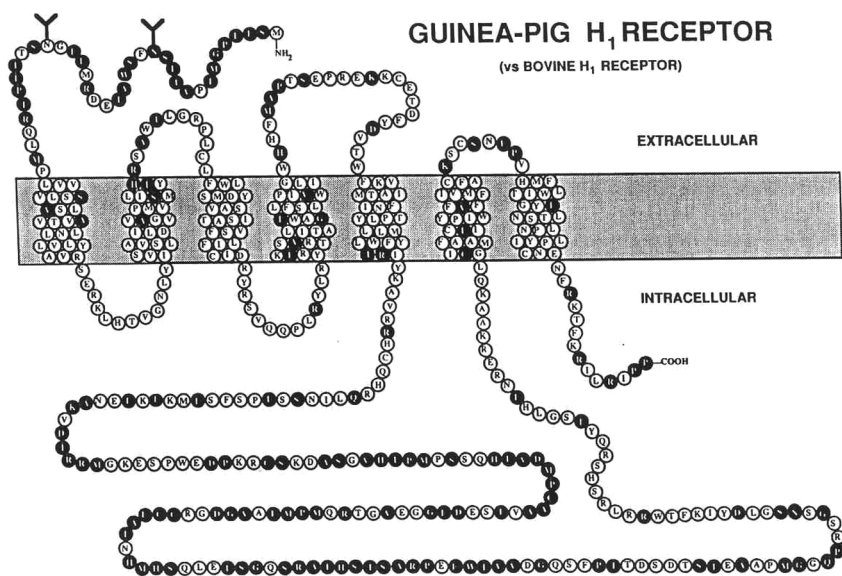


Рис. 9.1. Структура H_1 -гистаминового рецептора морской свинки по сравнению с H_1 -рецептором быка (темными кружками показаны отличия от рецептора быка, по [247])

После активации гистаминового H_1 -рецептора активируется фосфолипаза С через вовлечение $G_q/11$ белка [99]. При этом образуются вторичные внутриклеточные посредники — диацилглицерол и инозитол-3-фосфат, который стимулирует выделение Ca^{2+} из внутриклеточных депо, что запускает несколько Ca^{2+} -зависимых процессов (рис. 9.2).

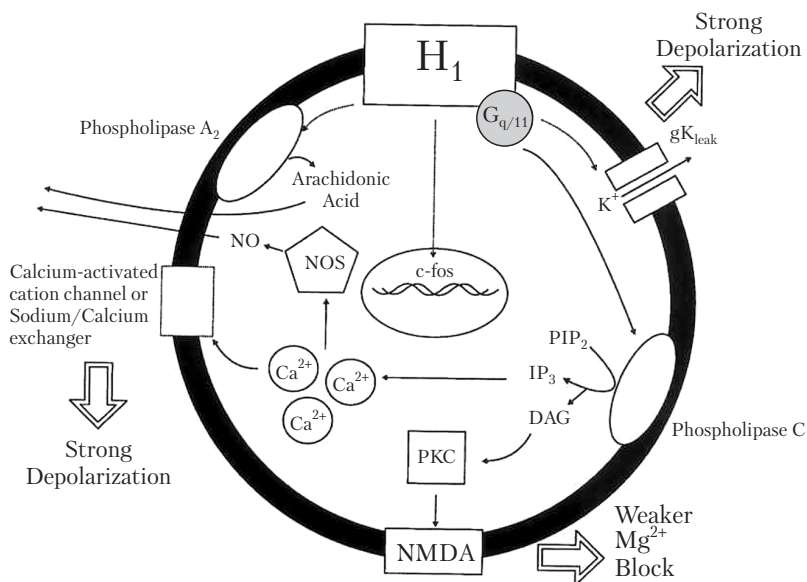


Рис. 9.2. Клеточные и мембранные ответы после активации H_1 -гистаминовых рецепторов [по 75]. H_1 -рецептор сопряжен со стимуляцией фосфолипазы С, через $G_{q/11}$ G-белок ведущей к выработке двух вторичных посредников IP_3 (инозитол-3-фосфата) и DAG (диацилглицерона) из фосфотидил-4,5-дифосфата (PIP_2). IP_3 стимулирует выделение кальция из внутренних депо, что в некоторых клетках ведет к активации синтазы окиси азота (NOS), а также к активации катионного канала или обменника натрия и кальция. DAG потенцирует активность РКК (протеинкиназы С), которая, в свою очередь, фосфорилирует различные белки, включая глутаматный NMDA-рецептор, уменьшающий эффективность магниевого блока. Сильная деполяризация развивается в результате блока пропускания калиевого канала (gK_{leak}), или, как например в нейронах септума, путем активации кальцием катионного канала. Кроме того, при активации H_1 -рецептора происходит образование арахидоновой кислоты, экспрессия c-Fos и модуляция коммуникационных межклеточных соединений

Клонирование гистаминового H_1 -рецептора позволило создать трансгенную линию мышей, не имеющих H_1 -рецепторов [222]. Развитие этих мышей протекало нормально, однако у взрослых особей отмечалось нарушение циркадной регуляции локомоторной активности и подавление исследовательского поведения в новых условиях.

У мутантных мышей, лишенных гистаминового H_1 -рецептора, установлено значительное ускорение кругооборота серотонина в коре мозга и гиппокампе и изменение двигательной активности, эмоций, памяти, обучения и агрессивного поведения [64].

При блокаде центральных H_1 -рецепторов после введения H_1 -антагонистов первого поколения («классические антигистаминные препараты») у людей наблюдаются психические расстройства, судороги, галлюцинации [363], что подтверждает участие этих рецепторов в регуляции психических функций.

9.2. Гистаминовый H_2 -рецептор

Подобно H_1 -рецептору, H_2 -рецептор распределен в мозге довольно равномерно, с преобладанием в базальных ганглиях и в отделах лимбической системы, таких как гиппокамп и миндалина. Низкая плотность этого рецептора отмечается в гипоталамусе, таламусе и септуме. В коре больших полушарий плотность H_2 -рецепторов более высока в поверхностных слоях (I–III), где они, вероятно, располагаются на дендритах пирамидных нейронов. В коре мозжечка H_2 -рецепторы обнаружены как на грушевидных нейронах, так и на нейронах зернистого слоя [103].

Максимальная плотность мРНК H_2 -гистаминового рецептора у обезьяны и человека обнаружена в хвостатом ядре и покрышке, а также наружных слоях коры больших полушарий головного мозга. Средняя плотность наблюдается в гиппокампе, низкая плотность — в зубчатых ядрах и мозжечке. Такие области мозга, как бледный шар, миндалина, кора мозжечка и черная субстанция, были лишены мРНК H_2 -рецептора [111].

В мозге крысы максимальная плотность мРНК H_2 -гистаминового рецептора выявлена в зубчатой извилине, гиппокампе, периформной коре, супрахиазматическом ядре гипоталамуса и красном

ядре среднего мозга. Однако большинство областей мозга показали низкую экспрессию H_2 -рецептора [283].

H_2 -рецептор связан с G-белком и протеинкиназой A, фосфорилирующей белки. Активация этого рецептора ведет к увеличению содержания цАМФ в различных тканях, что говорит о связи рецептора с аденилатциклизной системой [165] (рис. 9.3).

Человеческий рецептор состоит из 359 аминокислотных оснований и имеет 98–99 % сходства с рецептором приматов и 86–87 % с рецептором грызунов [176].

Наиболее часто наблюдаемый электрофизиологический эффект после стимуляции H_2 -рецептора — возбуждение клетки. В пирами-

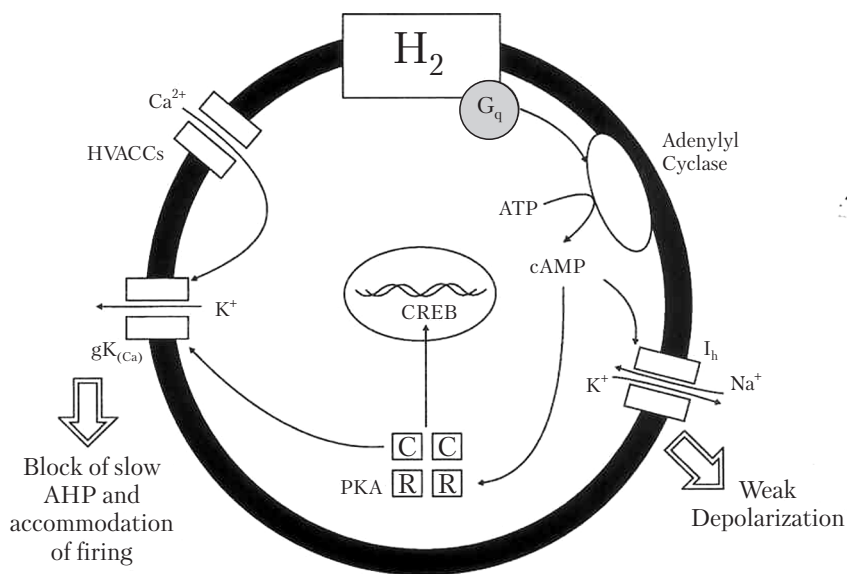


Рис. 9.3. Клеточные и мембранные ответы после активации H_2 -рецепторов [по 75]. H_2 -рецептор сопряжен со стимуляцией аденилатциклазы, через $G_{q/11}$ G-белком ведущей к образованию из АТФ вторичного посредника, циклического аденозинмонофосфата (сАМФ). сАМФ связывается регуляторными субъединицами протеинкиназы (РКА), ведущей к отделению каталитической субъединицы (С). Последняя может фосфорилировать различные ключевые белки: CREB, угнетение кальций-зависимого транспорта калия ($gK_{(Ca)}$), что ведет к блокаде медленной автогиперполяризации. сАМФ может также вызывать слабую деполяризацию независимо от РКА путем сдвига активации

дальных клетках гиппокампа гистамин блокирует кальций-зависимые калиевые каналы [176].

Локализация H_2 -рецептора была показана на холинергических нейронах стриатума и на ГАВА-ергических терминалях в черной субстанции. Биохимические данные подтверждают пресинаптическую роль H_2 -рецепторов в активации выброса норадреналина [165].

9.3. Гистаминовый H_3 -рецептор

Гистаминовый H_3 -рецептор был впервые описан в 1983 г. как ауторецептор, регулирующий синтез и выброс гистамина в синаптическую щель [57, 58]. При этом он действует аналогично пресинаптическим рецепторам, опосредующим обратную регуляцию некоторых других нейромедиаторов [175].

H_3 -рецепторы расположены на теле, дендритах и аксонах (в области варикозных расширений) гистаминергических и многих других нейронов. Они обеспечивают отрицательную обратную связь, ограничивая синтез и выделение гистамина и выделение других транмиттеров, таких как глутамат, ацетилхолин и норадреналин [74, 271]. Это угнетение действует через G-протеинзависимый блок входа Ca^{2+} .

По-видимому, H_3 -гистаминовые ауторецепторы являются основным регуляторным механизмом контроля активности гистаминовых нейронов в физиологических условиях [123]. Показано, что H_3 -рецептор действует на синтез гистамина в гистаминергических нейронах через Ca^{2+} -кальмодулин и цАМФ-зависимый протеинкиназный пути [166] (рис. 9.4).

Рецептор был недавно клонирован; он принадлежит к группе $G_{i/o}$ -связанных рецепторов [93]. Уменьшение выброса нейротрансмиттеров в синаптическую щель после активации H_3 -рецептора вызвано угнетением высоковольтажных кальциевых каналов (high-voltage activated calcium channels).

Распределение H_3 -рецептора в ЦНС более специфично, чем у H_1 и H_2 : самая высокая плотность этого рецептора наблюдается в глубоких слоях всех областей коры больших полушарий, п. ассумбенса, стриатуме, обонятельных луковицах и черной субстанции. В гипоталамусе плотность этого рецептора умеренная; здесь они

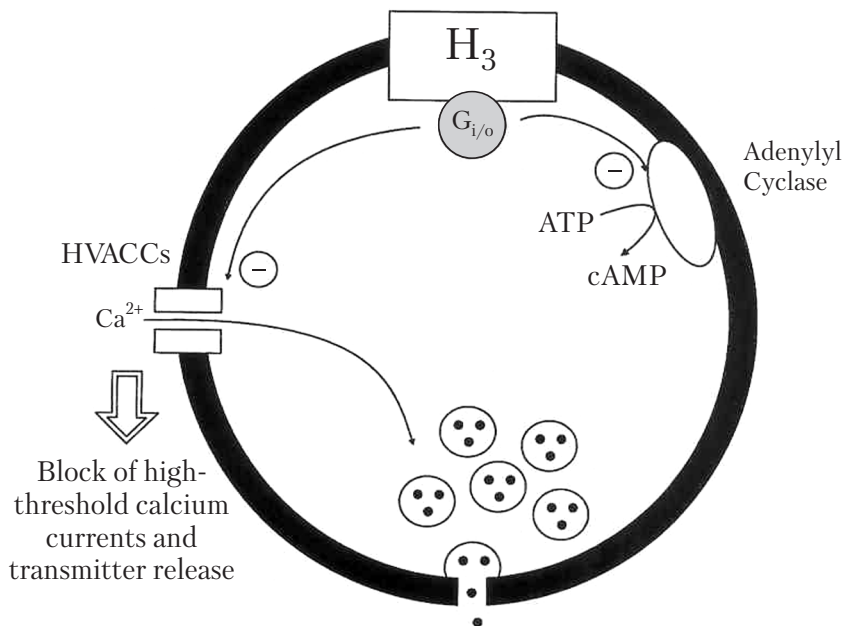


Рис. 9.4. Клеточные и мембранные ответы после активации H_3 -гистаминового рецептора [по 75]. H_3 -рецептор сопряжен с угнетением аденилатциклазы через G_i/G_o , что ведет к уменьшению образования циклического аденозинмонофосфата (сАМР). Кроме того, активация H_3 -рецептора ведет к угнетению высоковольтажных кальциевых каналов, что приводит к уменьшению выделения медиатора

обнаружены на телах гистаминергических нейронов [175]. Распределение в мозге человека и грызунов РНК и белка этого рецептора позволяют предположить локализацию H_3 -рецептора на ГАМК-ергических терминалях в черной субстанции [48, 109].

Проведено детальное сравнительное количественное исследование регионального распределения связывания специфического радиолиганда (авторадиографически) и мРНК H_3 -рецептора в мозге крысы. В коре мозга сильная экспрессия мРНК наблюдалась в промежуточных и глубоких слоях, демонстрируя присутствие H_3 -рецепторов в нескольких типах нейронов, на зернистых нейронах и апикальных дендритах пирамидных нейронов. Кроме их локализации на моноаминергических афферентах, высокая

плотность метки в слое IV и сильная экспрессия мРНК в таламических ядрах предполагает присутствие гетерорецепторов на таламокортикальных проекциях. Сильная экспрессия мРНК обнаружена на эфферентных проекциях пирамидных нейронов гиппокампа, а также в стриатуме и обонятельных бугорках. H₃-рецептор обнаружен в компактной части черной субстанции, в стриатуме и п. *assumbens*. В гипоталамусе наибольшая плотность H₃-рецептора и мРНК экспрессия обнаружена в ТМ-ядрах. Высокая экспрессия мРНК обнаружена почти во всех клетках Пуркинье и ядрах мозжечка [28].

Обнаружены изоформы гистаминового H₃-рецептора в мозге морской свинки и человека; наиболее полно они охарактеризованы в мозге крыс. Обнаружено как минимум три изоформы — H_{3a}, H_{3b}, H_{3c} [219], имеющие разную топографическую локализацию мРНК.

9.4. Гистаминовый H₄-рецептор

Гистаминовые H₄-рецепторы являются последними, наиболее поздно идентифицированными рецепторами из семейства G-протеин-сопряженных рецепторов и связывают несколько нейроактивных лекарственных соединений, включая amitriptilin и клозапин. Первоначально их идентифицировали только в гемопоэтических клетках, но в настоящее время показано, что они могут экспрессироваться в ЦНС человека и мыши. Гистаминовые H₄-рецепторы экспрессируются в определенных глубоких слоях, особенно VI слое коры мозга человека, а также в зрительных буграх, СА4 stratum lucidum гиппокампа и IV слое коры мозга мышей. Электрофизиологически показано: в IV слое коры мозга мышей агонист H₄-рецепторов 4-метилгистамин (20 мкМ) прямо гиперполяризовал нейроны и этот эффект блокировался антагонистом H₄-гистаминовых рецепторов JNJ 10191584 [395].

мРНК H₄-гистаминовых рецепторов выявляется во всех исследованных областях ЦНС человека, включая спинной мозг, гиппокамп, кору, таламус и миндалину, с наибольшей транскрипцией в спинном мозге. У крыс мРНК H₄-гистаминовых рецепторов определялась в коре, мозжечке, стволе мозга, миндалине, таламусе

и стриатуме. Очень низкий уровень мРНК H_4 в гипоталамусе, и этот сигнал отсутствует в гиппокампе крыс. Очень высокий уровень — в спинальных ганглиях и спинном мозге. Иммуногистохимический анализ обнаружил экспрессию H_4 -рецепторов на нейронах в спинальных ганглиях и спинном мозге крыс [252].

Таким образом, гистаминовые H_1 - и H_2 -рецепторы оказывают в основном возбуждающее действие на нейроны мозга или потенцируют возбуждающий вход. Напротив, активация гистаминовых H_3 -рецепторов вызывает аутоингибирование ТМ-нейронов и угнетает выделение нейромедиаторов. Поэтому результирующее действие гистамина в нейрональной сети непредсказуемо на основе только индивидуальной клеточной активности.

Показана высокая плотность распределения всех трех типов гистаминовых рецепторов в коре мозга, гиппокампе, миндалине и гипоталамусе (рис. 9.5).

Данные литературы о сигнальных путях, активируемых гистаминовыми рецепторами, обобщены на рис. 9.6. Наиболее широко применяемые специфические лиганды (агонисты и антагонисты), а также радиолиганды гистаминовых рецепторов приведены в табл. 9.1.

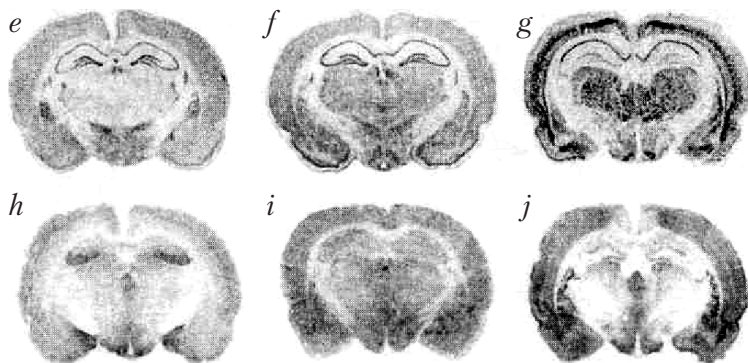


Рис. 9.5. Сравнительное распределение гистаминовых рецепторов в мозге крысы [по 167]. Показано распределение мРНК (гибридизация *in situ*) гистаминовых H_1 — *e*, H_2 — *f*, H_3 — *g* рецепторов и связывания специфических радиолигандов с гистаминовыми H_1 — *h*, H_2 — *i*, H_3 — *j* рецепторами во фронтальных срезах мозга крысы на уровне среднего гипоталамуса

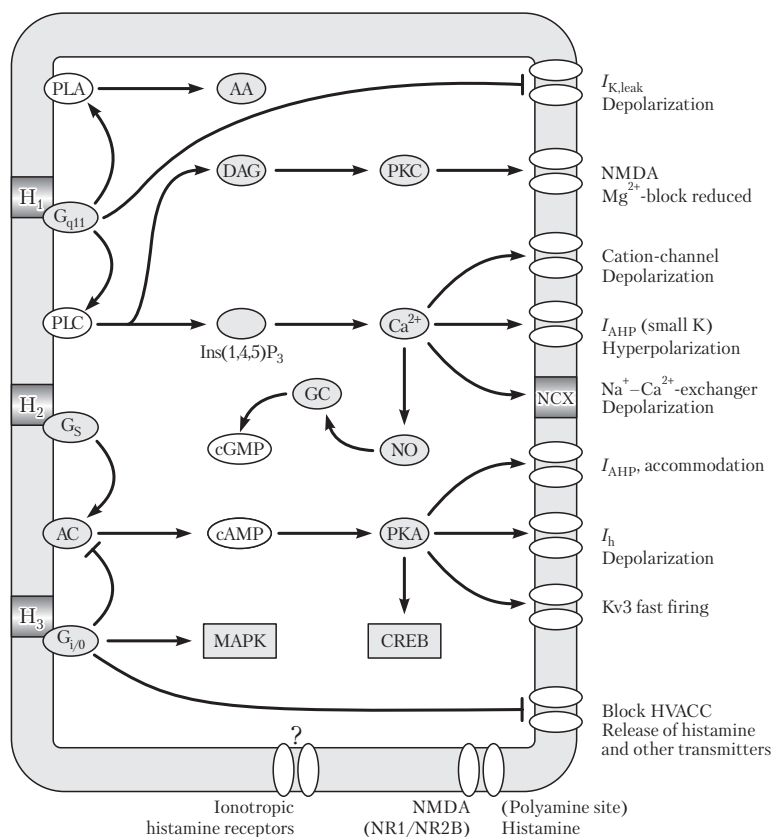


Рис. 9.6. Сигнальные пути, активируемые гистаминовыми рецепторами [по 167]. Гистаминовые рецепторы и сопряженные с ними G-белки показаны слева, мембранные механизмы активации рецепторов — справа. Прямоугольник содержит сигнальный путь и внутриклеточные посредники. AA — арахидоновая кислота. AC — аденилатциклаза. Циклическая АМФ — отвечающий элемент. CRE — связывающий белок. DAG — диацилглицерол. GC — гуанилилциклаза. HVACC — высоковольтный канал, активируемый Ca²⁺. I_{AHP} — низкопроводящий кальций-зависимый калиевый канал с низкой проводимостью. I_h — активируемый гиперполяризацией катионный канал. IK — калиевый канал. Ins(1,4,5)P₃ — инозитол-1,4,5-трифосфат. V_{FHR} — митогенактивируемая протеинкиназа. NCX — натрий/кальций обменник. NMDA — N-метил-D-аспартат. NO — окись азота. PKC — протеинкиназа C. PLA — фосфолипаза A. PLC — фосфолипаза C

Таблица 9.1

**Некоторые фармакологические агенты, влияющие
на гистаминовые рецепторы**

Рецепторы	Агонисты	Антагонисты	Радиолиганды
H ₁	Гистамин 2-тиазолэтиламин 2-(3-бромфенил) гистамин	Трипролидин Цетиризин Лоратадин Эпинастин Мепирамин	[Зн] мепирамин ([Зн] пири- ламин)
H ₂	Гистамин 4(5)-метилгистамин Димаприт Импромидин	Буримамид Циметидин Ранитидин Фамотидин Золатидин	[125i] йодоаминопотентидин
H ₃	Гистамин (r)-α-метилгистамин Иметит Иммепип	Клобенпропит Тиоперамид	[3H](R)-α-метилгистамин [3H](N)-α-метилгистамин

Гистамин в период бодрствования выделяется в тонической манере. Поэтому рецепторы в областях мозга с сильной гистаминергической иннервацией (например гипоталамус, базальная часть конечного мозга) или с высоким сродством к гистамину будут длительно активироваться в период бодрствования в обычных условиях. Гистамин, вероятно, играет важную роль в функциях, включающих эти рецепторы, таких как пробуждение и циркадный ритм потребления пищи и выделения гормонов [409]. Напротив, рецепторы в областях мозга со слабой гистаминергической иннервацией, такие как гиппокамп или ствол мозга, могут активироваться главным образом в экстремальной ситуации, когда активируются ТМ-нейроны [75].

Глава 10

РОЛЬ ГИСТАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ В ИНТЕГРАТИВНЫХ ФУНКЦИЯХ МОЗГА И ПОВЕДЕНИИ

Центральный гистамин играет важную роль в интегративных функциях мозга и поведении животных и человека. Установлено участие гистаминергической нейронной системы мозга в регуляции сна и бодрствования, двигательной активности, потребления пищи и воды, процессах положительного подкрепления, памяти и обучения, в механизмах терморегуляции, беспокойства, восприятия боли и стресса, нейрогормональной регуляции и кардиоваскулярного контроля.

10.1. Регуляция циркадных ритмов, цикла сна и бодрствования, гибернации

Возможно, эта функция центрального гистамина и гистаминергической системы мозга является наиболее яркой, известной, хорошо изученной и доказанной. Еще в 1920-е гг. наблюдения von Economo нарушений сна выявили, что пациенты, страдающие от гиперсомнии (энцефалитная летаргия), имели повреждения в заднем гипоталамусе, в то время как больные с инсомнией (отсутствие сна) имели повреждения в преоптической области [167]. Прямая регистрация электроимпульсной активности гистаминергических нейронов у кошек, находящихся в условиях свободного поведения, показала, что она выше у животных в состоянии пробуждения и внимания и ниже или отсутствует во время сна. Торможение гистаминергических нейронов во время сна опосредуется ГАМК-ергической иннервацией из латеральной преоптической области — области мозга, которая демонстрирует высокую активность во время глубокого сна [167].

Введение самого гистамина или ингибитора фермента его инактивирующего, гистамин-N-метилтрансферазы, в задний гипо-

таламус приводит к общему возбуждению, а введение ингибитора синтеза гистамина, флюорометилгистидина, или антагониста H_1 -рецепторов, мепирамина, — к угнетению (углублению медленноволновой фазы сна и торможению пробуждения) [250].

Пероральное введение агониста H_3 -рецепторов, (R)- α -метилгистамина, (угнетает активность гистаминергических нейронов) вызывало значительное увеличение медленноволновой фазы сна у кошек. Напротив, введение антагониста H_3 -рецепторов, тиопирамида, (активирует гистаминергические нейроны) дозозависимо усиливает пробуждение. Пробуждающее действие тиопирамида предупреждалось введением антагонистов H_1 -рецепторов. Эти данные подтверждают гипотезу о ключевой роли гистаминергических нейронов мозга в механизмах пробуждения [249].

Уровень гистамина коррелирует с циркадным ритмом, его концентрация в головном мозге резко возрастает в течение периода бодрствования [77]. Активность гистаминергических нейронов увеличивается в период бодрствования, что было доказано путем введения в организм гистамина или агонистов H_1 -рецепторов [49, 222, 276, 390].

Гистамин даже получил название «амин бодрствования» [241]. После активации гистаминергических нейронов орексином, ведущей к увеличению уровня гистамина в мозге, наступает пробуждение [311]. Введение орексина А в желудочки мозга вызывает у животных пробуждение, а центральное введение антагониста H_1 -гистаминовых рецепторов уменьшает этот эффект. Эти результаты предполагают, что активация гистаминергических нейронов орексином может быть одним из механизмов пробуждения [311].

Растущее количество данных подтверждает, что недостаток орексиновой нейротрансмиссии в мозге играет ключевую роль в развитии нарколепсии. Поскольку орексинсодержащие нейроны иннервируют и возбуждают гистаминергические ТМ-нейроны, нарушение гистаминергической нейротрансмиссии может также быть причиной нарколепсии. Обнаружено значительное уменьшение содержания гистамина в коре мозга и зрительных буграх — двух структурах, важных для гистамининдуцированного коркового пробуждения, — у собак доберманов с нарколепсией, мутантных по орексиновому рецептору-2. Напротив, содержание дофамина и норадреналина в этих структурах мозга было повышено [100].

Активация (усиление электроимпульсной активности) гистаминергических нейронов гипоталамуса при пробуждении животных сопровождается резким увеличением уровня Ca^{2+} в их цитоплазме и вызывается холинергическими нейронами через н-холинорецепторы [406].

У мышей с врожденным дефицитом H_1 -рецепторов наблюдается сонливость, что подтверждает важное значение гистаминергической системы и H_1 -рецепторов в регуляции процессов сна и бодрствования [213, 272, 301]. В целом, нет сомнений в том, что гистаминергическая система мозга является важным компонентом системы регуляции сна.

Гибернация (зимняя спячка) характеризуется сильным уменьшением многих ключевых функций организма, включая температуру тела и обмен веществ. Гибернирующий мозг разительно отличается по своим параметрам (активность, обмен веществ) от негибернирующего, однако механизмы этого физиологического процесса не совсем ясны. У золотистого суслика (*Citellus lateralis*), одного из зимнеспящих млекопитающих, гистаминергическая система головного мозга претерпевает значительные изменения во время спячки. Концентрации гистамина и его метаболитов значительно повышены во время гибернационного периода [Sallmen et al., 1999], выявлено увеличение плотности гистаминергических волокон септума, стриатума, гиппокампа и гипоталамуса. Несмотря на то что повышение гистамина в мозге связано с активацией мозга, его воздействие, например, на ингибирующие H_3 -рецепторы может быть одним из ключевых моментов, запускающих гибернационный цикл [2].

Гистамин вовлечен в регуляцию циркадных процессов в мозге несколькими путями. Прежде всего, в системе «день — ночь» уровень гистамина достаточно четко коррелирует с временем максимальной активности животных в течение суток: выброс гистамина из гипоталамуса повышается в темное время и снижается в светлое у крыс, в то время как у приматов (обезьяны резус) уровень гистамина был выше в дневное время [91]. Эти данные говорят о тесной связи между активацией гистаминергической системы и общей активностью мозга. Известно, что крысы, в отличие от приматов, активны именно в ночное время суток.

Введение гистамина в латеральный желудочек мозга активировало спонтанную двигательную активность у крыс, которая выражалась в усилении груминга и исследовательского поведения. Соответственно, у крыс на фоне действия пентобарбитала гистамин вызывал дозозависимое уменьшение продолжительности наркоза и гипотермии, не оказывая влияния на уровень пентобарбитала в мозге и крови. Предварительное введение антагониста H_2 -гистаминовых рецепторов, циметидина, не оказывало влияния на этот эффект гистамина, а введение антагониста H_1 -рецепторов предупреждало его [239].

Гистаминергическая система мозга усиливает центральную передачу афферентной информации, усиливая, но не трансформируя сигналы, идущие от сетчатки глаза. Усиление сенсорного входа может быть одним из путей, по которому гистаминергическая система участвует в пробуждении [405].

Методом прижизненного микродиализа, сопряженного с энцефалографией и электромиографией показано, что уровень внеклеточного гистамина в коре мозга в периоды бодрствования в 3,8 раза выше, чем в периоды сна. Установлена высокая положительная корреляция между продолжительностью периодов бодрствования и уровнем гистамина в коре мозга [149].

Иммуногистохимически показано, что экспрессия c-Fos в гистаминергических нейронах ТМ-гипоталамуса повышается у бодрствующих крыс по сравнению со спящими и прямо не связана со временем суток [410]. Показано, что при мотивированном пищевом поведении у крыс именно в гистаминергических нейронах ТМ-гипоталамуса происходит наиболее ранняя экспрессия c-Fos по сравнению с другими компонентами восходящей системы пробуждения [56]. Выявлено повышение экспрессии c-Fos в гистаминергических и орексинергических нейронах гипоталамуса крыс подросткового возраста с лишением сна [358].

Активность гистаминергической системы мозга демонстрирует четкий циркадный ритм: высокий уровень в активный период (у грызунов ночью, у обезьян и человека днем) и низкий уровень в период сна. Гистамин необходим для установления циркадного ритма выделения гормонов надпочечников, двигательной активности и потребления пищи, цикла сна и бодрствования. При нарушении фаз сон — бодрствование гистамин оказывает такой же пробуждающий

эффект, как свет, а угнетение синтеза гистамина блокирует пробуждающее действие света. Кроме того, гистамин играет роль в регуляции общего нейронального возбуждения и предрасположенности к судорогам [269].

Гистаминергическая система мозга вовлечена в регуляцию сна — бодрствования и работы так называемого нейронального будильника [262]. Показано, что гистамин активирует нейроны коры мозга (в переживающих срезах) через H_1 -рецепторы. Это объясняет седативное действие блокаторов H_1 -рецепторов, проникающих в мозг [344].

Известно, что аденозин, активируя A_2 -рецепторы, стимулирует нейроны базальной части конечного мозга и вентралатеральной преоптической области, ответственные за регуляцию сна. Эти нейроны посылают угнетающие сигналы, тормозящие гистаминергические нейроны гипоталамуса, которые участвуют в пробуждении через H_1 -гистаминовые рецепторы [214].

Проводили запись электроимпульсной активности индивидуальных гистаминергических нейронов гипоталамуса неанестезированных крыс. Все они характеризовались трехфазным широким потенциалом действия и были активны только во время бодрствования. Причем выраженность их активности коррелировала со степенью активности животных. Авторы считают, что гистаминергические нейроны не столько стимулируют пробуждение, сколько обеспечивают высокий уровень активности, необходимый для мыслительной деятельности. Гистаминергические нейроны прекращали электроимпульсную активность во время сна животных. Прекращение электроимпульсной активности гистаминергических нейронов может играть важную роль в запуске и углублении сна [385].

Вместе с тем показано, что введение гистамина или агониста H_2 -гистаминовых рецепторов димаприта в супрахиазматическое ядро гипоталамуса существенно не меняет циркадный ритм у сирийских хомячков. Кроме того, супрахиазматические ядра имеют очень слабую гистаминергическую иннервацию со стороны соответствующих нейронов заднего гипоталамуса. По мнению авторов, это противоречит мнению о вовлечении гистамина в регуляцию циркадных ритмов. Установлено также, что массовая (82 %) гибель гистаминергических нейронов гипоталамуса, вызванная введением гипокритина-2, конъюгированного с сапонином, значительно

не нарушает сон у крыс. На основании этого авторы приходят к выводу, что гистаминергическая система мозга не играет критической роли в спонтанном пробуждении у крыс [125]. Это заключение противоречит результатам всех других исследований, описанных выше. Не исключено, что данное воздействие вызывает подавление экспрессии только аденозиндиаминазы, использованной как маркер гистаминергических нейронов. Для прямого доказательства массовой их гибели следовало бы использовать в качестве маркера гистамин или фермент его синтеза — гистидиндекарбоксилазу.

Иммуногистохимически показана экспрессия аденозиновых A_1 -рецепторов на гистаминергических нейронах гипоталамуса. *In vivo* микродиализ показал, что выделение гистамина во фронтальной коре подавлялось микроинъекцией в ТМ-ядра агониста A_1 -рецепторов, аденозина или ингибитора аденозиндиаминазы, катаболизирующей аденозин в инозин. При этом увеличивалась глубина сна с медленным движением глаз у обычных мышей, но не нокаутных по A_1 -гистаминовым и H_1 -рецепторам. Этот эффект блокировался совместным введением антагониста A_1 - и H_1 -рецепторов. Эти данные указывают на то, что эндогенный аденозин в ТМ-ядре подавляет гистаминергическую систему через A_1 -рецепторы, усиливая сон [37].

Базальный пучок переднего мозга (basal forebrain, BF) является ключевой структурой в регуляции как корковой активности, так и гомеостаза сна. Он получает вход от восходящих пробуждающих систем и особенно хорошо иннервирован гистаминергическими нейронами. Предыдущие исследования ясно указывают на роль гистамина как пробуждающего вещества в BF. С помощью прижизненного микродиализа и электроэнцефалографии установлено, что внеклеточный уровень гистамина в BF возрастал сразу и оставался повышенным в течение 6 часов при лишении сна и возвращался к базальному уровню после завершения этого периода. В течение естественного цикла сон — пробуждение выявлена сильная корреляция между бодрствованием и уровнем внеклеточного гистамина в BF, который не зависел от времени дня. Введение гистамина в BF усиливало бодрствование и активность коры, введение в BF антагониста H_1 -рецептора — угнетало, а повреждение холинергических нейронов BF устраняло это действие гистамина [193].

Установлено, что недавно идентифицированный нейропептид S, вызывающий пробуждение, сопровождаемое двигательным и анксиолитическим эффектами, опосредует свое действие через гистаминергические и орексинергические нейроны гипоталамуса. Это было показано иммуногистохимически по усилению экспрессии в них c-Fos [295].

Обнаружено значительное увеличение числа гистаминергических нейронов (на 64 %) в гипоталамусе людей с нарколепсией, с катаплексией, но не на моделях у животных с этой патологией [163].

10.2. Регуляция двигательной (локомоторной) активности

Центрально вводимый гистамин оказывает обычно двухфазное воздействие на двигательную активность. Чаще всего короткая стадия гипоактивности сменяется более длительной фазой гиперактивности, как это было показано после введения гистамина в миндалину [73] и желудочки мозга [89]. Фаза гипоактивности в этих случаях, скорее всего, вызвана активацией H_3 -гетерорецепторов, что ведет к угнетению дофаминергической nigростриальной системы. Нельзя также исключать влияние активации H_1 -рецепторов, так как нокаутные по этому рецептору мыши показывали нарушения локомоции.

Центральное введение в мозг крысам вещества 48/80, вызывающего дегрануляцию тучных клеток, приводило к четко выраженному синдрому, включающему дрожание головы и тела, тремор лап, повышенный груминг, сонливость, застывание в необычных позах. У мышей линии W/W^v, с генетическим дефицитом тучных клеток, уменьшение уровня гистамина в мозге приводило к уменьшению локомоторной активности, чему препятствовало в некоторой степени введение H_3 -агонистов [118]. Аналогично повышение уровня гистамина в мозге мышей приводило к усилению локомоторной активности; введение гистаминовых H_3 -антагонистов (тиопирамид) имело такой же эффект [119].

Аппликация гистамина (1–100 μ M) оказывает возбуждающее действие на нейроны красного ядра в срезах мозга через H_2 -,

но не H_1 -рецепторы, что также указывает на механизм действия гистамина в регуляции двигательной активности животных [177].

Гистаминергическая система мозга уменьшает активирующее действие метамфетамина на двигательную активность мышей и их поведенческую сенситизацию. Это действие осуществляется через H_1 - и H_2 -гистаминовые рецепторы и ГАМК. К этим выводам пришли исследователи, изучая действие метамфетамина у контрольных и нокаутных мышей с генетической недостаточностью ГДК и гистаминовых H_1 - и H_2 -рецепторов [265]. Нокаутные по гистидиндекарбоксилазе мыши (с врожденной недостаточностью синтеза гистамина) проявляют пониженную исследовательскую активность в открытом поле и значительные нарушения поведения. У них во фронтальной коре мозга повышен уровень ацетилхолина и кругооборот серотонина, а в стриатуме уровень ацетилхолина снижен [291].

Показано, что гистамин улучшает двигательный баланс и координацию движений путем активации H_2 -гистаминовых рецепторов на нейронах *n. interpositus* мозжечка. Это подтверждает существование гипоталамо-мозжечковых проекций, которые могут модулировать регуляцию двигательного баланса и координацию движений [183]. Так как *dentate nucleus* получают гипоталамо-церебеллярные гистаминергические проекции и играют роль в инициации и планировании движений, постсинаптическое возбуждение их нейронов гистамином указывает на возможность модуляции движений гистаминергическими проекциями [178]. Показано, что гистамин усиливает двигательную активность и координацию животных через H_2 -рецепторы на нейронах *fastigial nucleus* и *interpositus nucleus* и участвует в мозжечковом двигательном контроле, улучшая выполнение движений на родопоте и стержне для балансировки [190].

In vitro на срезах спинного мозга показано, что гистамин усиливает возбуждение большинства мотонейронов через H_1 - и H_2 -рецепторы. Это предполагает, что гистаминергические волокна могут прямо модулировать результирующий двигательный выход и регулировать соответствующие двигательное возбуждение и спинальные двигательные рефлексy [147].

Таким образом, большинство данных указывает на то, что повышение общей концентрации гистамина и активация гистаминерги-

ческой системы в мозге ведет к усилению двигательной активности животных. Это соответствует данным, описанным выше, о пробуждающем, активирующем действии гистаминергической системы в мозге.

10.3. Регуляция энергетического баланса, пищевого и питьевого поведения

Установлено, что нейрональный гистамин может передавать сигналы, подавляющие потребление пищи, через H_1 -рецепторы в вентромедиальном и паравентрикулярных ядрах гипоталамуса, и играет ключевую роль в гомеостатическом контроле адаптивного поведения [360].

Одним из возможных механизмов вовлечения гистаминергической системы мозга в регуляцию пищевого поведения и энергетического баланса в организме может быть резкое повышение гистидина в крови и мозге при белковом и энергетическом голодании, когда уровень других аминокислот в крови понижен. Это ведет к увеличению синтеза гистамина в мозге из его метаболитического предшественника гистидина и активации секреции кортикотропин-релизинг гормона нейронами паравентрикулярного ядра гипоталамуса, активация выделения АКТГ и глюкокортикоидов [209].

Потребление пищи подавляется как активацией H_1 -рецепторов, так и угнетением H_3 -рецепторов в вентромедиальном гипоталамусе или паравентрикулярных ядрах, которые вовлечены в регуляцию насыщения. Гистаминергические нейроны уменьшают объем потребляемой пищи и увеличивают потребление жидкости, а также регулируют циркадный ритм потребления пищи и участвуют в терморегуляции, играют ключевую роль в установлении гомеостатического энергетического баланса. У линейных крыс с врожденным ожирением наблюдается недостаточность гистаминергических нейронов гипоталамуса [361].

Повышение концентрации центрального гистамина уменьшает аппетит и накопление жира [217]. Было высказано предположение, что гистамин — медиатор гомеостаза массы тела — благодаря лептину, веществу, выделяемому жировой тканью и действующему на гипоталамус, вызывает выделение гистаминергическими нейро-

нами гистамина, который действует через H_1 -рецепторы [208, 259, 429]. Блокирование или угнетение гена H_1 -рецепторов приводит к увеличенному всасыванию пищи и снижению эффекта, вызываемого лептином.

У мышей с дефицитом гена H_3 -рецепторов отмечается инсулин- и лептинустойчивость, повышенный уровень инсулина и лептина в крови, пониженный уровень гистамина в гипоталамусе и ускорение его кругооборота в мозге; все они характеризуются фенотипом ожирения (повышенная масса тела, потребление пищи, пониженный расход энергии). Кроме того, у этих животных не наблюдается анарексогенный эффект антагониста гистаминовых H_3 -рецепторов тиоперамида [389].

Всасывание компонентов пищи регулируется, по-видимому, благодаря H_1 - и H_3 -рецепторам. Гистамин регулирует питьевой гомеостаз через увеличение секреции вазопрессина и уменьшение диуреза [68, 198, 226, 272].

Введение гистамина, агониста H_1 -гистаминовых рецепторов, и тиоперамида, антагониста H_3 -рецепторов, в желудочки мозга подавляет потребление пищи и усиливает диурез. Активация H_3 -рецепторов усиливает питье (этот эффект предупреждается антагонистом H_3 -рецепторов тиоперамидом), а введение H_2 -рецепторов — усиливает диурез [129]. Следовательно, активация гистаминергической системы мозга подавляет потребление пищи и воды и усиливает диурез.

У ГДК-нокаутных мышей с генетическим дефектом гистидин-декарбоксилазы отсутствует синтез гистамина в мозге. Такие мыши отличаются ожирением, увеличением количества бурой жировой ткани, нарушенной толерантностью к глюкозе, гиперинсулинемией и гиперлептинемией. Они едят не больше контрольных мышей, но имеют повышенный вес. У них нарушен механизм расхода энергии из депо [217]. Показано, что гистаминергические нейроны гипоталамуса регулируют периферический метаболизм липидов путем ускорения липолиза в жировых депо (эпидидимис) через активацию симпатических бета-адренорецепторов. Это установлено путем введения в 3-й желудочек мозга тиоперамида, антагониста гистаминовых H_3 -рецепторов, активирующего синтез и выделение гистамина. Это сопровождалось активацией эфферентных симпатических нервов иннервирующих придаток яичка, а введение

антагониста бета-адренорецепторов блокировало индуцированный тиюперамидом липолиз [218].

Нейрональный гистамин гипоталамуса и его H_1 -рецепторы образуют часть лептин-сигнального пути в мозге и регулируют массу тела и степень ожирения у линейных мышей с врожденным диабетом и у мышей с ожирением, индуцированным диетой, уменьшая потребление пищи. Показано, что введение гистамина в левый желудочек мозга уменьшает потребление пищи и вес тела у линейных мышей с врожденным ожирением, а также уменьшает экспрессию мРНК гена ожирения в эпидидимальной жировой ткани. Этот эффект не наблюдался у мышей с ожирением, нокаутных по H_1 -рецептору. Введение гистамина вызывало экспрессию *c-Fos* в паравентрикулярном и аркуатном ядре [293]. Интересно отметить, что вентромедиальное ядро гипоталамуса считают «центром насыщения». При его возбуждении подавляется потребление пищи.

У мышей, нокаутных по гистаминовому H_1 -рецептору, развивается ожирение, гиперфагия, нечувствительность мозга к лептину, нарушение дневного ритма потребления пищи. Введение животным агониста H_1 -гистаминовых рецепторов уменьшает потребление пищи и ожирение, нормализует экспрессию *c-Fos* в гипоталамусе. Следовательно, гистаминовый H_1 -рецептор мозга может быть ключом к лечению ожирения и связанных с ним метаболических нарушений [234].

Нейропептиды орексин А и Б, образуемые нейронами латерального гипоталамуса, вовлечены в регуляцию потребления пищи и воды и контроль цикла сон — бодрствование. Орексин действует через два связанных с G-протеином рецептора ($OX-R1$ и $OX-R2$), которые кодируются различными генами и различно экспрессируются в ЦНС. $OX-R1$ -иммунореактивные нейроны широко встречаются в гипоталамусе (супрахиазматическом, аркуатном, вентромедиальном, дорсомедиальном, паравентрикулярном и супраоптическом ядрах латеральной гипоталамической и ТМ-области) [309]. Важно, что гистаминергические нейроны гипоталамуса содержат оба орексиновых рецептора [75].

Результаты фармакологических исследований показали, что нейрональный гистамин и его рецепторы вовлечены в регуляцию ожирения у грызунов и человека [208, 429]. Гистаминергические

нейроны усиливают возбуждение и вегетативную активность, обеспечивая добровольное целенаправленное поведение, направленное на получение пищи. Это было показано регистрацией быстрого выделения гистамина в гипоталамусе и усилением экспрессии c-Fos в ТМ-гипоталамусе и корковых нейронах в период appetitive фазы пищевого поведения у крыс [398].

10.4. Гистаминергические нейроны и аддикция

Фармакологические эксперименты и эксперименты с использованием повреждения мозга привели к предположению, что гистаминергическая система оказывает угнетающее влияние на процесс положительного подкрепления веществ, в противоположность дофаминергической системе, возможно, через ее угнетение [133]. В последние десятилетия была продемонстрирована способность многих антигистаминных соединений потенцировать поведение, связанное с аддикцией, хотя данные неоднозначны. Показано, что гистамин может как стимулировать, так и угнетать дофаминовую мезолимбическую систему через определенные нейрональные механизмы, включающие различные гистаминовые рецепторы. В целом создание лекарств, способных активировать гистаминергическую систему может предложить обнадеживающий терапевтический инструмент для лечения опиоидной зависимости [235].

10.5. Участие в процессах памяти и обучения

Роль гистамина в обучении и процессе памяти предполагалась давно. Вместе с тем существуют абсолютно противоречивые данные, в которых утверждается, что гистамин улучшает память и облегчает процесс обучения и наоборот. В одних работах было показано, что инъекции α -FMH (ингибитора синтеза гистамина) оказывают подавляющий эффект на память и обучение, а в других — введение α -FMH способствовало улучшению процессов обучения и памяти [80]. Разрушение ТМ-ядер гипоталамуса крыс, ведущее к уменьшению числа гистаминергических нейронов, улучшает способность к обучению в различных экспериментальных ситуациях [52].

Влияние гистаминергической системы мозга на мышление можно объяснить модуляцией гистамином холинергической системы. Кроме того, гистамин участвует в патогенезе таких болезней, как возрастные нарушения памяти, болезнь Альцгеймера и гиперактивность, связанная с нарушением внимания, поскольку в клинике гистаминергические препараты дают положительный эффект в их лечении [397].

Гистаминчувствительные нейроны вентрального гиппокампа модулируют механизмы памяти и обучения у крыс. Кроме того, показаны региональные особенности распределения в гиппокампе этих нейронов, контролирующих обучение избеганию [45]. Однако в другом исследовании прямое введение гистамина в миндалинку или гиппокамп приводило к снижению эффективности обучения [46]. Вместе с тем повышение уровня гистамина путем инъекций гистамина, L-гистидина или тиоперамида в желудочки мозга приводит к улучшению ориентации во времени, что является признаком улучшенной кратковременной памяти [167, 272, 332].

Введение гистамина (0,1 мкг) в заднюю часть п. *assumbens* улучшало обучение, память и оказывало подкрепляющий эффект. При этом антагонист H_1 -рецепторов, введенный в переднюю часть п. *assumbens*, также улучшал обучение [97].

Исследовали влияние гистамина и лигандов гистаминовых рецепторов на спонтанное и стимулированное калием (100 мМ) выделение ацетилхолина, измеряемое с помощью прижизненного микродиализа в коре мозга свободно двигающихся крыс, и их когнитивную деятельность. Установлено, что гистамин (0,1–100 μ M) угнетает стимулированное K^+ выделение ацетилхолина. Антагонисты гистаминовых H_3 -рецепторов воспроизводят этот эффект гистамина, а агонисты H_1 - и H_2 -рецепторов не оказывали на это влияния. Агонист H_3 -рецепторов полностью предупреждал, а антагонисты H_1 - и H_2 -рецепторов не влияли на этот ингибирующий эффект гистамина. Это предполагает влияние гистамина на процессы памяти и обучение у животных. Агонисты H_3 -рецептора ослабляют познавательные способности крыс, так как приводят к угнетению корковой реализации ацетилхолина [227], поскольку гистаминергические нейроны поддерживают холинергическую передачу [88, 333].

Возможно, что гистамин улучшает процессы памяти, повышая выделение ацетилхолина [327]. Показано, что гистаминергические нейроны участвуют в обучении и памяти через H_1 -рецепторы и их действие осуществляется через холинергические нейроны [88].

Выделение гистамина в мозге происходит в соответствии с циркадными, медленными и быстрыми внутридневными ритмами и связано с изменениями электроэнцефалограммы. Лиганды гистаминовых рецепторов влияют на изменения электроэнцефалограммы. По-видимому, гистамин мозга вовлечен в процесс памяти, так как угнетение синтеза гистамина нарушает, а H_3 -антагонисты и гистидин улучшают кратковременную память [327].

Методом прижизненного микродиализа с локальным введением лигандов H_3 -рецепторов показано, что гистаминергическая система в миндале усиливает выделение ацетилхолина и способствует формированию долговременной памяти [30].

Гистаминергические нейроны угнетают быструю (200 герц) электроимпульсную активность нейронов области CA1 гиппокампа через H_1 -рецепторы у свободно перемещающихся крыс. При этом у животных угнетаются процессы обучения и памяти [173].

Таким образом, данные литературы о влиянии гистаминергической системы мозга на процессы памяти и обучения весьма противоречивы. Вероятно, это связано с разнонаправленным ее действием в различных областях мозга, вовлеченных в эти процессы. Кроме того, гистаминергическая система мозга действует на память и обучение опосредованно, через холинергическую нейронную систему. В настоящее время роль центрального гистамина и гистаминергических нейронов мозга в поведении, а также процессах памяти и мышления активно изучается с использованием нокаутных мышей без фермента синтеза гистамина — гистидиндекарбоксилазы. У этих животных обнаружены значительные нарушения поведения, которые зависели от пола животных [51].

Угнетение гистаминовой нейротрансмиссии нарушает обучение и формирование памяти, уменьшает активацию коры и пробуждение, уменьшает беспокойство, влияет на подкрепляющие эффекты и внутримозговую стимуляцию. Стимуляция гистаминергической нейротрансмиссии может ослаблять нарушения обучения и памяти при различных экспериментальных воздействиях и патологических

состояниях. При нейродегенеративных болезнях у людей нарушения гистаминергической системы коррелировали с тяжестью нарушения мышления [291]. Влияние гистаминергической системы и эффекты агонистов/антагонистов гистаминовых рецепторов на производительность при решении задач, связанных с основными типами памяти, а также данные, полученные с накаутными моделями, и влияние гистамина на формирование памяти суммированы в обзоре [202].

10.6. Нейроэндокринная регуляция

Имеется много сообщений о разносторонней модуляции гистамином выработки гормонов [297, 367]. Гистамин, введенный внутрь желудочков мозга, приводил к повышению уровня адренокортикотропного гормона в плазме крови, однако этот эффект не был прямым и включал, по видимому, активацию различных релизинг-факторов. В то же время уменьшение уровня гистамина в организме после длительного введения ингибитора ГДК, α -флуорометилгистидина предотвращало повышение АКТГ в плазме крови после билатеральной адреналэктомии [79].

Адреналин- и норадреналинергические нейроны мозга активируют выделение вазопрессина и окситоцина секреторными нейронами супраоптического и паравентрикулярного ядер гипоталамуса не прямо, а через гистаминергические нейроны заднего гипоталамуса [199].

Установлено, что гистаминергические нейроны гипоталамуса имеют рецепторы к эстрогену, а их аксоны образуют синапсы на нейронах гипоталамуса, секретирующих гонадолиберины. Введение антагониста H_1 -рецептора, мепирамина, но не антагониста H_2 -рецепторов, ранитидина, может блокировать выделение лютеинизирующего гормона гипофиза [141].

Эти данные, а также аналогичные работы по взаимодействию гистамина и вазопрессина, пролактина и других гормонов показывают, что влияние гистамина на уровень этих гормонов не прямое, а, скорее всего, запускающее механизмы обратной регуляции через H_1 - и H_2 -рецепторы [167, 272, 367].

Центральный нейрональный гистамин и гистаминовые рецепторы в значительной степени вовлечены также в опиоид-индуцированную стимуляцию гипоталамико-надпочечниковой системы у крыс [76].

10.7. Сердечно-сосудистая регуляция

Центральные гистаминергические нейроны вносят важный вклад в сердечно-сосудистую регуляцию. Например, гистаминергические нейроны иннервируют области мозга, осуществляющие эту регуляцию, стимуляция центральных гистаминовых рецепторов меняет кровяное давление и частоту сердечных сокращений и нарушает активность основных сосудосуживающих систем. Кроме того, метаболизм гистамина нарушается при гипертензии [63]. Установлено повышение уровня гистамина, активности ГДК и гистаминметилтрансферазы в областях мозга линейных гипертензивных мышей по сравнению с нормальными контрольными мышами. Это свидетельствует о повышенной активности гистаминергической системы мозга у гипертензивных мышей и ее участии в регуляции кровяного давления [194].

Гистамин обладает гипертензивным эффектом, повышая артериальное давление и учащая сокращения сердца. Действие гистамина на сердечно-сосудистую систему осуществляется посредством H_1 - и H_2 -гистаминовых рецепторов [75, 331]. Центральный гистамин (30 мкг) и гистаминергические нейроны мозга повышают уровень ренина в крови через H_2 -гистаминовые рецепторы [260].

10.8. Терморегуляция

Есть предположение, что гистамин оказывает гипотермический эффект через H_1 - и H_2 -рецепторы [72]. Стимуляция H_1 -гистаминовых рецепторов в гипоталамическом центре терморегуляции понижает температуру тела через пока еще неизученные механизмы [98]. Значение H_3 -рецептора в терморегуляции было определено лишь недавно, когда у мышей с генетической недостаточностью H_3 -рецепторов было обнаружено понижение температуры тела [65].

Гистамин, вводимый в ядра медиальной преоптической области вызывает значительную, продолжительную гипертермию, которая воспроизводится агонистами H_1 - и H_3 -гистаминовых рецепторов через две популяции преоптических нейронов [184].

10.9. Роль центрального гистамина в эмбриогенезе

Иммуногистохимически (антитела против гистамина, конъюгированного с карбодиимидом) исследовано развитие гистаминергических нейронов в мозге крысы. Показано, что гистаминиммунореактивные нейроны появляются в мозге крысы на 15-й день эмбриогенеза в вентральном среднем и заднем мозге. В ТМ-ядрах гипоталамуса гистаминергические нейроны впервые появляются на 20-й день эмбриогенеза, когда нейроны в среднем и заднем мозге уже исчезают. Гистаминиммунореактивные нервные волокна появляются на 15-й день эмбриогенеза в среднем и заднем мозге, а также в промежуточном мозге, включая задний гипоталамус, и коре мозга. На 18-й день количество гистаминиммунореактивных волокон в заднем мозге значительно снижается, но они появляются в обонятельных луковицах, септальной и гипоталамической области и в коре мозжечка. Плотность сети гистаминиммунореактивных волокон возрастает вплоть до 14-го дня постнатального развития, когда устанавливается их распределение, характерное для взрослого [59].

Установлено, что концентрация гистамина в головном мозге курицы, морской свинки, крысы, мыши и человека быстро возрастает в течение внутриутробного развития и резко падает к моменту рождения [278]. Этот гистамин не синтезируется в ТМ-нейронах гипоталамуса, но образуется в нейронах, которые не синтезируют гистамин после рождения (перестают быть гистаминергическими) [241, 407]. ТМ-нейроны могут быть идентифицированы иммуногистохимически как гистаминсодержащие только непосредственно перед рождением [59, 345, 407]. Гистаминовые H_1 -рецепторы функционируют в период внутриутробного развития, что позволяет предположить, что это важно для эмбрионального развития [280]. Значение такого преобразования гистаминергической системы

в период внутриутробного развития и после рождения все еще неизвестно.

Экспрессия ГДК в тучных клетках развивающегося мозга мыши наблюдается с 13-го дня эмбриогенеза, в сосудистом сплетении — с 14-го дня, в нейронах шва — с 15-го дня. С 14-го дня обонятельный эпителий содержит мРНК ГДК и иммунореактивность гистамина. С 19-го дня мРНК ГДК и иммунореактивность гистамина начинают определяться в ТМ-области гипоталамуса и нейроэпителии. Это подтверждает регуляторную роль гистамина мозга в эмбриогенезе [283].

Показана динамика экспрессии H_2 -рецептора в развивающемся мозге крысы. Она на 15-й день эмбриогенеза появляется в нейронах шва, что совпадает с появлением там иммунореактивности к гистамину, а затем она появляется в коре мозга, сопровождая прораствание туда отростков гистаминергических нейронов [283].

Иммунореактивность к гистамину в стволе мозга в период эмбриогенеза может быть связана с временной ко-экспрессией гистамина в серотонинергических нейронах. Высокий уровень гистамина обнаружен в нескольких областях эмбриональной нервной системы на стадии нейрогенеза, так же как присутствие гистаминергических волокон и экспрессия гистаминовых рецепторов в различных областях развивающегося мозга, нейрогенный и пролиферативный эффекты на нейральные стволовые клетки соответственно после активации H_1 - и H_2 -рецепторов [275].

Гистамин — один из первых нейротрансмиттеров, которые появляются в эмбриогенезе, достигая максимальной концентрации одновременно с дифференцировкой нейронов. Это предполагает его важную роль в нейрогенезе. Показано, что гистаминергические нейроны способны увеличивать дифференцировку невральных стволовых клеток *in vitro*, через H_1 -рецепторы. Коровые нейроэпителиальные прогениторные клетки были культивированы и дважды обрабатывались гистамином (100 мкМ) в период клеточной пролиферации и дифференцировки. Иммуногистохимия была использована для выявления зрелых клеток. С помощью ПЦР-анализа важных факторов транскрипции установлено, что гистамин нужен в период клеточной пролиферации для усиления дифференцировки нейронов [187].

Таким образом, можно предположить, что гистамин мозга выполняет роль сигнала опасности. Замечено, что выделение и кругооборот гистамина усиливаются под действием разнообразных аверсивных и потенциально опасных стимулов: обезвоживание, гипогликемия, изменения кровяного давления, сенсорные конфликты, включающие вестибулярную систему, различные виды стресса. С другой стороны, гистамин участвует и в ответах на эти опасные стимулы. Гистамин участвует в активации симпатической нервной системы, ведущей к увеличению уровня катехоламинов в крови, выделению АКТГ, β -эндорфина и пролактина гипофизом. Более того, нейрональный гистамин опосредует индуцированное стрессом выделение норадреналина, серотонина и эндогенных опиоидов в мозге. В дополнение гистамин подавляет анаболические процессы: потребление пищи, выделение гипофизом гормона роста и тиротропного гормона. Вероятно, это обусловлено нецелесообразностью расходования энергии на анаболизм в условиях опасности. Гистамин усиливает пробуждение и беспокойство, что необходимо в опасной ситуации, и подавляет болевую чувствительность, позволяя животному справиться с ситуацией, не беспокоясь о имеющихся повреждениях. Наконец, гистаминергическая нейронная система, по-видимому, действует как «паникер», предупреждая положительное подкрепление поведения, которое ведет к опасности [75].

Роль гистаминергической системы в деятельности мозга человека в норме и при различных заболеваниях (депрессия, шизофрения, болезнь Альцгеймера) в последние годы интенсивно изучается с помощью позитронной эмиссионной томографии. Для этого используются различные меченые лиганды гистаминовых рецепторов и функциональные пробы [426].

Глава 11

ГИСТАМИНЕРГИЧЕСКИЕ НЕЙРОНЫ МОЗГА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ И ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ

Гистамин, лиганды гистаминовых рецепторов, регуляторы метаболизма гистамина широко используются в экспериментальных моделях патологических процессов для выяснения участия гистаминергической системы мозга в их патогенезе, а также выяснения возможностей использования ее фармакологических регуляторов для коррекции патологических состояний.

Установлено, что уровень гистамина у животных с недостаточностью тиамина значительно ниже в гиппокампе, миндалине, обонятельных луковицах, таламусе и мосту, продолговатом мозге, по сравнению с нормальными и парнокормленными животными. В то же время в гипоталамусе обнаружено значительное увеличение уровня гистамина. Эти изменения были обратимы и нормализовались в условиях тиаминсодержащей диеты [308].

Разрушение ТМ-нейронов и подавление синтеза гистамина в мозге уменьшает повреждение мозга, вызванное недостаточностью тиамина при экспериментальной энцефалопатии Вернике у крыс [102].

Одностороннее разрушение иботеновой кислотой ТМ-гипоталамуса, где расположены гистаминергические нейроны, через 7 дней приводит к двухстороннему уменьшению уровня гистамина в заднем гипоталамусе (на 40–60 %), переднем гипоталамусе (на 45 %), фронтальной коре (на 30 %) и ипсилатеральном гиппокампе (на 40 %) [117].

Разрушение ТМ-нейронов с помощью иботеновой кислоты уменьшает синтез фактора некроза опухоли- α в гипоталамусе, но увеличивает его в гиппокампе, что предполагает вовлечение нейронального гистамина в регуляцию синтеза фактора некроза опухоли- α в мозге и участие в иммунных реакциях организма [127].

У крыс с портокавальным анастомозом (модель печеночной энцефалопатии) биохимически обнаружен очень высокий уровень

гистамина в мозге. Иммуногистохимически показано значительное накопление гистамина в гистаминергических нейронах мозга с появлением необычных расширений их отростков в виде цистерн, заполненных гистамином. При этом значительно ускорен и катаболизм гистамина: значительно увеличен в мозге уровень его первого метаболита, теле-метилгистамина и экскреция с мочой теле-метилимидазолуксусной кислоты [294].

Кокаин (20 мг/кг) через 1 ч после введения вызывал усиление двигательной активности животных, увеличение уровня гистамина и повышение активности гистаминметилтрансферазы в их мозге. Введение гистидина (350 и 700 мг/кг) угнетало индуцированное кокаином увеличение двигательной активности [116].

Методом прижизненного микродиализа мозга у свободно движущихся крыс показано, что агонисты каннабиноидных рецепторов СВ₁-г стимулируют выделение гистамина гистаминергическими нейронами как в области расположения их перикарионов в туберомамиллярном гипоталамусе, так и в области расположения их терминалей в стриатуме. Причем этот эффект был прямым, а не через угнетение ГАМК-нейропередачи, которая обеспечивает основное угнетающее действие на гистаминергические нейроны. Это предполагает, что некоторые поведенческие эффекты каннабиноидов могут опосредоваться через гистаминергические нейроны [105].

11.1. Защита от ишемического повреждения мозга

При сдавлении средней мозговой артерии 15-минутная ишемия мозга сопровождается резким повышением в стриатуме дофамина и глутамата. Предварительное введение в желудочки мозга гистамина или агониста гистаминовых Н₂-рецепторов предупреждает повышение этих соединений и гибель нейронов при гистологическом исследовании через 7 дней после ишемии [168].

Ишемия мозга вызывает повышенный выброс глутамата, индуцирующий накопление в нейронах Са²⁺, повреждение и гибель клеток. Гистамин, усиленно выделяемый гистаминергическими нейронами при ишемии, защищает мозг от повреждения глутаматом через Н₂-гистаминовые рецепторы [34]. Внутривентрикулярное

введение гистидина (сразу и через 6 ч реперфузии) дозозависимо уменьшало размер области инфаркта, вызываемого ишемией мозга. Это действие гистидина осуществлялось через H_2 -, но не H_1 -рецепторы [35].

Вместе с тем имеется сообщение о том, что антагонист гистаминовых H_2 -рецепторов ранитидин также уменьшает повреждение и гибель корковых нейронов в культуре в условиях дефицита в среде кислорода и глюкозы [180].

Недавно опубликованы новые данные, подтверждающие роль гистаминергической системы в защите нейронов мозга от ишемического повреждения. Установлено, что введение гистидина, и особенно антагониста H_3 -рецепторов тиоперамида (ативирующего гистаминергические нейроны), после ишемии мозга значительно защищает нейроны гиппокампа от ишемического повреждения [27].

Внеклеточный гистамин постепенно возрастает при ишемии мозга и уменьшает повреждение нейронов и объем инфаркта. Гистамин защищает от эксайтотоксичности, уменьшает выделение глутамата и дофамина, воспаление и образование глиального рубца, влияет на мозговое кровообращение через гладкомышечные клетки сосудов и усиливает нейрогенез [212].

11.2. Защита от нейротоксичности, индуцируемой NMDA и каиновой кислотой

NMDA вызывает быструю гибель корковых нейронов в клеточной культуре, а гистамин вызывает дозозависимое уменьшение этого эффекта с максимумом защитного действия при концентрации $0,1 \mu\text{M}$. Это действие гистамина оказывает через H_2 -, но не H_1 -гистаминовые рецепторы, через цАМФ-протеинкиназный путь. Одним из механизмов этого защитного действия гистамина является и H_3 -гистаминовый рецептор, через который стимулируется выделение ГАМК [191].

Каиновая кислота вызывает повреждение и гибель нейронов в органотипической культуре развивающегося гиппокампа. Гистамин (1 nM) и переживающие срезы заднего гипоталамуса, содержащие гистаминергические нейроны, оказывают при этом защитное действие. Причем, оно осуществляется через H_1 - и H_3 -гистаминовые рецепторы [205].

11.3. Участие гистамина в общей анестезии

Ингаляционный анестетик галотан значительно угнетает выделение нейронального гистамина в ТМ-гипоталамусе (показано методом прижизненного микродиализа). Гистаминергические нейроны повышают устойчивость мозга к галотану через гистаминовые H_1 - и H_2 -рецепторы [230].

Введение гистамина в латеральный желудочек мозга крыс на фоне действия пентобарбитала вызывало дозозависимое уменьшение продолжительности наркоза и гипотермии, не оказывая влияние на уровень пентобарбитала в мозге и крови. Предварительное введение антагониста H_2 -гистаминовых рецепторов, циметидина, не оказывало влияние на этот эффект гистамина, а введение антагониста H_1 -рецепторов предупреждало его [239].

Нами показано, что двухкратное введение антагонистов H_1 -гистаминовых рецепторов клемастина и прометазина крысам (за 12 и 2 ч до введения наркотической дозы этанола (3,5 г/кг, в/б)) значительно увеличивает продолжительность этанолиндукцированного сна. То есть эти препараты уменьшают устойчивость животных к наркотическому (гипнотическому) действию этанола [437]. Напротив, показано, что антагонист H_2 гистаминовых рецепторов циметидин уменьшает длительность этанолиндукцированного наркоза у мышей [264].

Установлена связь ТМ-ядер с седативным компонентом общей анестезии. Агонист ГАМК_A-рецепторов мусцимол при введении в ТМ-ядро вызывает дозозависимое общее угнетающее действие на организм, а специфический антагонист ГАМК_A-рецепторов габазин оказывает противоположное действие [250]. Системное введение мусцимола, пропофола или пентобарбитала усиливает экспрессию c-Fos в латеральной преоптической области и уменьшают ее в ТМ-ядрах [168]. Поэтому, вероятно, одним из механизмов седативного действия на организм общих анестетиков может быть торможение гистаминергической системы мозга.

11.4. Стресс и беспокойство

Стресс повышает концентрацию гистамина в мозге, по крайней мере в гипоталамусе, промежуточном мозге и п. *assumbens* [128, 261]. Увеличение концентрации гистамина после повреждения в ростоventральной ТМ-зоне оказывает анксиолитическое (успокаивающее) действие [52]. Активация H_1 -рецепторов вызывает анксиогенный (возбуждающий) эффект [221, 279], что доказано при изучении линейных мышей с дефектом гена H_1 -рецепторов, у которых отмечалось более спокойное поведение, чем у их диких сородичей [64]. Стимуляция H_2 -рецепторов приводит к угнетению экспериментального беспокойства [431].

Результаты исследований, проведенных по изучению участия H_3 -рецептора в развитии беспокойства, весьма противоречивы. По одним данным этот рецептор не оказывает существенного влияния на развитие беспокойства [121], однако позже было доказано, что антагонист H_3 -рецептора тиоперамид оказывает анксиогеноподобный эффект [279]. Изучение мышей с дефицитом тучных клеток показало, что и периферический, и центральный гистамин играет большую роль в развитии беспокойства [167, 220, 272].

11.5. Влияние гистамина на синаптическую пластичность

Гистамин может влиять на синаптическую пластичность несколькими путями. Гистамин через H_1 -рецепторы модулирует активность NMDA-рецепторов и стимулирует увеличение внутриклеточного Ca^{2+} и протеинкиназы C, которые, в свою очередь, индуцируют долговременные изменения эффективности работы синапсов. Гистамин оказывает сходный эффект на деятельность синапсов через циклическую АМФ и протеинкиназу A [368]. H_3 -рецепторы, уменьшая выделение различных нейротрансмиттеров, также оказывают значительное влияние на синаптическую пластичность в гиппокампе и стриатуме [74].

11.6. Противосудорожное действие

Экспериментальные и эпидемиологические исследования показали, что гистаминергические нейроны мозга играют важную роль в угнетении конвульсивных заболеваний через гистаминовые H_1 -рецепторы, особенно в период развития организма. Антагонисты H_1 -рецепторов увеличивают продолжительность электроиндуцированных судорог у мышей в возрасте 21 дня, но не у 42-дневных мышей. Эпидемиологические исследования предполагают, что антагонисты H_1 -рецепторов могут быть фактором риска в развитии конвульсий. Напротив, у пациентов с повышенным уровнем гистидина в крови, предполагающим повышенный уровень гистамина в мозге, случаи судорог встречаются реже, чем в обычной популяции. Центральные действующие антагонисты H_1 -рецепторов облегчают возникновение экспериментальных судорог; антагонисты H_1 -рецепторов, не проникающие в мозг, таким действием не обладают [428].

У мышей EL с врожденной предрасположенностью к развитию судорог повышение уровня гистамина в мозге (путем нагрузки гистидином и угнетения гистаминметилтрансферазы метоприном), а также активация гистаминергических нейронов антагонистом H_3 -рецепторов тиоперамидом вызывает уменьшение развития судорог. Это противосудорожное действие гистамина реализуется через H_1 -рецепторы, поскольку введение их антагониста усиливало судороги [356].

Электрошок, вызывающий судороги у крыс, приводит к снижению уровня гистамина в мозге. Разрушение гистаминергического ядра E2 гипоталамуса вызывает снижение содержания гистамина в коре, гиппокампе, стволе мозга и гипоталамусе, но не оказывает влияния на содержание в них глутамата и ГАМК. Разрушение ядра E2, особенно в сочетании с введением ингибитора ГДГ флуорометилгистамина, нарушающего синтез гистамина в мозге, приводит к усилению электрошоковых судорог. Следовательно, гистаминергические нейроны гипоталамуса участвуют в механизмах эндогенной противосудорожной защиты [245, 246].

11.7. Структурно-метаболические изменения гистаминергических нейронов мозга при холестазах

Желчь — секрет печени, содержащий конъюгированный билирубин, соли желчных кислот, холестерин, фосфолипиды, белки, электролиты, микроэлементы и воду. Нарушение оттока желчи приводит к ее застою в желчевыводящих путях (холестазу), прекращению ее поступления в 12-перстную кишку и накоплению компонентов желчи в крови и тканях, желтушности слизистых оболочек и кожи. Это сопровождается известной клинической симптоматикой и морфофункциональными изменениями в головном мозге, недавно описанными в обзоре [5].

На кафедре гистологии, цитологии и эмбриологии ГрГМУ проводятся систематические исследования структуры и метаболизма гистаминергических нейронов мозга при подпеченочном холестазе. При этом количественными гистохимическими методами установлено, что при нарушении оттока желчи, возникающем при подпеченочном холестазе, в гистаминергических нейронах мозга крыс развиваются значительные нарушения метаболизма (изменения активности дегидрогеназ сукцината, лактата, глюкозо-6-фосфата, НАДН и НАДФН, а также кислой фосфатазы и МАО Б). Эти изменения носят динамический, волнообразный характер. Они практически отсутствуют через двое суток, появляются через пять суток холестаза, через 10–20 суток достигают максимума, через 45 суток уменьшаются, а через 90 суток полностью исчезают [10, 440]. Это может быть обусловлено динамикой накопления в крови компонентов желчи: их уровень при подпеченочном холестазе достигает максимума на 10–20 сутки, а затем снижается в результате постепенного восстановления оттока желчи при компенсаторном формировании обходных выводных желчных протоков.

С одной стороны, выявленные нарушения метаболизма (например, снижение активности важного митохондриального фермента СДГ) могут быть связаны с прямым токсическим действием повышенной концентрации в крови компонентов желчи и адаптационными изменениями в гистаминергических нейронах гипоталамуса. С другой стороны, эти изменения могут отражать активное участие гистаминергических нейронов гипоталамуса в регуляции компенсаторных изменений при холестазе во всем организме животных.

Об этом свидетельствует повышение активности ряда ключевых ферментов энергетического метаболизма этих нейронов (активности дегидрогеназ сукцината, лактата, глюкозо-6-фосфата, НАДН и НАДФН). При этом активация маркерного фермента лизосом КФ может свидетельствовать об усилении в гистаминергических нейронах процессов аутофагии, направленных на ликвидацию внутриклеточных повреждений, в том числе и в результате ускоренного износа органелл при повышенной активности клеток [10, 440].

11.8. Изменения в центральной гистаминергической системе при нейродегенеративных заболеваниях

Несмотря на вовлеченность центрального гистамина в контроль различных физиологических процессов в мозге, на настоящий момент не известно ни одного патологического состояния, вызванного исключительно нарушениями в гистаминергической системе. Вероятнее всего, модуляторная функция гистамина в норме остается таковой и при патологических состояниях [2].

11.9. Болезнь Паркинсона

Болезнь Паркинсона — первое дегенеративное заболевание мозга, для которого был обнаружен дефект на нейротрансмиттерном уровне. Многочисленные симптомы, включающие брадикинезию, ригидность мускулатуры, тремор конечностей в покое, имеют в своей основе недостаточность дофаминергической системы мозга. Было обнаружено, что уменьшение концентрации дофамина в стриатуме вызвано избирательной гибелью дофаминовых нейронов в черной субстанции. До сих пор не ясна причина этого заболевания. Скорее всего, имеет место комплексный патологический процесс с вовлечением нейротоксических и генетических факторов. Показано, что ряд экзо- и эндогенных токсинов вызывает синдром паркинсонизма у экспериментальных животных (1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин МРТР, 6-гидроксидофамин, производные салсолинола, пестициды). Ошибочное введение наркоманами «синтетического героина» МРТР вызывает типичный симптомо-

комплекс паркинсонизма с селективной деструкцией базальных ядер, выявленной при аутопсии [2].

Сообщения о состоянии гистаминергической системы при болезни Паркинсона немногочисленны. Установлено, что нелеченные больные имеют повышенный, по сравнению с контролем, уровень гистамина в крови и пониженный уровень гистамина в моче. При лечении L-DOPA + карбидоп в комбинации с антихолинэргическими препаратами уровень гистамина в крови снижался. В спинномозговой жидкости уровень метаболитов гистамина повышался с возрастом [335] так же, как и поражение болезнью Паркинсона, однако прямой корреляции обнаружено не было. Есть данные, что активность ГДК не изменялась в гипоталамусе пациентов с паркинсонизмом, однако в черной субстанции была обнаружена тенденция к повышению активности этого фермента. Некоторые авторы также отмечали отсутствие разницы в количестве крупных нейронов в гипоталамусе людей с паркинсонизмом и без неврологической патологии [148]. Крупные нейроны гипоталамуса в этом случае назывались гистаминергическими, однако отсутствие надлежащего иммуногистохимического анализа этих клеток позволяет усомниться в выводах авторов. Ауторадиографическое связывание лиганда с гистаминовыми H₂-рецепторами было уменьшено в n. accumbens и caudatus у больных паркинсонизмом, при этом в черной субстанции изменений обнаружено не было. Связывание с гистаминовым H₃-рецептором не изменялось в базальных ядрах и в передней части черной субстанции у больных паркинсонизмом.

В другом исследовании было показано статистически достоверное повышение плотности гистаминовых H₃-рецепторов в средней части черной субстанции у людей с болезнью Паркинсона, в то время как различий в разных отделах стриатума обнаружено не было [109]. В стриатуме и в globus pallidus externum обнаружено достоверное увеличение экспрессии мРНК гистаминового H₃-рецептора у больных паркинсонизмом, в то время как в черной субстанции экспрессия мРНК этого вида гистаминовых рецепторов была очень низкой и не отличалась от контроля. Также в черной субстанции у больных паркинсонизмом обнаружено резкое (до 400 %) увеличение гистаминергической иннервации [270],

как в компактной, так и в ретикулярной ее частях; при этом в стриатуме изменений выявлено не было.

Патогенетическое значение разрастания аксонов гистаминергических нейронов в черной субстанции при болезни Паркинсона становится понятным из следующего экспериментального исследования. Обнаружено, что введение гистамина (100 и 250 нМ) в черную субстанцию вызывает избирательную гибель дофаминергических нейронов, доказанную исчезновением нейронов, содержащих мРНК и белка тирозингидроксилазы, а также падением уровня дофамина и гидроксифинилуксусной кислоты. Параллельно обнаружено исчезновение астроцитов и активация микроглии. В стриатуме такой же эффект гистамин вызывал в дозе 500 нМ. Однако гистамин не повреждал холинергические и серотонинергические нейроны соответственно в септуме и медиальном лемниске. На основании этих данных авторы пришли к заключению, что черная субстанция высоко чувствительна к индуцированной гистамином нейротоксичности [185].

У крыс окисление токсина МРТР в его активную форму МРР+ ферментом МАО Б предположительно имеет место в аминергических нейронах гипоталамуса [148]. После введения МРТР мышам уровень гистамина не изменялся в гипоталамусе и коре мозга с тенденцией к увеличению в гиппокампе [99]. Однако в последней работе ни черная субстанция, ни стриатум не были исследованы. После одностороннего введения 6-гидроксидофамина в область переднего гипоталамуса значительно увеличивалась плотность гистаминовых H_3 -рецепторов в черной субстанции и стриатуме. Эти изменения предупреждались введением агонистов дофаминовых D_1 -рецепторов до нейротоксического повреждения нигростриальной системы 6-гидроксидофамином. Указанные работы убедительно доказывают, что гистаминовые H_3 -рецепторы находятся под дофаминергическим D_1 -тоническим влиянием, по крайней мере в нигростриальной системе. Более того, гистамин является специфическим и селективным токсином для дофаминергических нейронов черной субстанции [185].

Показано, что антагонист гистаминовых H_1 -рецепторов прометазин защищает дофаминергические нейроны от токсического действия МРТР у мышей [339].

Установлено, что после одностороннего повреждения дофаминергической системы 6-гидроксидофамином значительно повышается концентрация и активность гистаминовых H_3 -рецепторов в черной субстанции на поврежденной стороне [270]. Это подтверждает идею о дофаминергической регуляции гистаминергической системы. При этом отсутствие экспрессии мРНК гистаминового H_3 -рецептора в черной субстанции говорит о том, что эта регуляция осуществляется не прямо, а, возможно, через ГАМК-ергическую систему. Другие гистаминовые рецепторы в ситуации дофаминовой недостаточности существенно не изменяются [109].

Таким образом, создается впечатление, что при болезни Паркинсона гистаминергическая система активирована и она может участвовать в разрушении дофаминергических нейронов черной субстанции. При этом повышена плотность гистаминергических H_3 -рецепторов, играющих важную роль в регуляции синтеза и выделения не только гистамина, но и других нейротрансмиттеров.

11.10. Болезнь Альцгеймера

Это заболевание характеризуется прогрессивным ухудшением интеллектуальных и социальных функций, потерей памяти, изменениями личности и постепенной потерей способности к самостоятельной социальной жизни. Нарушение мыслительных функций присутствует всегда и со временем прогрессирует. Считается, что болезнь Альцгеймера (БА) возникает в результате каскада изменений, включающих потерю дендритов и нервных окончаний, что, в свою очередь, ведет к атрофии нейронов в коре мозга, гиппокампе, миндалине. Особенно значительная нейрональная дегенерация наблюдается в базальном ядре Мейнерта, где располагаются холинергические нейроны. Предполагается, что нарушения в метаболизме предшественника амилоидного белка (amyloid precursor protein, APP) ведут к нарушениям метаболизма и гибели холинергических нейронов [2].

Среди многочисленных нейрохимических нарушений при БА изменения в гистаминергической системе изучены мало, но вызывают значительный интерес. Статистически достоверное снижение концентрации гистамина в различных областях коры и хвостом

ядре было обнаружено в мозге пациентов с БА [261]. В другом сообщении отмечается противоположная направленность изменений — обнаружено повышение концентрации гистамина в различных областях коры, гипоталамусе, гиппокампе, базальном ядре [70] и в сыворотке крови [78] людей с БА. Позже у них было обнаружено значительное уменьшение концентрации гистамина в гипоталамусе, гиппокампе и теменной коре головного мозга [292]. Подобная разнонаправленность результатов вызвана разными методами определения гистамина в ткани мозга.

Принимая во внимание вовлеченность нейронального гистамина в механизмы памяти и эмоционального статуса, будет интересно ожидать применения гистаминовых лекарственных препаратов в терапии нарушений памяти и эмоций [84].

Таким образом, центральный гистамин и гистаминергическая система мозга участвуют в механизмах многих экспериментальных воздействий и патогенезе некоторых нервных и психических заболеваний и патологических состояний. Действие алкоголя на гистаминергическую систему мозга, а также влияние гистаминергической системы мозга на влечение и устойчивость к алкоголю мы рассмотрим отдельно, в главах 14 и 15 настоящей книги.

Глава 12

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГИСТАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ МОЗГА ПОД ДЕЙСТВИЕМ ЛИГАНДОВ ГИСТАМИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ

Целенаправленно меняя функциональную активность гистаминергических нейронов мозга, нарушая их структуру, специфический метаболизм и изучая нейроны различными гистологическими и гистохимическими методами, можно попытаться установить взаимосвязи между их структурой, функциональной активностью и метаболизмом. Это позволило бы дать гистаминергическим нейронам мозга комплексную морфофункциональную характеристику и разработать критерии и алгоритм оценки их функционального состояния по морфологическим и гистохимическим признакам.

В этой главе описаны структурные и метаболические изменения гистаминергических нейронов головного мозга крыс при изменении их функционального состояния, вызванного введением животным лигандов различных (H_1 , H_2 и H_3) гистаминовых рецепторов.

12.1. Изменения в гистаминергических нейронах мозга крысы после введения антагониста H_1 -гистаминовых рецепторов

Гистаминовые H_1 -рецепторы широко и равномерно распределены в мозге. Через них гистаминовые нейроны реализуют свое действие на нейроны другой нейромедиаторной природы. Было интересно выяснить, что произойдет с самими гистаминергическими нейронами после блокады этих рецепторов с помощью селективного и эффективного их антагониста мепирамина. Его вводили внутривентрикулярно в дозе 10 мг/кг на 3 ч.

Результаты морфометрического исследования показали, что через 3 ч после введения мепирамина происходит уменьшение

размеров перикарионов гистаминергических нейронов гипоталамуса (табл. 12.1): *Максимальный диаметр* тел гистаминергических нейронов становится статистически достоверно на 6,7 % меньше, при $z = -2,88$; $p < 0,01$ (Mann – Whitney U-test), при этом отмечается статистически достоверное влияние изучаемого фактора на показатель, при $F = 21,59$; $p < 0,001$ (Analysis of Variance). При вторичном сравнении средних тоже отмечены достоверные изменения в опытных образцах по сравнению с контрольными $p < 0,001$ (Post-hoc comparisons of means, Scheffe test). *Минимальный диаметр* тел гистаминергических нейронов статистически достоверно на 6,0 % меньше у опытных крыс по сравнению с контрольными при $z = -2,72$; $p < 0,01$ (Mann – Whitney U-test), при этом $F = 16,24$; $p < 0,01$; при вторичном сравнении средних $p < 0,01$ (Scheffe test). *Периметр* тел гистаминергических нейронов на 6,5 % меньше у опытных крыс, чем у контрольных, при $z = -2,72$; $p < 0,01$ (Mann – Whitney U-test), при этом $F = 23,80$; $p < 0,001$, при вторичном сравнении средних $p < 0,001$ (Scheffe test). *Площадь* тел гистаминергических нейронов на 12,4 % меньше у опытных крыс, чем у контрольных, при $z = -2,88$; $p < 0,01$ (Mann – Whitney U-test), при этом $F = 33,89$; $p < 0,001$, при вторичном сравнении средних $p < 0,001$ (Scheffe test). *Объем* тел гистаминергических нейронов статистически достоверно на 19,1 % меньше у опытных крыс, чем у контрольных, при $z = -2,88$; $p < 0,01$ (Mann – Whitney U-test),

Таблица 12.1

Размеры и форма гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса у контрольных крыс и у крыс после предварительного введения антагониста H_1 -гистаминовых рецепторов мепирамина

Морфометрический показатель	Контроль	Мепирамин
Максимальный диаметр, мкм	26,20 ± 0,24	24,55 ± 0,26**
Минимальный диаметр, мкм	15,55 ± 0,10	14,66 ± 0,19**
Периметр, мкм	78,67 ± 0,66	73,90 ± 0,72**
Площадь, мкм ²	303,79 ± 4,86	270,34 ± 3,06**
Объем, мкм ³	4014,30 ± 96,44	3369,99 ± 56,65**
Фактор элонгации	1,72 ± 0,017	1,70 ± 0,034
Формфактор	0,63 ± 0,004	0,63 ± 0,008

** $p < 0,01$ при сравнении с контролем (Mann – Whitney U-test).

при этом $F = 33,18$; $p < 0,001$ (Analysis of Variance), при вторичном сравнении средних $p < 0,001$ (Scheffe test).

Форма тел гистаминергических нейронов при блокаде H₁-гистаминовых рецепторов не изменилась, о чем свидетельствует отсутствие статистически достоверных изменений формфактора и фактора элонгации (см. табл. 12.1).

Результаты цитофотометрического исследования показали, что через 3 ч после введения антагониста гистаминовых H₁-рецепторов мепирамина происходят значительные изменения активности большинства изученных ферментов в цитоплазме перикарионов гистаминергических нейронов гипоталамуса крыс (табл. 12.2).

Таблица 12.2

Активность ферментов в цитоплазме перикарионах гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса у контрольных крыс и у животных через 3 ч после предварительного введения антагониста H₁-гистаминовых рецепторов мепирамина внутрибрюшинно в дозе 10 мг/кг

Группа	Название фермента	Активность ферментов, $M \pm m$	p (Стьюдент – Фишер)	p (Mann – Whitney U-test)
Контроль	НАДФН-ДГ	504,99 \pm 4,89		
Мепирамин		275,40 \pm 10,19	$< 0,001$	$< 0,01$
Контроль	НАДН-ДГ	547,49 \pm 9,39		
Мепирамин		438,79 \pm 10,76	$< 0,001$	$< 0,01$
Контроль	СДГ	222,07 \pm 6,81		
Мепирамин		174,82 \pm 5,21	$< 0,001$	$< 0,01$
Контроль	Г-6-Ф-ДГ	297,55 \pm 4,96		
Мепирамин		270,16 \pm 15,33	$> 0,5$	$> 0,5$
Контроль	ЛДГ	507,41 \pm 6,62		
Мепирамин		726,73 \pm 17,97	$< 0,001$	$< 0,01$
Контроль	КФ	438,45 \pm 8,57		
Мепирамин		541,90 \pm 15,59	$< 0,001$	$< 0,01$
Контроль	МАО Б	600,37 \pm 9,75		
Мепирамин		787,98 \pm 6,16	$< 0,001$	$< 0,01$

Так, активность НАДФН-ДГ снижается на 45,46 %, при $p < 0,001$; ($z = 2,88$, $p < 0,01$, Mann – Whitney U-test — для непараметрической статистики). Активность НАДН-ДГ снижается на 19,85 %, при $p < 0,001$; ($z = 2,88$, $p < 0,01$, Mann – Whitney U-test — для непараметрической статистики).

при $p < 0,001$; ($z = 2,88$, $p < 0,01$, $2 \times 1p < 0,01$ — Mann — Whitney U-test). Активность СДГ снижается на 21,28 %, $p < 0,01$, при $z = 2,88$, $p < 0,01$. Активность Г-6-Ф-ДГ снижается на 9,21 %, достоверно. Активность ЛДГ, напротив, повышается на 43,2 %, при $z = -2,88$, $p < 0,01$. Активность КФ повышается на 23,59 %, при $z = -2,88$, $p < 0,01$. Активность МАО Б повышается на 31,25 %, при $z = -2,88$, $p < 0,01$ (см. табл. 12.2).

Таким образом, при блокаде гистаминовых H_1 -рецепторов мепирамином происходит уменьшение (на 6–19 %) размеров гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса (максимального и минимального диаметров, периметра, площади и объема перикарионов). При этом форма этих нейронов существенно не менялась. Активность основного фермента катаболизма гистамина МАО Б, маркерного фермента лизосом кислой фосфатазы, и особенно фермента анаэробного гликолиза лактатдегидрогеназы, значительно повышалась (на 20–40 %) в цитоплазме гистаминергических нейронов гипоталамуса. Напротив, активность маркерного фермента митохондрий сукцинатдегидрогеназы и ферментов транспорта электронов НАДН-, и особенно НАДФН-дегидрогеназы, в цитоплазме этих нейронов значительно снизилась (на 20–45 %). Активность фермента пентозофосфатного пути, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, при этом не менялась. Таким образом, наблюдаются разнонаправленные изменения разных путей метаболизма гистаминергических нейронов. Полученные данные свидетельствуют о значительных нарушениях структурно-метаболического состояния гистаминергических нейронов мозга в условиях блокады гистаминовых H_1 -рецепторов. На основании этих данных нельзя однозначно заключить, активирована или угнетена функция этих нейронов.

12.2. Изменения гистаминергических нейронов мозга крысы после введения антагониста H_2 -гистаминовых рецепторов ранитидина

Эффективный и специфичный антагонист H_2 -гистаминовых рецепторов ранитидин вводили крысам внутривенно на 3 ч в дозе 10 мг/кг.

По результатам морфометрического исследования через 3 ч после введения ранитидина выявлены значительные изменения размеров гистаминергических нейронов ядра E2 (табл. 12.3). Так, *максимальный диаметр* тел гистаминергических нейронов статистически достоверно на 8,1 % меньше у опытных крыс, чем у контрольных, при $z = -2,88$; $p < 0,01$ (Mann – Whitney U-test), при этом отмечается статистически достоверное влияние изучаемого фактора на показатель ($F = 19,93$; $p < 0,01$; Analysis of Variance), при вторичном сравнении средних тоже отмечены достоверные изменения в опытных образцах по сравнению с контрольными $p < 0,01$ (Post-hoc comparisons of means, Scheffe test).

Таблица 12.3

Размеры и форма гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса у контрольных крыс и у животных через 3 ч после внутрибрюшинного введения антагониста H₂-гистаминовых рецепторов ранитидина в дозе 10 мг/кг

Морфометрический показатель	Контроль	Ранитидин
Максимальный диаметр, мкм	26,20 ± 0,24	24,22 ± 0,38**
Минимальный диаметр, мкм	15,55 ± 0,10	14,79 ± 0,09**
Периметр, мкм	78,67 ± 0,66	71,98 ± 1,19**
Площадь, мкм ²	303,79 ± 4,86	267,02 ± 4,79**
Объем, мкм ³	4014,30 ± 96,44	3306,40 ± 90,11**
Фактор элонгации	1,72 ± 0,017	1,68 ± 0,025
Формфактор	0,63 ± 0,004	0,65 ± 0,014

** $p < 0,01$ (Mann – Whitney U-test).

Минимальный диаметр тел гистаминергических нейронов уменьшился на 5,1 %, при $z = -2,88$; $p < 0,01$; $F = 30,02$; $p < 0,001$; при вторичном сравнении средних $p < 0,001$ (Scheffe test). *Периметр* тел гистаминергических нейронов уменьшился на 9,2 %, при $z = -2,88$; $p < 0,01$; $F = 24,25$; $p < 0,001$, при вторичном сравнении средних $p < 0,001$ (Scheffe test). *Площадь* тел гистаминергических нейронов уменьшилась на 13,8 %, при $z = -2,88$; $p < 0,01$; при этом $F = 29,03$; $p < 0,001$; при вторичном сравнении средних $p < 0,001$ (Scheffe test). *Объем* тел гистаминергических нейронов уменьшился на 21,4 %, при $z = -2,88$; $p < 0,01$; $F = 28,76$; $p < 0,001$; при вторичном сравнении средних $p < 0,001$ (Scheffe test).

Результаты цитофотометрических исследований показали, что через 3 ч после внутрибрюшинного введения антагониста H_2 -гистаминовых рецепторов ранитидина в цитоплазме перикарионов гистаминергических нейронов группы E2 гипоталамуса активность НАДФН-ДГ снижается на 37,89 %, при $z = 2,88$, $p < 0,01$ (Mann – Whitney U-test для непараметрической статистики). Активность НАДН-ДГ снижается на 16,43 %, при $z = 2,88$; $p < 0,01$. Активность СДГ снижается на 15,95 %, при $z = 2,88$; $p < 0,01$. Активность Г-6-Ф-ДГ существенно не меняется. Активность ЛДГ повышается на 18,32 %, при $z = 2,88$; $p < 0,01$. Активность КФ повышается на 62,01 %, при $z = -2,88$; $p < 0,01$. Активность МАО Б повышается на 18,98 %, при $z = -2,40$; $p < 0,05$ (табл. 12.4).

Таблица 12.4

Активность ферментов гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса у контрольных крыс и у крыс после предварительного введения антагонистов H_2 -гистаминовых рецепторов

Экспериментальная группа	Название фермента	Активность ферментов, $M \pm m$	p (Стьюдент – Фишер)	p (Mann – Whitney U-test)
Контроль	НАДФН-ДГ	$504,99 \pm 4,89$	$< 0,001$	$< 0,01$
Ранитидин		$313,63 \pm 6,02$		
Контроль	НАДН-ДГ	$547,49 \pm 9,39$	$< 0,001$	$< 0,01$
Ранитидин		$457,53 \pm 14,09$		
Контроль	СДГ	$222,07 \pm 6,81$	$< 0,01$	$< 0,01$
Ранитидин		$186,66 \pm 8,17$		
Контроль	Г-6-Ф-ДГ	$297,55 \pm 4,96$	$> 0,5$	$> 0,5$
Ранитидин		$285,36 \pm 13,40$		
Контроль	ЛДГ	$507,41 \pm 6,62$	$< 0,001$	$< 0,01$
Ранитидин		$600,37 \pm 8,85$		
Контроль	КФ	$438,45 \pm 8,57$	$< 0,001$	$< 0,01$
Ранитидин		$710,32 \pm 12,91$		
Контроль	МАО Б	$600,37 \pm 9,75$	$< 0,001$	$< 0,05$
Ранитидин		$714,32 \pm 22,40$		

Таким образом, при блокаде ранитидином гистаминовых H_2 -рецепторов обнаружено достоверное уменьшение (на 8–21 %) размеров гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса (макси-

мального и минимального диаметров, периметра, площади и объема перикарионов). Однако форма этих нейронов существенно не менялась. Активность основного фермента катаболизма гистамина МАО Б и лактатдегидрогеназы, и особенно кислой фосфатазы, в цитоплазме перикарионов гистаминергических нейронов гипоталамуса значительно повышалась (на 18–63 %). Активность сукцинат-, НАДН-, и особенно НАДФН-дегидрогеназы, в цитоплазме этих нейронов значительно снизилась (на 16–38 %). Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы при этом не менялась. Таким образом, активность разных путей метаболизма гистаминергических нейронов при блокаде H₂-рецепторов менялась разнонаправленно. Интересно, что направленность, а иногда даже выраженность изменения размеров перикарионов и показателей метаболизма гистаминергических нейронов была такой же, как после блокады гистаминовых H₁-рецепторов.

Полученные данные свидетельствуют о значительных изменениях морфофункционального состояния гистаминергических нейронов в условиях блокады гистаминовых H₂-рецепторов. Нельзя однозначно сказать, повысилась или понизилась функциональная активность гистаминергических нейронов в этом эксперименте. В отличие от лигандов H₃-гистаминовых рецепторов, антагонисты H₁- и H₂-рецепторов не влияют на кругооборот гистамина в мозге, а следовательно, и не регулируют активность гистаминергических нейронов мозга [123]. Несомненно, однако, что происходит мощная перестройка метаболизма и сильное повреждение этих нейронов, о чем свидетельствует резкая активизация лизосом.

12.3. Изменения гистаминергических нейронов мозга крысы под действием агониста гистаминовых H₃-рецепторов R- α -метилгистамина

Известно, что R- α -метилгистамин является высокоспецифичным и эффективным агонистом H₃-гистаминовых ауторецепторов, причем при его введении происходит угнетение функциональной активности гистаминергических нейронов головного мозга в результате угнетения синтеза, выделения в терминалях и метаболизма гистамина [123, 175].

Показано, что (г)- α -метилгистамин уже через 30 мин после внутрибрюшинного введения крысам в дозе 20 мг/кг значительно увеличивает уровень гистамина во фракции нервных окончаний коры мозга. Это указывает на угнетение выделения гистамина терминалями гистаминергических нейронов [175]. Соответственно, (г)- α -метилгистамин в наномолярных концентрациях угнетал синтез гистамина в мозге из меченого гистидина [175]. Установлено, что (г)- α -метилгистамин действует на H_3 -рецепторы в 100 000 раз сильнее, чем на H_1 - и H_2 -рецепторы. Это подтверждает его высокую специфичность [123]. При этом (г)- α -метилгистамин (10 мг/кг, в/б) значительно угнетал ($ED_{50} = 5$ мг/кг) синтез гистамина в коре мозга [123].

Показано, что (г)- α -метилгистамин (6,3 мг/кг, в/б) уменьшал содержание теле-метилгистамина в мозге мышей, не оказывая влияния на содержание гистамина [306], а (г)- α -метилгистамин (3,2 мг/кг, в/б) предупреждал увеличение содержания в мозге теле-метилгистамина, вызванное ингибитором МАО паргилином [306]. Эти данные указывают на высокую эффективность этого агониста H_3 -рецепторов в угнетении функциональной активности гистаминергических нейронов мозга.

Введение крысам (г)- α -метилгистамина через 1 ч уменьшало содержание мРНК ГДК и галанина в гистаминергических нейронах гипоталамуса крыс, а через 3 ч, напротив, компенсаторно ее усиливало.

В нашем эксперименте проведена оценка изменения размеров и формы перикарионов гистаминергических нейронов гипоталамуса, а также изменения активности ферментов в цитоплазме через 3 ч после внутрижелудочкового введения R- α -метилгистамина в дозе 0,5 мг/кг.

При морфометрической оценке размеров и формы гистаминергических нейронов установлено, что после введения R- α -метилгистамина выявлено изменение размеров и формы гистаминергических нейронов ядра E2. Отмечается статистически достоверное влияние изучаемого фактора на следующие морфометрические показатели:

- максимальный диаметр нейронов, при этом $F = 15,68$; $p < 0,01$ (Analysis of Variance), при вторичном сравнении средних тоже отмечены достоверные изменения в опытных образцах по сравнению

с контрольными $p < 0,01$ (Post-hoc comparisons of means, Scheffe test);

- периметр нейронов, при этом $F = 5,51$; $p < 0,05$, при вторичном сравнении средних $p < 0,05$ (Scheffe test);
- площадь нейронов, при этом $F = 6,19$; $p < 0,05$, при вторичном сравнении средних $p < 0,05$ (Scheffe test);
- объем нейронов, при этом $F = 6,73$; $p < 0,05$, при вторичном сравнении средних $p < 0,05$ (Scheffe test);
- фактор элонгации, при этом $F = 7,16$; $p < 0,05$, при вторичном сравнении средних $p < 0,05$ (Scheffe test) (табл. 12.5).

Однако при сравнении контрольной и опытной групп с помощью непараметрической статистики (Mann – Whitney U-test) достоверные отличия между группами выявлены только для таких показателей, как:

- максимальный диаметр нейронов на 9,34 % больше у опытных крыс, чем у контрольных, при $z = -2,88$; $p < 0,01$;
- фактор элонгации на 9,38 % больше у опытных крыс, чем у контрольных, при $z = -2,40$; $p < 0,05$ (рис. 12.1).

Таблица 12.5

Размеры и форма гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса у контрольной группы крыс и у крыс после предварительного введения R- α -метилгистамина (окраска срезов на МАО Б)

Морфометрический показатель	Контроль	R- α -метилгистамин
Максимальный диаметр, мкм	24,48 \pm 0,13	26,77 \pm 0,56** (\uparrow на 9,34 %)
Минимальный диаметр, мкм	16,46 \pm 0,14	16,56 \pm 0,34
Периметр, мкм	77,87 \pm 1,06	82,30 \pm 1,56 (\uparrow на 5,70 %)
Площадь, мкм ²	304,02 \pm 3,25	329,24 \pm 9,61 (\uparrow на 8,29 %)
Объем, мкм ³	4014,82 \pm 67,97	4538,93 \pm 190,20 (\uparrow на 13,05 %)
Фактор элонгации	1,51 \pm 0,01	1,65 \pm 0,05* (\uparrow на 9,38 %)
Формфактор	0,64 \pm 0,01	0,62 \pm 0,01

* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ по сравнению с контролем.

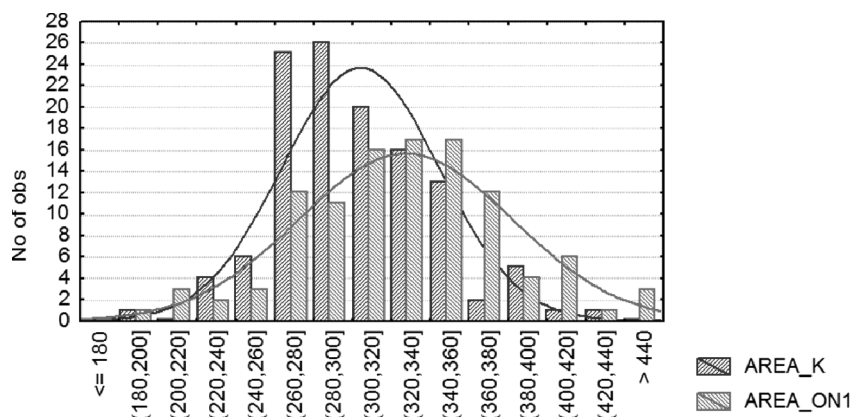


Рис. 12.1. Сравнительная гистограмма распределения значений площади перикарионов гистаминергических нейронов ядра E2 контрольных и опытных (введение R- α -метилгистамина) животных

Результаты цитофотометрического исследования показали, что под действием R- α -метилгистамина в нейронах ядра E2 заднего гипоталамуса происходят следующие изменения гистохимических показателей.

Активность НАДФН-ДГ снижается на 9,13 % ($F = 1,46$; $p < 0,05$, Analysis of Variance); при $z = 1,64$; $p > 0,05$ — Mann – Whitney U-test — для непараметрической статистики.

Активность НАДН-ДГ снижается на 14,1 % и в контроле составляет $540,02 \pm 20,98$ ед., ($F = 4,27$; $p < 0,01$; при $z = 2,08$; $p < 0,05$).

Активность СДГ снижается на 10,6 % ($F = 10,3$; $p < 0,01$; при $z = 2,24$; $p < 0,05$).

Активность Г-6-Ф-ДГ снижается на 12,1 % ($F = 1,65$; $p < 0,001$; при $z = 2,72$; $p < 0,01$).

Активность ЛДГ снижается на 25,7 % ($F = 10,4$; $p < 0,001$; при $z = 2,88$; $p < 0,01$).

Активность КФ существенно не изменяется.

Активность МАО Б снижается на 9,37 % ($F = 1,4$; $p < 0,01$; при $z = 2,72$; $p < 0,01$) (табл. 12.6).

Таким образом, через 3 ч после внутрижелудочкового введения агониста гистаминовых H_3 -рецепторов R- α -метилгистамина происходит удлинение перикарионов гистаминергических нейронов

Таблица 12.6

**Активность ферментов (в единицах оптической плотности $\times 10^3$)
в цитоплазме перикарионов гистаминергических нейронов
гипоталамуса крыс через 3 ч после введения R- α -метилгистамина
в боковой желудочек мозга в дозе 0,5 мг/кг**

Экспериментальная группа	Название фермента	Активность фермента, $M \pm m$	p (Стьюдент — Фишер)	p (непараметрич.)
Контроль	НАДФН-ДГ	509,15 \pm 13,56		
R- α -метилгистамин		462,64 \pm 12,30	< 0,05	> 0,05
Контроль	НАДН-ДГ	540,02 \pm 20,98		
R- α -метилгистамин		454,12 \pm 10,16	< 0,01	< 0,05
Контроль	СДГ	205,06 \pm 5,40		
R- α -метилгистамин		183,28 \pm 1,68	< 0,01	< 0,05
Контроль	Г-6-Ф-ДГ	295,91 \pm 4,69		
R- α -метилгистамин		260,07 \pm 6,04	< 0,001	< 0,01
Контроль	ЛДГ	485,24 \pm 6,95		
R- α -метилгистамин		360,64 \pm 22,43	< 0,001	< 0,01
Контроль	КФ	401,41 \pm 8,58		
R- α -метилгистамин		401,17 \pm 11,52	> 0,05	> 0,05
Контроль	МАО Б	584,79 \pm 7,97		
R- α -метилгистамин		530,02 \pm 9,47	< 0,01	< 0,01

гипоталамуса у крыс (они становятся более вытянутыми, веретеновидными за счет увеличения их большого диаметра); несколько увеличиваются и их размеры. При этом в цитоплазме гистаминергических нейронов происходит снижение активности всех изученных ферментов, за исключением кислой фосфатазы, которая не меняется. Это свидетельствует об угнетении обменных процессов в этих нейронах и хорошо коррелирует с известными данными об угнетении функции нейронов при активации гистаминовых H₃-ауторецепторов.

12.4. Морфофункциональная характеристика гистаминергических нейронов мозга крыс после введения антагониста H_3 -гистаминовых рецепторов тиоперамида

Известно, что тиоперамид является специфичным и эффективным антагонистом H_3 -гистаминовых рецепторов. Он вызывает активацию гистаминергических нейронов мозга.

Тиоперамид (5 мг/кг) через 30 мин после внутрибрюшинного введения вызывает падение уровня гистамина в области терминалей, демонстрируя способность значительно улучшать гистаминовую нейротрансмиссию в ЦНС [175]. Особенно сильное падение гистамина в терминалях наблюдалось после введения тиоперамида на фоне угнетения синтеза гистамина α -флюорометилгистидином. Соответственно, тиоперамид резко усиливал синтез гистамина в мозге из меченого гистидина [175].

Показано, что тиоперамид в низких дозах ($ED_{50} = 2$ мг/кг) значительно усиливал кругооборот гистамина в синапсосамах мозга (вызывал снижение уровня гистамина на фоне угнетения синтеза гистамина α -флюорометилгистидином). Тиоперамид также длительно (30 мин — 6 ч) уменьшал уровень гистамина и увеличивал уровень его метаболита N-метилгистамина в синапсосамах мозга [23].

Показано, что тиоперамид (2 мг/кг, в/б) увеличивал содержание теле-метилгистамина в мозге мышей, не оказывая влияния на содержание гистамина. Тиоперамид также усиливал увеличение теле-метилгистамина, вызванное ингибитором МАО паргилином [306]. Эти данные указывают на высокую эффективность тиоперамида для активации гистаминергических нейронов мозга.

Мы исследовали изменения размеров и формы, а также метаболизма гистаминергических нейронов мозга крыс через 3 ч после внутривенного введения тиоперамида в дозе 0,15 мг/кг.

Результаты морфометрического исследования показали, что после введения тиоперамида происходит незначительное изменение размеров и формы тел гистаминергических нейронов ядра E2. Статистически достоверное влияние изучаемого фактора отмечается только на показатель максимального диаметра нейронов, при этом $F = 5,97$; $p < 0,05$ (Analysis of Variance), при вторичном сравнении средних тоже отмечены достоверные изменения в опытных

образцах по сравнению с контрольными $p < 0,05$ (Post-hoc comparisons of means, Scheffe test). Остальные изменения морфометрических параметров не подтверждаются статистически. Форма тел гистаминергических нейронов ядра E2 не изменилась, о чем свидетельствует отсутствие статистически достоверных изменений в показателях формфактора и фактора элонгации (табл. 12.7).

Таблица 12.7

Размеры и форма гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса у контрольной группы крыс и у крыс после предварительного введения тиоперамида (окраска срезов на МАО Б)

Морфометрический показатель	Контроль	Тиоперамид
Максимальный диаметр, мкм	$24,48 \pm 0,13$	$25,31 \pm 0,34$ (↑ на 3,39 %)
Минимальный диаметр, мкм	$16,46 \pm 0,14$	$16,71 \pm 0,62$
Периметр, мкм	$77,87 \pm 1,06$	$78,65 \pm 0,76$
Площадь, мкм ²	$304,02 \pm 3,25$	$315,41 \pm 6,15$
Объем, мкм ³	$4014,82 \pm 67,97$	$4239,26 \pm 121,36$
Фактор элонгации	$1,51 \pm 0,01$	$1,55 \pm 0,07$
Формфактор	$0,64 \pm 0,01$	$0,65 \pm 0,01$

При сравнении контрольной и опытной групп с помощью непараметрической статистики (Mann — Whitney U-test) статистически достоверных отличий между группами не выявлено.

Результаты цитофотометрического исследования показали, что под действием тиоперамида происходят следующие изменения в цитоплазме перикарионов гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс. Активность НАДФН-ДГ снижается на 17,0 % ($F = 1,14$; $p < 0,01$, Analysis of Variance; при $z = 2,74$; $p < 0,01$ — Mann — Whitney U-test — для непараметрической статистики). Активность НАДН-ДГ снижается на 20,7 % ($F = 3,91$; $p < 0,01$; при $z = 2,74$; $p < 0,01$). Активность Г-6-Ф-ДГ снижается на 28,26 % ($F = 2,1$; $p < 0,001$; при $z = 2,74$; $p < 0,01$). Активность МАО Б снижается на 22,6 % ($F = 3,91$; $p < 0,001$; при $z = 2,73$; $p < 0,01$). Активность КФ повышается на 11,2 % ($F = 2,31$; $p < 0,05$; при $z = -2,37$; $p < 0,05$). Активность СДГ и ЛДГ существенно не изменяются (табл. 12.8).

Таким образом, под действием антагониста Н₃-гистаминовых рецепторов тиоперамида размеры и форма гистаминергических

нейронов существенно не изменились. При этом активность дегидрогеназ НАДН-, НФДФН-, глюкозо-6-фосфата, а также МАО Б достоверно снизились, а активность кислой фосфатазы, напротив, возросла.

Таблица 12.8

**Активность ферментов (в единицах оптической плотности $\times 10^3$)
в цитоплазме перикарионов гистаминергических нейронов
гипоталамуса крыс через 3 ч после введения тиоперамида в боковой
желудочек мозга в дозе 150 мкг/кг массы**

Экспериментальная группа	Название фермента	Активность фермента, $M \pm m$	p (Стьюдент – Фишер)	p (непараметрич.)
Контроль	НАДФН-ДГ	509,15 \pm 13,56		
Тиоперамид	НАДФН-ДГ	422,43 \pm 15,85	< 0,01	< 0,01
Контроль	НАДН-ДГ	540,02 \pm 20,98		
Тиоперамид	НАДН-ДГ	428,02 \pm 11,62	< 0,01	< 0,01
Контроль	СДГ	205,06 \pm 5,40		
Тиоперамид	СДГ	197,03 \pm 14,50	> 0,05	> 0,05
Контроль	Г-6-Ф-ДГ	295,91 \pm 4,69		
Тиоперамид	Г-6-Ф-ДГ	212,29 \pm 7,40	< 0,001	< 0,01
Контроль	ЛДГ	485,24 \pm 6,95		
Тиоперамид	ЛДГ	463,58 \pm 9,57	> 0,05	> 0,05
Контроль	КФ	401,41 \pm 8,58		
Тиоперамид	КФ	446,55 \pm 14,29	< 0,05	< 0,05
Контроль	МАО Б	584,79 \pm 7,97		
Тиоперамид	МАО Б	452,68 \pm 17,27	< 0,001	< 0,01

Полученные результаты явились для нас несколько неожиданными, поскольку при вероятной активации гистаминергических нейронов тиоперамидом некоторые показатели внутриклеточного энергетического метаболизма и фермента деградации гистамина МАО Б не возросли, а снизились. Угнетение МАО Б после введения тиоперамида в условиях вероятного усиления синтеза, выделения и кругооборота гистамина можно объяснить необходимостью увеличения уровня нейронального гистамина, необходимого для нейротрансмиссии. Ранее значительное конкурентное угнетение МАО Б было также найдено в гомогенатах гипоталамуса под дей-

ствием тиоперамида (с K_i для крысы, обезьяны и человека 175, 8 и 11 μM) [122].

Активация кислой фосфатазы может отражать усиление процессов аутофагии как следствие повышенного износа ультраструктур гистаминергических нейронов при повышении функциональной активности нейронов.

Таким образом, в результате исследования установлены закономерности структурно-метаболической перестройки гистаминергических нейронов мозга под воздействием специфических лигандов H_1 -, H_2 - и H_3 -гистаминовых рецепторов.

Глава 13

ИЗМЕНЕНИЯ ГИСТАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ МОЗГА ПРИ НАРУШЕНИИ ТРАНСПОРТА И МЕТАБОЛИЗМА ГИСТАМИНА

13.1. Морфофункциональная характеристика гистаминергических нейронов мозга крысы после введения колхицина

При исследовании функциональной морфологии гистаминергических нейронов мозга было интересно выяснить, что произойдет с этими нейронами после введения колхицина, который разрушает микротрубочки клеток, тем самым нарушая цитоскелет и внутриклеточный транспорт и, соответственно, быстрый транспорт по аксонам нейронов.

Результаты морфометрии показали, что через двое суток после введения колхицина в боковой желудочек мозга крысы в дозе 150 мкг в 10 мл 0,9 % NaCl на взрослую крысу массой 200 г. (примерно 0,75 мг/кг) перикарионы гистаминергических нейронов уменьшаются в размерах и становятся менее сферичными. Однако эти различия были достоверны только при морфометрии гистологических препаратов, окрашенных по Нисслю, хотя при окраске на МАО Б выявлялась такая же тенденция изменений (табл. 13.1).

Установлено, что после введения колхицина активность НАДФН-ДГ уменьшается на 25,5 %, активность НАДН-ДГ — на 13,15 %, активность Г-6-Ф-ДГ — на 24,36 %. Установлено также достоверное увеличение активности ЛДГ на 15,5 % и активности МАО Б на 15,2 %. При этом активности СДГ и КФ достоверно не изменялись (табл. 13.2).

Таким образом, под действием колхицина размеры гистаминергических нейронов гипоталамуса уменьшаются и они становятся более вытянутыми, а также происходят значительные разнонаправленные изменения активности ферментов (снижение

Таблица 13.1
Размер изменения и форма гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс через двое суток после введения колхицина в боковой желудочек мозга в дозе 0,75 мг/кг

Морфометрический показатель	Окраска по Нисслю		Окраска на МАО Б	
	Контроль	Колхицин	Контроль	Колхицин
Максимальный диаметр, мкм	20,20 ± 0,28	17,59 ± 0,59	24,10 ± 0,5	23,59 ± 0,96
Минимальный диаметр, мкм	13,45 ± 0,48	10,65 ± 0,39	15,74 ± 0,6	14,75 ± 0,40
Периметр, мкм	61,84 ± 0,79	52,80 ± 1,55*	72,82 ± 2,2	71,14 ± 2,0
Площадь, мкм ²	207,34 ± 6,81	142,85 ± 9,49***	289,50 ± 14,0	264,43 ± 15,16
Объем, мкм ³	2278,8 ± 13,3	1317,5 ± 137***	3782,3 ± 27,0	3314,1 ± 294,5
Фактор элонгации	1,537 ± 0,07	1,698 ± 0,06	1,57 ± 0,06	1,640 ± 0,07
Формфактор	0,69 ± 0,017	0,64 ± 0,009*	0,69 ± 0,025	0,658 ± 0,016

* — $p < 0,05$;

*** — $p < 0,001$ при сравнении с контролем.

Таблица 13.2

Изменения активности ферментов в цитоплазме гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс через двое суток после введения колхицина в боковой желудочек мозга в дозе 0,75 мг/кг

Экспериментальная группа	Название фермента	Активность фермента $M \pm m$	(Стьюдент – Фишер)	(Mann – Whitney)
Контроль	НАДФН-ДГ	540,08 \pm 12,58		
Колхицин		402,19 \pm 10,08	< 0,001	< 0,01
Контроль	НАДН-ДГ	522,79 \pm 8,59		
Колхицин		454,05 \pm 13,76	< 0,010	< 0,01
Контроль	СДГ	210,11 \pm 6,78		
Колхицин		199,84 \pm 13,19	> 0,500	> 0,50
Контроль	Г-6-Ф-ДГ	298,08 \pm 6,42		
Колхицин		225,46 \pm 9,20	< 0,001	< 0,01
Контроль	ЛДГ	501,22 \pm 11,69		
Колхицин		578,75 \pm 13,93	< 0,010	< 0,05
Контроль	КФ	416,42 \pm 5,77		
Колхицин		416,77 \pm 14,52	> 0,500	> 0,50
Контроль	МАО Б	610,42 \pm 21,58		
Колхицин		703,44 \pm 6,11	< 0,010	< 0,01

активности дегидрогеназ НАДН, глюкозо-6-фосфата, и особенно НАДФН (на 15–25 %), и возрастание активности лактатдегидрогеназы и МАО Б (на 15 %). Выявленные изменения отражают глубокие структурные и метаболические нарушения в гистаминергических нейронах гипоталамуса, вызванные дезорганизацией нейротрубочек и, соответственно, нарушением цитоскелета перикарионов и транспорта по отросткам, в том числе и гистамина. Причем нарушение аксотока лучше всего отражает накопление МАО Б в перикарионах, поскольку этот фермент в норме транспортируется в терминали. Эти нарушения могут быть связаны также с процессами апоптоза, которые индуцирует колхицин [95].

13.2. Морфофункциональная характеристика гистаминергических нейронов мозга крысы после введения L-гистидина

Аминокислота гистидин является метаболическим предшественником гистамина в организме, в том числе и при синтезе его в гистаминергических нейронах мозга с помощью фермента гистидин-декарбоксилазы. Внутривнутрибрюшинное введение L-гистидина крысам в дозе 1 г/кг приводило к резкому увеличению содержания гистамина в целом мозге, с максимумом через 3 ч (более чем в 3 раза). Причем достоверное увеличение гистамина было обнаружено уже через 1 ч после введения гистидина и вплоть до 7 ч; через 12 ч уровень гистамина в мозге не отличался от контроля. Вместе с тем содержание в мозге метаболита гистамина — теле-метилгистамина увеличивалось только через 3 ч после введения гистамина, а уровень теле-метилимидазолуксусной кислоты не менялся совсем [243].

Было интересно выяснить, какие изменения структуры и метаболизма произойдут в гистаминергических нейронах мозга крыс в условиях избытка в организме гистидина.

Результаты морфометрического исследования показали, что через 3 ч после введения L-гистидина (1 г/кг, в/б) происходит незначительное увеличение размеров тел гистаминергических нейронов гипоталамуса крыс. При измерении морфометрических показателей на срезах, окрашенных по Ниссля, статистически достоверным оказалось только увеличение фактора элонгации, что указывает на некоторое удлинение нейронов (табл. 13.3). Интересно, что при окраске на МАО Б все размеры нейронов были значительно больше, чем на срезах, окрашенных по Ниссля (см. табл. 13.3). Возможно, это связано с некоторой диффузией продуктов реакции в гистохимических препаратах при выявлении активности МАО Б.

Результаты гистохимического исследования цитоплазмы перикарионов гистаминергических нейронов гипоталамуса показали (табл. 13.4), что под действием гистидина активность НАДФН-ДГ возрастает на 37,4 % ($F = 16,5$; $p < 0,001$). Активность НАДН-дегидрогеназы возрастает на 55,45 % ($F = 8,33$; $p < 0,001$). Активность СДГ увеличивается на 51 % ($F = 1,29$; $p < 0,05$). Активность Г-6-Ф-ДГ увеличивается на 24,45 %, ($F = 2,02$; $p < 0,01$). Актив-

Таблица 13.3

Размеры и форма гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса у контрольных крыс и у животных через 3 ч после внутрибрюшинного введения L-гистидина в дозе 1 г/кг

Морфометрический показатель	Окраска по Нисслю		Окраска на MAO Б	
	Контроль	L-гистидин	Контроль	L-гистидин
Максимальный диаметр, мкм	20,60 ± 0,45	21,23 ± 0,28	25,41 ± 0,37	26,22 ± 0,65
Минимальный диаметр, мкм	12,36 ± 0,18	12,33 ± 0,22	15,91 ± 0,19	15,89 ± 0,25
Периметр, мкм	60,94 ± 0,61	62,99 ± 0,89	77,45 ± 0,90	78,82 ± 1,11
Площадь, мкм ²	192,1 ± 3,98	195,7 ± 3,68	302,8 ± 4,1	310,6 ± 4,5
Объем, мкм ³	2014,5 ± 61,4	2072,9 ± 58,7	3983,3 ± 80,6	4146,9 ± 90,6
Фактор элонгации	1,69 ± 0,05	1,76 ± 0,04*	1,62 ± 0,04	1,69 ± 0,07
Формфактор	0,66 ± 0,01	0,63 ± 0,01	0,64 ± 0,01	0,64 ± 0,01

* — $p < 0,05$ при сравнении с контролем.

ность КФ возрастает на 27 % ($F = 4,09$; $p < 0,001$). Активность MAO Б повышается на 18 % ($F = 3,65$; $p < 0,01$). Активность ЛДГ, напротив, достоверно снижается на 22,4 % ($F = 2,45$; $p < 0,01$).

Таблица 13.4

Изменения активности ферментов (в единицах оптической плотности $\times 10^3$) в гистаминергических нейронах ядра E2 гипоталамуса крыс через 3 ч после внутрибрюшинного введения L-гистидина в дозе 1 г/кг

Воздействие	Название фермента	Активность фермента, $M \pm m$	p
Контроль	НАДФН-ДГ	449,92 ± 3,54	
Гистидин		618,20 ± 14,35	< 0,001
Контроль	НАДН-ДГ	509,79 ± 8,33	
Гистидин		812,95 ± 24,05	< 0,050
Контроль	СДГ	219,05 ± 13,55	
Гистидин		330,84 ± 11,93	< 0,010
Контроль	Г-6-Ф-ДГ	284,31 ± 14,67	
Гистидин		353,81 ± 10,32	< 0,010
Контроль	ЛДГ	515,85 ± 9,47	
Гистидин		400,26 ± 14,82	< 0,010

Окончание табл. 13.4

Воздействие	Название фермента	Активность фермента, $M \pm m$	p
Контроль	МАО Б	406,65 \pm 9,63	< 0,001
Гистидин		516,75 \pm 19,46	
Контроль		637,25 \pm 15,98	< 0,010
Гистидин		751,65 \pm 8,36	

Таким образом, при введении избытка метаболического предшественника гистамина, гистидина, в цитоплазме гистаминергических нейронов гипоталамуса происходит активация всех ветвей окислительного метаболизма: очень сильно (на 25–55 %) возрастает активность дегидрогеназ НАДН, НАДФН, сукцината и глюкозо-6-фосфата, а также активность МАО Б и кислой фосфатазы. Напротив, активность фермента гликолиза, лактатдегидрогеназы, снижается.

Возрастание активности маркерного фермента лизосом кислой фосфатазы может отражать усиленную работу, износ и гибель микроструктур гистаминергических нейронов, сопровождающиеся аутофагией. В целом эти изменения отражают активацию метаболизма и функции гистаминергических нейронов мозга.

13.3. Морфофункциональная характеристика гистаминергических нейронов мозга крысы после введения ингибитора МАО Б депринила

Депренил является специфическим и эффективным ингибитором МАО типа Б, которая является ключевым ферментом катаболизма гистамина в мозге. Было интересно выяснить, какие структурные и метаболические изменения произойдут в гистаминергических нейронах мозга после избирательного угнетения этого фермента.

Результаты морфометрического исследования показали, что через 3 ч после внутрибрюшинного введения депринила (1 мг/кг) максимальный и минимальный диаметры тел гистаминергических нейронов статистически достоверно не изменились (табл. 13.5).

Периметр тел гистаминергических нейронов уменьшился на 4,54 %, при $z = -2,40$; $p < 0,05$ (Mann – Whitney U-test); отмечается статистически достоверное влияние изучаемого фактора на показатель, при этом $F = 10,93$; $p < 0,01$; при вторичном сравнении средних тоже отмечены достоверные изменения в опытных образцах по сравнению с контрольными $p < 0,01$ (Post-hoc comparisons of means, Scheffe test). *Площадь* тел гистаминергических нейронов уменьшилась на 10,34 %, при $z = -2,61$; $p < 0,01$, при этом $F = 15,50$; $p < 0,01$; при вторичном сравнении средних $p < 0,01$ (Scheffe test). *Объем* тел гистаминергических нейронов на 15,88 % меньше у опытных крыс, чем в контрольной группе, при $z = -2,61$; $p < 0,01$ (Mann – Whitney U-test); $F = 15,79$; $p < 0,01$, при вторичном сравнении средних $p < 0,001$ (Scheffe test).

Таблица 13.5

Размеры и форма гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса у контрольных крыс и у животных через 3 ч после внутрибрюшинного введения депринила в дозе 1 мг/кг

Морфометрический показатель	Контроль	Депринил
Максимальный диаметр, мкм	20,60 ± 0,45	19,42 ± 0,43
Минимальный диаметр, мкм	12,36 ± 0,18	12,00 ± 0,24
Периметр, мкм	60,94 ± 0,61	58,29 ± 0,52*↓
Площадь, мкм ²	192,11 ± 3,98	174,11 ± 2,25**↓
Объем, мкм ³	2014,54 ± 61,39	1738,47 ± 32,54***↓
Фактор элонгации	1,69 ± 0,05	1,66 ± 0,07
Формфактор	0,66 ± 0,01	0,65 ± 0,01

* – $p < 0,05$;

** – $p < 0,01$ при сравнении с контролем (Mann – Whitney U-test).

Форма тел гистаминергических нейронов ядра E2 не изменилась, о чем свидетельствует отсутствие статистически достоверных изменений формфактора и фактора элонгации (см. табл. 13.5).

Результаты гистохимического исследования показали, что после введения депринила активность НАДФН-ДГ существенно не меняется (табл. 13.6). Активность НАДФН-ДГ возрастает на 21,79 % ($F = 0,17$, при $z = -2,88$; $p < 0,01$ – Mann – Whitney U-test). Активность СДГ увеличивается на 17,04 %, однако это изменение

статистически недостоверно. Активность Г-6-Ф-ДГ увеличивается на 16 %, при $z = -2,08$, $p < 0,05$. Активность ЛДГ, напротив, снижается на 8,4 %, при $F = 1,19$; $p < 0,05$; при $z = 2,40$, $p < 0,05$. Активность КФ меняется незначительно. Эффективность действия депринила подтверждается 9-кратным угнетением активности МАО Б в цитоплазме перикарионов гистаминергических нейронов гипоталамуса.

Таблица 13.6

Активность ферментов в цитоплазме перикарионов гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса у контрольных крыс и у животных через 3 ч после внутрибрюшинного введения депринила в дозе 1 мг/кг

Группа животных	Название фермента	Активность ферментов, $M \pm m$	p (Стьюдент – Фишер)	p (Mann – Whitney U-test)
Контроль	НАДФН-ДГ	449,92 \pm 3,54	> 0,05	> 0,05
Депринил		466,21 \pm 14,07		
Контроль	НАДН-ДГ	509,79 \pm 8,33	< 0,001	< 0,01
Депринил		620,87 \pm 14,84		
Контроль	СДГ	219,05 \pm 13,55	> 0,05	> 0,05
Депринил		256,38 \pm 17,63		
Контроль	Г-6-Ф-ДГ	284,31 \pm 14,67	< 0,05	< 0,05
Депринил		329,70 \pm 14,01		
Контроль	ЛДГ	515,85 \pm 9,47	< 0,05	< 0,05
Депринил		472,67 \pm 10,31		
Контроль	КФ	406,65 \pm 9,63	> 0,05	> 0,05
Депринил		429,25 \pm 19,41		
Контроль	МАО Б	637,25 \pm 15,98	< 0,001	< 0,01
Депринил		71,42 \pm 5,71		

Следовательно, угнетение ключевого фермента катаболизма гистамина в мозге, МАО Б, приводит к значительному уменьшению размеров гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс. При этом в цитоплазме этих нейронов наблюдается возрастание активности дегидрогеназ НАДФН и НАДН, СДГ и Г-6-Ф и снижение активности лактатдегидрогеназы.

Таким образом, под действием колхицина размеры перикарионов гистаминергических нейронов гипоталамуса уменьшаются и они становятся менее округлыми. В их цитоплазме также происходят значительные разнонаправленные изменения активности ферментов (снижение активности дегидрогеназ НАДН и НАДФН, глюкозо-6-фосфата и возрастание активности лактатдегидрогеназы и МАО Б).

При введении избытка метаболического предшественника гистамина, гистидина, размеры и форма перикарионов гистаминергических нейронов гипоталамуса существенно не меняются. При этом происходит активация дегидрогеназ НАДН, НАДФН, сукцината, глюкозо-6-фосфата, МАО Б и кислой фосфатазы, а активность лактатдегидрогеназы, напротив, снижается. В целом эти изменения отражают активацию метаболизма и функции гистаминергических нейронов мозга.

После угнетения депринилом ключевого фермента катаболизма гистамина в мозге, МАО Б, размеры гистаминергических нейронов ядра Е2 гипоталамуса крыс значительно уменьшаются, активность дегидрогеназ НАДФН и НАДН, СДГ и Г-6-Ф значительно снижается, а активность лактатдегидрогеназы и кислой фосфатазы возрастает. В целом эти изменения, вероятно, отражают угнетение метаболизма и функции гистаминергических нейронов мозга.

Можно ли использовать эти морфометрические и гистохимические показатели для оценки функционального состояния гистаминергических нейронов? Вероятно, уменьшение размеров и сферичности перикарионов нейронов, угнетение дегидрогеназ НАДФН и НАДН, СДГ и Г-6-Ф, но активация ЛДГ в их цитоплазме соответствует угнетению их функции. Напротив, активация дегидрогеназ НАДФН и НАДН, СДГ и Г-6-Ф, но угнетение ЛДГ в их цитоплазме может отражать процессы повышения функциональной активности гистаминергических нейронов мозга.

Глава 14

СТРУКТУРНЫЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ГИСТАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНАХ МОЗГА КРЫС ЧЕРЕЗ 1 ЧАС ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО ВВЕДЕНИЯ АЛКОГОЛЯ

Проблема взаимодействия гистамина и алкоголя в организме изучена недостаточно. Большинство публикаций, касающихся этого вопроса, посвящены изучению безопасности антигистаминных препаратов как лекарств, широко использующихся для лечения аллергии, желудочной гиперсекреции и язв [359]. При этом влияние алкоголя на гистаминергическую систему мозга, с одной стороны, и роль центрального гистамина в механизмах действия алкоголя на мозг и патогенезе алкоголизма, с другой, изучены крайне мало [435]. Между тем пути метаболизма гистамина и алкоголя в мозге имеют общий фермент — альдегиддегидрогеназу. Поэтому высокоактивный метаболит этанола ацетальдегид может влиять на метаболизм гистамина путем его конкуренции с метаболитом гистамина имидазолацетальдегидом за этот фермент [47]. Это может явиться метаболической основой взаимодействия гистамина и алкоголя в мозге.

14.1. Влияние алкоголя на центральный гистамин

Результаты многочисленных биохимических исследований показали, что однократное введение этанола вызывает повышение, снижение или не оказывает влияния на содержание гистамина в мозге в зависимости от дозы алкоголя, вида экспериментальных животных и исследованного отдела мозга (табл. 14.1). Хроническое ведение алкоголя животным в одних исследованиях увеличивало, а в других не изменяло содержание этого диамина.

У новорожденных крысят, сосущих молоко матери, потреблявшей алкоголь, в мозге количество гистамина возрастает [341]. Потребление алкоголя беременными самками приводит к увеличению

у них экскреции гистамина с мочой и уменьшает содержание предшественника гистамина гистидина в тканях плода [249]. Потребление алкоголя самками крыс во время беременности и лактации не приводило к изменению активности гистидиндекарбоксилазы в мозге плодов и новорожденных [341].

Таблица 14.1

Влияние острого введения этанола на содержание гистамина в мозге

Доза (г/кг) и способ введения	Вид животных	Исследованная структура мозга	Направление изменений	Ссылки
2,0, в/б	крысы	целый мозг	↑	Rawat, 1980
0,8–1,6, в/б	крысы	большие полушария	↑	Subramanian et al., 1980
		зрительные бугры	↑	
0,175, в/б	крысы	целый мозг	↑	Papanicolaou & Fennessy, 1980
1,755, в/б	крысы	целый мозг	↓	
1,0, в/ж	крысы	гипоталамус	↑	Prell et al., 1982
		средний мозг	↑	
2,0, в/ж	крысы	гипоталамус	↓	Prell et al., 1982
		средний мозг	=	
		большие полушария	=	
0,5–5, в/ж	мыши	гипоталамус	=	Itoh et al., 1985
5,0, в/б	морские свинки	большие полушария	↓	Novak & Maslinski, 1984
		гипоталамус	↓	
		остальная часть мозга	↓	

Полагают, что алкоголь нарушает содержание гистамина в мозге путем влияния на его синтез, выделение из нервных окончаний или метаболизм (см. обзор [9, 435]). Эти эффекты могут быть обусловлены как прямым действием этанола на гистаминовые нейроны, так и влиянием его первого, химически высокоактивного метаболита — ацетальдегида. Показано, что на периферии именно он вызывает интенсивную дегрануляцию тучных клеток при введении алкоголя. Кроме того, пути метаболизма этанола и гистамина в мозге имеют общий фермент альдегиддегидрогеназу. Поэтому ацетальдегид, конкурируя с метаболитом гистамина теле-имида-

золацетальдегидом за фермент альдегиддегидрогеназу, может тормозить метаболизм гистамина в мозге.

Кроме того, в биохимических и гистохимических исследованиях показано, что этанол активирует МАО Б в мозге, что также может нарушать метаболизм гистамина [24, 142]. Вместе с тем гистохимически показано, что активность МАО Б в различных микроструктурах мозга под действием алкоголя меняется разнонаправленно. Интересно, что в гистаминергических нейронах заднего гипоталамуса крыс через 1 ч после однократного введения этанола активность данного фермента существенно не меняется, а после полудобровольного потребления этанола крысами в течение месяца даже возрастает [24].

Этанол (0,75–3 %) стимулировал двигательную активность у рыбок zebrafish (*Danio rerio*). Причем при большой концентрации (3 %) эта стимуляция была кратковременной (в течение 1 мин) и сменялась угнетением, а при меньшей — более длительной. С помощью ПЦР установлена активация ключевых генов синтеза гистамина в мозге в течение 10 мин после воздействия этанола. При этом морфология и организация сети гистаминергических нейронов в мозге при иммуногистохимическом исследовании через 10 и 30 мин не менялась [33].

Таким образом, одним из механизмов воздействия алкоголя на функции мозга может быть его модулирующее действие на метаболизм гистамина и состояние гистаминергической системы мозга. Поскольку одной из основных функций гистаминергических нейронов мозга является регуляция процессов сна и бодрствования, представляет интерес их исследование после введения разных доз алкоголя.

14.2. Гистаминергические нейроны через 1 час после однократного введения алкоголя в дозе 1 г/кг

После однократного внутрибрюшинного введения 20% раствора этанола в дозе 1 г/кг крысы не засыпают. Их поведение заметно не отличается от поведения контрольных животных. При этом в гипоталамусе животных не выявляется существенных гистологических изменений.

Количественный анализ гистаминергических нейронов *по степени хромотофилии цитоплазмы* на препаратах, окрашенных по методу Ниссля, не выявил достоверных отличий между контрольной и опытной группами (табл. 14.2).

Таблица 14.2

Количество разных типов гистаминергических нейронов ядра Е2 гипоталамуса крыс по степени хромотофилии цитоплазмы через 1 ч после введения алкоголя в дозе 1 г/кг, окраска по методу Ниссля ($Me \pm IQR$)

Тип нейронов	Контроль ($n = 9$)	Опыт ($n = 7$)
Нормохромные нейроны	87,32 \pm 4,78	81,30 \pm 7,28
Гипохромные нейроны	6,55 \pm 3,74	9,14 \pm 5,43
Гиперхромные нейроны	3,63 \pm 2,31	4,93 \pm 3,39
Клетки-тени	2,50 \pm 1,21	4,63 \pm 2,22

При этом выявлены *изменения размеров и формы* исследуемых нейронов при сравнении с контрольной группой животных. Так, на гистологических препаратах, окрашенных по методу Ниссля, такие показатели, как минимальный и максимальный диаметры, периметр, площадь и объем тел гистаминергических нейронов, уменьшаются на 9,3 % ($z = -2,59$, $p = 0,010$), 4,0 % ($z = -2,81$, $p = 0,005$), 12,9 % ($z = -3,33$, $p = 0,001$), 11,8 % и 17,2 % ($z = -2,91$, $p = 0,004$) соответственно (табл. 14.3). В то же время, наблюдается увеличение значения формфактора на 8,4 % ($z = 2,28$, $p = 0,023$). Это свидетельствует об уменьшении размеров и возрастании сферичности перикарионов.

Таблица 14.3

Показатели размеров и формы перикарионов гистаминергических нейронов ядра Е2 гипоталамуса крыс после введения алкоголя в дозе 1 г/кг, декапитация через 1 ч, окраска по методу Ниссля ($Me \pm IQR$)

Параметр	Контроль ($n = 9$)	Опыт ($n = 7$)
Минимальный диаметр, мкм	12,72 \pm 1,07	11,40 \pm 1,09**↓
Максимальный диаметр, мкм	20,68 \pm 0,53	20,19 \pm 1,18**↓
Периметр, мкм	63,03 \pm 2,57	53,57 \pm 4,26***↓
Площадь, мкм ²	206,42 \pm 25,91	179,95 \pm 17,91*↓
Объем, мкм ³	2231,69 \pm 419,39	1816,41 \pm 272,00**↓

Окончание табл. 14.3

Параметр	Контроль ($n = 9$)	Опыт ($n = 7$)
Фактор элонгации	$1,70 \pm 0,07$	$1,74 \pm 0,18$
Формфактор	$0,68 \pm 0,06$	$0,74 \pm 0,04^* \uparrow$

* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ при сравнении с контролем; \uparrow — статистически значимое увеличение изучаемого параметра; \downarrow — статистически значимое снижение изучаемого параметра.

Кроме того, выявлены изменения размеров ядер гистаминергических нейронов: установлено достоверное снижение их максимального диаметра на 10,4 % ($z = -3,02$, $p = 0,003$), периметра на 7,7 % ($z = -2,06$, $p = 0,039$), а также площади и объема на 12,0 % и 16,8 % соответственно ($z = -2,06$, $p = 0,039$) (табл. 14.4). По форме ядер исследуемых нервных клеток статистически достоверных различий не зарегистрировано. Ядерно-цитоплазматическое отношение гистаминергических нейронов существенно не меняется.

Таблица 14.4

**Показатели размеров и формы ядер гистаминергических нейронов
ядра Е2 гипоталамуса крыс через 1 ч после введения алкоголя в дозе
1 г/кг, окраска по методу Ниссля ($Me \pm IQR$)**

Параметр	Контроль ($n = 9$)	Опыт ($n = 7$)
Минимальный диаметр, мкм	$7,21 \pm 0,42$	$6,54 \pm 1,16$
Максимальный диаметр, мкм	$11,19 \pm 0,39$	$10,04 \pm 1,05^{**} \downarrow$
Периметр, мкм	$31,10 \pm 1,77$	$28,14 \pm 4,96^* \downarrow$
Площадь, мкм ²	$61,40 \pm 4,53$	$52,07 \pm 15,41^* \downarrow$
Объем, мкм ³	$362,02 \pm 40,44$	$282,75 \pm 124,67^* \downarrow$
Формфактор	$0,80 \pm 0,03$	$0,80 \pm 0,06$
Фактор элонгации	$1,51 \pm 0,06$	$1,44 \pm 0,20$
Ядерно-цитоплазматическое отношение	$0,42 \pm 0,12$	$0,39 \pm 0,15$

* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ по сравнению с контролем; \downarrow — статистически значимое снижение изучаемого параметра.

Результаты гистохимического исследования показали, что через 1 ч после введения крысам алкоголя в дозе 1 г/кг в гистаминергических нейронах наблюдается снижение активности ЛДГ на 6,0 % ($z = -2,17$, $p = 0,030$), а также увеличение активности

МАО Б и НАДФН-ДГ на 5,4 % ($z = 2,49, p = 0,013$) и 8,9 % ($z = 3,23, p = 0,001$) соответственно (рис. 14.1, 14.2).

При сравнении значений уровня активности Г-6-Ф-ДГ, КФ, НАДН-ДГ и СДГ в цитоплазме нервных клеток контрольных и опытных животных статистически достоверных отличий не выявлено (табл. 14.5).

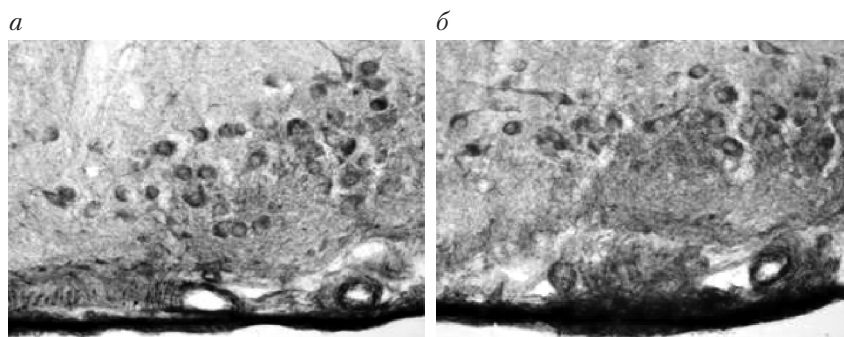


Рис. 14.1. Активность ЛДГ в гистаминергических нейронах ядра Е2 гипоталамуса контрольных крыс (а) и ее уменьшение в цитоплазме нейронов у крыс через 1 ч после однократного внутрибрюшинного введения алкоголя в дозе 1 г/кг (б). Окраска по Гесс, Скарпелли, Пирсу. Цифровая микрофотография. Ув. $\times 200$

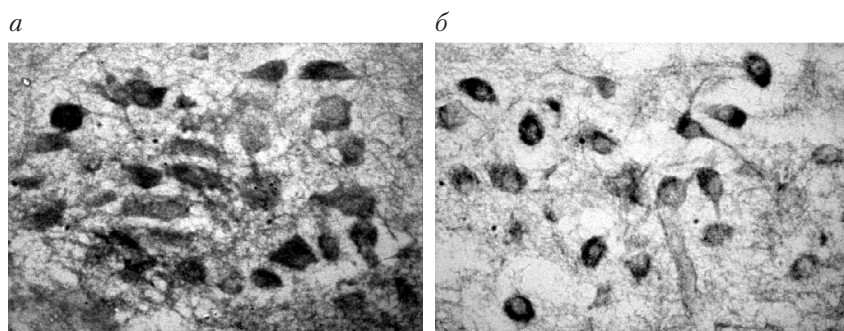


Рис. 14.2. Активность НАДФН-ДГ в гистаминергических нейронах ядра Е2 заднего гипоталамуса контрольных крыс (а) и ее увеличение в цитоплазме нейронов у крыс через 1 ч после однократного внутрибрюшинного введения алкоголя в дозе 1 г/кг (б). Окраска по Гесс, Скарпелли, Пирсу. Цифровая микрофотография. Ув. $\times 400$

Таблица 14.5

**Активность ферментов (в единицах оптической плотности)
в цитоплазме гистаминергических нейронах ядра E2 гипоталамуса
крыс через 1 ч после введения алкоголя в дозе 1 г/кг, (Me \pm IQR)**

Фермент	Контроль ($n = 9$)	Опыт ($n = 7$)
Г-6-Ф-ДГ	$0,312 \pm 0,02$	$0,363 \pm 0,07$
КФ	$0,436 \pm 0,03$	$0,463 \pm 0,06$
ЛДГ	$0,423 \pm 0,02$	$0,391 \pm 0,02^*\downarrow$
МАО Б	$0,649 \pm 0,04$	$0,676 \pm 0,04^*\uparrow$
НАДН-ДГ	$0,614 \pm 0,02$	$0,606 \pm 0,04$
НАДФН-ДГ	$0,420 \pm 0,01$	$0,463 \pm 0,03^{**}\uparrow$
СДГ	$0,322 \pm 0,01$	$0,342 \pm 0,05$

* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ при сравнении с контролем;

\uparrow — статистически значимое увеличение изучаемого параметра;

\downarrow — статистически значимое снижение изучаемого параметра.

Установлено, что у контрольных животных в области гистаминергического ядра E2 гипоталамуса наблюдается умеренная, равномерная зеленая иммунофлуоресценция маркера функциональной активности нейронов белка c-Fos в перикарионах нейронов. Последнее слабо выделяется на фоне нейропила (рис. 14.3). Это свидетельствует об одинаковой умеренной функциональной активности всех гистаминергических нейронов. При этом маркер внутренней мембраны митохондрий АТФ-синтетаза- β (красная иммунофлуоресценция) выявляется умеренно и преимущественно в нейропиле, что указывает на большую плотность расположения там митохондрий. Наблюдается колокализация этих маркеров в перикарионах нейронов; в результате при двойном мечении они приобретают салатовый оттенок (см. рис. 14.3).

Однократное введение этанола в дозе 1 г/кг через 1 ч значительно усиливает экспрессию c-Fos в перикарионах многих нейронов гистаминергического ядра E2 гипоталамуса (см. рис. 14.3). Это свидетельствует о резкой равномерной активации гистаминергических нейронов. Экспрессия АТФ-синтетазы- β также резко усиливается как в телах нейронов, так и в нейропиле. Это свидетельствует о возрастании плотности расположения там внутренних мембран митохондрий. При этом наблюдается четкая колокализация

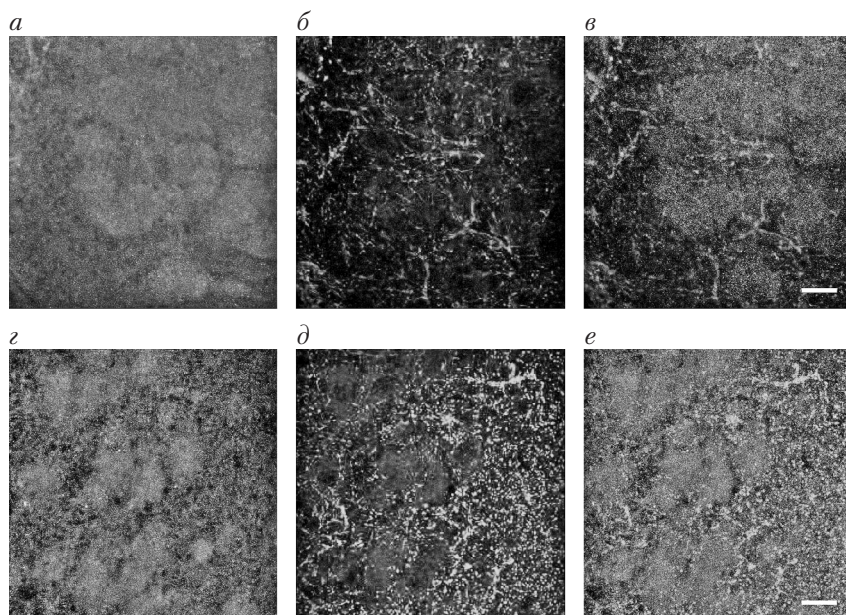


Рис. 14.3. Экспрессия с-Fos и АТФ-синтетазы- β в гистаминергическом ядре E2 гипоталамуса контрольных крыс (а–в) и ее изменение через 1 ч после однократного введения алкоголя в дозе 1 г/кг (г–е):

а, г — экспрессия с-Fos; б, д — экспрессия АТФ-синтетазы- β ; в, е — колокализация с-Fos и АТФ-синтетазы- β . Масштабный отрезок равен 15 мкм. Цифровая микрофотография. Ув. $\times 94,5$

этих маркеров как в перикарионах нейронов, так и в нейропиле. В результате нейропил приобретает оранжевый оттенок, цитоплазма перикарионов — желтый цвет (см. рис. 14.3).

Результаты электронно-микроскопического исследования показали, что у контрольных животных нейроны ядра E2 гипоталамуса имеют полигональную форму. Крупные ядра локализуются в центре тел нейронов (рис. 14.4). Хроматин мелкозернистый, в основном равномерно распределенный в кариоплазме. Ядрышки компактные, с преобладанием гранулярного компонента, располагаются преимущественно в центре ядер.

Цитоплазма гистаминергических нейронов богата органеллами. Митохондрии овальной и округлой формы, преимущественно средних размеров. Митохондриальный матрикс характеризуется

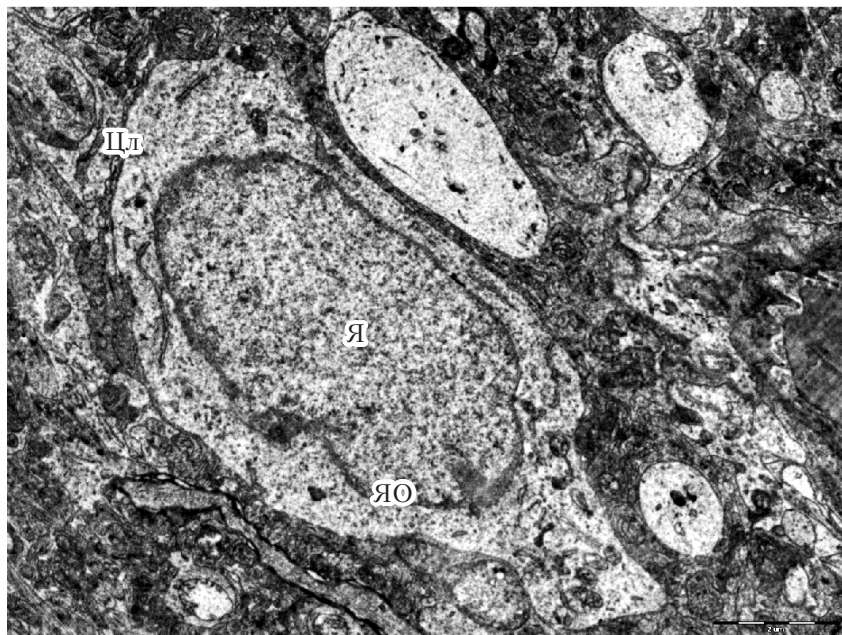


Рис. 14.4. Гистаминергический нейрон ядра E2 гипоталамуса контрольной крысы. Ядро нейрона (Я), ядерная оболочка (ЯО), цитолемма (Цл). Масштабный отрезок равен 2 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 10\,000$

умеренной электронной плотностью, внутренняя мембрана образует складки — кристы. В цитоплазме контрольных гистаминергических нейронов хорошо развита гранулярная эндоплазматическая сеть, цистерны которой, как правило, располагаются упорядоченно, с содержанием на наружной поверхности умеренного количества связанных рибосом. Помимо упорядоченной ГрЭС встречаются небольшие, беспорядочно разбросанные каналы и цистерны. В цитоплазме выявляется значительное количество свободных рибосом, преимущественно в виде полисом. Хорошо развит комплекс Гольджи, представленный как плоскими цистернами, так и большим количеством вакуолей и пузырьков. Присутствуют первичные лизосомы мелких и средних размеров, заполненные гомогенным веществом равномерной плотности, и единичные вторичные лизосомы мелких и средних размеров с гетерогенным зернистым содержимым (рис. 14.5).

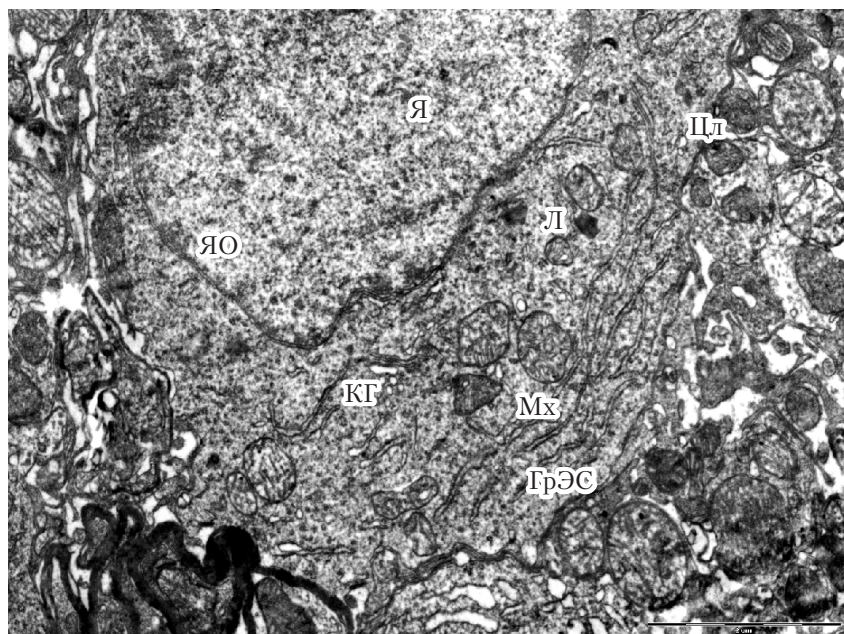


Рис. 14.5. Фрагмент нейрона ядра E2 гипоталамуса контрольной крысы. Ядро нейрона (Я), ядерная оболочка (ЯО), митохондрии (Мх), гранулярная эндоплазматическая сеть (ГрЭС), лизосома (Л), комплекс Гольджи (КГ), цитолемма (Цл). Масштабный отрезок равен 2 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 15\,000$

Спустя 1 ч после однократного введения крысам этанола в дозе 1 г/кг в нейронах гистаминергического ядра группы E2 наблюдаются определенные ультраструктурные изменения. Так, в большинстве исследованных нейронов отмечается перемещение ядрышка на периферию ядра, почти вплотную к ядерной оболочке (рис. 14.6). Сами ядрышки, как правило, довольно крупные, компактные, с преобладанием гранулярного компонента. Прослеживается конденсация вблизи внутренней ядерной мембраны субъединиц рибосом в виде различных по форме и величине конгломератов, что указывает на активное образование в ядрышках субъединиц рибосом и массовое перемещение их в цитоплазму. В отдельных нейронах встречается расширение перинуклеарного пространства. Отмечены небольшие инвагинации ядерной оболочки, увеличение числа

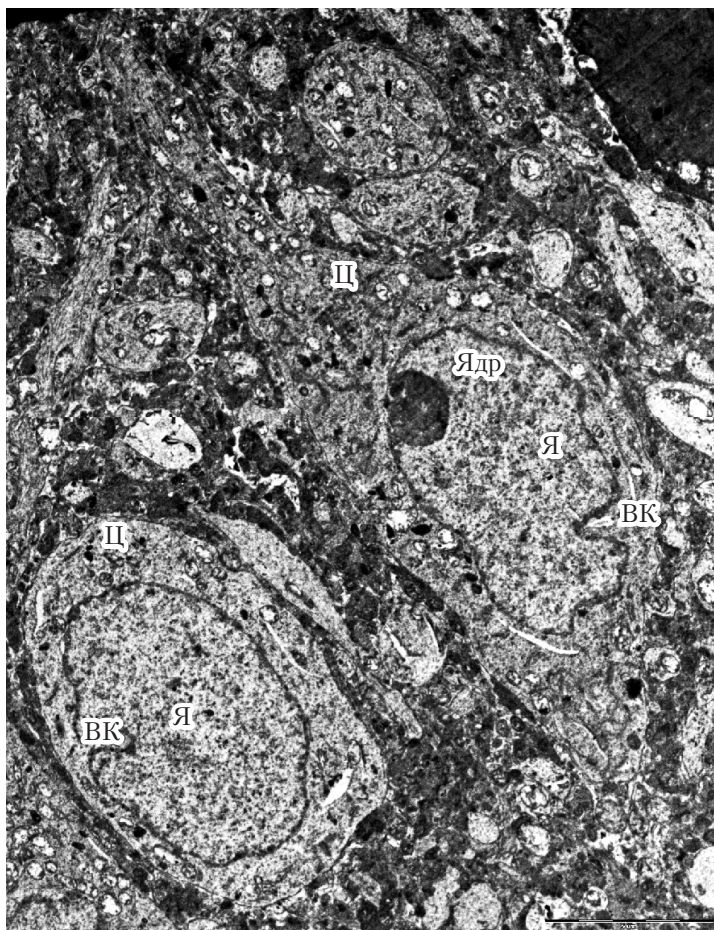


Рис. 14.6. Нейроны ядра E2 гипоталамуса через 1 ч после однократного внутрибрюшинного введения крысам алкоголя в дозе 1 г/кг. Цитоплазма (Ц), ядро (Я), ядрышко (Ядр), впячивание кариолеммы (ВК). Масштабный отрезок равен 5 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 6000$

ядерных пор, а также вступление митохондрий в контакт с кариолеммой (см. рис. 14.6, 14.7).

Митохондрии в гистаминергических нейронах овальной и округлой формы. Преобладают органеллы мелких и средних размеров. Наряду с визуально нормальными встречаются митохондрии с раз-

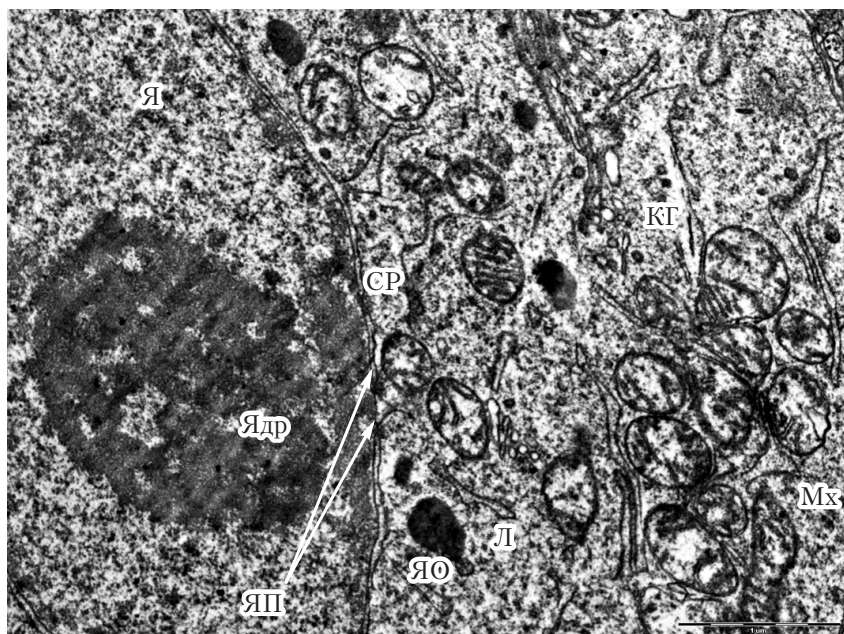


Рис. 14.7. Фрагмент нейрона ядра E2 гипоталамуса крысы через 1 ч после однократного введения алкоголя в дозе 1 г/кг. Смещение ядрышка (Ядр) на периферию ядра (Я), ядерные поры (ЯП), скопление субъединиц рибосом (СР) у ядерной оболочки (ЯО), скопление митохондрий (Мх) с просветленным матриксом и различной степенью редукции и фрагментации крист, лизосомы (Л), комплекс Гольджи (КГ). Масштабный отрезок равен 1 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 25\,000$

личной степенью фрагментации и редукции крист и просветленным митохондриальным матриксом (см. рис. 14.7).

Наблюдается набухание части митохондрий, приводящее к значительному увеличению данных органелл в размерах и приобретению ими полигональной формы. Кристы в таких органеллах, как правило, занимают периферическое местоположение, наблюдается деление митохондрий. Отмечены тесные контакты митохондрий с каналцами эндоплазматической сети и компонентами комплекса Гольджи (рис. 14.8).

В цитоплазме нейронов в большом количестве присутствуют свободные рибосомы и полисомы, имеющие вид розеток. В теле

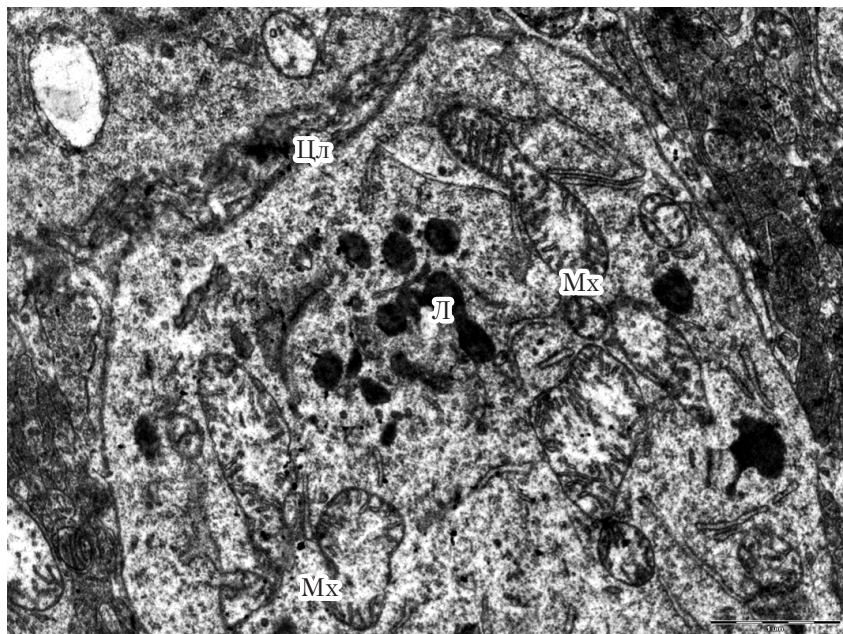


Рис. 14.8. Фрагмент нейрона ядра E2 гипоталамуса крысы через 1 ч после однократного введения алкоголя в дозе 1 г/кг. Набухшие и делящиеся митохондрии (Мх) с периферическим расположением крист, их различной степенью редукции и просветлением матрикса, скопление лизосом (Л) в цитоплазме. Масштабный отрезок равен 1 мкм. Электронограмма. УВ $\times 20\,000$

нейрона, и особенно отчетливо в отростках, выявляются микротрубочки. Хорошо развита гранулярная эндоплазматическая сеть, каналцы которой как упорядоченно, так и хаотично располагаются в цитоплазме. Комплекс Гольджи также хорошо развит, удлиненной или подковообразной формы (рис. 14.10), с выраженными цис- и трансповерхностями. В отдельных клетках наблюдается умеренная гипертрофия данной органеллы с гиперплазией отдельных ее компонентов. При этом число везикул значительно возрастает, цистерны комплекса Гольджи в ряде случаев заметно расширяются.

Чаще, чем у контрольных животных встречаются первичные лизосомы мелких и средних размеров, заполненные гомогенным веществом равномерной плотности, а также вторичные лизосомы,

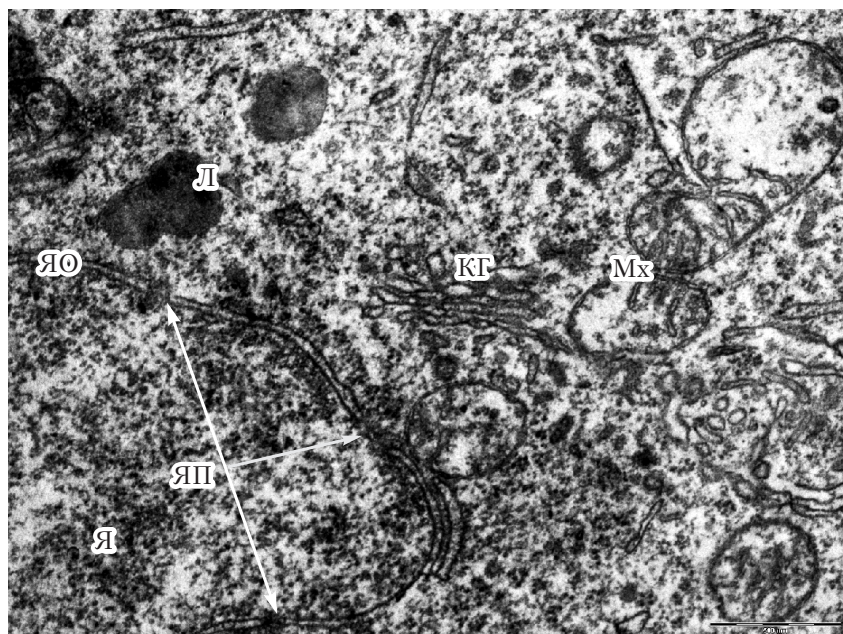


Рис. 14.9. Фрагмент нейрона ядра E2 гипоталамуса крысы через 1 ч после однократного введения алкоголя в дозе 1 г/кг. Ядро (Я), ядерная оболочка (ЯО), ядерные поры (ЯП), набухшие митохондрии (Мх), лизосомы (Л), комплекс Гольджи (КГ). Масштабный отрезок равен 0,5 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 40\,000$

преимущественно средних размеров, с гетерогенным зернистым содержимым, располагающиеся единично или небольшими группами (см. рис. 14.7–14.10).

Результаты электронной морфометрии нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс показали, что через 1 ч после введения малой дозы алкоголя средние размеры, количество и относительная площадь, занимаемая митохондриями, существенно не меняются (табл. 14.6). При этом относительная площадь и количество лизосом имеют тенденцию к возрастанию (табл. 14.7).



Рис. 14.10. Фрагмент нейрона ядра E2 гипоталамуса крысы через 1 ч после однократного введения алкоголя в дозе 1 г/кг. Ядро (Я), ядерная пора (ЯП), субъединицы рибосом (СР) у ядерной оболочки (ЯО), впячивание кариолеммы (ВК), митохондрии (Мх) с редуцированными кристами и просветленным матриксом, лизосомы (Л), хорошо развитый комплекс Гольджи (КГ) подковообразной формы. Масштабный отрезок равен 1 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 25\,000$

Таблица 14.6

Показатели размера, формы и количество митохондрий в цитоплазме гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс после введения алкоголя в дозе 1 г/кг ($Me \pm IQR$)

Параметр	Контроль ($n = 9$)	Опыт ($n = 7$)
Площадь, $\mu\text{м}^2$	$0,09 \pm 0,03$	$0,10 \pm 0,06$
Периметр, $\mu\text{м}$	$1,55 \pm 0,43$	$1,60 \pm 0,33$
Формфактор	$0,66 \pm 0,33$	$0,67 \pm 0,87$
Фактор элонгации	$2,01 \pm 0,65$	$2,07 \pm 0,65$
Относительная площадь, $\mu\text{м}^2/100 \mu\text{м}^2$	$11,98 \pm 5,45$	$12,94 \pm 4,54$
Количество, штук/ $100 \mu\text{м}^2$	$93,43 \pm 59,97$	$86,22 \pm 46,66$

Таблица 14.7

Показатели размера и формы и количество лизосом в цитоплазме гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс после введения алкоголя в дозе 1 г/кг ($Me \pm IQR$)

Параметр	Контроль ($n = 9$)	Опыт ($n = 7$)
Площадь, мкм^2	$0,06 \pm 0,02$	$0,06 \pm 0,06$
Периметр, мкм	$0,97 \pm 0,35$	$0,90 \pm 0,76$
Формфактор	$0,77 \pm 0,11$	$0,73 \pm 0,12$
Фактор элонгации	$1,63 \pm 0,44$	$1,58 \pm 0,43$
Относительная площадь, $\text{мкм}^2/100 \text{ мкм}^2$	$1,15 \pm 0,65$	$1,57 \pm 0,68$
Количество, штук/100 мкм^2	$16,14 \pm 30,04$	$20,77 \pm 25,77$

В цитоплазме отдельных нейронов ядра E2 гипоталамуса отмечено появление образований округлой или овальной формы, не ограниченных мембраной, состоящих из гранулярного осмиофильного материала с несколькими участками просветления, размером 1–2 мкм (рис. 14.11–14.14). Они встречаются у 5–10 % исследованных гистаминергических нейронов и по своим размерам и строению очень напоминают ядрышки, поэтому по аналогии с подобными

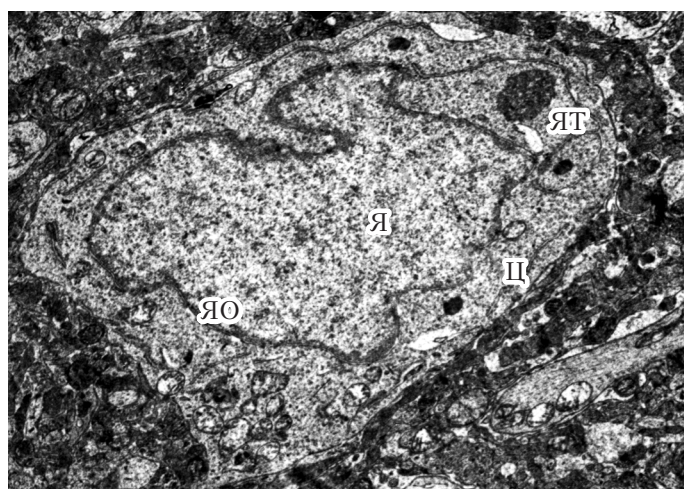


Рис. 14.11. Нейрон ядра E2 гипоталамуса крысы с ядрышкоподобным тельцем в цитоплазме через 1 ч после однократного введения алкоголя в дозе 1 г/кг. Ядро (Я), ядерная оболочка (ЯО), ядрышкоподобное тельце (ЯТ). Масштабный отрезок равен 2 мкм . Электронограмма. Ув. $\times 10\,000$

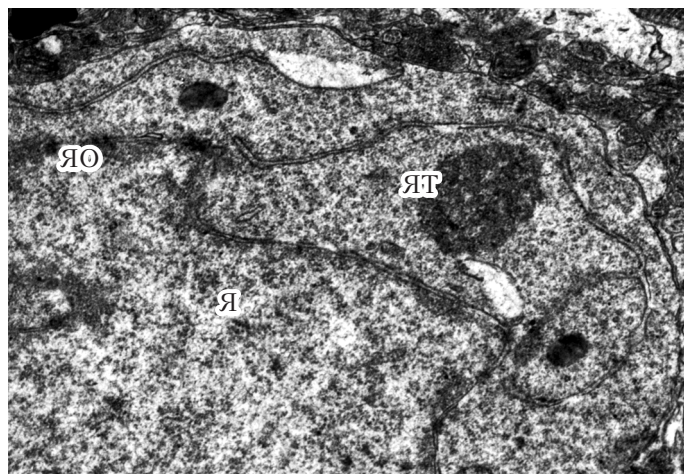


Рис. 14.12. Фрагмент предыдущего нейрона ядра E2 гипоталамуса крысы с ядрышкоподобным тельцем в цитоплазме. Ядро (Я), ядерная оболочка (ЯО), ядрышкоподобное тельце (ЯТ). Масштабный отрезок равен 1 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 20\,000$

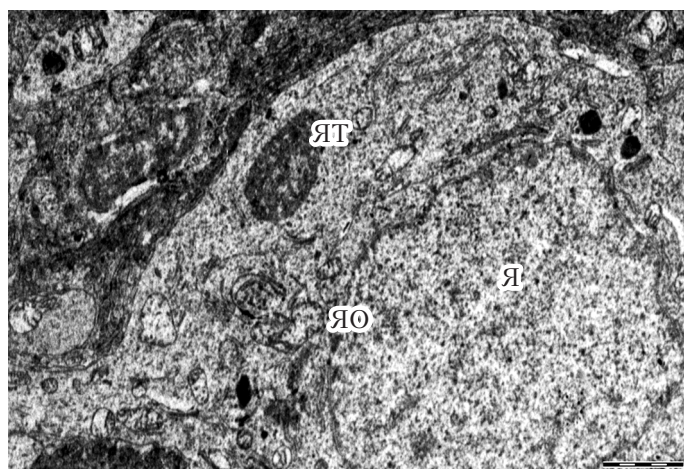


Рис. 14.13. Фрагмент нейрона ядра E2 гипоталамуса крысы с ядрышкоподобным тельцем в цитоплазме через 1 ч после однократного введения алкоголя в дозе 1 г/кг. Ядро (Я), ядерная оболочка (ЯО), ядрышкоподобное тельце (ЯТ). Масштабный отрезок равен 2 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 6000$

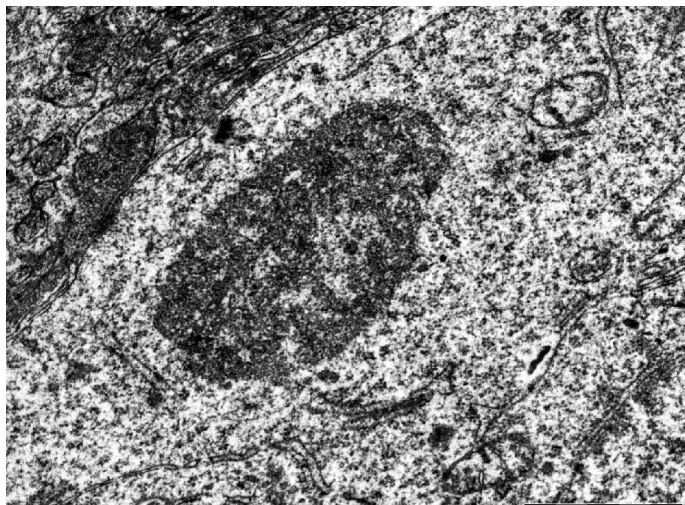


Рис. 14.14. Фрагмент предыдущего нейрона с ядрышкоподобным тельцем в цитоплазме. Масштабный отрезок равен 1 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 30\,000$

структурами, описанными при других экспериментальных воздействиях, мы назвали их *ядрышкоподобными структурами*.

Таким образом, спустя 1 ч после однократного внутрибрюшинного введения крысам этанола в дозе 1 г/кг тела нейронов гистаминергического ядра E2 гипоталамуса уменьшаются и несколько округляются. Ядра таких клеток также немного уменьшаются в размерах, сохраняя свою первоначальную форму. Однократное введение алкоголя в дозе 1 г/кг приводит к перестройке метаболизма гистаминергических нейронов: в их цитоплазме наблюдается снижение активности ЛДГ, увеличение активности МАО Б и НАДФН-ДГ. При этом в цитоплазме гистаминергических нейронов повышается экспрессия белка c-Fos и маркера внутренней мембраны митохондрий АТФ-синтетазы- β . Наблюдаются следующие ультрамикроскопические изменения: перемещение ядрышек к ядерной оболочке, конденсация субъединиц рибосом вблизи внутренней ядерной мембраны, открытие ядерных пор, набухание и деструкция митохондрий, умеренная гиперплазия лизосомального аппарата. Все это может свидетельствовать о повышении функциональной активности гистаминергических нейронов.

Выявленные в цитоплазме отдельных нейронов образования округлой или овальной формы, не ограниченные мембраной, состоящие из гранулярного осмиофильного материала с несколькими участками просветления, размером 1–2 мкм напоминают ядрышки и похожи на «ядрышкоподобные тельца», описанные в нейронах и олигодендроцитах гипоталамической области, на ранних этапах дифференцировки нейросекреторных клеток гипоталамуса, а также у нейронов передней амигдалярной области гонадэктомированных крыс. Появление ядрышкоподобных телец трактуют как результат возникновения затруднений в обеспечении синтеза белка в цитоплазме, которые, вероятно, ликвидируются посредством доставки субъединиц рибосом из ядра в цитоплазму и формирования новых центров их агрегации в нуждающихся отделах клетки.

Биологический смысл этого явления понятен; при остром введении этанола возникает необходимость в быстрой адаптационной перестройке гистаминергических нейронов. Для этого необходим синтез большого количества белков (как ферментных, так и структурных) и, соответственно, быстрое образование большого числа рибосом в цитоплазме. Как известно, источником их образования в клетке являются ядрышки. Но как быстро транспортировать большое количество образовавшихся субъединиц рибосом из ядра в цитоплазму? Это, по-видимому, чаще всего решается путем перемещения ядрышка на периферию ядра, к кариолемме, и быстрым массовым выходом субъединиц рибосом через ядерные поры в цитоплазму. При этом мы наблюдали расширение ядерных пор и разрушение кариолеммы в этих участках. При этом возможно образование в цитоплазме центров агрегации данных субъединиц рибосом с образованием ядрышкоподобных структур в нуждающихся отделах клетки.

Эти цитоплазматические тельца, содержащие субъединицы рибосом, описаны также как «стрессовые гранулы». Они возникают в клетках, в том числе и нейронах, в ответ на стресс и представляют собой скопления неполных инициаторных комплексов, содержащих связанную с белками иРНК, малые субъединицы рибосом. Накоплению компонентов стрессовых гранул в локальных областях цитоплазмы способствуют микротрубочки цитоскелета. Функциональное значение этих гранул остается непонятным. Возможно,

их роль состоит в подавлении трансляции определенных иРНК, препятствующих их быстрой деградации в цитоплазме.

Наблюдаемая вокруг ядрышкоподобного тельца кариолема, возможно, принадлежит на срезе выпячиванию кариолема, куда заходит это ядрышкоподобное тельце (стрессовая гранула). Интересно, что эти структуры наблюдаются при введении малой дозы алкоголя, но не большой, наркотической, угнетающей дозы этанола.

Выявленные ультрамикроскопические изменения свидетельствуют об активации ядерного аппарата (перемещение ядрышек к ядерной оболочке, конденсация субъединиц рибосом вблизи внутренней ядерной мембраны, открытие ядерных пор), деструкции и гипертрофии митохондрий, умеренной гиперплазии лизосомального аппарата, что отражает адаптационные изменения, происходящие в гистаминергических нейронах. Их можно рассматривать как признаки возбуждения этих нейронов под действием малой дозы алкоголя. Тесные контакты митохондрий с канальцами эндоплазматической сети и компонентами комплекса Гольджи, отмеченные через 1 ч после однократного внутрибрюшинного введения алкоголя в дозе 1 г/кг, обычно отмечаются при повышении функциональной активности нейронов.

О повышении функциональной активности гистаминергических нейронов свидетельствует повышение экспрессии белка *c-Fos* в их цитоплазме, а также гиперэкспрессия маркера внутренней мембраны митохондрий АТФ-синтетазы- β .

Следовательно, однократное введение этанола в малой дозе (1 г/кг) не вызывает повреждения гистаминергических нейронов мозга, но в некоторой степени активует их.

Через 1 ч после однократного введения этанола в дозе 4 г/кг все животные находятся в состоянии алкогольного наркоза (сна).

При анализе гистаминергических нейронов по степени хроматофилии цитоплазмы обнаружено достоверное возрастание числа клеток-теней (табл. 14.8).

На препаратах, окрашенных по методу Ниссля, выявляется увеличение минимального диаметра перикарионов нейронов ядра Е2 на 5,8 % и уменьшение их периметра на 3,2 % ($z = -2,06$, $p = 0,039$), при этом площадь и объем исследованных клеток существенно не меняются (рис. 14.15; табл. 14.10). Также отмечается изменение формы перикарионов гистаминергических нейронов: увеличение

Таблица 14.8

Количество (в процентах) разных типов гистаминергических нейронов заднего отдела гипоталамуса крыс по степени хромофилии цитоплазмы через 1 ч после введения алкоголя в дозе 4 г/кг, окраска по методу Ниссля ($Me \pm IQR$)

Тип нейронов	Контроль ($n = 9$)	Опыт ($n = 7$)
Нормохромные нейроны	$87,32 \pm 4,78$	$85,14 \pm 4,01$
Гипохромные нейроны	$6,55 \pm 3,74$	$7,32 \pm 3,97$
Гиперхромные нейроны	$3,63 \pm 2,31$	$2,11 \pm 1,04$
Клетки-тени	$2092,50 \pm 1,21$	$5,43 \pm 1,22^{*\uparrow}$

* — $p < 0,05$ при сравнении с контролем;

\uparrow — статистически значимое увеличение изучаемого параметра.

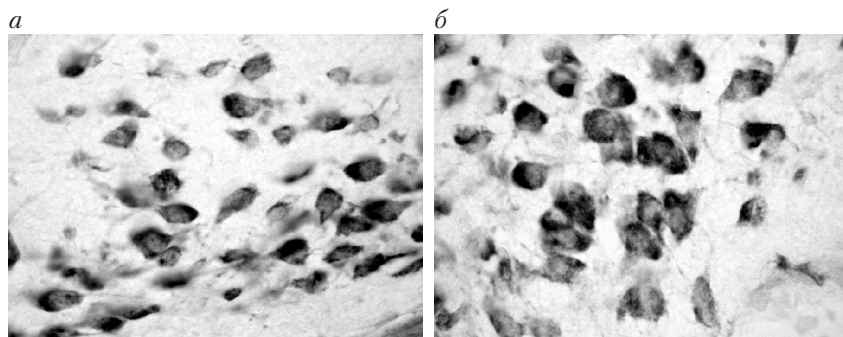


Рис. 14.15. Гистаминергические нейроны ядра E2 гипоталамуса у контрольных крыс (а) и у крыс через 1 ч после однократного внутривенного введения алкоголя в дозе 4 г/кг (б). Окраска по методу Ниссля. Цифровая микрофотография. Ув. $\times 400$

значения формфактора на 6,8 % ($z = 2,17$, $p = 0,030$) и уменьшение фактора элонгации на 4,9 % ($z = -2,28$, $p = 0,023$). То есть эти нейроны под действием наркотической дозы алкоголя становятся более округлыми и сферичными (см. рис. 14.15; табл. 14.9).

Наблюдается увеличение размеров и округление ядер исследованных нейронов: минимальный диаметр ядер становится больше на 5,3 % ($z = 3,02$, $p = 0,003$), периметр уменьшается на 4,1 % ($z = -2,17$, $p = 0,030$), площадь и объем увеличиваются на 6,46 % и 9,5 % соответственно ($z = 2,67$ и $p = 0,007$). Значение формфактора

Таблица 14.9

Показатели размеров и формы перикарионов гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс через 1 ч после введения алкоголя в дозе 4 г/кг, окраска по методу Ниссля ($\text{Me} \pm \text{IQR}$)

Параметр	Контроль ($n = 9$)	Опыт ($n = 7$)
Минимальный диаметр, мкм	$12,72 \pm 1,07$	$13,18 \pm 1,07^* \uparrow$
Максимальный диаметр, мкм	$20,68 \pm 0,53$	$20,47 \pm 1,08$
Периметр, мкм	$63,03 \pm 2,57$	$61,20 \pm 3,35^* \downarrow$
Площадь, мкм ²	$206,42 \pm 25,91$	$213,22 \pm 12,05$
Объем, мкм ³	$2231,69 \pm 419,39$	$2342,71 \pm 200,20$
Формфактор	$0,68 \pm 0,06$	$0,74 \pm 0,05^* \uparrow$
Фактор элонгации	$1,70 \pm 0,07$	$1,58 \pm 0,15^* \downarrow$

* — $p < 0,05$ при сравнении с контролем;

↑ — статистически значимое увеличение изучаемого параметра;

↓ — статистически значимое снижение изучаемого параметра.

в опытных образцах возрастает на 6,6 % ($z = 2,91$, $p = 0,004$), что говорит об увеличении сферичности данных ядер по сравнению с контролем. При этом ядерно-цитоплазматическое отношение гистаминергических нейронов достоверно не изменяется (табл. 14.10).

Таблица 14.10

Показатели размеров и формы ядер гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс через 1 ч после введения алкоголя в дозе 4 г/кг, окраска по методу Ниссля ($\text{Me} \pm \text{IQR}$)

Параметр	Контроль ($n = 9$)	Опыт ($n = 7$)
Минимальный диаметр, мкм	$7,21 \pm 0,42$	$7,58 \pm 0,19^{**} \uparrow$
Максимальный диаметр, мкм	$11,19 \pm 0,39$	$10,63 \pm 0,47$
Периметр, мкм	$31,10 \pm 1,77$	$29,75 \pm 1,82^* \downarrow$
Площадь, мкм ²	$61,40 \pm 4,53$	$63,75 \pm 3,49^{**} \uparrow$
Объем, мкм ³	$362,02 \pm 40,44$	$383,22 \pm 31,74^{**} \uparrow$
Формфактор	$0,80 \pm 0,03$	$0,86 \pm 0,04^{**} \uparrow$
Фактор элонгации	$1,51 \pm 0,06$	$1,41 \pm 0,03$
Ядерно-цитоплазматическое отношение	$0,42 \pm 0,12$	$0,43 \pm 0,07$

* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ при сравнении с контролем;

↑ — статистически значимое увеличение изучаемого параметра;

↓ — статистически значимое снижение изучаемого параметра.

Результаты гистохимического исследования показали, что спустя 1 ч после введения этанола в дозе 4 г/кг активность ЛДГ в опытных образцах на 12,3 % выше, чем в контрольных ($z = 3,33$, $p = 0,001$), активность МАО Б возрастает на 17,1 % ($z = 2,49$, $p = 0,013$) (рис. 14.16), а активность КФ увеличивается на 25,1 % ($z = 2,61$, $p = 0,009$) (рис. 14.17), в то время как показатели активности НАДФН-ДГ и Г-6-Ф-ДГ (рис. 14.18) понижаются на 17,6 %

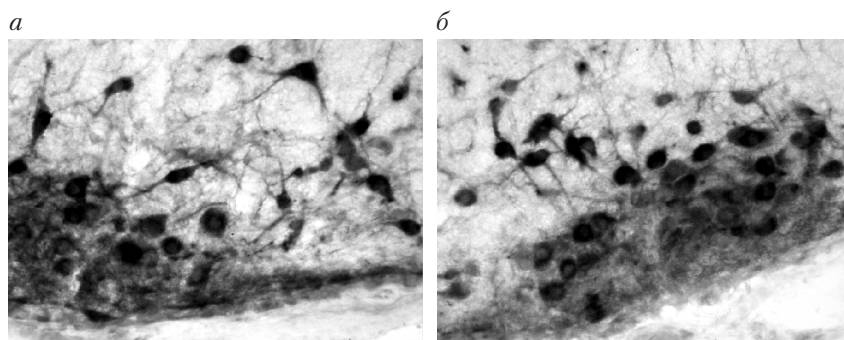


Рис. 14.16. Активность МАО Б в гистаминергических нейронах ядра Е2 гипоталамуса контрольных крыс (*а*) и ее увеличение в цитоплазме нейронов у крыс через 1 ч после однократного введения алкоголя в дозе 4 г/кг (*б*). Окраска по Зиматкину, Цыдику. Цифровая микрофотография. Ув. $\times 200$

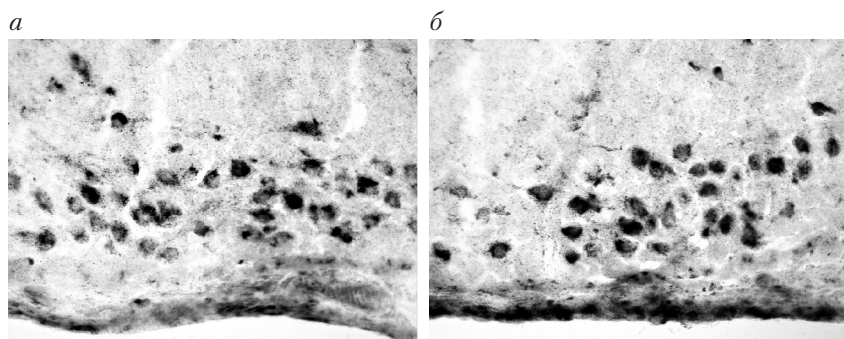


Рис. 14.17. Активность КФ в гистаминергических нейронах ядра Е2 гипоталамуса контрольных крыс (*а*) и ее увеличение в цитоплазме нейронов у крыс через 1 ч после однократного введения алкоголя в дозе 4 г/кг (*б*). Окраска по Гомори. Цифровая микрофотография. Ув. $\times 200$

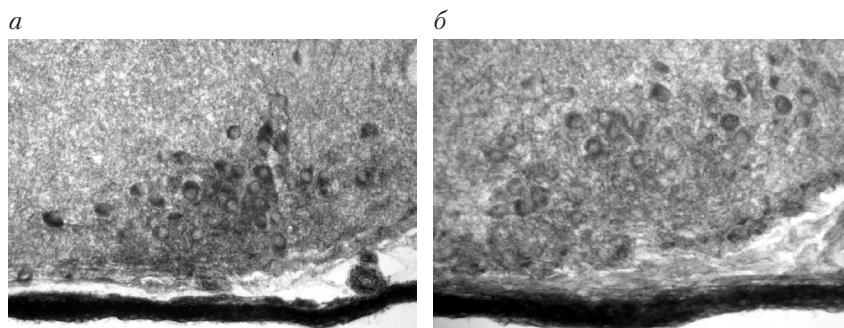


Рис. 14.18. Активность Г-6-Ф-ДГ в гистаминергических нейронах ядра Е2 гипоталамуса контрольных крыс (а) и ее уменьшение в цитоплазме нейронов у крыс через 1 ч после однократного введения алкоголя в дозе 4 г/кг (б). Окраска по Гомори. Цифровая микрофотография. Ув. $\times 200$

($z = -3,22$, $p = 0,001$) и 22,9 % ($z = -3,12$, $p = 0,002$) соответственно. При этом активность НАДН-ДГ и СДГ существенно не меняется (табл. 14.11).

Таблица 14.11

**Активность ферментов (в единицах оптической плотности)
в цитоплазме гистаминергических нейронах ядра Е2 гипоталамуса
крыс через 1 ч после введения алкоголя в дозе 4 г/кг ($Me \pm IQR$)**

Фермент	Контроль ($n = 9$)	Опыт ($n = 7$)
Г-6-Ф-ДГ	$0,313 \pm 0,02$	$0,248 \pm 0,03^{**}\downarrow$
КФ	$0,431 \pm 0,03$	$0,595 \pm 0,01^{**}\uparrow$
ЛДГ	$0,421 \pm 0,02$	$0,484 \pm 0,03^{**}\uparrow$
МАО Б	$0,646 \pm 0,04$	$0,765 \pm 0,05^{**}\uparrow$
НАДН-ДГ	$0,614 \pm 0,02$	$0,631 \pm 0,03$
НАДФН-ДГ	$0,423 \pm 0,01$	$0,351 \pm 0,03^{***}\downarrow$
СДГ	$0,323 \pm 0,01$	$0,319 \pm 0,05$

** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ при сравнении с контролем;

\uparrow — статистически значимое увеличение изучаемого параметра;

\downarrow — статистически значимое снижение изучаемого параметра.

Результаты иммуногистохимического исследования показали, что однократное введение этанола в дозе 4 г/кг через 1 ч значительно усиливает иммунореактивность белка c-Fos в перикарио-

нах одних нейронов гистаминергического ядра E2 гипоталамуса, но ослабляет ее в других. При этом иммунореактивность АТФ-синтетазы- β в перикарионах нейронов существенно не меняется, а в нейропиле даже ослабляется, что хорошо видно на препаратах с двойным мечением с-Fos и АТФ-синтетазой- β , на которых цвет перикарионов нейронов остается зеленым (рис. 14.19).

Результаты электронно-микроскопического исследования гистаминергических нейронов ядра E2 показали, что в их перикарионах через 1 ч после однократного внутрибрюшинного введения этанола в дозе 4 г/кг возникают значительные ультраструктурные изменения.

При этом в ядрах нейронов выявляются ядрышки с хорошо выраженным гранулярным компонентом. Нередко наблюдается

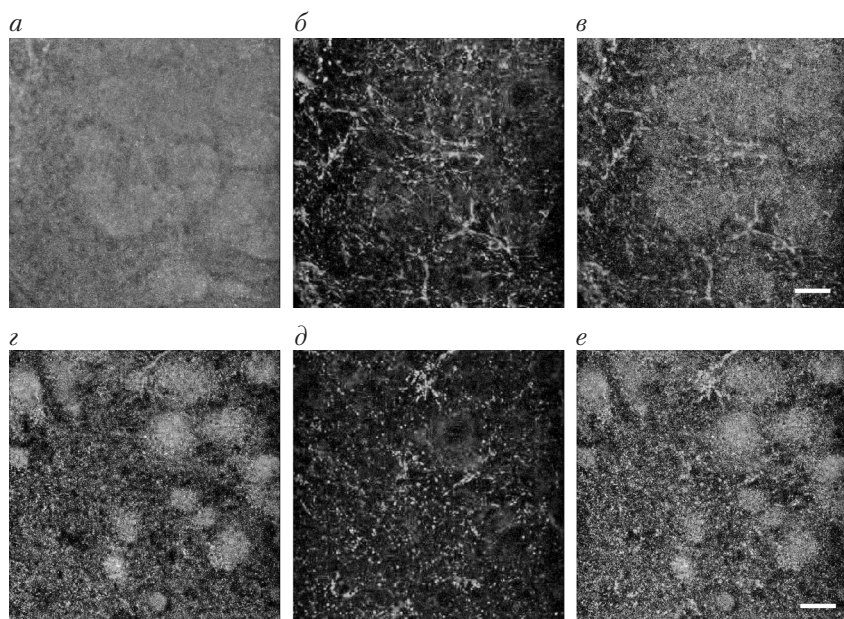


Рис. 14.19. Экспрессия с-Fos и АТФ-синтетазы- β в гистаминергическом ядре E2 гипоталамуса контрольных крыс (а-в) и ее изменение через 1 ч после однократного введения алкоголя в дозе 4 г/кг (г-е):

а, г — экспрессия с-Fos; б, д — экспрессия АТФ-синтетазы- β ; в, е — колокализация с-Fos и АТФ-синтетазы- β . Масштабный отрезок равен 15 мкм. Цифровая микрофотография. Ув. $\times 94,5$

В цитоплазме гистаминергических нейронов возрастает полиморфизм митохондрий. Так, наряду с морфологически нормальными органеллами (см. рис. 14.21) выявляются как митохондрии нерегулярной формы (рис. 14.22) с различной степенью фрагментации и редукции крист (рис. 14.23), резким расширением

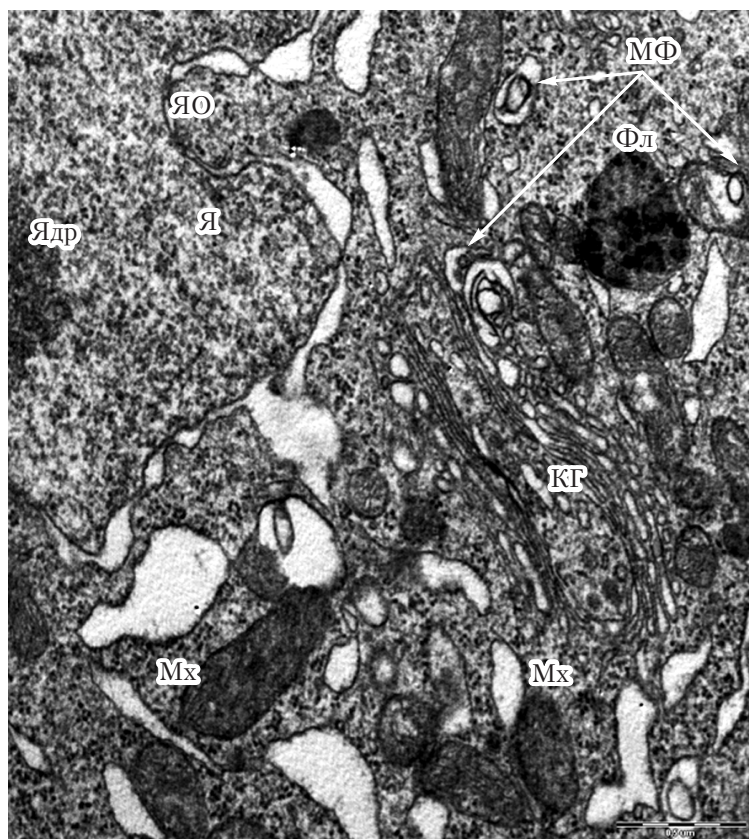


Рис. 14.21. Фрагмент нейрона ядра Е2 гипоталамуса крысы через 1 ч после введения алкоголя в дозе 4 г/кг. Ядро (Я), ядерная оболочка с расширенным перинуклеарным пространством (ЯО), ядрышко (Ядр), комплекс Гольджи (КГ), гипертрофированные митохондрии с плотно упакованными кристами (Мх), фаголизосома (Фл), расширение канальцев ГрЭС, миелоноподобные фигуры (МФ). Масштабный отрезок равен 0,5 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 30\,000$

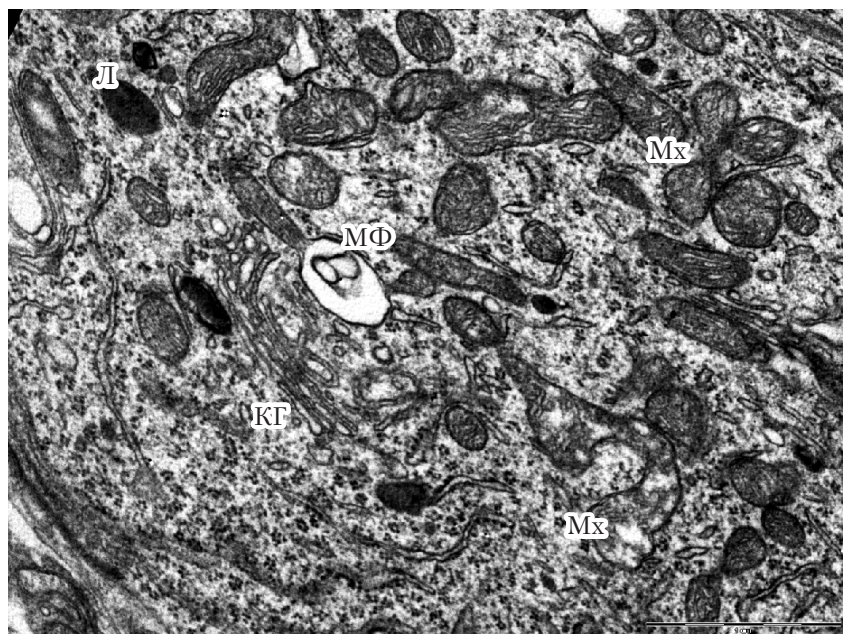


Рис. 14.22. Фрагмент нейрона ядра E2 гипоталамуса крысы через 1 ч после однократного введения алкоголя в дозе 4 г/кг. Скопление гипертрофированных митохондрий (Мх) и свободных рибосом, комплекс Гольджи (КГ), лизосомы (Л), миелиноподобная фигура (МФ). Масштабный отрезок равен 1 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 30\,000$

межкristных промежутков, просветлением матрикса, микро- и макровакуолизацией, так и митохондрии овальной и вытянутой формы с размытым контуром наружной мембраны и крист и частичной гомогенизацией матрикса (рис. 14.24).

Встречаются митохондрии с преимущественно продольно ориентированными кристами (см. рис. 14.24). Нередко отмечается набухание этих органелл (см. рис. 14.20), что сопровождается смещением крист на периферию или почти полным их исчезновением, нарушением целостности наружной мембраны (см. рис. 14.22), а также миелиноподобная дегенерация различной степени выраженности (рис. 14.25–14.27). Это может свидетельствовать об уменьшении образования АТФ в таких органеллах, снижении активности окислительного фосфорилирования.

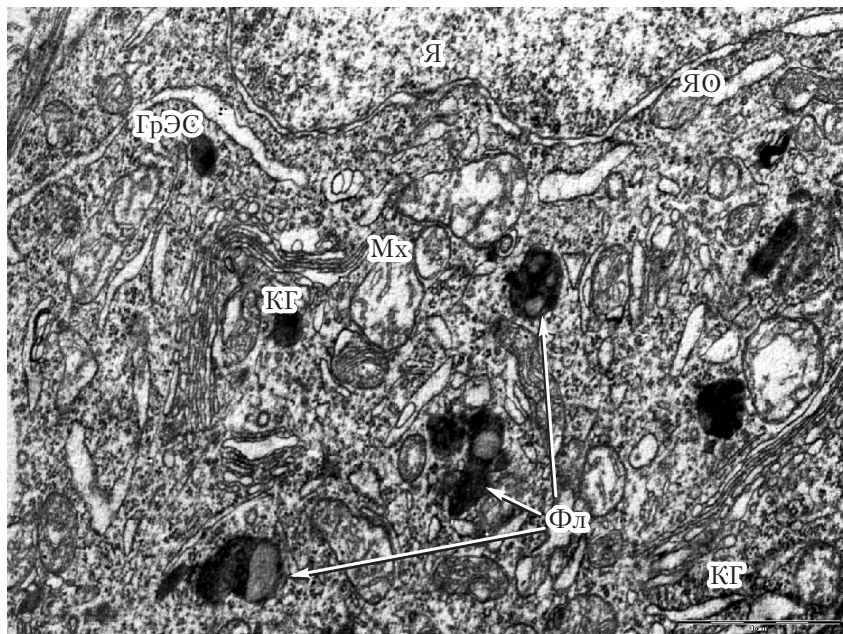


Рис. 14.23. Фрагмент нейрона ядра E2 гипоталамуса крысы через 1 ч после однократного введения этанола в дозе 4 г/кг. Ядро (Я), ядерная оболочка (ЯО), комплекс Гольджи (КГ), гранулярная эндоплазматическая сеть (ГрЭС), митохондрии (Мх), множество лизосом и фаголизосом (Фл). Масштабный отрезок равен 1 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 25\,000$

Отдельные митохондрии увеличиваются до гигантских размеров (рис. 14.28). Их количество возрастает в околоядерной области. Наблюдается их тесный контакт с кариолеммой (рис. 14.29), что свидетельствует об увеличении энергозатрат, связанных с усилением трансляции и ядерно-цитоплазматической транскрипции. Средние размеры митохондрий, их относительная площадь и количество на единицу площади цитоплазмы значительно возрастают (табл. 14.12).

В цитоплазме увеличено число рибосом и полисом, имеющих вид розеток и свободно расположенных в цитоплазме (см. рис. 14.24). Это указывает на повышение синтетической активности, направленной на биосинтез белка для собственных нужд клетки. Имеет место частичная дегрануляция и расширение

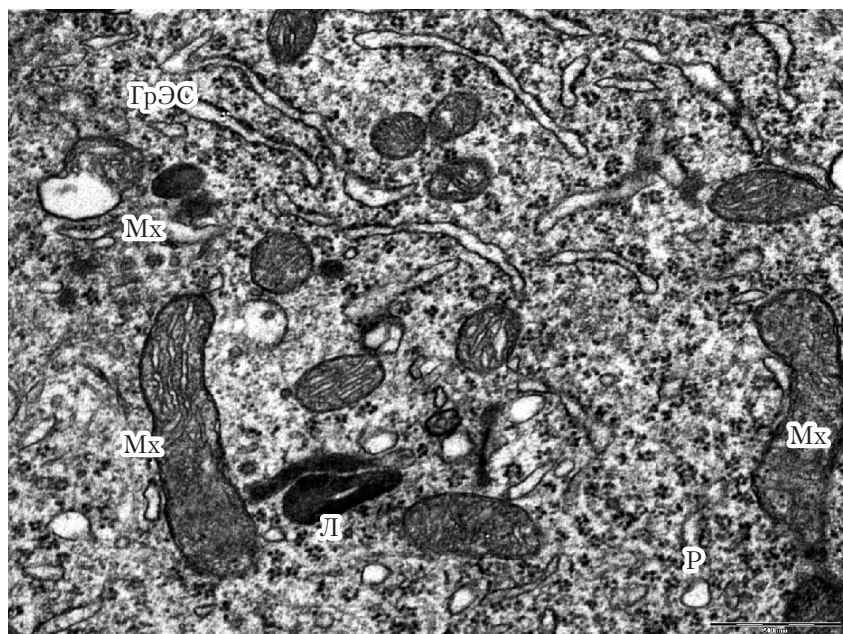


Рис. 14.24. Фрагмент нейрона ядра E2 гипоталамуса крысы через 1 ч после однократного введения этанола в дозе 4 г/кг. Гипертрофированные митохондрии (Мх), лизосомы (Л), рибосомы (Р), гранулярная эндоплазматическая сеть (ГрЭС), множество свободных рибосом (Р). Масштабный отрезок равен 0,5 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 40\,000$

Таблица 14.12

Показатели размера, формы и количество митохондрий в цитоплазме гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс через 1 ч после введения алкоголя в дозе 4 г/кг ($Me \pm IQR$)

Параметр	Контроль ($n = 9$)	Опыт ($n = 7$)
Площадь, $\mu\text{м}^2$	$0,09 \pm 0,03$	$0,14 \pm 0,06^{***}\uparrow$
Периметр, мкм	$1,55 \pm 0,43$	$1,51 \pm 0,32$
Формфактор	$0,66 \pm 0,33$	$0,71 \pm 0,94$
Фактор элонгации	$2,01 \pm 0,65$	$2,06 \pm 0,99$
Относительная площадь, $\mu\text{м}^2/100 \mu\text{м}^2$	$11,98 \pm 5,45$	$14,24 \pm 6,89^*\uparrow$
Количество, штук/100 $\mu\text{м}^2$	$93,43 \pm 59,97$	$149,00 \pm 53,41^{***}\uparrow$

* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ при сравнении с контролем;

↑ — статистически значимое увеличение изучаемого параметра.

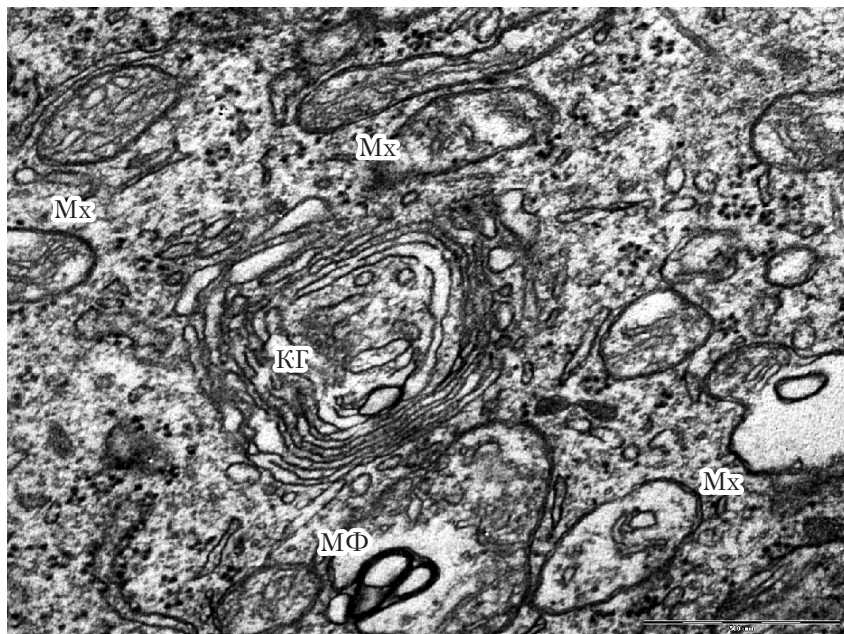


Рис. 14.25. Фрагмент цитоплазмы нейрона ядра E2 гипоталамуса крысы через 1 ч после однократного введения алкоголя в дозе 4 г/кг. Кольцевидный комплекс Гольджи (КТ), митохондрии с различной степенью деструкции (Мх), миелоноподобная фигура (МФ). Масштабный отрезок равен 0,5 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 60\,000$

канальцев ГрЭС (см. рис. 14.21, 14.30). При этом каналцы, как правило, хорошо развиты и располагаются в цитоплазме клетки как упорядоченно, так и хаотично (см. рис. 14.30). Нередко встречается их фрагментация с образованием везикул различного диаметра (см. рис. 14.24), что является типичным проявлением реакции клетки в ответ на токсическое воздействие.

Отмечена гипертрофия комплекса Гольджи. При этом нередко наблюдается концентрическое расположение его цистерн, которые в ряде случаев почти замыкаются в кольцо (см. рис. 14.25, 14.31). В отдельных нейронах мембраны пластинчатого комплекса местами утрачивают четкость очертаний, что может являться признаком их лизиса. На основе компонентов пластинчатого комплекса и эндоплазматической сети в нейронах формируются миелопо-

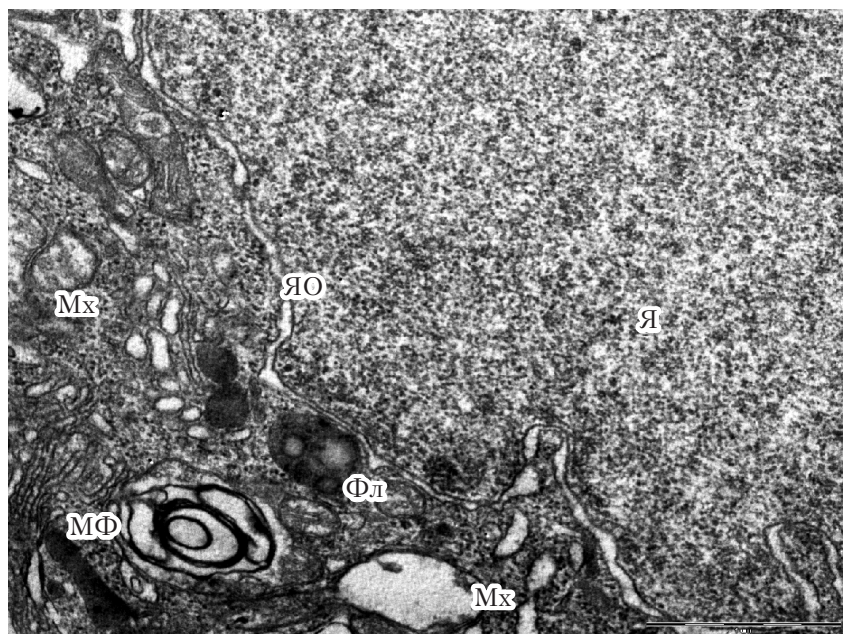


Рис. 14.26. Фрагмент нейрона ядра E2 гипоталамуса крысы через 1 ч после однократного введения этанола в дозе 4 г/кг. Ядро (Я), ядерная оболочка (ЯО), лизосомы (Л), фаголизосома (ФЛ), митохондрии (Мх), миелоноподобная фигура (МФ). Масштабный отрезок равен 1 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 30\,000$

добные фигуры (см. рис. 14.21, 14.22, 14.25–14.28), служащие общим признаком изнашивания мембранных структур и свидетельствующие о развитии деструктивных процессов.

Значительно увеличивается число и относительная площадь лизосом в цитоплазме гистаминергических нейронов. При этом выявляются как довольно крупные вторичные лизосомы и фаголизосомы (см. рис. 14.23, 14.27), так и многочисленные мелкие первичные лизосомы (гидролазные пузырьки). Поэтому средний абсолютный размер лизосом не возрастает, хотя их общая относительная площадь в цитоплазме гистаминергических нейронов увеличивается более чем в два раза (табл. 14.13).

Таким образом, спустя 1 ч после однократного внутрибрюшинного введения крысам этанола в дозе 4 г/кг среди гистаминер-

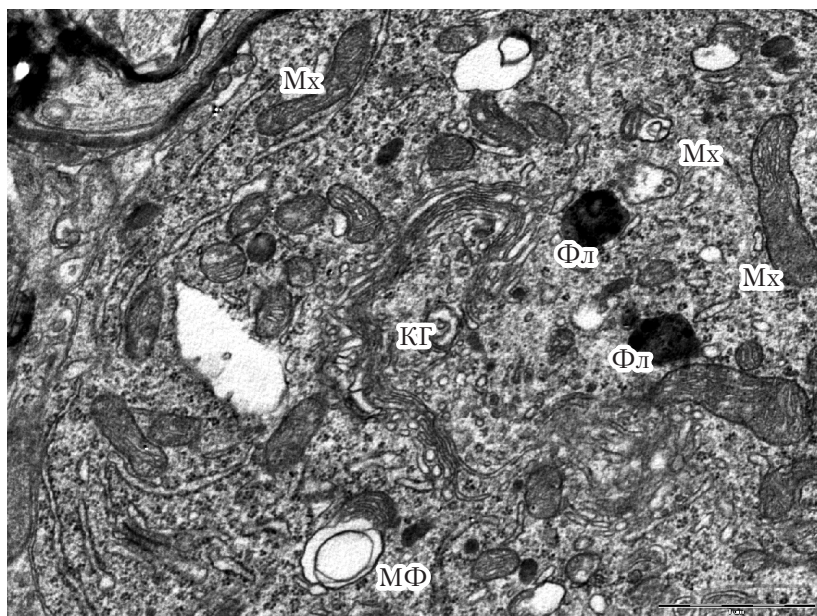


Рис. 14.27. Фрагмент нейрона ядра E2 гипоталамуса крысы через 1 ч после однократного введения этанола в дозе 4 г/кг. Хорошо развитый комплекс Гольджи (КГ), митохондрии (Мх), миелоноподобная фигура (МФ), фаголизосомы (ФЛ). Масштабный отрезок равен 1 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 25\,000$

Таблица 14.13

Показатели размера и формы и количество лизосом в цитоплазме гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс через 1 ч после введения алкоголя в дозе 4 г/кг ($Me \pm IQR$)

Параметр	Контроль ($n = 9$)	Опыт ($n = 7$)
Площадь, мкм^2	$0,06 \pm 0,02$	$0,06 \pm 0,04$
Периметр, мкм	$0,97 \pm 0,35$	$1,02 \pm 0,28$
Формфактор	$0,77 \pm 0,11$	$0,75 \pm 0,10$
Фактор элонгации	$1,63 \pm 0,44$	$1,51 \pm 0,45$
Относительная площадь, $\text{мкм}^2/100 \text{ мкм}^2$	$1,15 \pm 0,65$	$2,46 \pm 2,67^*\uparrow$
Количество, штук/100 мкм^2	$16,14 \pm 30,04$	$29,84 \pm 22,32^*\uparrow$

* — $p < 0,05$ при сравнении с контролем;

\uparrow — статистически значимое увеличение изучаемого параметра.

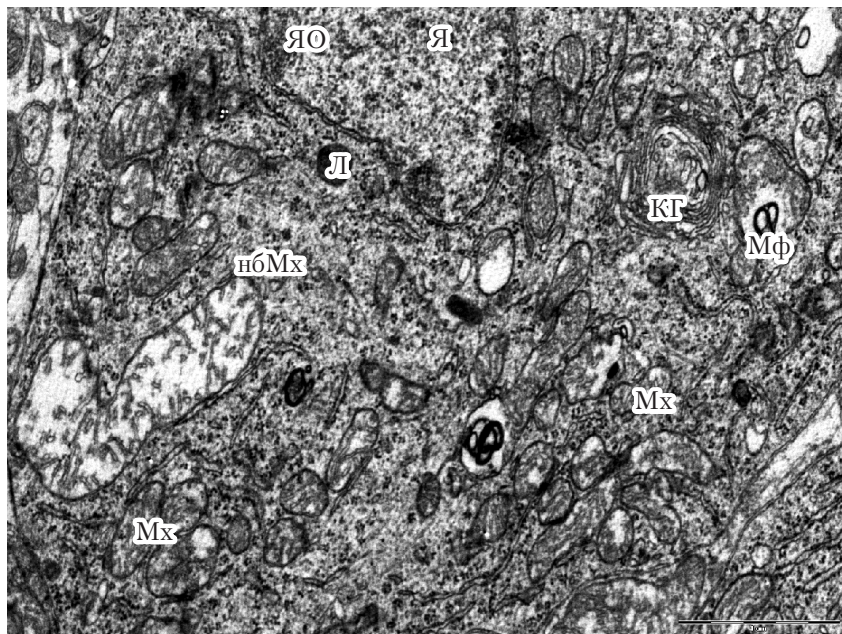


Рис. 14.28. Фрагмент нейрона ядра E2 гипоталамуса крысы через 1 ч после однократного введения этанола в дозе 4 г/кг. Ядро (Я), ядерная оболочка (ЯО), лизосома (Л), комплекс Гольджи почти замыкается в кольцо (КГ), митохондрии (Мх), набухшая, гигантских размеров митохондрия (нбМх).

Масштабный отрезок равен 1 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 25\,000$

гических нейронов вдвое возрастает число клеток-теней, а перикарионы нейронов становятся более округлыми и сферическими. Возможно, это связано с изменениями водно-солевого обмена и цитоскелета нейронов. Ядра этих нейронов увеличиваются в размерах и становятся более сферичными. При этом перестраивается метаболизм гистаминергических нейронов таким образом, что в их цитоплазме снижается активность таких ферментов, как НАДФН-ДГ и Г-6-Ф-ДГ, и возрастает активность ЛДГ, КФ и МАО Б. Снижение активности в них НАДФН-ДГ и Г-6-Ф-ДГ указывает на торможение пентозофосфатного пути и внемитохондриальных энергетических процессов. При этом активация ЛДГ свидетельствует об усилении поздних этапов гликолиза, протекающих в анаэробных условиях и необходимых для компенсаторного поддержания жиз-

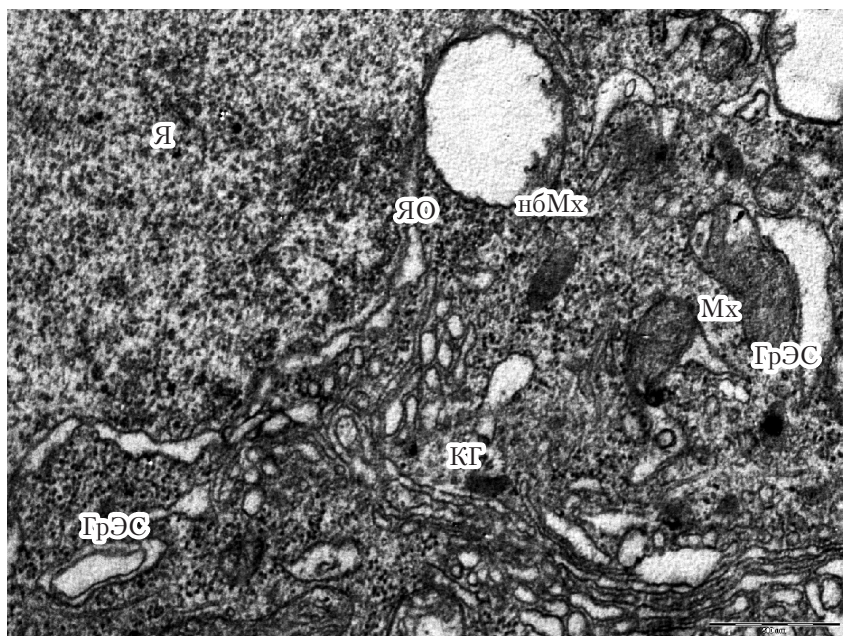


Рис. 14.29. Фрагмент нейрона ядра E2 гипоталамуса крысы через 1 ч после однократного введения этанола в дозе 4 г/кг. Ядро (Я), ядерная оболочка (ЯО), комплекс Гольджи (КГ), гранулярная эндоплазматическая сеть (ГрЭС), митохондрии (Мх), набухшая митохондрия (нбМх). Масштабный отрезок равен 0,5 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 40\,000$

недеятельности нейронов. Увеличение активности в них ключевого фермента метаболизма гистамина, МАО Б, свидетельствует об усилении окислительного дезаминирования гистамина и напряженном функционировании этих нейронов. Выявленное усиление экспрессии белка *c-Fos* в одних гистаминергических нейронах и ослабление ее в других свидетельствует об усилении функциональной активности одних нейронов и ослаблении ее в других.

При этом значительно меняется и ультраструктура этих нейронов: наблюдаются признаки активации ядерного аппарата (перемещение ядрышек к ядерной оболочке, расширение перинуклеарного пространства, возрастание складчатости кариолеммы, конденсация субъединиц рибосом вблизи внутренней ядерной мембраны). В цитоплазме гистаминергических нейронов возрастает полимор-

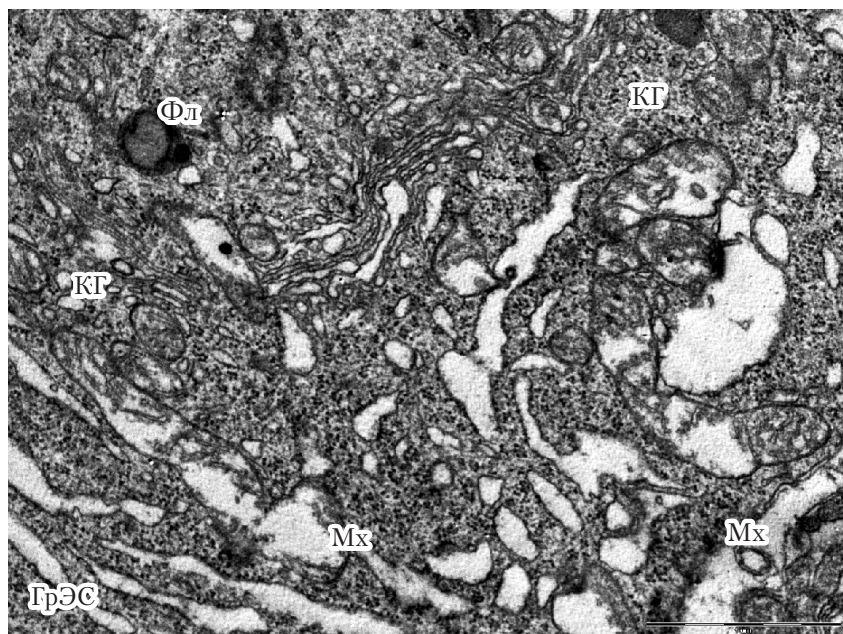


Рис. 14.30. Фрагмент цитоплазмы нейрона ядра E2 гипоталамуса крысы через 1 ч после однократного введения этанола в дозе 4 г/кг. Комплекс Гольджи (КТ), расширение цистерн гранулярной эндоплазматической сети (ГрЭС), набухшие митохондрии (Мх), фаголизосома (Фл). Масштабный отрезок равен 1 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 30\,000$

физм митохондрий: наряду с морфологически нормальными оргanelлами выявляются набухшие митохондрии с различной степенью редукции крист, резким расширением межкристных промежутков и просветленным митохондриальным матриксом, а также крупные митохондрии с большим количеством крист и электроноплотным матриксом. Средние размеры митохондрий, их общая относительная площадь и количество на единицу площади цитоплазмы значительно увеличиваются. Это свидетельствует о напряженном функционировании энергетического аппарата нейронов в условиях острой алкогольной интоксикации, сопровождающейся повреждением значительной части митохондрий и их крист. Соответственно, экспрессия маркера внутренней мембраны митохондрий, АТФ-синтазы- β , в перикарионах гистаминергических нейронов с гипер-

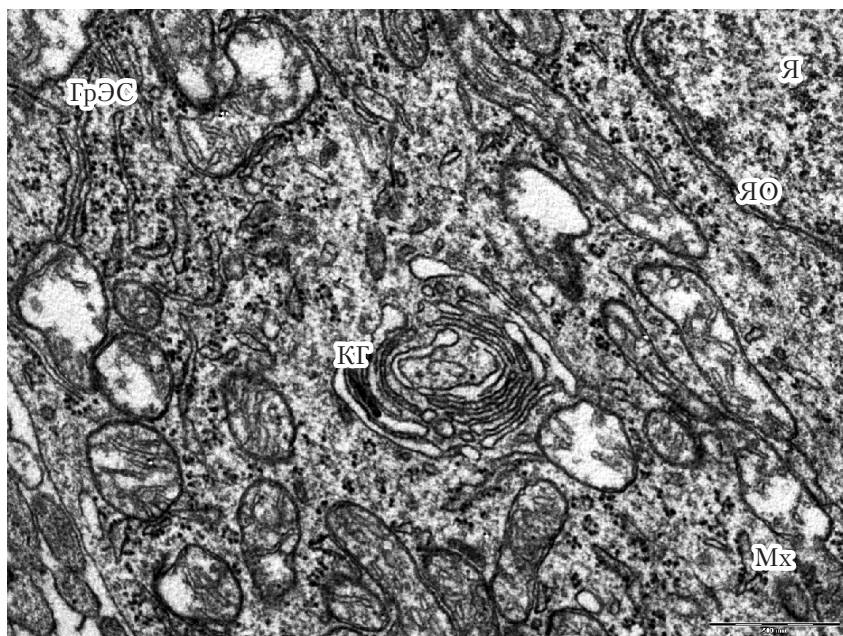


Рис. 14.31. Фрагмент нейрона ядра E2 гипоталамуса крысы через 1 ч после однократного введения этанола в дозе 4 г/кг. Ядро (Я), ядерная оболочка (ЯО), комплекс Гольджи (КГ) замыкается в кольцо, гранулярная эндоплазматическая сеть (ГрЭС), набухшие митохондрии (Мх). Масштабный отрезок равен 0,5 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 40\,000$

экспрессией *c-Fos* существенно не меняется. Интересно, что и средняя активность маркерного фермента митохондрий, НАДН-ДГ, в цитоплазме гистаминергических нейронов при этом воздействии не изменяется.

Отмечена умеренная гипертрофия комплекса Гольджи, расширение канальцев эндоплазматической сети, сопровождающееся их фрагментацией с образованием везикул различного диаметра. В цитоплазме увеличено количество рибосом и полисом. Значительно увеличивается число и общая относительная площадь лизосом (на единицу площади цитоплазмы гистаминергических нейронов). При этом выявляются как огромные фаголизосомы, так и многочисленные мелкие первичные лизосомы (гидролазные пузырьки). Поэтому средний размер лизосом не возрастает. Это

сопровождается значительным увеличением активности в цитоплазме нейронов маркерного фермента лизосом, кислой фосфатазы, и свидетельствует о резком усилении процесса аутофагии. Последнее необходимо для своевременного удаления поврежденных в результате усиленного функционирования и изнашивания органелл. Действительно, алкоголь в большой наркотической дозе вызывает повреждение и нарушение организации митохондрий (набухание, исчезновение крист), ГрЭС (расширение и фрагментация ее каналов и цистерн), комплекса Гольджи (расширение его цистерн, образование кольцевидных структур). При разрушении всех этих мембранных органелл, особенно митохондрий, во многих нейронах образуются миелоноподобные фигуры.

Глава 15

СТРУКТУРНЫЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ГИСТАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНАХ ГИПОТАЛАМУСА КРЫС ЧЕРЕЗ 6 ЧАСОВ ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО ВВЕДЕНИЯ АЛКОГОЛЯ

15.1. Гистаминергические нейроны через 6 часов после однократного введения алкоголя в дозе 4 г/кг

Спустя 6 ч после однократного внутрибрюшинного введения 20% раствора этанола в дозе 4 г/кг все животные уже бодрствуют, у них полностью восстановился рефлекс переворачивания. При этом в гистаминергических нейронах ядра E2 сохраняются умеренные гистологические изменения. Число клеток-теней среди них остается повышенным (табл. 15.1).

Таблица 15.1

**Количество разных типов (по степени хроматофилии цитоплазмы)
гистаминергических нейронов гипоталамуса крыс через 6 ч после
введения алкоголя в дозе 4 г/кг, окраска по методу Ниссля
(Me \pm IQR)**

Тип нейронов	Контроль ($n = 9$)	Опыт ($n = 7$)
Нормохромные нейроны	87,32 \pm 4,78	88,07 \pm 3,30
Гипохромные нейроны	6,55 \pm 3,74	5,32 \pm 4,01
Гиперхромные нейроны	3,63 \pm 2,31	2,45 \pm 1,02
Клетки-тени	2,50 \pm 1,21	4,16 \pm 1,43* \uparrow

* — $p < 0,05$ при сравнении с контролем;

\uparrow — статистически значимое увеличение изучаемого параметра.

При морфометрической оценке размеров и формы гистаминергических нейронов гипоталамуса установлено, что минимальный

диаметр их перикарионов на препаратах, окрашенных по методу Ниссля, уже не отличается от контроля, периметр перикарионов становится меньше контроля на 8,1 % ($z = -3,46$, $p = 0,001$), а форм-фактор — больше на 10,4 % ($z = 2,98$, $p = 0,003$) (табл. 15.2). Это свидетельствует о сохранении повышенной сферичности перикарионов этих нейронов.

Таблица 15.2

Показатели размеров и формы перикарионов гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс через 6 ч после введения алкоголя в дозе 4 г/кг, окраска по методу Ниссля ($\text{Me} \pm \text{IQR}$)

Параметр	Контроль ($n = 9$)	Опыт ($n = 8$)
Минимальный диаметр, мкм	$12,72 \pm 1,07$	$12,49 \pm 0,81$
Максимальный диаметр, мкм	$20,68 \pm 0,53$	$20,58 \pm 0,45$
Периметр, мкм	$63,03 \pm 2,57$	$57,70 \pm 4,44^{***\downarrow}$
Площадь, мкм ²	$206,42 \pm 25,91$	$206,91 \pm 14,99$
Объем, мкм ³	$2231,69 \pm 419,39$	$2241,25 \pm 242,16$
Формфактор	$0,68 \pm 0,06$	$0,76 \pm 0,03^{**\uparrow}$
Фактор элонгации	$1,70 \pm 0,07$	$1,61 \pm 0,15$

** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ при сравнении с контролем;

↑ — статистически значимое увеличение изучаемого параметра;

↓ — статистически значимое снижение изучаемого параметра.

При этом в гистаминергических нейронах происходит уменьшение максимального диаметра ядер нейронов на 7,1 % ($z = -2,50$, $p = 0,012$) и их фактора элонгации на 9,1 % ($z = -3,08$, $p = 0,002$) (табл. 15.3). Это указывает на их более округлую форму по сравнению с контролем.

Таблица 15.3

Показатели размеров и формы ядер гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс через 6 ч после введения алкоголя в дозе 4 г/кг, окраска по методу Ниссля ($\text{Me} \pm \text{IQR}$)

Параметр	Контроль ($n = 9$)	Опыт ($n = 8$)
Минимальный диаметр, мкм	$7,21 \pm 0,42$	$7,30 \pm 0,76$
Максимальный диаметр, мкм	$11,19 \pm 0,39$	$10,35 \pm 0,70^{*\downarrow}$

Окончание табл. 15.3

Параметр	Контроль ($n = 9$)	Опыт ($n = 8$)
Периметр, мкм	$31,10 \pm 1,77$	$29,58 \pm 1,51$
Площадь, мкм ²	$61,40 \pm 4,53$	$56,34 \pm 5,87$
Объем, мкм ³	$362,02 \pm 40,44$	$318,39 \pm 50,77$
Формфактор	$0,80 \pm 0,03$	$0,84 \pm 0,04$
Фактор элонгации	$1,51 \pm 0,06$	$1,39 \pm 0,16^* \downarrow$
Ядерно-цитоплазматическое отношение	$0,42 \pm 0,12$	$0,39 \pm 0,06$

* — $p < 0,05$ при сравнении с контролем;

↓ — статистически значимое снижение изучаемого параметра.

Результаты гистохимического исследования показали, что через 6 ч после введения алкоголя активность всех исследованных ферментов в цитоплазме гистаминергических нейронов увеличивается: МАО Б — на 9,4 % ($z = 3,46, p = 0,001$), НАДН-ДГ — на 6,9 % ($z = 2,43, p = 0,015$) (рис. 15.1), НАДФН-ДГ — на 7,0 % ($z = 3,18, p = 0,001$), СДГ — на 13,8 % ($z = 3,18, p = 0,001$) (рис. 15.2), Г-6-Ф-ДГ — на 13,7 % ($z = 3,12, p = 0,002$), ЛДГ — на 8,9 % ($z = 2,89, p = 0,004$) (рис. 15.3) и КФ — на 12,0 % ($z = 2,40, p = 0,016$) (табл. 15.4).

Результаты иммуногистохимического исследования показали, что через 6 ч после однократного введения этанола в дозе 4 г/кг

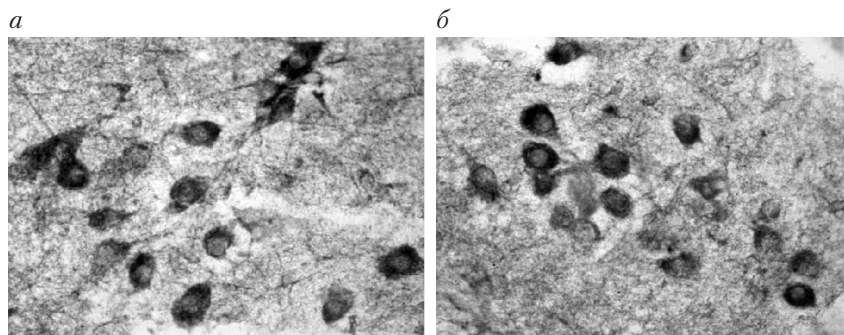


Рис. 15.1. Активность НАДН-ДГ в гистаминергических нейронах ядра Е2 гипоталамуса контрольных крыс (а) и ее увеличение через 6 ч после однократного введения алкоголя в дозе 4 г/кг (б). Окраска по Нахласу, Уокеру, Зелигману. Цифровая микрофотография. Ув. $\times 400$

иммунореактивность белка с-Fos в перикарионах большинства нейронов ядра E2 гипоталамуса повышена. При этом иммунофлуоресценция АТФ-синтетазы- β в перикарионах нейронов и нейропиле ядра E2 гипоталамуса значительно снижена. Это хорошо заметно на препаратах с двойным мечением, на которых с-Fos-позитивные перикарионы нейронов имеют чисто зеленый цвет (рис. 15.4).

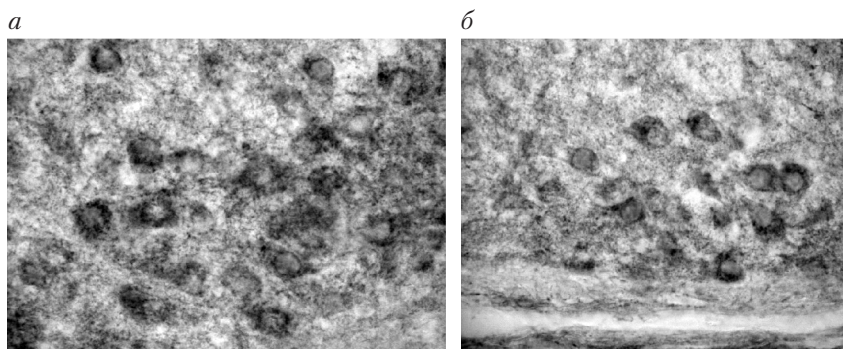


Рис. 15.2. Активность СДГ в гистаминергических нейронах ядра E2 гипоталамуса контрольных крыс (а) и ее увеличение через 6 ч после однократного введения алкоголя в дозе 4 г/кг (б). Окраска по Нахласу др. Цифровая микрофотография. Ув. $\times 400$

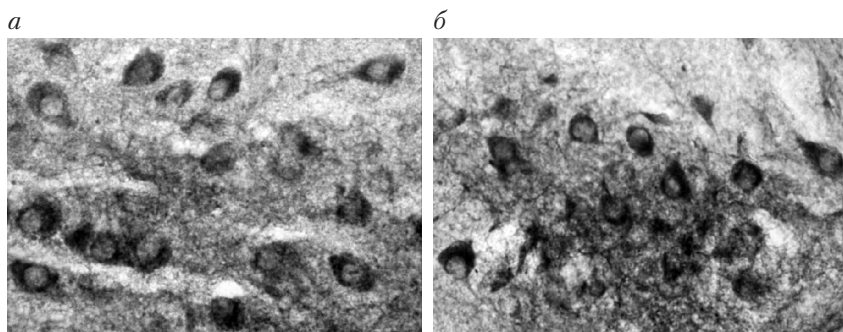


Рис. 15.3. Активность ЛДГ в гистаминергических нейронах ядра E2 гипоталамуса контрольных крыс (а) и ее увеличение через 6 ч после однократного введения алкоголя в дозе 4 г/кг (б). Окраска по Гесс, Скарпелли, Пирсу. Цифровая микрофотография. Ув. $\times 400$

Таблица 15.4

Активность ферментов (в единицах оптической плотности) в цитоплазме гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс после введения алкоголя в дозе 4 г/кг, декапитация через 6 ч ($Me \pm IQR$)

Фермент	Контроль ($n = 9$)	Опыт ($n = 8$)
Г-6-Ф-ДГ	$0,305 \pm 0,02$	$0,347 \pm 0,06^{**} \uparrow$
КФ	$0,434 \pm 0,03$	$0,493 \pm 0,02^{*} \uparrow$
ЛДГ	$0,422 \pm 0,02$	$0,455 \pm 0,03^{**} \uparrow$
МАО Б	$0,643 \pm 0,04$	$0,687 \pm 0,01^{***} \uparrow$
НАДН-ДГ	$0,609 \pm 0,02$	$0,667 \pm 0,03^{*} \uparrow$
НАДФН-ДГ	$0,417 \pm 0,01$	$0,444 \pm 0,02^{**} \uparrow$
СДГ	$0,317 \pm 0,01$	$0,378 \pm 0,04^{**} \uparrow$

* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ при сравнении с контролем;

\uparrow — статистически значимое увеличение изучаемого параметра.

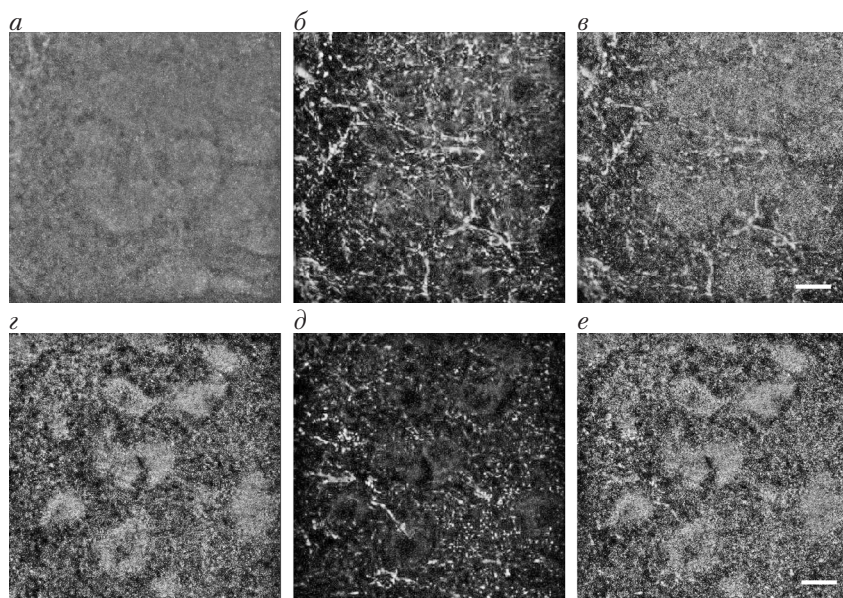


Рис. 15.4. Экспрессия белка *c-Fos* и АТФ-синтетазы- β в гистаминергическом ядре E2 гипоталамуса контрольных крыс (а–в) и ее изменение через 6 ч после однократного введения алкоголя в дозе 4 г/кг (г–е):

а, г — экспрессия *c-Fos*; б, д — экспрессия АТФ-синтетазы- β ; в, е — колокализация *c-Fos* и АТФ-синтетазы- β . Масштабный отрезок равен 15 мкм. Цифровая микрофотография. Ув. $\times 94,5$

Результаты электронно-микроскопического исследования показали, что через 6 ч после введения наркотической дозы алкоголя в гистаминергических нейронах сохраняются существенные ультраструктурные изменения. Наблюдается повышенная складчатость кариолеммы, увеличение числа и расширение ядерных пор и перинуклеарного пространства. Хроматин мелкозернистый, ядрышки небольших размеров, с преимущественно гранулярным компонентом, расположены в центре ядра или эксцентрично (рис. 15.5).

Отмечена гипертрофия эндоплазматической сети, со значительным расширением ее цистерн (рис. 15.5–15.7). В цитоплазме выявляются многочисленные рибосомы в виде полисом. Наряду с морфологически нормальными часто встречаются крупные, удлинненные митохондрии (см. рис. 15.5, 15.6, 15.8, 15.9), с уплотненным матриксом, контактирующие с ядром, комплексом Гольджи или эндоплазматической сетью. Лишь единичные митохондрии характеризуются набуханием с частичной редукцией крист и просветлением матрикса.

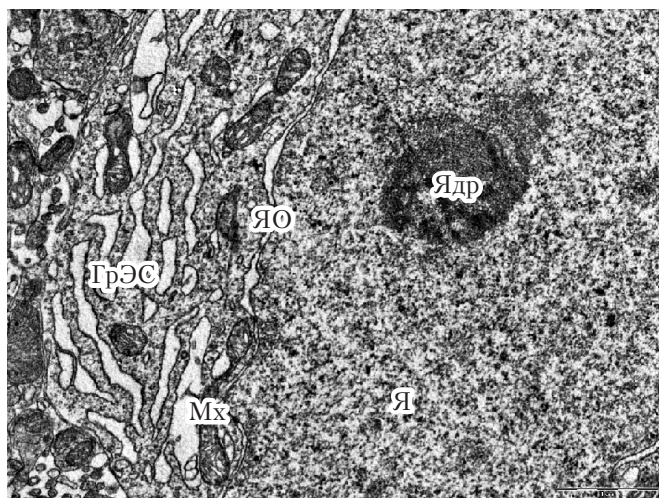


Рис. 15.5. Фрагмент нейрона ядра E2 гипоталамуса крысы через 6 ч после однократного введения алкоголя в дозе 4 г/кг. Ядро (Я), ядерная оболочка (ЯО), ядрышко (Ядр), мегамитохондрия (Мх), расширение канальцев гранулярной эндоплазматической сети (ГрЭС). Масштабный отрезок равен 1 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 20\,000$

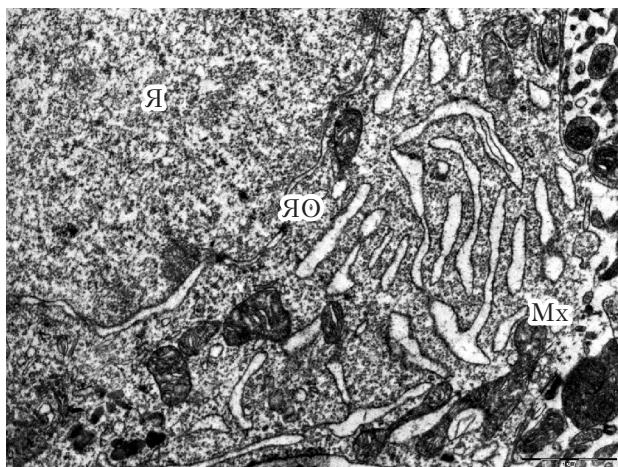


Рис. 15.6. Фрагмент нейрона ядра E2 гипоталамуса крысы через 6 ч после однократного введения алкоголя в дозе 4 г/кг. Ядро (Я), ядерная оболочка (ЯО), крупная митохондрия неправильной формы (Мх). Масштабный отрезок равен 1 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 20\,000$

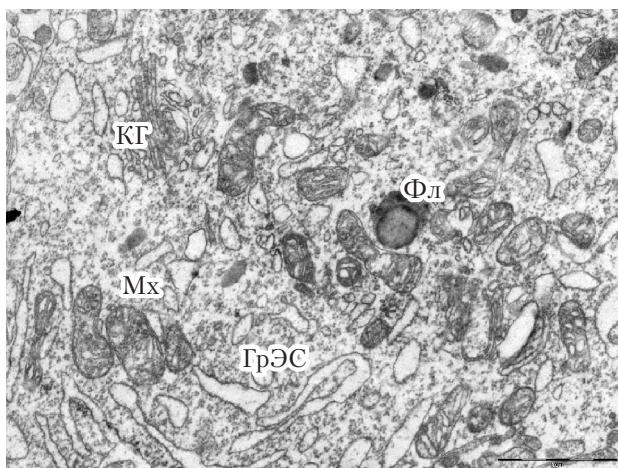


Рис. 15.7. Цитоплазма нейрона ядра E2 через 6 ч после однократного введения алкоголя в дозе 4 г/кг. Комплекс Гольджи (КГ), митохондрии (Мх), фаголизосома (Фл), гранулярная эндоплазматическая сеть (ГрЭС). Электронограмма. Масштабный отрезок равен 1 мкм. Ув. $\times 25\,000$

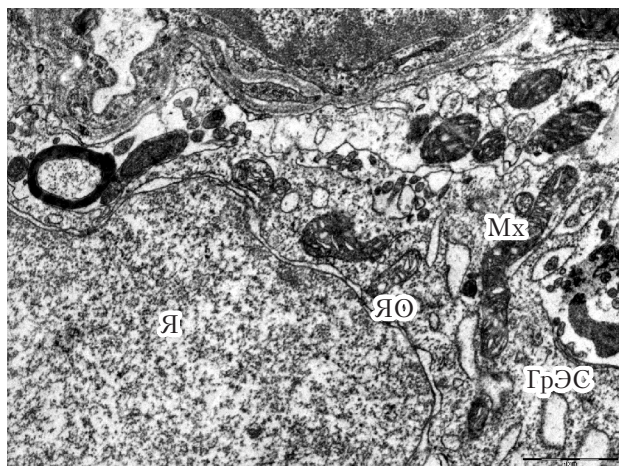


Рис. 15.8. Фрагмент нейрона ядра E2 гипоталамуса крысы через 6 ч после однократного введения алкоголя в дозе 4 г/кг. Ядро (Я), ядерная оболочка (ЯО), мегамитохондрия (Мх), расширение канальцев гранулярной эндоплазматической сети (ГрЭС). Электронограмма. Масштабный отрезок равен 1 мкм. Ув. $\times 20\,000$

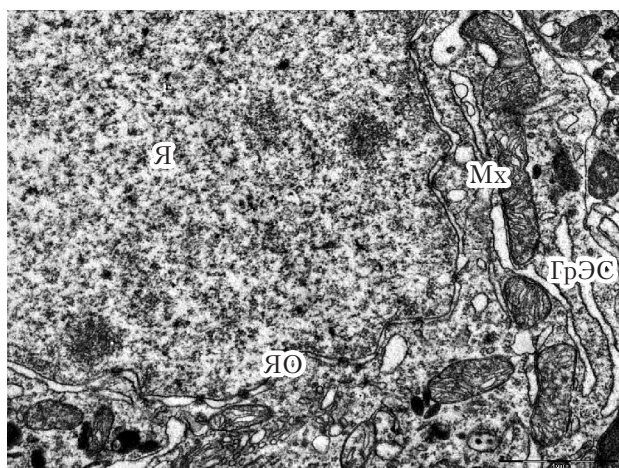


Рис. 15.9. Фрагмент нейрона ядра E2 гипоталамуса крысы через 6 ч после однократного введения алкоголя в дозе 4 г/кг. Ядро (Я), ядерная оболочка (ЯО), мегамитохондрия (Мх), гранулярная эндоплазматическая сеть (ГрЭС). Электронограмма. Масштабный отрезок равен 1 мкм. Ув. $\times 25\,000$

Средняя площадь митохондрий уменьшается, но остается больше, чем в контроле. Количество митохондрий на единицу площади также уменьшается и уже не отличается от контрольного уровня. При этом их фактор элонгации увеличивается, в то время как формфактор уменьшается, что свидетельствует о вытягивании митохондрий и уменьшении их сферичности (табл. 15.5).

Таблица 15.5

Показатели размера и формы и количество митохондрий в цитоплазме гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс после введения алкоголя в дозе 4 г/кг, декапитация через 6 ч ($\text{Me} \pm \text{IQR}$)

Параметр	Контроль ($n = 9$)	Опыт ($n = 8$)
Площадь, мкм^2	$0,09 \pm 0,03$	$0,11 \pm 0,03^{***\uparrow}$
Периметр, мкм	$1,55 \pm 0,43$	$1,57 \pm 0,29$
Формфактор	$0,66 \pm 0,33$	$0,60 \pm 0,15^*\downarrow$
Фактор элонгации	$2,01 \pm 0,65$	$2,29 \pm 0,60^{**\uparrow}$
Относительная площадь, $\text{мкм}^2/100 \text{ мкм}^2$	$11,98 \pm 5,45$	$13,55 \pm 7,58$
Количество, штук/100 мкм^2	$93,43 \pm 59,97$	$113,03 \pm 56,29$

* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ при сравнении с контролем;

↑ — статистически значимое увеличение изучаемого параметра;

↓ — статистически значимое снижение изучаемого параметра.

Увеличено количество и общая относительная площадь, занимаемая лизосомами в цитоплазме нейронов, при этом их фактор элонгации возрастает, они несколько вытягиваются (табл. 15.6).

Таблица 15.6

Показатели размера и формы и количество лизосом в цитоплазме гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс после введения алкоголя в дозе 4 г/кг, декапитация через 6 ч ($\text{Me} \pm \text{IQR}$)

Параметр	Контроль ($n = 9$)	Опыт ($n = 8$)
Площадь, мкм^2	$0,06 \pm 0,02$	$0,08 \pm 0,03$
Периметр, мкм	$0,97 \pm 0,35$	$0,97 \pm 0,14$
Формфактор	$0,77 \pm 0,11$	$0,86 \pm 0,10$
Фактор элонгации	$1,63 \pm 0,44$	$1,91 \pm 0,25^{**\uparrow}$
Относительная площадь, $\text{мкм}^2/100 \text{ мкм}^2$	$1,15 \pm 0,65$	$1,53 \pm 0,72^{**\uparrow}$
Количество, штук/100 мкм^2	$16,14 \pm 30,04$	$25,97 \pm 14,86^*\uparrow$

* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ по сравнению с контролем;

↑ — статистически значимое увеличение изучаемого параметра.

Таким образом, через 6 ч после введения большой дозы алкоголя число клеток-теней среди гистаминергических нейронов остается повышенным, сохраняется их повышенная сферичность. В цитоплазме исследованных нейронов активность всех изученных ферментов повышена, что свидетельствует об активации их метаболизма. При этом экспрессия белка c-Fos в перикарионах большинства нейронов ядра E2 гипоталамуса повышена. Это свидетельствует об усилении активности большинства гистаминергических нейронов гипоталамуса. Сохраняются существенные ультраструктурные изменения: увеличение складчатости кариолеммы и числа ядерных пор, расширение перинуклеарного пространства, увеличение количества и размеров митохондрий, гипертрофия эндоплазматической сети, увеличение числа и относительной площади в цитоплазме, занимаемой лизосомами. При этом снижение экспрессии АТФ-синтетазы- β в перикарионах нейронов и нейропиле ядра E2 гипоталамуса указывает на сохранение повреждения крист митохондрий, угнетение в них окислительного фосфорилирования и образования АТФ.

15.2. Сравнение влияния на гистаминергические нейроны разных доз и сроков после однократного введения этанола

В зависимости от дозы алкоголь оказывает на гистаминергические нейроны мозга разнонаправленное действие. Спустя 1 ч после введения этанола в дозе 1 г/кг перикарионы и ядра гистаминергических нейронов уменьшаются, их перикарионы несколько округляются, а при большой наркотической дозе (4 г/кг) размеры перикарионов не меняются, а ядра увеличиваются.

При дозе алкоголя, равной 1 г/кг, выявлено снижение активности ЛДГ и возрастание активности НАДФН-ДГ, в то время как после введения этанола в дозе 4 г/кг активность ЛДГ возрастает, а НАДФН-ДГ снижается (рис. 15.10).

При этом активация ЛДГ свидетельствует об усилении поздних этапов гликолиза, протекающих в анаэробных условиях и необходимых для компенсаторного поддержания жизнедеятельности нейронов. Увеличение в них активности при обеих дозах ключевого

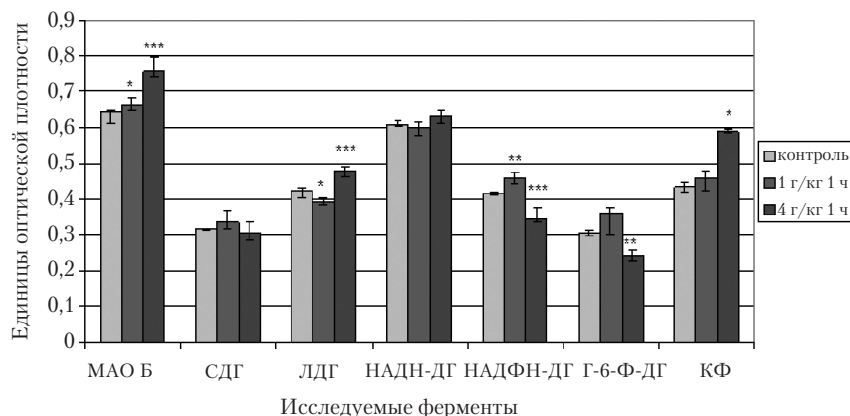


Рис. 15.10. Изменение активности ферментов в цитоплазме гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс спустя 1 ч после введения 1 г/кг и 4 г/кг алкоголя. Ме \pm IQR; * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ по сравнению с контролем

фермента метаболизма гистамина МАО Б свидетельствует об усилении окислительного дезаминирования гистамина и напряженном функционировании нейронов. Если малая доза этанола вызывает умеренное равномерное усиление экспрессии маркера функциональной активности нейронов белка c-Fos и маркера крист митохондрий АТФ-синтетазы- β во всех гистаминергических нейронах ядра E2, то большая доза — более значительную активацию c-Fos, но лишь в части нейронов, при этом экспрессия АТФ-синтетазы- β в таких нейронах даже снижается.

Если малая доза этанола не вызывает достоверных морфометрических изменений митохондрий, то большая доза вызывает значительное увеличение числа и размеров митохондрий и лизосом (относительной их площади). После малой дозы наблюдается преимущественно уплотнение крист митохондрий, после большой дозы — их набухание с разрушением крист. После малой дозы активность КФ в нейронах не отличается от контроля, после большой — значение возрастает. Малая доза этанола вызывает образование ядрышкоподобных телец (стрессовых гранул) в некоторых гистаминергических нейронах. Этого не происходит после большой дозы, после которой во многих нейронах образуются миеліноподобные фигуры, КГ приобретает кольцевидную форму.

В целом однократная малая доза этанола умеренно активирует гистаминергические нейроны мозга, не вызывая в них значительных деструктивных изменений. Большая доза этанола вызывает значительные повреждения гистаминергических нейронов, включающие деструкцию многих органелл, что сопровождается усилением аутофагии, направленной на удаление поврежденных структур. Это сопровождается перестройкой метаболизма нейронов, в частности энергетического (компенсаторная активация аэробного гликолиза). При этом функциональная активность части нейронов снижается, что может быть связано с механизмами алкогольиндуцированного сна, который развивается у крыс после введения большой дозы этанола.

Через 6 ч после введения наркотической дозы этанола активность всех изученных ферментов в цитоплазме гистаминергических нейронов повышается (рис. 15.11), в большинстве нейронов возрастает экспрессия *c-Fos*, что говорит о нарастании структурно-метаболической активации исследованных нейронов и адаптации их к этанолу.

При этом признаки повреждения нейронов уменьшаются, а морфологические признаки адаптационных изменений нарастают.

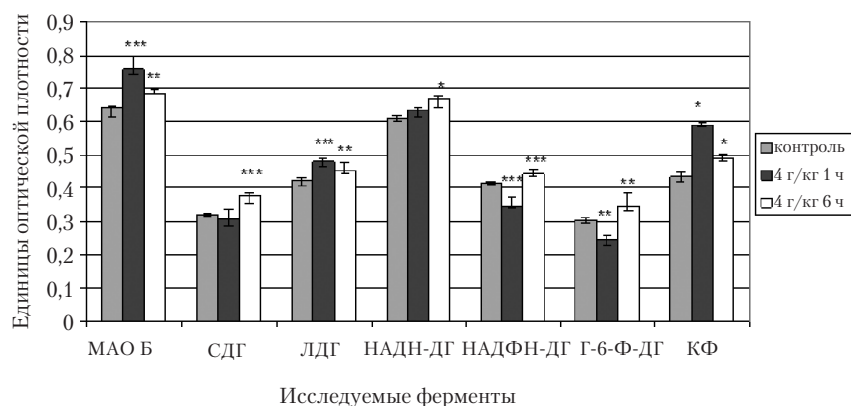


Рис. 15.11. Изменение активности ферментов в цитоплазме гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс через 1 и 6 ч после введения наркотической дозы алкоголя. Ме \pm IQR; * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ по сравнению с контролем

В целом полученные данные указывают на высокую чувствительность гистаминергических нейронов мозга к алкоголю. Это объясняется высокой способностью аминергических нейронов окислять алкоголь и накапливать его токсический метаболит, ацетальдегид. Поскольку гистаминергические нейроны участвуют в регуляции сна и бодрствования, их токсическое повреждение после введения наркотической дозы этанола может быть одной из причин алкогольиндуцированного сна.

Активация ядерного аппарата и гипертрофия различных оргanelл гистаминергических нейронов, тесные контакты митохондрий с ядром и другими органеллами, особенно через 6 ч после введения алкоголя, трактуются как отражение усиленного функционирования нейронов. Гипертрофия и перемещение ядрышек к ядерной оболочке, конденсация субъединиц рибосом вблизи внутренней ядерной мембраны, расширение перинуклеарного пространства и возрастание складчатости кариолеммы, а также гипертрофия митохондрий, эндоплазматической сети и комплекса Гольджи, вероятно, связаны с напряженным функционированием нейронов в процессе их адаптации к токсическому действию этанола. Все это обеспечивает высокую пластичность и компенсаторные процессы, приводящие к быстрому восстановлению функций данных нейронов, способствующих прекращению алкогольиндуцированного сна, вызванного наркотической дозой алкоголя, и пробуждению животных, что может отражать участие исследованных нейронов в регуляции алкогольиндуцированного сна у крыс.

Таким образом, однократное введение этанола вызывает значительные морфофункциональные нарушения гистаминергических нейронов мозга, а также адаптационные, зависимые от времени и дозы, структурно-метаболические изменения, направленные на восстановление их функций и позволяющие нейронам, обладая высокой чувствительностью к алкоголю, вместе с тем быть довольно устойчивыми к нему.

Глава 16

СТРУКТУРНЫЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ГИСТАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНАХ ГИПОТАЛАМУСА КРЫС ПОСЛЕ СЕМИДНЕВНОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Семидневное введение наркотической дозы этанола вызывает формирование толерантности к наркотическому действию алкоголя. Это выражается в постепенном сокращении продолжительности алкогольиндуцированного сна, вызываемого введением тест-дозы этанола (4 г/кг, внутривенно) (рис. 16.1).

Результаты гистологического исследования показали, что через 24 ч после 7-го введения алкоголя в гистаминергическом ядре E2 гипоталамуса наблюдаются значительные гистологические изменения. Среди нейронов этого ядра увеличено число гипохромных клеток (до 15 %) и клеток-теней (до 9 %) (рис. 16.2; табл. 16.1). Общая плотность расположения нейронов достоверно уменьшается

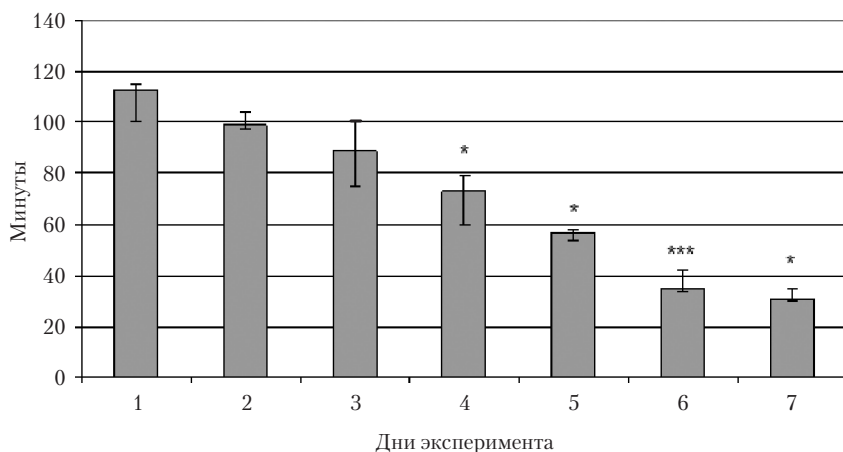


Рис. 16.1. Изменение продолжительности алкогольиндуцированного сна у крыс при семидневном введении наркотической дозы этанола. Me \pm IQR; * — $p < 0,05$, *** — $p < 0,001$ по сравнению с контролем

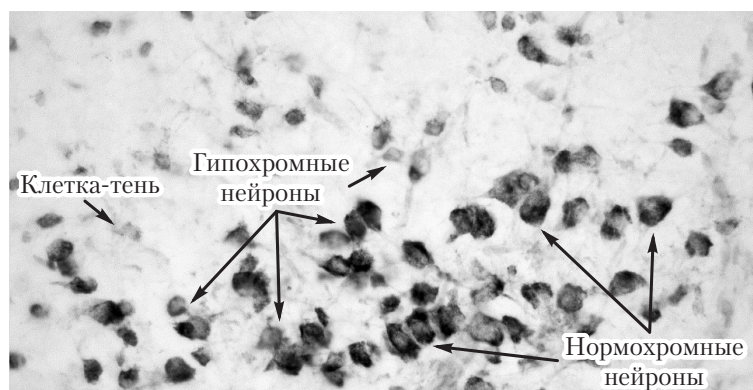


Рис. 16.2. Нейроны ядра E_2 гипоталамуса крысы через сутки после семидневной алкогольной интоксикации. Окраска по методу Ниссля. Цифровая микрофотография. Ув. $\times 200$

на 4 % ($z = -2,40$, $p = 0,016$), что отражает «тяжелые изменения» и гибель части клеток под действием многократного введения алкоголя.

Таблица 16.1

Количество разных типов гистаминергических нейронов (в процентах) гипоталамуса крыс по степени хромофилии цитоплазмы через 24 ч после семидневного введения алкоголя, окраска по методу Ниссля ($Me \pm IQR$)

Тип нейронов	Контроль ($n = 6$)	Опыт ($n = 6$)
Нормохромные нейроны	$90,65 \pm 7,99$	$78,54 \pm 9,45$
Гипохромные нейроны	$3,70 \pm 2,54$	$11,33 \pm 4,43^* \uparrow$
Гиперхромные нейроны	$3,15 \pm 3,00$	$4,67 \pm 6,34$
Клетки-тени	$2,79 \pm 1,65$	$6,80 \pm 4,33^* \uparrow$

* — $p < 0,05$ при сравнении с контролем;

\uparrow — статистически значимое увеличение изучаемого параметра.

В цитоплазме отдельных нейронов опытных животных обнаружены образования округлой или овальной формы, размером 1–2 мкм, содержащие РНК (рис. 16.3). Они наблюдаются в 6–12 % исследованных гистаминергических нейронов. Эти образования выявляются и на электронограммах и представляют собой «ядрышкоподобные тельца» или «стрессовые гранулы».

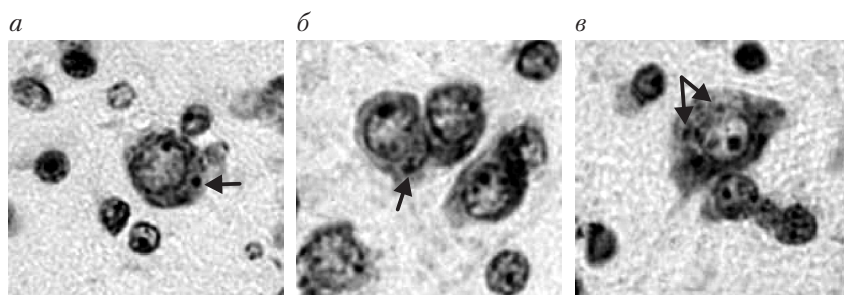


Рис. 16.3. Гистаминергические нейроны ядра E2 гипоталамуса у крыс через 24 часа после семидневной алкогольной интоксикации (а–в). Окраска по Эйнарсону. Стрелка — ядрышкоподобные тельца в цитоплазме нейронов. Цифровая микрофотография. Ув. $\times 800$

У опытных животных на препаратах, окрашенных по методу Ниссля, в гистаминергических нейронах ядра E2 гипоталамуса обнаружено уменьшение минимального и максимального диаметров на 5,2 % ($z = -2,13$, $p = 0,033$) и на 7,9 % ($z = -2,40$, $p = 0,016$) соответственно, периметра — на 8,3 % ($z = -2,58$, $p = 0,010$), площади — на 10,2 % и объема — на 14,7 % ($z = -2,13$, $p = 0,033$), а также увеличение формфактора на 8,6 % ($z = 2,84$, $p = 0,004$) (табл. 16.2). Это свидетельствует об уменьшении размеров и увеличении сферичности гистаминергических нейронов гипоталамуса.

Таблица 16.2

Показатели размеров и формы перикарионов гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс через сутки после семикратного введения алкоголя в дозе 4 г/кг, окраска по методу Ниссля ($Me \pm IQR$)

Параметр	Контроль ($n = 6$)	Опыт ($n = 6$)
Минимальный диаметр, мкм	$12,27 \pm 0,70$	$11,55 \pm 0,38^* \downarrow$
Максимальный диаметр, мкм	$19,12 \pm 0,52$	$17,56 \pm 1,02^* \downarrow$
Периметр, мкм	$54,96 \pm 2,64$	$49,36 \pm 4,32^{**} \downarrow$
Площадь, мкм ²	$182,57 \pm 22,73$	$161,46 \pm 32,52^* \downarrow$
Объем, мкм ³	$1856,36 \pm 343,25$	$1544,32 \pm 468,14^* \downarrow$
Формфактор	$0,75 \pm 0,06$	$0,82 \pm 0,06^{**} \uparrow$
Фактор элонгации	$1,53 \pm 0,12$	$1,46 \pm 0,21$

* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ при сравнении с контролем;

↑ — статистически значимое увеличение изучаемого параметра;

↓ — статистически значимое снижение изучаемого параметра.

Размеры и форма ядер гистаминергических нейронов претерпевают следующие изменения: минимальный диаметр снижается на 6,3 % ($z = -2,04$, $p = 0,041$), площадь и объем — на 9,6 % и 13,9 % ($z = -2,04$, $p = 0,041$) соответственно, в то время как фактор элонгации повышается на 3,7 % ($z = 2,04$, $p = 0,041$), а формфактор уменьшается на 3,6 % ($z = -2,58$, $p = 0,010$) (табл. 16.3). Это свидетельствует об уменьшении размеров и сферичности, а также вытягивании ядер. Ядерно-цитоплазматическое отношение гистаминергических нейронов достоверно не изменяется.

Таблица 16.3

Показатели размеров и формы ядер гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс через сутки после семикратного введения алкоголя в дозе 4 г/кг, окраска по методу Ниссля ($Me \pm IQR$)

Параметр	Контроль ($n = 6$)	Опыт ($n = 6$)
Минимальный диаметр, мкм	$7,89 \pm 0,80$	$7,38 \pm 0,22^* \downarrow$
Максимальный диаметр, мкм	$11,05 \pm 0,87$	$10,87 \pm 0,94$
Периметр, мкм	$30,81 \pm 2,97$	$31,73 \pm 2,12$
Площадь, мкм ²	$67,99 \pm 8,65$	$60,84 \pm 9,70^* \downarrow$
Объем, мкм ³	$421,85 \pm 80,51$	$357,17 \pm 86,45^* \downarrow$
Формфактор	$0,85 \pm 0,04$	$0,82 \pm 0,02^{**} \downarrow$
Фактор элонгации	$1,49 \pm 0,08$	$1,52 \pm 0,04^* \uparrow$
Ядерно-цитоплазматическое отношение	$0,65 \pm 0,13$	$0,64 \pm 0,19$

* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ при сравнении с контролем;

↑ — статистически значимое увеличение изучаемого параметра;

↓ — статистически значимое снижение изучаемого параметра.

Результаты гистохимического исследования показали: в цитоплазме гистаминергических нейронов опытных животных происходит снижение активности СДГ на 13,7 % ($z = -2,74$, $p = 0,006$), НАДН-ДГ — на 7,0 % ($z = -2,08$, $p = 0,037$), НАДФН-ДГ — на 16,0 % ($z = -2,08$, $p = 0,037$), возрастание активности ЛДГ на 23,2 % ($z = 2,56$, $p = 0,010$) и КФ — на 30,7 % ($z = 2,24$, $p = 0,025$) (рис. 16.4, 16.5). Активность МАО Б и Г-6-Ф-ДГ в нейронах после семидневного введения алкоголя не отличается от контроля (табл. 16.4).

Таблица 16.4

**Активность ферментов (в единицах оптической плотности)
в цитоплазме гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса
крыс через сутки после семикратного введения алкоголя в дозе 4 г/кг
($\text{Me} \pm \text{IQR}$)**

Фермент	Контроль ($n = 6$)	Опыт ($n = 6$)
Г-6-Ф-ДГ	$0,299 \pm 0,02$	$0,286 \pm 0,03$
КФ	$0,415 \pm 0,03$	$0,543 \pm 0,05^* \uparrow$
ЛДГ	$0,404 \pm 0,04$	$0,498 \pm 0,02^* \uparrow$
МАО Б	$0,662 \pm 0,05$	$0,656 \pm 0,07$
НАДН-ДГ	$0,592 \pm 0,03$	$0,553 \pm 0,03^* \downarrow$
НАДФН-ДГ	$0,395 \pm 0,04$	$0,332 \pm 0,06^* \downarrow$
СДГ	$0,305 \pm 0,04$	$0,263 \pm 0,05^* \downarrow$

* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ при сравнении с контролем;

↑ — статистически значимое увеличение изучаемого параметра;

↓ — статистически значимое снижение изучаемого параметра.

Результаты электронно-микроскопического исследования показали, что в нейронах ядра E2 гипоталамуса крыс через 24 ч после седьмого введения животным этанола в дозе 4 г/кг/сутки происходит увеличение протяженности кариолеммы за счет глубоких инвагинаций ядерной оболочки (рис. 16.6), а также расширение перинуклеарного пространства. Большинство ядер содержат мелко

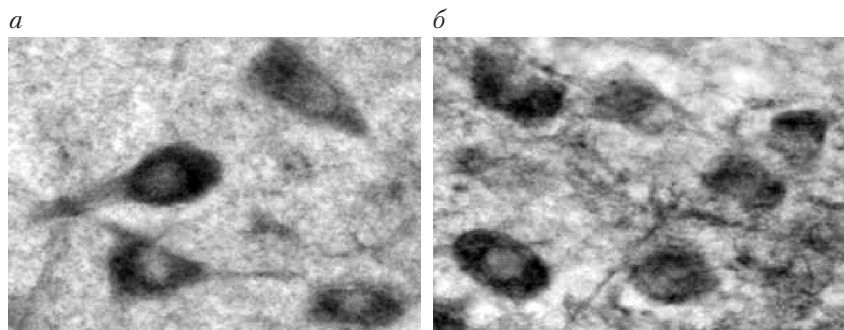


Рис. 16.4. Активность НАДФН-ДГ в нейронах ядра E2 гипоталамуса контрольных крыс (*а*) и ее уменьшение в цитоплазме нейронов у крыс через 24 ч после семикратного введения алкоголя в дозе 4 г/кг (*б*). Окраска по Гесс, Скарпелли, Пирсу. Цифровая микрофотография. Ув. $\times 800$

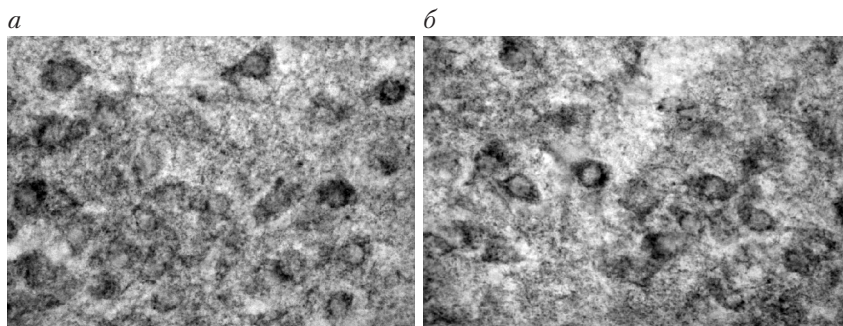


Рис. 16.5. Активность СДГ в нейронах ядра E2 гипоталамуса контрольных крыс (а) и ее уменьшение в цитоплазме нейронов у крыс через 24 часа после семикратного введения алкоголя в дозе 4 г/кг (б). Окраска по Нальхасу и др. Цифровая микрофотография. Ув. $\times 400$

диспергированный хроматин (активный эухроматин). В некоторых ядрах наблюдается необычная вакуолизация кариоплазмы (рис. 16.7, 16.8), которая характеризуется наличием вакуолей полигональной формы с электронно-светлым содержимым, окруженных одинарной биологической мембраной. В отдельных нейронах

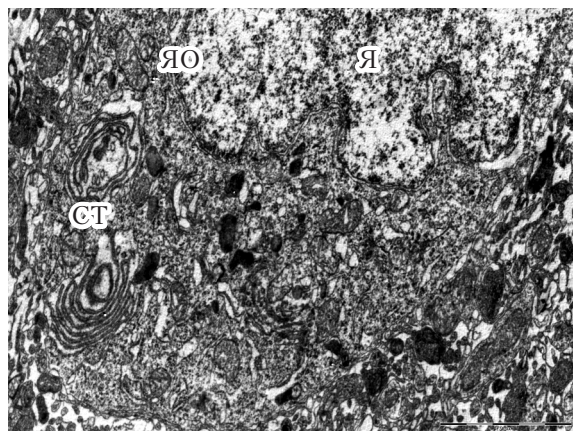


Рис. 16.6. Фрагмент нейрона ядра E2 после семидневной алкогольной интоксикации. Ядро (Я), ядерная оболочка (ЯО), формирующиеся слоистые тельца (СТ) на основе ГрЭС. Масштабный отрезок равен 2 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 15\,000$

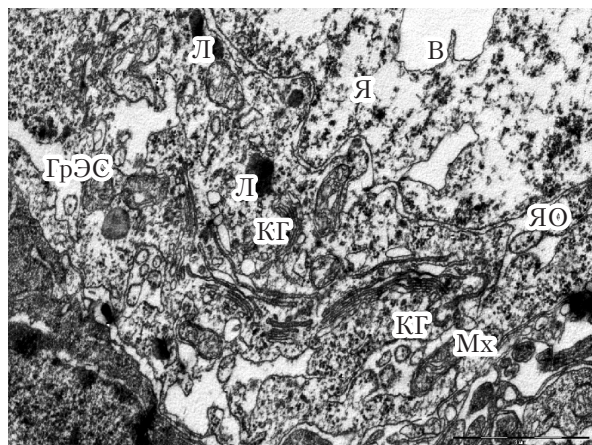


Рис. 16.7. Фрагмент нейрона ядра Е2 после семидневной алкогольной интоксикации. Ядро (Я), ядерная оболочка (ЯО), вакуолизация (В) кариоплазмы, митохондрии (Мх), расширение каналов ГрЭС, лизосома (Л), комплекс Гольджи (КГ). Масштабный отрезок равен 1 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 30\,000$

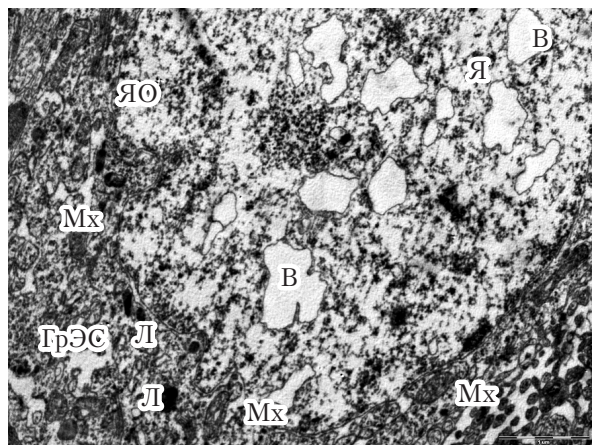


Рис. 16.8. Фрагмент нейрона ядра Е2 после семидневной алкогольной интоксикации. Ядро (Я), ядерная оболочка (ЯО), вакуолизация (В) кариоплазмы, митохондрии (Мх), расширение цистерн гранулярной эндоплазматической сети (ГрЭС), лизосомы (Л). Масштабный отрезок равен 1 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 20\,000$

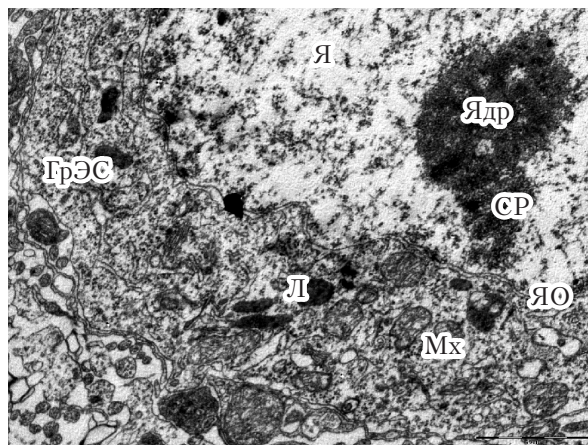


Рис. 16.9. Фрагмент нейрона ядра E2 после семидневной алкогольной интоксикации. Перемещение ядрышка (Ядр) на периферию ядра (Я), скопление субъединиц рибосом (СР) между ядрышком и ядерной оболочкой (ЯО), митохондрии (Мх), лизосомы (Л), расширение каналов ГрЭС. Масштабный отрезок равен 1 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 25\,000$

прослеживается перемещение ядрышек к периферии ядра, доминирование в их структуре гранулярного компонента (рис. 16.9), а также конденсация субъединиц рибосом около кариолеммы, что может отражать интенсификацию белкового синтеза в таких клетках. Все вышеописанное указывает на напряженное функционирование ядерного аппарата.

В цитоплазме количество свободных рибосом заметно увеличено, и они находятся преимущественно в виде полисом. Наблюдается фрагментация гранулярной эндоплазматической сети. Отмечено формирование слоистых структур, образованных concentрически расположенными цистернами комплекса Гольджи или канальцами ГрЭС (рис. 16.10). Особенно интересно, что в цитоплазме отдельных нейронов появляются образования — ядрышкоподобные тельца или стрессовые гранулы (рис. 16.11–16.13).

Следует отметить значительную гетерогенность митохондрий. Общая относительная площадь и количество данных органелл на единицу площади цитоплазмы увеличиваются (табл. 16.5). Кроме того, их формфактор также возрастает, что свидетельствует о некотором округлении митохондрий и увеличении их сферичности.

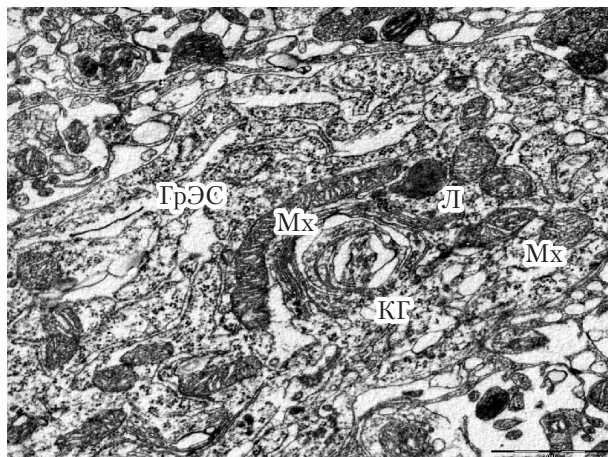


Рис. 16.10. Цитоплазма нейрона ядра E2 после семидневной алкогольной интоксикации. Скопление митохондрий (Мх) около кольцевидного комплекса Гольджи (КГ) и ГрЭС. Масштабный отрезок равен 1 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 25\,000$

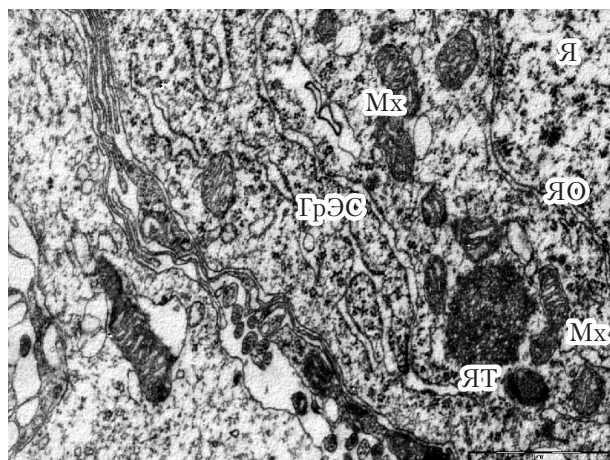


Рис. 16.11. Фрагмент нейрона ядра E2 после семидневной алкогольной интоксикации. Ядро (Я), ядерная оболочка (ЯО), митохондрии с уплотненными кристами (Мх), ГрЭС, ядрышкоподобное тело (ЯТ). Масштабный отрезок равен 1 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 30\,000$

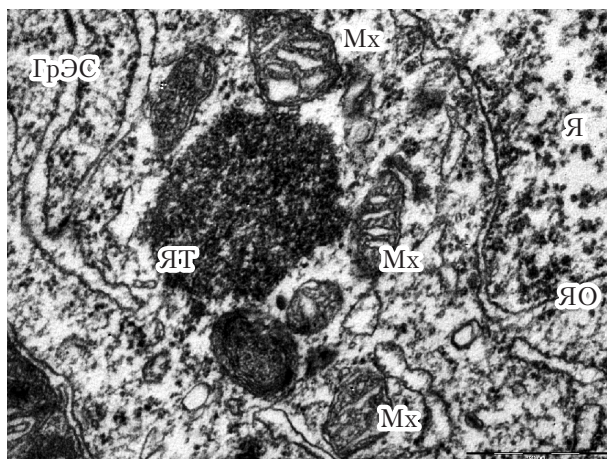


Рис. 16.12. Фрагмент нейрона ядра E2 после семидневной алкогольной интоксикации. Ядро (Я), ядерная оболочка (ЯО), митохондрии (Мх), ГрЭС, ядрышкоподобное тело (ЯТ). Масштабный отрезок равен 0,5 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 60\,000$

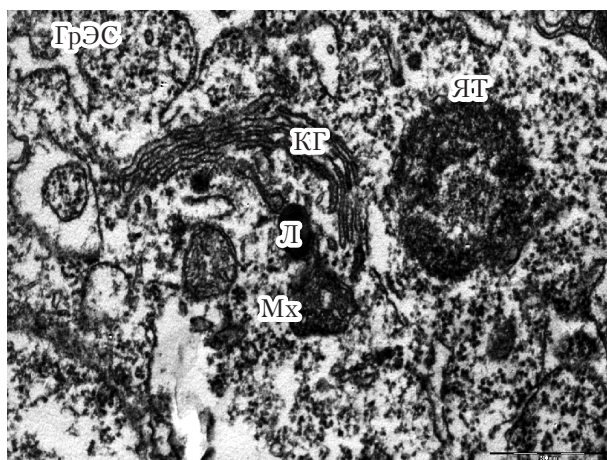


Рис. 16.13. Фрагмент нейрона ядра E2 после семидневной алкогольной интоксикации. Митохондрии (Мх), расширенные каналы ГрЭС, комплекс Гольджи (КГ), лизосома (Л), ядрышкоподобное тело (ЯТ). Масштабный отрезок равен 1 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 50\,000$

Таблица 16.5

Показатели размера и формы и количество митохондрий в цитоплазме гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс после семидневной алкогольной интоксикации ($Me \pm IQR$)

Параметр	Контроль ($n = 9$)	Опыт ($n = 8$)
Площадь, $\mu\text{м}^2$	$0,10 \pm 0,02$	$0,12 \pm 0,04$
Периметр, $\mu\text{м}$	$1,56 \pm 0,36$	$1,56 \pm 0,33$
Формфактор	$0,66 \pm 0,29$	$0,70 \pm 0,22^{**\uparrow}$
Фактор элонгации	$2,14 \pm 0,47$	$1,98 \pm 0,58$
Относительная площадь, $\mu\text{м}^2/100 \mu\text{м}^2$	$10,00 \pm 6,01$	$12,74 \pm 6,64^{*\uparrow}$
Количество, штук/100 $\mu\text{м}^2$	$100,18 \pm 47,41$	$121,03 \pm 62,12^{*\uparrow}$

* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ при сравнении с контролем;

\uparrow — статистически значимое увеличение изучаемого параметра.

При этом наряду с органеллами, по строению не отличающимися от нормы, встречаются митохондрии с фрагментированными кристами, их редукцией, расширенными межкристинными промежутками (см. рис. 16.11–16.13) и просветленным матриксом (рис. 16.14).

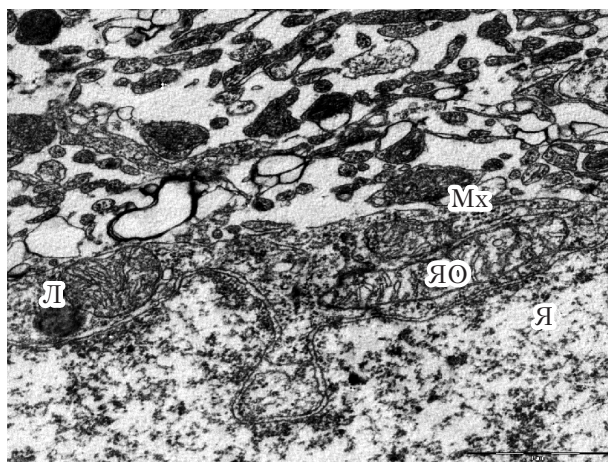


Рис. 16.14. Фрагмент нейрона ядра E2 после семидневной алкогольной интоксикации. Ядро (Я), ядерная оболочка (ЯО), митохондрии (Мх) в околоядерной области, лизосома (Л). Масштабный отрезок равен 1 $\mu\text{м}$. Электронограмма. Ув. $\times 30\,000$

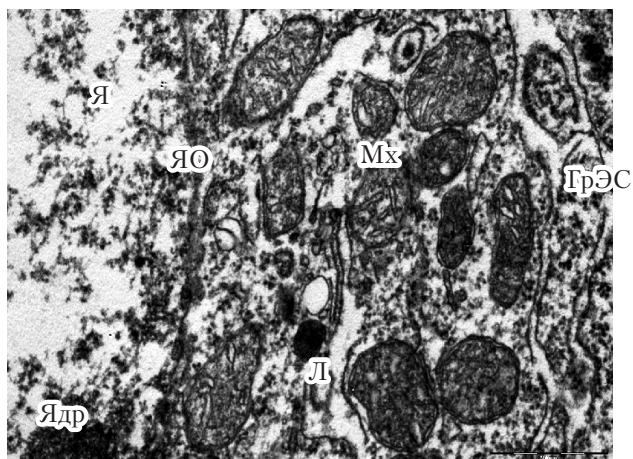


Рис. 16.15. Фрагмент нейрона ядра Е2 после семидневной алкогольной интоксикации. Ядро (Я), ядрышко (Ядр) у ядерной оболочки (ЯО), скопление митохондрий (Мх), ГрЭС, лизосома (Л). Масштабный отрезок равен 0,5 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 50\,000$

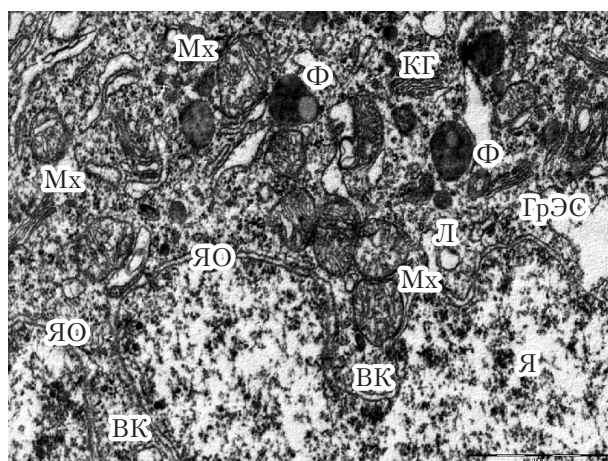


Рис. 16.16. Фрагмент нейрона ядра Е2 после семидневной алкогольной интоксикации. Ядро (Я), ядерная оболочка (ЯО), впячивание кариолеммы (ВК), скопление митохондрий (Мх) в околоядерной области, расширения ГрЭС, лизосомы (Л), фагосомы (Ф), комплекс Гольджи (КГ). Масштабный отрезок равен 1 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 30\,000$

В то же время отмечено наличие гипертрофированных органелл, обладающих плотно упакованными кристами и электроноплотным матриксом (рис. 16.15). Отдельные митохондрии сближаются с компонентами эндоплазматической сети и комплекса Гольджи (см. рис. 16.10), вступая с ними в тесный контакт. Прослеживаются скопления митохондрий в околоядерной области (рис. 16.16).

Наблюдается активация лизосомального аппарата гистаминергических нейронов. Она проявляется в гиперплазии первичных и вторичных лизосом (см. рис. 16.6, 16.16), расположенных в большинстве случаев диффузно. При этом увеличивается количество, площадь и общая относительная площадь, занимаемая лизосомами в цитоплазме нейронов, их фактор элонгации снижается, то есть они приобретают более округлую форму (табл. 16.6).

Таблица 16.6

Показатели размера и формы и количество лизосом в цитоплазме гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс после семидневной алкогольной интоксикации ($\text{Me} \pm \text{IQR}$)

Параметр	Контроль ($n = 9$)	Опыт ($n = 8$)
Площадь, мкм^2	$0,06 \pm 0,01$	$0,09 \pm 0,04^*\uparrow$
Периметр, мкм	$0,91 \pm 0,29$	$0,99 \pm 0,31$
Формфактор	$0,74 \pm 0,16$	$0,79 \pm 0,19$
Фактор элонгации	$1,64 \pm 0,36$	$1,56 \pm 0,43^*\downarrow$
Относительная площадь, $\text{мкм}^2/100 \text{ мкм}^2$	$1,00 \pm 0,54$	$1,92 \pm 0,66^*\uparrow$
Количество, штук/100 мкм^2	$13,14 \pm 24,89$	$32,01 \pm 29,65^*\uparrow$

* — $p < 0,05$;

\uparrow — статистически значимое увеличение изучаемого параметра.

Все вышеперечисленное указывает на напряженное функционирование нейронов в процессе их адаптации к интенсивному подострому воздействию этанола.

Таким образом, при внутрибрюшинном введении животным на протяжении 7 дней этанола в дозе 4 г/кг/сут наблюдается постепенное уменьшение времени алкогольиндуцированного сна, которое становится статистически значимым с 5-го дня эксперимента, что может свидетельствовать о формировании поведенческой толерантности (устойчивости), адаптации к наркотическому действию этанола у исследуемых животных.

Мы предполагаем, что одним из механизмов формирования такой поведенческой адаптации животных является повышение устойчивости гистаминергических нейронов гипоталамуса в физиологических условиях, регулирующих сон и бодрствование (их торможение вызывает сон, а активация — пробуждение). Если это действительно так, то гистаминергические нейроны накануне ожидаемого восьмого введения наркотической тест-дозы этанола должны перестроить свою структуру и метаболизм таким образом, чтобы легче перенести это тяжелое токсическое воздействие.

Нами установлено, что после семикратного (субхронического) воздействия этанола, через 24 ч после последнего его введения, в гистаминергических нейронах действительно наблюдаются значительные структурные и метаболические изменения. Так, в ходе адаптационных перестроек эти нейроны сжимаются и округляются. Их ядра, напротив, становятся менее сферичными и несколько вытягиваются. Возможно, это одна из форм адаптации цито- и кариоскелета нейронов к последующему токсическому воздействию этанола. При этом уменьшение общего числа гистаминергических нейронов, увеличение числа гипохромных нейронов и клеток-теней нужно рассматривать как признак повреждения, тяжелых изменений нейронов.

Субхроническое введение животным наркотической дозы этанола приводит к перестройке метаболизма гистаминергических нейронов: в цитоплазме нейронов опытных животных происходит снижение активности маркерного фермента митохондрий, СДГ — фермента аэробного окисления углеводов в цикле Кребса, НАДН-ДГ — митохондриального фермента, участвующего в переносе электронов и являющегося важным связующим звеном между конечными продуктами распада углеродного скелета и дыхательной цепью, а также НАДФН-ДГ — фермента, отражающего интенсивность протекания немитохондриальных энергетических процессов. При этом происходит компенсаторное возрастание активности ЛДГ — показателя интенсивности анаэробного гликолиза. Активация КФ — маркерного фермента лизосом — отражает усиление процессов аутофагии, направленных на удаление поврежденных мембран и органелл в гистаминергических нейронах в условиях субхронического воздействия алкоголя и напряженного функ-

ционирования нейронов в процессе адаптации к данному токсическому агенту.

На ультраструктурном уровне это подтверждается увеличением числа и размеров лизосом. При этом выявляются довольно крупные вторичные лизосомы и фаголизосомы. Последнее необходимо для своевременного удаления поврежденных и изношенных органелл, возникающих при усиленном и напряженном функционировании клетки. Так, этанол при семидневной алкогольной интоксикации вызывает повреждение и нарушение организации митохондрий. Однако, несмотря на деструктивные изменения в митохондриях (соответствует снижению активности в цитоплазме этих нейронов СДГ и НАДН-ДГ), многие из них гипертрофированы, с повышенной плотностью расположения крист. Такие предположительно гиперактивные митохондрии скапливаются вблизи кариолеммы, комплекса Гольджи и эндоплазматической сети, вероятно обеспечивая повышенную потребность ядра и органелл в энергии. Следует отметить, что средние размеры митохондрий не отличаются от контрольных, но наблюдается увеличение количества данных органелл на единицу площади цитоплазмы, это, в свою очередь, обуславливает увеличение их общей относительной площади. Это может быть связано с увеличением энергозатрат в клетке, необходимых для усиления синтетических процессов.

Семидневная алкогольная интоксикация вызывает деструктивные и адаптационные ультраструктурные изменения в нейронах гистаминергического ядра E2 гипоталамуса опытных животных. К этим изменениям можно отнести необычную вакуолизацию ядер, которая никогда не наблюдалась нами при однократном и умеренном хроническом введении этанола. Неясно, каким образом появляются в ядре эти окруженные мембраной вакуоли. Возможно, это отшнуровываются и замыкаются фрагменты внутренней мембраны кариолеммы при увеличении ее складчатости и расширении перинуклеарного пространства. Непонятно, это проявление деструкции ядра или это явление имеет какое-то функциональное значение.

Ультраструктурным проявлением адаптации гистаминергических нейронов к этанолу является перемещение ядрышка к ядерной оболочке и массовое перемещение субъединиц рибосом от ядрышек

к кариолемме, а затем через многочисленные ядерные поры в цитоплазму.

Другим возможным проявлением адаптации гистаминергических нейронов к этанолу может выступать появление необычных, ядрышкоподобных телец в цитоплазме или стрессовых гранул, что может быть очень эффективным способом одновременной массовой доставки субъединиц рибосом из ядра в цитоплазму для резкого усиления биосинтеза белка в клетке. Вероятно, что эти тельца образуются непосредственно в цитоплазме в результате конденсации рибосом.

Еще одним ультраструктурным феноменом, особенно часто наблюдаемым при данном субхроническом воздействии алкоголя, является появление в цитоплазме гистаминергических нейронов слоистых структур. Источником их образования выступают такие мембранные органеллы, как пластинчатый комплекс Гольджи и эндоплазматическая сеть. В процессе их формирования наблюдается постепенное замыкание типичных изогнутых стопок цистерн комплекса Гольджи в полукольца и кольца. В каналах эндоплазматической сети появляются отшнуровавшиеся фрагменты, и они вместе оказываются внутри других расширенных каналов, образуя многослойные замкнутые мембранные структуры. Не ясно, является ли это проявлением гиперактивности органелл и адаптации нейронов к ожидаемому токсическому воздействию этанола, либо просто необычной формой их деструкции.

Полученные результаты позволяют предполагать, что гистаминергические нейроны проявляют высокую чувствительность к воздействию алкоголя, но вместе с тем они характеризуются достаточной устойчивостью, поскольку часть ультраструктурных изменений (расширение перинуклеарного пространства, фрагментация крист митохондрий, гомогенизация внутримитохондриального матрикса, формирование слоистых фигур) нельзя отнести к признакам необратимой деструкции. Все вышеотмеченные изменения в гистаминергических нейронах свидетельствуют о значительной реактивности и пластичности ультраструктур исследуемых нервных клеток.

Таким образом, при субхронической алкоголизации гистаминергические нейроны изменяют деятельность своих ультраструктур, повышая устойчивость нейронов и приспособлявая их к дли-

тельному воздействию данного токсического агента. Возможно, это является одним из механизмов поведенческой адаптации животных к наркотическому действию алкоголя (повышению устойчивости, толерантности).

Можно полагать, что выявленные структурные изменения на микроскопическом и ультрамикроскопическом уровнях, а также гистохимические изменения гистаминергических нейронов мозга являются проявлением защитной реакции организма и отражают адаптационные перестройки исследуемой нейронной системы мозга, необходимые для поддержания гомеостаза в создавшихся условиях токсического воздействия алкоголя, и могут отражать участие гистаминергических нейронов мозга в механизмах формирования поведенческой устойчивости к наркотическому действию этанола.

Глава 17

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ГИСТАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНАХ ГИПОТАЛАМУСА КРЫС ПОСЛЕ ХРОНИЧЕСКОГО ПОТРЕБЛЕНИЯ АЛКОГОЛЯ

На протяжении 6 мес. уровень потребления опытными крысами этанола варьировал от 2 до 4 г/кг/сутки и в среднем составил 3,5 г/кг/сутки или 5,3 мл 20% раствора этанола. Среднее потребление воды контрольными животными составило 69,1 г/кг/сутки или 13,8 мл/сутки жидкости. То есть опытные крысы произвольно ограничивали потребление этанола, предоставляемого в качестве единственного источника питья.

Хроническое потребление этанола вызывает существенные гистологические изменения в нейронах ядра E2 гипоталамуса. Среди исследованных нейронов значительно возрастает число гиперхромных клеток (с 1 до 10 %) и клеток-теней (с 2 до 7 %) (табл. 17.1), а общая плотность расположения нейронов статистически достоверно уменьшается на 5 % ($z = -2,08$, $p = 0,037$).

Таблица 17.1

Относительное количество (в процентах) разных типов (по степени хромофилии цитоплазмы) нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс после хронического потребления алкоголя, окраска по методу Ниссля ($Me \pm IQR$)

Тип нейронов	Контроль ($n = 6$)	Опыт ($n = 6$)
Нормохромные нейроны	91,21 \pm 9,62	75,54 \pm 5,77
Гипохромные нейроны	6,80 \pm 3,40	6,54 \pm 5,53
Гиперхромные нейроны	1,24 \pm 3,23	10,84 \pm 5,26* \uparrow
Клетки-тени	2,47 \pm 2,38	7,35 \pm 4,36* \uparrow

* — $p < 0,05$ при сравнении с контролем;

\uparrow — статистически значимое увеличение изучаемого параметра.

После 6 месяцев употребления животными этанола перикарионы и ядра гистаминергических нейронов (при окраске по Нислю) увеличиваются в размере и становятся более округлыми.

Происходит увеличение минимального диаметра нейронов на 12,2 % ($z = 2,88$, $p = 0,004$), периметра — на 9,1 % ($z = 2,24$, $p = 0,025$), площади — на 14,6 % и объема — на 21,2 % ($z = 2,88$, $p = 0,004$), уменьшение фактора элонгации на 6,4 % ($z = -2,72$, $p = 0,006$) (табл. 17.2).

Таблица 17.2

Показатели размеров и формы перикарионов гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс после хронического потребления алкоголя, окраска по методу Ниссля (Me \pm IQR)

Параметр	Контроль ($n = 6$)	Опыт ($n = 6$)
Минимальный диаметр, мкм	12,51 \pm 0,62	14,42 \pm 0,44**↑
Максимальный диаметр, мкм	20,79 \pm 1,47	21,48 \pm 0,87
Периметр, мкм	57,13 \pm 5,84	65,22 \pm 4,95*↑
Площадь, мкм ²	207,55 \pm 15,85	239,83 \pm 27,86**↑
Объем, мкм ³	2249,99 \pm 255,27	2796,17 \pm 490,91**↑
Формфактор	0,77 \pm 0,01	0,76 \pm 0,04
Фактор элонгации	1,58 \pm 0,02	1,49 \pm 0,02**↓

* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ при сравнении с контролем;

↑ — статистически значимое увеличение изучаемого параметра;

↓ — статистически значимое снижение изучаемого параметра.

Минимальный диаметр ядер этих нейронов возрастает на 5,3 % ($z = 2,72$, $p = 0,006$), площадь и объем — на 5,8 % и 8,6 % ($z = 2,24$, $p = 0,025$) соответственно, фактор элонгации снижается на 3,3 % ($z = -2,08$, $p = 0,037$) (табл. 17.3). Ядерно-цитоплазматическое отношение уменьшается на 14,6 % ($z = -2,56$, $p = 0,010$). Это указывает на гипертрофию нейронов, что отражает их напряженное функционирование.

Таблица 17.3

Показатели размеров и формы ядер гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс после хронического потребления алкоголя, окраска по методу Ниссля (Me \pm IQR)

Параметр	Контроль ($n = 6$)	Опыт ($n = 6$)
Минимальный диаметр, мкм	7,21 \pm 0,42	7,58 \pm 0,19**↑
Максимальный диаметр, мкм	11,19 \pm 0,39	10,63 \pm 0,47
Периметр, мкм	31,10 \pm 1,77	29,75 \pm 1,82

Окончание табл. 17.3

Параметр	Контроль ($n = 6$)	Опыт ($n = 6$)
Площадь, мкм^2	$61,40 \pm 4,53$	$63,75 \pm 3,49^{*\uparrow}$
Объем, мкм^3	$362,02 \pm 40,44$	$383,22 \pm 31,74^{*\uparrow}$
Формфактор	$0,80 \pm 0,03$	$0,86 \pm 0,04$
Фактор элонгации	$1,51 \pm 0,06$	$1,41 \pm 0,03^{*\downarrow}$
Ядерно-цитоплазматическое отношение	$0,68 \pm 0,06$	$0,59 \pm 0,05\downarrow$

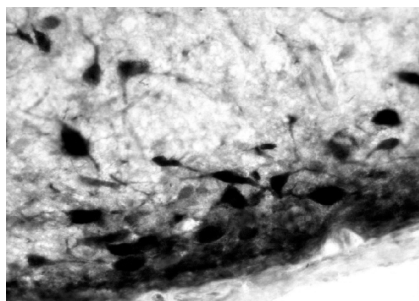
* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ при сравнении с контролем;

\uparrow — статистически значимое увеличение изучаемого параметра;

\downarrow — статистически значимое снижение изучаемого параметра.

Результаты гистохимического исследования показали, что в перикарионах гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса животных после хронического потребления алкоголя наблюдается увеличение активности МАО Б на 7,1 % ($z = 2,56$, $p = 0,010$) (рис. 17.1), НАДН-ДГ — на 11,6 % ($z = 2,08$, $p = 0,037$) (рис. 17.2), ЛДГ — на 9,0 % ($z = 2,08$, $p = 0,037$) и маркерного фермента лизосом, КФ, — на 17,9 % ($z = 2,74$, $p = 0,006$) (рис. 17.3), по сравнению с контрольными животными. При этом значения активности СДГ и Г-6-Ф-ДГ снижаются на 4,8 % ($z = -2,56$, $p = 0,010$) и 12,7 % ($z = -2,24$, $p = 0,025$), соответственно. Активность НАДФН-ДГ при этом существенно не меняется (табл. 17.4).

а



б

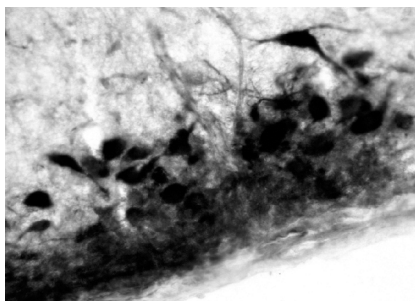


Рис. 17.1. Активность МАО Б в гистаминергических нейронах ядра E2 гипоталамуса контрольных крыс (а) и ее увеличение в цитоплазме нейронов у крыс после хронического потребления алкоголя (б). Окраска по Зиматкину, Цыдику. Цифровая микрофотография. Ув. $\times 200$

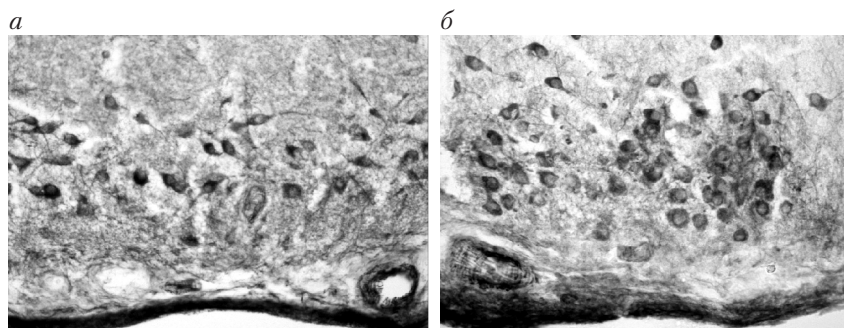


Рис. 17.2. Активность НАДН-ДГ в гистаминергических нейронах ядра E2 гипоталамуса контрольных крыс (а) и ее увеличение в цитоплазме нейронов у крыс после хронического потребления алкоголя (б). Окраска по Нахласу, Уокеру, Зелигману. Цифровая микрофотография. Ув. $\times 200$

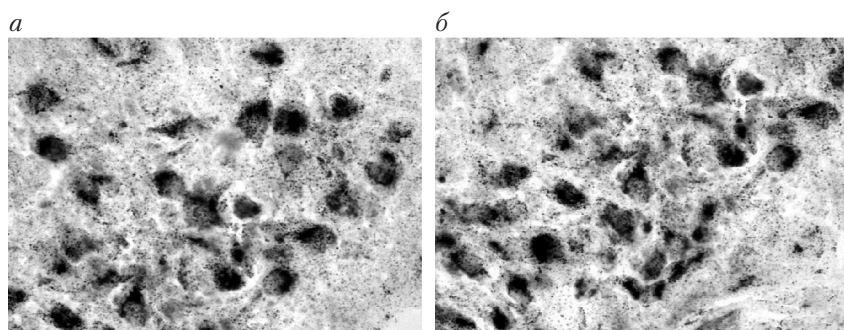


Рис. 17.3. Активность КФ в гистаминергических нейронах ядра E2 гипоталамуса контрольных крыс (а) и ее увеличение в цитоплазме нейронов у крыс после хронического потребления алкоголя (б). Окраска по Гомори. Цифровая микрофотография. Ув. $\times 400$

Результаты электронно-микроскопического исследования показали, что после 6-месячного потребления алкоголя в нейронах ядра E2 гипоталамуса наблюдаются значительные и разнообразные ультраструктурные изменения ядра, синтетического и энергетического аппаратов клетки, а также аппарата внутриклеточного переваривания и защиты.

В ядре отмечено увеличение размеров ядрышка, его смещение на периферию ядра (рис. 17.4, 17.5).

Таблица 17.4

**Активность ферментов (в единицах оптической плотности)
в цитоплазме гистаминергических нейронах ядра E2 гипоталамуса
крыс после хронического потребления алкоголя ($Me \pm IQR$)**

Фермент	Контроль ($n = 6$)	Опыт ($n = 6$)
Г-6-Ф-ДГ	$0,296 \pm 0,04$	$0,268 \pm 0,05^*\downarrow$
КФ	$0,424 \pm 0,02$	$0,489 \pm 0,02^{**}\uparrow$
ЛДГ	$0,593 \pm 0,07$	$0,665 \pm 0,08^*\uparrow$
МАО Б	$0,411 \pm 0,03$	$0,437 \pm 0,05^*\uparrow$
НАДН-ДГ	$0,413 \pm 0,02$	$0,452 \pm 0,02^*\uparrow$
НАДФН-ДГ	$0,318 \pm 0,01$	$0,304 \pm 0,01$
СДГ	$0,613 \pm 0,06$	$0,671 \pm 0,02^*\downarrow$

* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ при сравнении с контролем;

↑ — статистически значимое увеличение изучаемого параметра;

↓ — статистически значимое снижение изучаемого параметра.

Имеет место фрагментация ядрышка с массовым отделением от него субъединиц рибосом с их последующей конденсацией в различной формы и величины конгломераты в кариоплазме, часто рядом с кариолеммой (см. рис. 17.5). Происходит расширение пери-

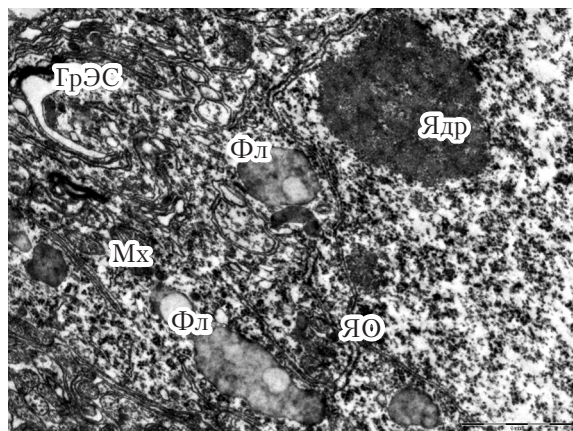


Рис. 17.4. Фрагмент нейрона ядра E2 после хронического потребления алкоголя. Смещение ядрышка (Ядр) на периферию ядра, ядерная оболочка (ЯО), митохондрии (Мх), фаголизосомы (Фл), ГрЭС. Масштабный отрезок равен 1 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 25\,000$

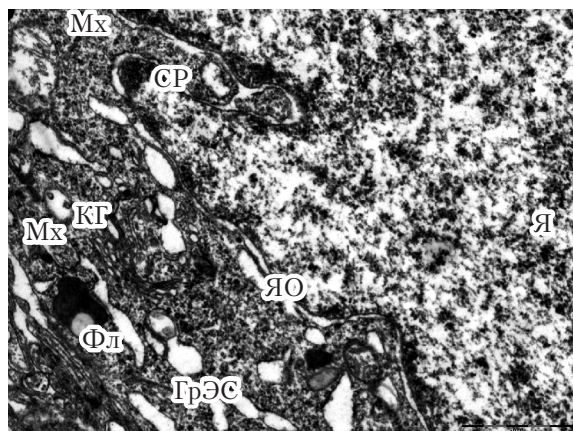


Рис. 17.6. Фрагмент нейрона ядра E2 после хронического потребления алкоголя. Ядро (Я), субъединицы рибосом (СР), ядерная оболочка (ЯО) с расширенным перинуклеарным пространством, деструктивные изменения митохондрий (Мх), фаголизосома (ФЛ), расширение каналов ГрЭС, комплекс Гольджи (КГ). Масштабный отрезок равен 1 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 25\,000$

расширение канальцев и цистерн ГрЭС, которое сопровождается фрагментацией мембран с образованием везикул различного диаметра. Увеличивается количество свободных рибосом и полисом.

Таблица 17.5

Показатели размера и формы и количество митохондрий в цитоплазме гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс после хронического потребления алкоголя (Me \pm IQR)

Параметр	Контроль ($n = 6$)	Опыт ($n = 6$)
Площадь, мкм ²	0,11 \pm 0,10	0,14 \pm 0,07* \uparrow
Периметр, мкм	1,51 \pm 0,37	1,60 \pm 0,77* \uparrow
Формфактор	0,62 \pm 0,06	0,65 \pm 0,07* \uparrow
Фактор элонгации	2,14 \pm 0,52	2,24 \pm 0,75
Относительная площадь, мкм ² /100 мкм ²	11,45 \pm 5,24	11,04 \pm 5,99
Количество, штук/100 мкм ²	90,76 \pm 48,87	93,72 \pm 55,84

* — $p < 0,05$ при сравнении с контролем;

\uparrow — статистически значимое увеличение изучаемого параметра.

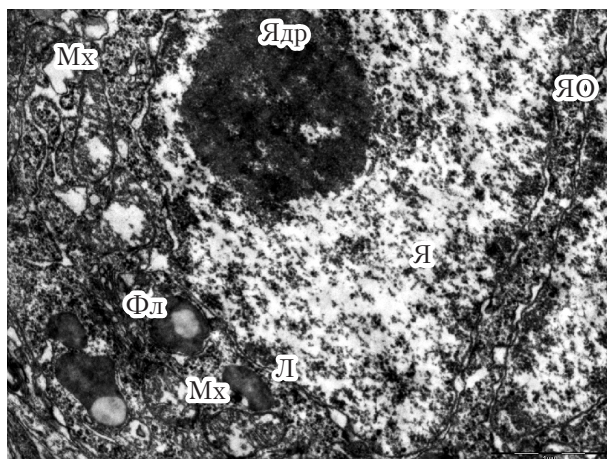


Рис. 17.7. Фрагмент нейрона ядра Е2 после хронического потребления алкоголя. Ядро (Я), ядерная оболочка (ЯО), крупное ядрышко (Ядр), деструктивные изменения митохондрий (Мх), лизосома (Л) и фаголизомы (Фл). Масштабный отрезок равен 1 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 25\,000$

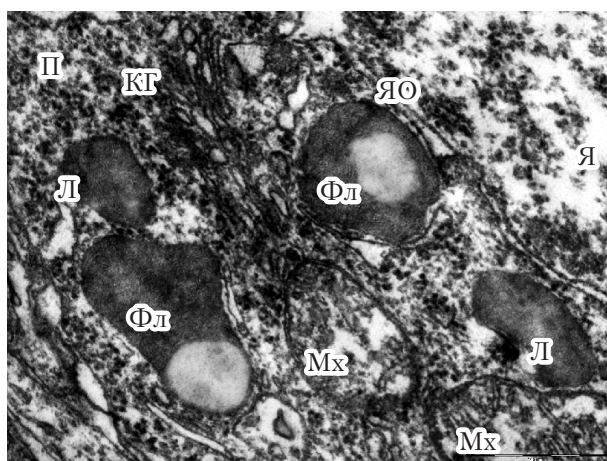


Рис. 17.8. Фрагмент нейрона ядра Е2 после хронического потребления алкоголя. Фрагмент предыдущего нейрона. Деструктивные изменения митохондрий (Мх), лизомы (Л) и фаголизомы (Фл), полисомы (П), комплекс Гольджи (КГ), ядро (Я), ядерная оболочка (ЯО). Масштабный отрезок равен 0,5 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 60\,000$

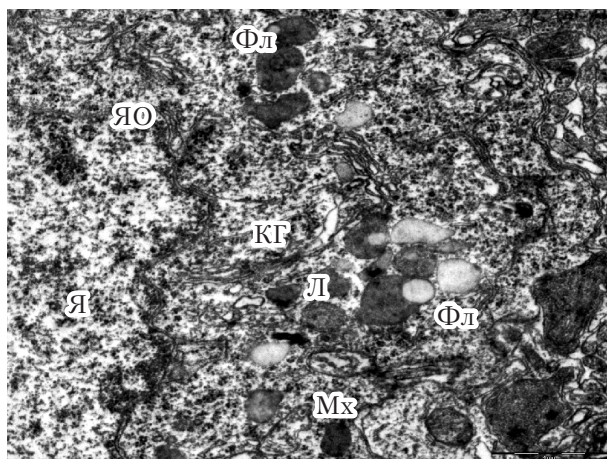


Рис. 17.9. Фрагмент нейрона ядра E2 после хронического потребления алкоголя. Ядро (Я), ядерная оболочка (ЯО), митохондрия (Мх), лизосомы (Л) и фаголизосомы (ФЛ), комплекс Гольджи (КГ). Масштабный отрезок равен 1 мкм. Электронограмма. Ув. $\times 25\,000$

Отмечена гиперплазия и гипертрофия лизосом, то есть наблюдается значительное увеличение их средних размеров, числа и общей относительной площади (на единицу площади цитоплазмы) гистаминергических нейронов (рис. 17.7–17.9; табл. 17.6).

Таблица 17.6

Показатели размера и формы и количество лизосом в цитоплазме гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс после хронического потребления алкоголя ($Me \pm IQR$)

Параметр	Контроль ($n = 6$)	Опыт ($n = 6$)
Площадь, $\mu\text{м}^2$	$0,05 \pm 0,04$	$0,08 \pm 0,04^*\uparrow$
Периметр, мкм	$1,06 \pm 0,17$	$1,16 \pm 0,18$
Формфактор	$0,72 \pm 0,12$	$0,74 \pm 0,09$
Фактор элонгации	$1,60 \pm 0,58$	$1,59 \pm 0,35$
Относительная площадь, $\mu\text{м}^2/100 \mu\text{м}^2$	$1,54 \pm 1,08$	$3,23 \pm 4,37^*\uparrow$
Количество, штук/100 $\mu\text{м}^2$	$10,96 \pm 10,67$	$41,39 \pm 28,21^*\uparrow$

* — $p < 0,05$ при сравнении с контролем;

\uparrow — статистически значимое увеличение изучаемого параметра.

Среднее полудобровольное потребление животными алкоголя на протяжении 6 месяцев составило 2–4 г/кг/сутки, что является для крыс весьма умеренной дозой, значительно ниже их метаболических возможностей.

Хроническое потребление алкоголя на протяжении 6 мес., видимо, приводит к напряженному функционированию гистаминергических нейронов, что отражается в увеличении размеров перикарионов и ядер этих нейронов, сопровождающемся уменьшением их ядерно-цитоплазматического отношения, возрастанием в цитоплазме нейронов активности одних ферментов и снижением активности других (рис. 17.10), развитием существенных ультраструктурных изменений. Уменьшение ядерно-цитоплазматического отношения является одним из признаков повышения функциональной активности изучаемых нейронов.

Увеличение активности МАО Б свидетельствует об усилении процессов окислительного дезаминирования гистамина в гистаминергических нейронах. Снижение уровня активности СДГ и Г-6-Ф-ДГ может указывать на торможение реакций цикла Кребса

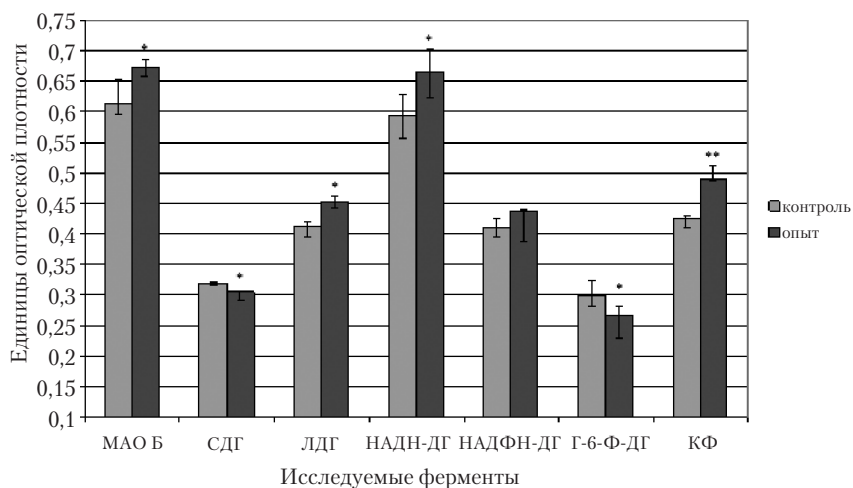


Рис. 17.10. Изменение активности ферментов в цитоплазме гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс после хронического потребления алкоголя. Me ± IQR; * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ по сравнению с контролем

и пентозофосфатного пути соответственно. Повышение активности ЛДГ, вероятно, обусловлено адаптационной перестройкой обменных процессов в этих нейронах за счет активации поздних этапов гликолиза, протекающих в анаэробных условиях и необходимых для компенсаторного поддержания жизнедеятельности клетки. Это свидетельствует о перестройке энергетического метаболизма нейронов в условиях хронического потребления алкоголя, когда основным энергетическим субстратом для мозга вместо глюкозы становится метаболит этанола — ацетат. Повышение активности маркерного фермента лизосом КФ в исследованных нейронах можно рассматривать как проявление усиленной аутофагии, направленной на удаление поврежденных мембран и органелл.

Характер ультраструктурных нарушений в нейронах соответствует выявленным на светооптическом уровне гистохимическим изменениям (снижению активности СДГ, активации маркерного фермента лизосом КФ). Рибосомы в цитоплазме представлены преимущественно свободными рибосомами, что свидетельствует о переключении биосинтеза белка на собственные нужды клетки для восполнения утраченных структур. Все это указывает на мобилизацию энергетических ресурсов и напряженное функционирование гистаминергических нейронов мозга крыс, а также отражает соотношение процессов повреждения и защиты в этих клетках при хронической алкогольной интоксикации.

Шестимесячное потребление этанола вызывает значительные структурные и гистохимические изменения в гистаминергических нейронах гипоталамуса. Это отражает высокую чувствительность этих нейронов к алкоголю и в то же время свидетельствует об их высокой пластичности, наличии адаптационных, компенсаторных процессов, обеспечивающих относительную устойчивость и сохранение жизнедеятельности данного типа клеток даже при таком длительном воздействии алкоголя.

Таким образом, после шестимесячного потребления алкоголя перикарионы и, в меньшей степени, ядра гистаминергических нейронов мозга крысы увеличиваются в размере и становятся более округлыми. Ядерно-цитоплазматическое отношение уменьшается. Хроническое потребление алкоголя приводит к перестройке метаболизма исследованных нейронов: увеличению активности моноаминоксидазы типа Б, дегидрогеназ лактата и НАДН, кислой

фосфатазы, снижению активности дегидрогеназ глюкозо-6-фосфата и сукцината. Хроническое потребление алкоголя приводит к значительным ультраструктурным изменениям в гистаминергических нейронах, которые свидетельствуют об активации ядерного аппарата (гипертрофия и перемещение ядрышек к ядерной оболочке, конденсация субъединиц рибосом вблизи внутренней ядерной мембраны, расширение перинуклеарного пространства и возрастание складчатости кариолеммы), деструкции и гипертрофии различных органелл (эндоплазматической сети, комплекса Гольджи, лизосом, митохондрий), отражающих адаптационные изменения изучаемых нейронов.

Глава 18

ЗАВИСИМОСТЬ ДЕЙСТВИЯ ЭТАНОЛА НА ГИСТАМИНЕРГИЧЕСКИЕ НЕЙРОНЫ МОЗГА ОТ ЕГО ДОЗЫ И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ВВЕДЕНИЯ

Этанол оказывает неодинаковое, а иногда и разнонаправленное воздействие на гистаминергические нейроны мозга крыс в зависимости от дозы и продолжительности его введения. Так, острое (однократное) введение малой дозы этанола (1 г/кг) не вызывает изменения степени хроматофилии нейронов, большая доза (4 г/кг) вызывает небольшое увеличение числа клеток-теней (до 5 %), а субхроническое (семикратное) — резкое увеличение числа клеток-теней (до 9 %) и гипохромных нейронов (до 15 %), хроническое потребление алкоголя приводит к увеличению числа клеток-теней (до 7 %) и гиперхромных нейронов (до 10 %).

Острая, подострая и хроническая алкогольная интоксикация приводят к округлению перикарионов гистаминергических нейронов (в среднем на 4–6 %). Ядра исследуемых клеток при введении наркотической дозы этанола и при хроническом его потреблении также приобретают более округлую форму. Введение малой дозы этанола вызывает уменьшение размеров перикарионов нейронов и их ядер (на 4–17 %), под действием наркотической дозы этанола средние размеры исследуемых клеток существенно не меняются (происходит увеличение минимального диаметра и уменьшение периметра перикарионов гистаминергических нейронов на 3 %), через сутки после семидневной алкогольной интоксикации нейроны сжимаются (на 5–15 %), а после шестимесячного полудобровольного потребления алкоголя увеличиваются (на 15 %). Обнаруженное возрастание сферичности и округление перикарионов и ядер гистаминергических нейронов гипоталамуса после однократного введения большой (наркотической) дозы алкоголя и при хроническом потреблении алкоголя может быть связано с токсическим набуханием и нарушением цитоскелета нейронов. А сжатие

клеток, наблюдаемое нами через 24 ч после последнего, 7-го введения большой дозы этанола, может являться одной из форм адаптации cito- и кариоскелета нейронов к последующему неизбежному токсическому набуханию клеток и их ядер.

Под действием алкоголя происходит значительная перестройка метаболизма гистаминергических нейронов. Характер отмеченных метаболических изменений зависит от дозы и продолжительности введения этанола. Так, однократное введение крысам алкоголя в дозе 1 г/кг массы тела приводит к снижению активности ЛДГ (на 6 %), увеличению активности МАО Б (на 5 %) и дегидрогеназы восстановленного НАДФ (на 9 %). Спустя 1 ч после однократного введения крысам алкоголя в дозе 4 г/кг, когда все животные находятся в состоянии наркотического сна, метаболизм гистаминергических нейронов перестраивается следующим образом: повышается активность МАО Б (на 17 %), ЛДГ (на 12 %) и КФ (на 25 %), а также снижается активность НАДФН-ДГ (на 18 %) и Г-6-Ф-ДГ (на 23 %). Через 6 ч после введения алкоголя в дозе 4 г/кг в цитоплазме нейронов активность всех изученных ферментов повышается. При семикратном воздействии этанола в дозе 4 г/кг через 24 ч после последнего его введения происходит снижение активности СДГ (на 14 %), НАДН-ДГ (на 7 %), НАДФН-ДГ (на 16 %), но возрастание активности ЛДГ (на 23 %) и КФ (на 31 %). Влияние умеренного полудобровольного хронического потребления алкоголя проявляется в увеличении активности МАО Б (на 7 %), дегидрогеназы лактата (на 9 %) и НАДН (на 12 %), кислой фосфатазы (на 18 %), а также в снижении активности дегидрогеназы глюкозо-6-фосфата (на 13 %) и сукцината (на 5 %).

Из выше перечисленного следует отметить:

- любое, кроме малой дозы, введение алкоголя приводит к увеличению активности маркерного фермента лизосом КФ, что указывает на усиление процессов аутофагии, а также фермента ЛДГ, что говорит о возрастании интенсивности протекания анаэробного гликолиза, направленного на компенсаторное поддержание жизнедеятельности клетки в условиях алкогольной интоксикации, когда основным энергетическим субстратом для мозга вместо глюкозы становится метаболит этанола — ацетат;
- при остром и хроническом воздействии алкоголя в цитоплазме гистаминергических нейронов увеличивается активность МАО Б —

ключевого фермента метаболизма гистамина, свидетельствующая об интенсификации процессов окислительного дезаминирования гистамина; подострое воздействие этанола существенных изменений в активности МАО Б не вызывает;

- малая доза алкоголя при однократном введении приводит к возрастанию активности НАДФН-ДГ, указывающей на активизацию пентозофосфатного пути, в то время как после однократного и многократного введения этанола в наркотической дозе активность данного фермента снижается, а при хронической алкогольной интоксикации остается неизменной;

- семикратное введение этанола и хроническое его потребление угнетают активность СДГ — маркерного фермента митохондрий, что свидетельствует о торможении аэробного окисления углеводов в цикле Кребса, в то время как через 6 ч после введения алкоголя в дозе 4 г/кг отмечено повышение активности СДГ;

- при остром воздействии этанола в дозе 4 г/кг через 1 ч после введения и при хроническом его потреблении выявлено снижение активности фермента Г-6-Ф-ДГ, отвечающего за немитохондриальные энергетические процессы, в то время как повышение активности данного фермента отмечено при остром воздействии алкоголя в дозе 4 г/кг через 6 ч после введения;

- наркотическая доза этанола через 6 ч после введения, а также хроническая алкогольная интоксикация приводят к увеличению активности НАДН-ДГ (митохондриального фермента, участвующего в переносе электронов и являющегося важным связующим звеном между конечными продуктами распада углеродного скелета и дыхательной цепью), в то время как семикратное воздействие этанола активность данного фермента угнетает.

Малая доза этанола при однократном введении вызывает умеренное равномерное усиление экспрессии маркера функциональной активности нейронов белка c-Fos, играющего важную роль в нейрональной адаптации и пластичности мозга и маркера крист митохондрий АТФ-синтетазы- β во всех гистаминергических нейронах ядра E2, большая доза при однократном введении — более значительную активацию c-Fos, но лишь в части нейронов, при этом экспрессия АТФ-синтетазы- β в таких нейронах даже снижается. Через 6 ч после введения наркотической дозы этанола в большинстве нейронов возрастает экспрессия c-Fos, что говорит

о нарастании структурно-метаболической активации исследованных нейронов и адаптации их к этанолу.

Алкогольная интоксикация вызывает разнообразные деструктивные и адаптационные ультраструктурные изменения в нейронах гистаминергического ядра E2 гипоталамуса опытных животных, которые в целом соответствуют выявленным на светооптическом уровне гистохимическим изменениям. Так, независимо от дозы и продолжительности введения 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. В случае семидневного введения алкоголя отмечена также вакуолизация ядер, которая, вероятно, возникает в результате развития деструктивных процессов в ядре, хотя, с нашей точки зрения, это является следствием локального расширения перинуклеарного пространства в сочетании с повышенной складчатостью кариолеммы, либо отшнуровывание внутренней мембраны ядерной оболочки.

Наркотическая доза алкоголя и умеренное хроническое его потребление приводят к развитию в клетке гипертрофии эндоплазматической сети и комплекса Гольджи. Острая алкогольная интоксикация, наблюдаемая спустя 1 ч после однократного и многократного введения крысам наркотической дозы алкоголя, вызывает появление миелиноподобных фигур в цитоплазме, не выявленных нами при других воздействиях этанола. Следует отметить, что наличие большого количества миелиноподобных фигур является признаком напряженного функционального состояния клеток и даже их истощения. Кроме того, при семидневном введении алкоголя происходит формирование необычных слоистых структур, образованных концентрически расположенными цистернами комплекса Гольджи или канальцами ГрЭС.

Под действием алкоголя происходит повреждение и нарушение организации митохондрий, проявляющееся их набуханием, фрагментацией и деструкцией их крист. При этом спустя 1 ч после однократного введения крысам алкоголя в дозе 4 г/кг средняя площадь данных органелл увеличивается на 56 %, относительная площадь — на 19 %, происходит увеличение их числа (на 59 %). Спустя 6 ч после введения наркотической дозы алкоголя средняя

площадь митохондрий остается увеличенной (на 22 %). После семидневной алкогольной интоксикации число данных органелл увеличивается на 20 %, а относительная площадь — на 27 %, набухание митохондрий при хронической алкоголизации приводит к увеличению их средней площади на 27 %.

Наиболее однозначно алкоголь приводит к гипертрофии и гиперплазии лизосомального аппарата клеток. Так, через 1 ч после введения наркотической дозы этанола количество лизосом на единицу площади цитоплазмы гистаминергических нейронов увеличивается на 85 %, а их относительная площадь возрастает в 2 раза. Через 6 ч после введения алкоголя в дозе 4 г/кг относительная площадь лизосом увеличивается на 33 %, а число возрастает на 61 %. При семидневной алкогольной интоксикации количество данных органелл на единицу площади цитоплазмы и относительная площадь возрастают в 2 раза, а средняя площадь увеличивается на 50 %. При хроническом потреблении алкоголя число лизосом увеличивается в 4 раза, средняя площадь — на 60 %, а относительная площадь — в 2 раза. Эти данные свидетельствуют об усилении процессов аутофагии, направленных на удаление поврежденных мембран и органелл в гистаминергических нейронах. На светооптическом уровне гипертрофия и гиперплазия лизосомального аппарата отражается в активации маркерного фермента лизосом КФ.

В целом полученные данные указывают на высокую чувствительность гистаминергических нейронов мозга к алкоголю. Это объясняется высокой способностью аминергических нейронов окислять алкоголь и накапливать его токсический метаболит, ацетальдегид. При этом можно сказать, что однократная малая доза этанола умеренно активирует гистаминергические нейроны, не вызывая в них значительных деструктивных изменений. Большая доза этанола вызывает значительные повреждения гистаминергических нейронов, включающие деструкцию многих органелл. Это сопровождается компенсаторной активацией анаэробного гликолиза. При этом функциональная активность части нейронов снижается, что может быть связано с механизмами алкогольиндуцированного сна, который развивается у крыс после введения большой дозы этанола. Через 6 ч после введения 4 г/кг этанола, когда все животные бодрствуют, отмечается нарастание структурно-метаболической активации исследованных нейронов и адаптации их

к этанолу. При этом признаки повреждения нейронов уменьшаются, а морфологические признаки адаптационных изменений нарастают. Семидневная алкогольная интоксикация вызывает деструктивные и адаптационные изменения в нейронах гистаминергического ядра E2, направленные на то, чтобы легче перенести тяжелое токсическое воздействие. Это сопровождается и поведенческой адаптацией животных к алкоголю, что проявляется в уменьшении алкоголинидированного сна. Следует отметить, что гистаминергические нейроны при данной алкогольной интоксикации проявляют достаточную устойчивость, поскольку большинство выявленных ультраструктурных изменений нельзя отнести к признакам необратимой деструкции. Хроническое умеренное потребление алкоголя на протяжении 6 мес. также приводит к напряженному функционированию гистаминергических нейронов, проявлению значительной реактивности структур и ультраструктур исследуемых нервных клеток.

Таким образом, алкоголь вызывает значительные морфофункциональные нарушения гистаминергических нейронов мозга, а также адаптационные, зависящие от дозы и продолжительности введения, структурно-метаболические изменения, направленные на восстановление их функций и являющиеся проявлением защитной реакции организма для поддержания гомеостаза в создавшихся условиях токсического воздействия алкоголя. Они могут отражать участие гистаминергических нейронов мозга в механизмах формирования устойчивости к токсическому и гипнотическому (наркотическому) действию этанола.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Гистаминергические нейроны мозга человека и позвоночных животных выявляются иммуногистохимически на гистидиндекарбоксилазу и гистамин, а также аденозиндиаминазу. Их тела находятся только в одной области мозга — туберомамиллярном гипоталамусе, где образуют пять скоплений — ядер (E1–E5). Нами предложено использовать гистохимический метод выявления активности гистаминметаболизирующего фермента моноаминоксидазы (МАО Б) для выявления перикарионов гистаминергических нейронов мозга. Показано, что у 95 % нейронов всех гистаминергических ядер (E1–E5) гипоталамуса крысы имеют высокую активность МАО Б, а все гистаминиммуноположительные нейроны гипоталамуса крысы являются МАО Б-активными. Следовательно, гистаминергические ядра гипоталамуса являются довольно однородными по нейромедиаторному составу нейронов: абсолютное большинство их (> 95 %) составляют МАО Б-активные гистаминергические нейроны. Вне гистаминергических ядер МАО Б-активные и гистаминиммунопозитивные нейроны в гипоталамусе не встречаются.

Трехмерная компьютерная реконструкция с использованием МАО Б в качестве маркера этих нейронов показала, что гистаминергические ядра мозга крысы пространственно взаимосвязаны между собой, постепенно переходят одно в другое и в совокупности образуют геометрическую фигуру сложной конфигурации, что указывает на пространственное единство популяции гистаминергических нейронов гипоталамуса крысы. Общий объем гистаминергических ядер мозга крысы равен $499,4 \times 10^6 \pm 27,2 \times 10^6$ мкм³ (0,5 мм³). Ядро E2 составляет 40 % этого объема, E4 — 35 %, E3 — 3 %, E5 — 9 %, E1 — 3 %. Плотность расположения нейронов в гистаминергических ядрах убывает в ряду E1–E3 (компактные ядра) > E4 (промежуточное) > E5 (диффузное). Общее количество нейронов в гистаминергических ядрах составляет $37\,162 \pm 2760$. E2 содержит 54 % от этого числа, E3 — 23 %, E4 — 16 %, E1 — 7 %, E5 — 0,32 %.

Популяция гистаминергических нейронов неоднородна по их размерам и форме. Гигантские ($> 11\,000\text{ мкм}^3$) нейроны находятся только в ядрах Е4 и Е5, где они составляют соответственно 10 и 25 % всех нейронов. Максимальный диаметр, периметр, площадь и объем нейронов ядра Е5 значительно больше, чем нейронов остальных гистаминергических ядер. Большинство нейронов Е5 имеют веретеновидную форму. Нейроны ядер Е1–Е3 имеют преимущественно округлую форму. Нейроны Е4 по формфактору и фактору элонгации занимают промежуточное положение.

Нами предложен метод подготовки образцов мозга для электронно-микроскопического исследования с использованием криостатных срезов и гистохимического контроля на МАО Б, позволяющий избирательно изучать ультраструктуру определенных гистаминергических ядер гипоталамуса крысы. Показано, что цитоплазма гистаминергических нейронов богата органеллами. Митохондрии многочисленны, округлой и овальной формы, мелких и средних размеров. Эндоплазматическая сеть и комплекс Гольджи хорошо развиты. Выявляется значительное количество свободных рибосом, лизосом, в том числе и липидолизосом. Часто встречаются мультивезикулярные тельца. Ядра крупные, палочковидной, иногда изогнутой (подковообразной) формы, располагаются в центре перикарионов. Хроматин мелкозернистый, образует скопления в центре и на периферии ядра. Ядрышко компактное, расположено эксцентрично. Ультраструктура гистаминергических нейронов свидетельствует об их высокой метаболической и функциональной активности. В нейропиле гистаминергических нейронов выявляются аксосоматические, аксодендритические и аксо-аксональные синапсы. Синаптические пузырьки в этих синапсах светлые, округлые, крупные.

Метаболический предшественник гистамина, гистидин, свободно поступает из крови в мозг, в гистаминергические нейроны. Только в этих нейронах из аминокислоты L-гистидина с помощью фермента гистидиндекарбоксилазы синтезируется гистамин. Гистаминергические аксоны редко образуют типичные синапсы; вместо этого они выделяют гистамин через варикозы — цепочки утолщений аксонов, содержащих синаптические пузырьки. Поэтому гистамин в большей степени действует на нейроны, глиальные клетки и кровеносные сосуды как местный гормон. Специфические и эффек-

тивные системы обратного захвата гистамина в ЦНС не обнаружены, поэтому единственным путем удаления гистамина после его выделения в терминалях является его катаболизм. Гистамин катаболизируется последовательно тремя ферментами: гистамин-N-метилтрансферазой до теле-метилгистамина (не обладает активностью гистамина, не связывается с гистаминовыми рецепторами), который затем превращается с помощью MAO B в N-теле-метилимидазолацетальдегид, а затем с помощью фермента альдегиддегидрогеназы в N-теле-метилимидазолуксую кислоту. Топографические распределение этих трех гистаминметаболизирующих ферментов в мозге значительно различается. Скорость кругооборота гистамина, являющаяся показателем активности гистаминергической системы, в мозге довольно высока, с максимумом в гипоталамусе. Период полужизни нейронального гистамина в мозге млекопитающих составляет 30–60 мин, что значительно короче, чем в тучных клетках (4 дня).

Нейроны гистаминергических ядер значительно отличаются по показателям окислительного метаболизма от нейронов дофаминергического аркуатного ядра гипоталамуса крысы: в последних активность MAO B отсутствует, сукцинат-, лактат-, НАДН- и НАДФН-дегидрогеназы достоверно ниже, а Г-6-Ф дегидрогеназы выше. Нейроны гистаминергических ядер гипоталамуса крысы метаболически гетерогенны: в разных гистаминергических ядрах гипоталамуса крысы они различаются по активности дегидрогеназ (отражают интенсивность окислительного метаболизма и энергетическое обеспечение процессов биосинтеза). Активность этих ферментов в нейронах ядра E2 максимальна. Нейроны внутри каждого гистаминергического ядра также неоднородны по интенсивности окислительного метаболизма.

Аксоны гистаминергических нейронов (гистаминергические нервные волокна) распространяются во все области головного мозга (эфферентные проекции), где они действуют на нейроны разной нейромедиаторной природы, глиоциты и эндотелий кровеносных капиллиров. Гетерогенное распределение гистаминергических эфферентных волокон в мозге указывает на неодинаковую роль гистаминергической системы в регуляции разных областей и морфофункциональных систем мозга. Полагают, что области мозга с сильной гистаминергической иннервацией в период бодр-

ствования получают постоянные тонические импульсы от гистаминергических нейронов, а области со слабой иннервацией — лишь в моменты резкой активации гистаминергических нейронов. Гистаминергические нейроны гипоталамуса регулируются нейронами многих отделов мозга и имеют многочисленные синаптические контакты с нейронами другой нейромедиаторной природы (афферентная иннервация). На них оканчиваются терминалы, содержащие ацетилхолин, серотонин, ГАМК, глутамин, орексин, галанин, субстанцию Р, нейропептид Y, меланоцитостимулирующий гормон. В цитолемме гистаминергических нейронов находятся рецепторы ко многим нейромедиаторам и гормонам (ацетилхолину, ГАМК, серотонину, NMDA, орексину, галанину). Следовательно, гистаминергические нейроны находятся под мощным, разнообразным нейро-гуморальным контролем и интегрированы в сложные нейрональные сети и морфофункциональные системы мозга.

Гистаминергические нейроны мозга реализуют свое действие через три типа рецепторов: H_1 , H_2 и H_3 . Гистаминовые рецепторы широко и гетерогенно распределены в мозге и принадлежат к семейству рецепторов, связанных с G-белками. Показана высокая плотность распределения всех трех типов гистаминовых рецепторов в коре мозга, гиппокампе, миндалине и гипоталамусе. В целом гистаминовые H_1 - и H_2 -рецепторы оказывают в основном возбуждающее действие на нейроны мозга или потенцируют возбуждающий вход. Напротив, активация гистаминовых H_3 -рецепторов вызывает аутоингибирование гистаминергических нейронов и угнетает выделение нейромедиаторов другими типами клеток. Поэтому результирующее действие гистамина в нейрональной сети разнообразно и трудно предсказуемо.

Гистаминергическая система мозга играет важную роль в регуляции многих функций, систем и реакций организма: сна и бодрствования, пищевого и питьевого поведения, двигательной активности, нейроэндокринной и сердечно-сосудистой систем, кровотока мозга, температуры тела, памяти и обучения, и др. Выделение и кругооборот гистамина усиливаются под действием разнообразных аверсивных и потенциально опасных стимулов: обезвоживание, гипогликемия, изменения кровяного давления, сенсорные конфликты, различные виды стресса. Гистамин участвует в активации симпатической нервной системы, ведущей к увеличению уровня

катехоламинов в крови, выделению АКТГ, β -эндорфина и пролактина гипофизом. Более того, нейрональный гистамин опосредует индуцированное стрессом выделение норадреналина, серотонина и эндогенных опиоидов в мозге. Гистамин подавляет анаболические процессы: потребление пищи, выделение гипофизом гормона роста и тиротропного гормона, поскольку нецелесообразно расходовать энергию на анаболизм в условиях опасности. Гистамин усиливает пробуждение и беспокойство, что необходимо в опасной ситуации, и подавляет болевую чувствительность, позволяя животному справиться с ситуацией, не беспокоясь о имеющихся повреждениях. Наконец, гистаминергическая нейронная система, по-видимому, действует как «паникер», предупреждая положительное подкрепление поведения, которое потенциально ведет к опасности. Поэтому в целом можно предположить роль центрального гистамина как сигнализатора (оповещателя) опасности, а также важного участника ответов на эти опасные стимулы [75]. Гистаминергическая нейронная система достаточно хорошо сохраняет свою организацию в филогенезе, что указывает на ее консервативность и позволяет предположить ее базовую нейромодуляторную функцию.

Центральный гистамин и гистаминергическая система мозга участвуют в механизмах многих нарушений при экспериментальных воздействиях и патогенезе некоторых нервных и психических заболеваний и патологических состояний: мышечная слабость, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, эпилепсия, морфиновая наркомания, алкоголизм и др.

При блокаде гистаминовых H_1 -рецепторов мепирамином происходит уменьшение (на 6–19 %) размеров гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса. Активность основного фермента катаболизма гистамина — MAO B, маркерного фермента лизосомной кислой фосфатазы, и особенно лактатдегидрогеназы, значительно повышалась (на 20–40 %) в цитоплазме гистаминергических нейронов гипоталамуса. Напротив, активность сукцинат-, НАДН-, и особенно НАДФН-дегидрогеназы, в цитоплазме этих нейронов значительно снизилась (на 20–45 %). Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы при этом не менялась. Таким образом, направленность изменения разных путей метаболизма гистаминергических нейронов различается. Полученные данные свидетельствуют о значительных изменениях морфофункционального состояния

гистаминергических нейронов в условиях блокады гистаминовых H_1 -рецепторов.

При введении антагониста гистаминовых H_2 -рецепторов рани-тидина, направленность, а иногда даже выраженность изменений размеров перикарионов и показателей метаболизма гистаминергических нейронов была такой же, как после блокады гистаминовых H_1 -рецепторов. Под действием антагониста H_3 -гистаминовых рецепторов (ауторецепторов) тиоперамида активность дегидрогеназ НАДН-, НАДФН-, глюкозо-6-фосфата, а также МАО Б достоверно снижается, а активность кислой фосфатазы, напротив, возрастает.

При активации гистаминовых H_3 -рецепторов R- α -метилгистамином перикарионы гистаминергических нейронов приобретают более вытянутую форму, а в их цитоплазме происходит снижение активности всех изученных ферментов, за исключением кислой фосфатазы. Это свидетельствует о значительном угнетении энергетических процессов и катаболизма гистамина в этих нейронах и хорошо коррелирует с известными данными об угнетении функции гистаминергических нейронов при активации гистаминовых H_3 -рецепторов (ауторецепторов).

Через двое суток после внутрижелудочкового введения колхицина, вызывающего разрушения цитоскелета и аксонального транспорта, размеры перикарионов гистаминергических нейронов гипоталамуса уменьшаются и они становятся менее округлыми. В их цитоплазме также происходят значительные разнонаправленные изменения активности ферментов (снижение активности дегидрогеназ НАДН и НАДФН, глюкозо-6-фосфата и возрастание активности лактатдегидрогеназы и МАО Б). При введении избытка метаболического предшественника гистамина, гистидина, размеры и форма перикарионов гистаминергических нейронов гипоталамуса существенно не меняются. При этом в их цитоплазме происходит активация дегидрогеназ НАДН, НАДФН, сукцината, глюкозо-6-фосфата, МАО Б и кислой фосфатазы, а активность лактатдегидрогеназы, напротив, снижается. В целом эти изменения отражают активацию энергетического метаболизма и функции гистаминергических нейронов мозга.

После угнетения депринилом ключевого фермента катаболизма гистамина в мозге, МАО Б, размеры гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крыс значительно уменьшаются, активность

дегидрогеназ НАДФН и НАДН, СДГ и Г-6-Ф значительно снижается, а активность лактатдегидрогеназы и кислой фосфатазы возрастают. В целом эти изменения, вероятно, отражают угнетение метаболизма и функции гистаминергических нейронов мозга.

Подобные эксперименты позволяют проследить взаимосвязи между активностью, строением и метаболизмом гистаминергических нейронов мозга и установить критерии оценки их функционального состояния по микроскопическим признакам. Вероятно, уменьшение размеров и сферичности перикарионов нейронов, угнетение МАО Б, дегидрогеназ НАДФН и НАДН, СДГ и Г-6-Ф, но активация ЛДГ в их цитоплазме соответствует угнетению их функции. Напротив, активация МАО Б, дегидрогеназ НАДФН и НАДН, СДГ и Г-6-Ф, но угнетение ЛДГ в их цитоплазме соответствует активации их функции; при этом часто отмечается и активация КФ.

Через 1 ч после однократного введения крысам алкоголя в дозе 1 г/кг гистаминергические нейроны мозга уменьшаются в размерах и округляются (уменьшается фактор элонгации), в их цитоплазме снижается активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) (на 6 %) и увеличивается активность моноаминоксидазы типа Б (МАО Б) (на 5 %) и дегидрогеназы восстановленного НАДФ (на 9 %), возрастает экспрессия с-Fos и АТФ-синтетазы-β. При этом выявляются умеренные ультраструктурные изменения, которые свидетельствуют об активации ядерного аппарата (перемещение ядрышек к ядерной оболочке, конденсация субъединиц рибосом вблизи внутренней ядерной мембраны), набухании части митохондрий, появлении ядрышкоподобных телец в цитоплазме, умеренной гиперплазии лизосом.

Спустя 1 ч после введения крысам алкоголя в дозе 4 г/кг, когда все животные находятся в состоянии наркотического сна, гистаминергические нейроны становятся более сферичными (возрастает формфактор) и округлыми. При этом в их цитоплазме повышается активность МАО Б (на 17 %), ЛДГ (на 12 %) и кислой фосфатазы (КФ) (на 25 %) и снижается активность НАДФН-ДГ (на 18 %) и Г-6-Ф-ДГ (на 23 %), усиливается экспрессия с-Fos в перикарионах одних гистаминергических нейронов гипоталамуса, но ослабляется в других. Наблюдаются признаки активации ядерного аппарата, гипертрофия эндоплазматической сети, комплекса Гольджи,

лизосом (их число и относительная площадь значительно возрастают), набухание (возрастание средней площади на 56 %) и увеличение числа (на 59 %) митохондрий, появление миелоноподобных структур в цитоплазме.

Через 6 ч после введения алкоголя в дозе 4 г/кг, когда все животные уже бодрствуют, в цитоплазме гистаминергических нейронов активность всех изученных ферментов и экспрессия c-Fos повышена. Наблюдаются существенные ультраструктурные изменения: увеличение складчатости кариолеммы и числа ядерных пор, расширение перинуклеарного пространства, гипертрофия митохондрий (их средняя площадь увеличена на 22 %), эндоплазматической сети и лизосом (их относительная площадь увеличена на 33 %, а количество — на 61 %).

Семикратное воздействие этанола в дозе 4 г/кг вызывает тяжелые структурные и метаболические изменения гистаминергических нейронов гипоталамуса, гибель части из них (4 %), увеличение числа гипохромных нейронов (до 15 %) и клеток-теней (до 9 %); нейроны уменьшаются в размерах и округляются. При этом в цитоплазме этих нейронов снижается активность СДГ (на 14 %), НАДН-ДГ (на 7 %), НАДФН-ДГ (на 16 %), но возрастает активность ЛДГ (на 23 %) и КФ (на 31 %). Выявлены деструктивные и приспособительные ультраструктурные изменения в гистаминергических нейронах: повышенная складчатость кариолеммы и расширение перинуклеарного пространства (иногда создают картину вакуолизации ядер), смещение ядрышек к ядерной оболочке, массовое перемещение субъединиц рибосом от ядрышек к кариолемме и в цитоплазму, появление ядрышкоподобных и миелоноподобных структур в цитоплазме, деструкция части митохондрий (их число увеличивается на 20 %, а относительная площадь — на 27 %), увеличение числа (в 2 раза) и размеров (на 50 %) лизосом.

Хроническое (6 мес.) потребление алкоголя приводит к уменьшению числа гистаминергических нейронов в ядре E2 гипоталамуса крыс (на 5 %), увеличению числа гиперхромных нейронов (до 10 %) и клеток-теней (до 7 %). При этом перикарионы нейронов увеличиваются в размере и становятся более округлыми, ядерно-цитоплазматическое отношение уменьшается (на 15 %). Происходит перестройка метаболизма исследованных нейронов: увеличение активности МАО Б (на 7 %), дегидрогеназ лактата (на 9 %)

и НАДН (на 12 %), кислой фосфатазы (на 18 %), снижение активности дегидрогеназ глюкозо-6-фосфата (на 13 %) и сукцината (на 5 %).

Гистаминергическая система мозга влияет на влечение и устойчивость животных к алкоголю, лежащие в основе патогенеза алкоголизма. Возможно, одной из причин повышенного влечения к этанолу является врожденная недостаточность гистаминергической системы мозга. Вероятно, алкоголь ее активирует либо другим путем компенсирует ее недостаточность, восстанавливая баланс нейротрансмиттеров в мозге. Врожденная или фармакологическая недостаточность гистаминергической системы мозга может быть также и одной из причин повышенной чувствительности животных к моторным нарушениям, вызываемым этанолом. Одним из механизмов такого действия центрального гистамина может быть его влияние на окисление этанола в мозге. Антагонисты гистаминовых H_1 -рецепторов мозга оказывают значительное долговременное влияние на свободное поведение животных в открытом поле. При этом они модифицируют и влияние алкоголя на поведение животных.

Гистаминергическая нейронная система, открытая значительно позднее других аминергических систем мозга, может служить примером интенсивных комплексных, междисциплинарных исследований. Они включают в себя классические морфологические методы изучения анатомической организации (ретроградное и антероградное мечение гистаминергических нейронов, методы перерезки мозга на разных уровнях, иммуногистохимия на световом и электронно-микроскопическом уровне, гистохимия, морфометрия, трехмерная компьютерная реконструкция). Широко используются биохимические методы изучения синтеза, катаболизма и кругооборота гистамина в мозге. Для оценки активности и функций гистаминергических нейронов используются классические электрофизиологические методы и арсенал фармакологических воздействий (ингибиторы ферментов метаболизма гистамина, агонисты и антагонисты гистаминовых рецепторов, которые вводятся системно, в желудочки мозга, либо локально, в его микроотделы). При этом создаются все более специфические и эффективные лиганды гистаминовых рецепторов. Кроме того, для выяснения роли гистаминергической системы часто используются методы избирательного разрушения туберомамиллярных ядер гипоталамуса.

К настоящему времени создано много линий нокаутных мышей с генетическими дефектами отдельных компонентов гистаминергической системы мозга, помогающих понять ее роль в организме. В последнее десятилетие для изучения гистаминергической системы мозга все шире используются методы молекулярной биологии, позволяющие раскрыть пути внутриклеточной реализации действия гистамина.

Исследования этой нейронной системы являются хорошим примером международного сотрудничества, кооперации и разделения научного труда между специализированными, профильными лабораториями и центрами разных стран мира. В результате совместных усилий в литературе постепенно накапливается все больше информации обо всех аспектах организации и функционирования гистаминергической системы мозга. Вместе с тем, как и следовало ожидать, по мере углубления наших знаний появляется все больше нерешенных вопросов, и полное понимание роли гистаминергической системы в деятельности мозга представляется еще очень далекой перспективой.

Литература

1. *Автандилов, Г.Г.* Системная стереометрия в изучении патологического процесса / Г.Г. Автандилов, Н.И. Яблучанский, В.Г. Губенко. М. : Медицина, 1981. С. 102–104.
2. *Анищик, О.В.* Центральная гистаминергическая система в норме и при некоторых патологических состояниях / О.В. Анищик, С.М. Зиматкин // Весці Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед-біял. навук. 2002. № 2. С. 94–102.
3. *Вайсфельд, И.Л.* Гистамин в биохимии и физиологии / И.Л. Вайсфельд, Г.Н. Кассиль. М. : Наука, 1981. 277 с.
4. Гистаминергические нейроны мозга крысы: морфометрическое исследование / С.М. Зиматкин, В.Б. Кузнецова, О.Н. Стрик [и др.] // Аспекты клин. анатомии и вопр. конституционально-возрастной и экспериментальной морфологии : сб. тр. науч. конф. / под ред. Е.С. Околоулака. Гродно : ГрГМУ, 2003. С. 74–76.
5. *Емельянчик, С.В.* Изменения нервной системы при холестазе / С.В. Емельянчик, С.М. Зиматкин // Журн. ГрГМУ. 2005. № 4. С. 40–42.
6. *Зиматкин, С.М.* Активность альдегиддегидрогеназы в барьерных структурах мозга / С.М. Зиматкин, Ю.М. Островский // Бюл. эксп. биол. и мед. 1988. № 9. С. 183–184.
7. *Зиматкин, С.М.* Активность альдегиддегидрогеназы в нейронных структурах мозга крысы // Арх. анат., гистол. и эмбриол. 1989. № 1. С. 35–40.
8. *Зиматкин, С.М.* Гистаминергическая нейронная система мозга / С.М. Зиматкин, В.Б. Кузнецова, О.В. Анищик // Морфология. 2003. Т. 123. № 2. С. 97–105.
9. *Зиматкин, С.М.* Гистаминергическая система мозга и алкоголь / С.М. Зиматкин, Е.И. Бонь // Журн. ГрГМУ. 2009. № 1. С. 27–30.
10. *Зиматкин, С.М.* Гистаминергическая система мозга : монография. Гродно : ГрГМУ, 2007.
11. *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.
12. *Зиматкин, С.М.* Гистохимический метод определения активности альдегиддегидрогеназ в центральной нервной системе / С.М. Зиматкин, Ю.М. Островский, В.И. Сатановская // Докл. АН БССР. 1984. № 5. С. 466–469.
13. *Зиматкин, С.М.* Метаболические изменения в гистаминергических нейронах мозга крысы в динамике подпеченочного холестаза /

С.М. Зиматкин, О.В. Барабан, С.В. Емельянчик // Морфология. 2007. Т. 132. № 4. С. 27–30.

14. *Зиматкин, С.М.* Окисление алкоголя в мозге. Гродно : ГрГМУ, 2006. 200 с.

15. *Зиматкин, С.М.* Пространственная организация и морфометрическая характеристика гистаминергических нейронов мозга крысы / С.М. Зиматкин, В.Б. Кузнецова, О.Н. Стрик // Морфология. 2005. № 2. С. 27–30.

16. *Зиматкин, С.М.* Электронно-микроскопическое исследование нейронов гистаминергического ядра E2 гипоталамуса крысы / С.М. Зиматкин, В.Б. Кузнецова, Р.И. Кравчук // Журн. ГрГМУ. 2004. № 1. С. 48–51.

17. *Кузнецова, В.Б.* Активность моноаминоксидазы Б и дегидрогеназ в нейронах гистаминергических ядер мозга крысы / В.Б. Кузнецова, Р.Е. Лис, С.М. Зиматкин // Журн. ГрГМУ. 2004. № 3. С. 18–21.

18. *Кузнецова, В.Б.* Гистохимическая характеристика гистаминергических нейронов мозга крысы / В.Б. Кузнецова, Л.Е. Виноградова, С.М. Зиматкин // Аспекты клин. анатомии и вопр. конституционально-возрастной и экспериментальной морфологии : сб. тр. науч. конф. / под ред. доц. Е.С. Околокулака. Гродно : ГрГМУ, 2003. С. 105–106.

19. *Кузнецова, В.Б.* Количество МАО Б-активных нейронов в гистаминергических ядрах мозга крысы // Материалы науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, посв. памяти акад. Ю.М. Островского. Гродно : ГрГМУ, 2003. С. 118–119.

20. *Кузнецова, В.Б.* Морфометрическая оценка МАО Б-активных нейронов в гипоталамусе крысы // Актуальные вопр. современной медицины и фармации : материалы науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых. Витебск : ВГМУ, 2003. С. 7–9.

21. *Кузнецова, В.Б.* Трехмерная компьютерная реконструкция гистаминергических ядер гипоталамуса / В.Б. Кузнецова, О.Н. Стрик // Материалы науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, посв. памяти акад. Ю.М. Островского. Гродно : ГрГМУ, 2003. С. 119–120.

22. *Пошивалов, В.П.* Экспериментальная психофармакология агрессивного поведения. Л. : Наука и техника, 1986. 175 с.

23. Структурно-метаболическая характеристика гистаминергических нейронов гипоталамуса крысы / С.М. Зиматкин, В.Б. Кузнецова, О.Н. Стрик [и др.] // Тр. ГрГМУ (к 45-летию университета). Гродно : ГрГМУ, 2003. С. 24–26.

24. *Цыдик, В.Ф.* Активность моноаминоксидаз мозга крысы при острой алкогольной интоксикации / В.Ф. Цыдик, С.М. Зиматкин, В.В. Лелевич // Биологически активные соединения в регуляции метаболического гомеостаза : материалы междунар. конф. Гродно, 2000. Т. 2. С. 267–271.

25. *Цыдик, В.Ф.* Региональное и клеточное распределение моноаминоксидаз А и В в мозге крысы / В.Ф. Цыдик, С.М. Зиматкин, В.В. Леле-

вич // Актуальные проблемы мед.-биол. науки : материалы науч. сессии БГУИВ, посв. 25-летию ЦНИЛ. Минск, 1997. Кн. 1, разд. 2. С. 277–282.

26. Цыдик, В.Ф. Топографическое распределение моноаминоксидаз А и Б в мозге крысы / В.Ф. Цыдик, С.М. Зиматкин, В.В. Лелевич // Развитие и морфологические аспекты нейроэндокринных и нейротканых отношений в организме. Тр. молодых ученых: сб. науч. работ / БГМУ. Минск, 1998. С. 68–70.

27. A comparison of protective effects between L-histidine and hypothermia against ischemia-induced neuronal damage in gerbil hippocampus / N. Adachi, K. Liu, A. Motoki [et al.] // Eur. J. Pharmacol. 2006. V. 546. P. 69–73.

28. A detailed mapping of the histamine H₃-receptor and its gene transcripts in rat brain / C. Pillot, A. Heron, V. Cochois [et al.] // Neuroscience. 2002. V. 114. P. 173–193.

29. A histamine-containing neuronal system in human brain / P. Panula, M.S. Airaksinen, U. Pirvola [et al.] // Neuroscience. 1990. V. 34. P. 127–132.

30. Activation of histaminergic H₃-receptors in the rat basolateral amygdala improves expression of fear memory and enhances acetylcholine release / I. Cangioli, E. Baldi, P.F. Mannaioni, C. Bucherelli, M. Blandina, B. Passani // Eur. J. Neurosci. 2002. V. 16. P. 521–528.

31. Activation of ventrolateral preoptic neurons during sleep / J.E. Sherin, P.J. Shiromani, R.W. McCarley [et al.] // Science. 1996. V. 271. P. 216–219.

32. Activity of aldehyde dehydrogenase, aldehyde reductase, and acetylcholine esterase in striatum of rats bearing electrolytic lesions of the medial forebrain bundle / R.J. Duncan, T.L. Sourkes, B.O. Dubrovsky, M. Quik // J. Neurochem. 1975. V. 24. P. 143–147.

33. Acute ethanol treatment upregulates Th1, Th2, and Hdc in larval zebrafish in stable networks / H.A. Puttonen, M. Sundvik, S. Rozov, Y.C. Chen, P. Panula // Front Neural Circuits. 2013. V. 7. P. 102.

34. Adachi, N. Cerebral ischemia and brain histamine // Brain Res. Rev. 2005. V. 50. P. 275–286.

35. Adachi, N. Prevention of brain infarction by postischemic administration of histidine in rats / N. Adachi, K. Liu, T. Arai // Brain Res. 2005. V. 1039. P. 220–223.

36. Adaptive cytoprotection against ethanol-induced small intestinal mucosal injury / P.K. Dinda, S. Wasan, I.T. Beck, P. Kossev // Canadian J. Physiol. & Pharmacol. 1996. V. 74. P. 598–602.

37. Adenosine in the tuberomammillary nucleus inhibits the histaminergic system via A₁-receptors and promotes non-rapid eye movement sleep / Y. Oishi, Z.L. Huang, B.B. Fredholm [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2008. V. 105. P. 19992–19997.

38. *Aebi, H.* Catalase. Methods of Enzymatic Analysis. Basel : Verlag Chemie, 1974. P. 673–684.
39. Aerosolized acetaldehyde, but not ethanol, induces histamine-mediated bronchoconstriction in guinea-pigs / S. Myou, M. Fujimura, T. Bando, M. Saito, T. Matsuda // Clin. & Exp. Allergy. 1994. V. 24. P. 140–143.
40. *Agid, I.* Monoamine oxidase and aldehyde dehydrogenase activity in the striatum of rats after 6-hydroxydopamine lesions of the nigrostriatal pathways / I. Agid, F. Javoy, M.B.H. Iodin // Br. J. Pharmacol. 1973. V. 48. P. 175–178.
41. *Airaksinen, M.S.* Comparative neuroanatomy of the histaminergic system in the brain of the frog *Xenopus laevis* / M.S. Airaksinen, P. Panula // J. Comp. Neurol. 1990. V. 292. № 3. P. 412–423.
42. *Airaksinen, M.S.* Histamine neurons in human hypothalamus: anatomy in normal and Alzheimer diseased brains / M.S. Airaksinen, A. Paetau [et al.] // Neuroscience. 1991. V. 44. № 2. P. 465–481.
43. Aldehyde dehydrogenase and monoamine oxidase in the striatum of cats with nigrostriatal lesions / R.J. Duncan, T.L. Sourkes, R. Boucher, L.J. Poirier, A. Roberge // J. Neurochem. 1972. V. 91. P. 2007–2010.
44. *Alstadhaug, K.B.* Histamine in Migraine and Brain. Headache, 2014.
45. *Alvarez, E.O.* Functional regional distribution of histamine receptors in the rat hippocampus : modulation of learning of an active avoidance response / E.O. Alvarez, A.M. Banzan // J. Neural. Transm. 2001. V. 108. P. 1249–1261.
46. *Alvarez, E.O.* Histaminergic neurons of the ventral hippocampus and the baso-lateral amygdala of the rat: functional interaction on memory and learning mechanisms / E.O. Alvarez, M.B. Ruarte // Behav. Brain Res. 2002. V. 128. № 1. P. 81–90.
47. *Ambroziak, W.* Human aldehyde dehydrogenase: metabolism of putrescine and histamine / W. Ambroziak, R. Pietruszko // Alcohol Clin. and Exp. Res. 11. 1987. P. 528–532.
48. An altered histaminergic innervation of the substantia nigra in Parkinson's disease / O.V. Anichtchik, J.O. Rinne, H. Kalimo, P. Panula // Exp. Neurol. 2000. V. 163. P. 20–30.
49. Anatomical, physiological, and pharmacological characteristics of histidine decarboxylase knock-out mice: evidence for the role of brain histamine in behavioral and sleep-wake control / R. Parmentier, H. Ohtsu, Z. Djebbara-Hannas [et al.] // J. Neurosci. 2002. V. 22. № 17. P. 7695–7711.
50. Antihistamine blockade of alcohol-induced flushing in Orientals // J. Studies of Alcohol. 1988. V. 49. P. 16–20.
51. Anxiety and cognition in female histidine decarboxylase knockout (*Hdc*(-/-)) mice / S.F. Acevedo, T. Pfankuch, H. Ohtsu, J. Raber // Behav. Brain Res. 2006. V. 168. P. 92–99.

52. Anxiolytic-like behavior after lesion of the tuberomammillary nucleus E2-region / C. Frisch, R.U. Hasenohrl, J. Krauth [et al.] // *Exp. Brain Res.* 1998. V. 119. № 2. P. 260–264.

53. *Arai, T.* Topographic atlas of monoamine oxidase – containing neurons in the rat brain studied by an improved histochemical method / T. Arai, H. Kimura, T. Maeda // *Neuroscience*. 1986. V. 19. № 3. P. 905–925.

54. Are tuberomammillary histaminergic neurons involved in CO₂-mediated arousal? / P.L. Johnson, R. Moratalla, S.L. Lightman, C.A. Lowry // *Exp. Neurol.* 2005. V. 193. P. 228–233.

55. Aromatic L-amino acid decarboxylase-immunoreactive neurons in and around the cerebrospinal fluid-containing neurons of the central canal do not contain dopamine or serotonin in the mouse and rat spinal cord / I. Nagatsu, M. Sakai, M. Yoshida, T. Nagatsu // *Brain Res.* 1988. V. 475. P. 91–102.

56. Arousal and differential Fos expression in histaminergic neurons of the ascending arousal system during a feeding-related motivated behaviour / J.L. Valdes, P. Farias, A. Ocampo-Garces [et al.] // *Eur. J. Neurosci.* 2005. V. 21. P. 1931–1942.

57. *Arrang, J.-M.* Auto-inhibition of brain histamine release mediated by a novel class (H₃) of histamine receptor / J.-M. Arrang, M. Garbarg, J.C. Schwartz // *Nature*. 1983. V. 302. P. 832–837.

58. *Arrang, J.-M.* Autoregulation of histamine release in brain by presynaptic H₃-receptors / J.-M. Arrang, M. Garbarg, J.C. Schwartz // *Neuroscience*. 1985. V. 15. P. 553–562.

59. *Auvinen, S.* Development of histamine-immunoreactive neurons in the rat brain / S. Auvinen, P. Panula // *J. Comp. Neurol.* 1988. V. 276. № 2. P. 289–303.

60. *Baraona, E.* Bioavailability of alcohol: role of gastric metabolism and its interaction with other drugs / E. Baraona, R.T. Gentry, C.S. Lieber // *Digestive Diseases*. V. 12. 1994. P. 351–367.

61. *Barbara, A.* Histamine H₁ receptors in rat dorsal raphe nucleus: pharmacological characterisation and linking to increased neuronal activity / A. Barbara, J. Aceves, J.A. Arias-Montano // *Brain Res.* 2002. V. 954. P. 247–255.

62. *Barnes, W.G.* Membrane-bound histamine N-methyltransferase in mouse brain: possible role in the synaptic inactivation of neuronal histamine / W.G. Barnes, L.B. Hough // *J. Neurochem.* 2002. V. 82. P. 1262–1271.

63. *Bealer, S.L.* Central neuronal histamine contributes to cardiovascular regulation // *News Physiol. Sci.* 1999. V. 14. P. 100–105.

64. Behavioral characterization and amounts of brain monoamines and their metabolites in mice lacking histamine H₁ receptors / K. Yanai, L.Z. Son, M. Endou [et al.] // *Neuroscience*. 1998. V. 87. P. 479–487.

65. Behavioral Characterization of mice lacking histamine H₃ receptors / H. Toyota, C. Dugovic, M. Koehl [et al.] // *Mol. Pharmacol.* 2002. V. 62. P. 389–397.
66. *Bell, M.I.* Histamine depolarizes cholinergic interneurons in the rat striatum via a H₁-receptor mediated action / M.I. Bell, P.J. Richardson, K. Lee // *Br. J. Pharmacol.* 2000. V. 131. P. 1135–1142.
67. *Bergman, H.* Intracranial transplantation and survival of tuberomammillary histaminergic neurons / H. Bergman, J.I. Nagy, A.C. Granholm // *Neuroscience.* 1995. V. 64. P. 61–70.
68. *Bhargava, K.P.* Mechanism of histamine-induced antidiuretic response / K.P. Bhargava, V.K. Kulshrestha [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* 1973. V. 47. P. 700–706.
69. *Blier, R.* A cytoarchitectonic atlas of the hypothalamus and hypothalamic third ventricle of the rat / R. Blier, P. Cohn, I.R. Siggelcow // In: *Handbook of Hypothalamus* / Morgane, P.J., and Panksepp, J., Eds. Marcel Dekker. New York. 1979. P. 137–150.
70. Brain histamine in Alzheimer's disease / R. Cacabelos, A. Yamatodani, H. Niigawa, S. Hariguchi, K. Tada, T. Nishimura, H. Wada, L. Brandeis, J. Pearson // *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* 1989. V. 11. P. 353–360.
71. Brain histaminergic system in mast cell-deficient (Ws/Ws) rats: histamine content, histidine decarboxylase activity, and effects of (S) α-fluoromethylhistidine / K. Sugimoto, K. Maeyama, K. Alam, Md., E. Sakurai [et al.] // *J. Neurochem.* 1995. V. 65. P. 791–767.
72. *Brezenoff, H.E.* Temperature Changes following microinjection of histamine into the thermoregulatory centers of the rat / H.E. Brezenoff, P. Lomax // *Experientia.* 1970. V. 26. P. 51–52.
73. *Bristow, L.J.* Effect of chronic intra-accumbens administration of the TRH analogue CG3509 on histamine-induced behaviour in the rat / L.J. Bristow, G.W. Bennett // *Br. J. Pharmacol.* 1988. V. 97. P. 745–752.
74. *Brown, R.E.* On the mechanism of histaminergic inhibition of glutamate release in the rat dentate gyrus / R.E. Brown, H.L. Haas // *J. Physiol.* 1999. V. 515 (Pt. 3). P. 777–786.
75. *Brown, R.E.* The physiology of brain histamine / R.E. Brown, D.R. Stevens, H.L. Haas // *Prog. Neurobiol.* 2001. V. 63. P. 637–672.
76. *Bugajski, J.* The significance of brain histamine and its receptors in opioid stimulation of the pituitary-adrenocortical activity / J. Bugajski, M. Turon, J. Tyton // *Agents Actions Suppl.* 1991. V. 33. P. 77–83.
77. *Burns, T.A.* Circadian variation of brain histamine in goldfish / T.A. Burns, J.P. Huston, R.E. Spieler // *Brain Res. Bull.* 2003. V. 59. № 4. P. 299–301.
78. *Cacabelos, R.* Brain histamine: psychoneuroimmune regulator in physiological and pathological conditions // *J. Nutr. Sci. Vitaminol. Tokyo.* 1992. V. Spec No. P. 573–576.

79. *Cacabelos, R.* Histaminergic system: neuroendocrine function of brain histamine // *Exp. Clin. Pharmacol.* 1990. № 12. P. 341–376.

80. *Cacabelos, R.* Histidine decarboxylase inhibition induced by alpha-fluoromethylhistidine provokes learning-related hypokinetic activity / *R. Cacabelos, X.A. Alvarez* // *Agents Actions.* 1991. V. 33. P. 131–134.

81. Carbodiimide as a tissue fixative in histamine immunohistochemistry and its application in developmental neurobiology / *P. Panula, O. Happola, M.S. Airaksinen, S. Auvinen, A. Virkamaki* // *J. Histochem. Cytochem.* 1988. V. 36. P. 259–262.

82. *Castren, E.* The distribution of histidine decarboxylase mRNA in the rat brain: an in situ hybridization study using synthetic oligonucleotide probes / *E. Castren, P. Panula* // *Neurosci. Lett.* 1990. V. 120. P. 113–116.

83. Cellular expression of mRNAs encoding monoamine oxidases A and B in the rat central nervous system / *J.M. Luque, S.-W. Kwan, G.W. Abell [et al.]* // *J. Comp. Neurol.* 1995. V. 363. P. 665–680.

84. Central histaminergic system and cognition / *M.B. Passani, L. Bacciottini, P.F. Mannaioni, P. Blandina* // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2000. V. 24. P. 107–113.

85. *Chan, A.W.* Racial differences in alcohol sensitivity // *Alcohol and Alcoholism* 21. 1986. P. 93–104.

86. Changes in histamine metabolism in the mouse hypothalamus induced by acute administration of ethanol / *Y. Itoh, M. Nishibori, R. Oishi, K. Saeiki* // *J. Neurochemistry.* 1985. V. 45. P. 1880–1885.

87. Changes in motoric, exploratory and emotional behaviours and neuronal acetylcholine content and 5-HT turnover in histidine decarboxylase-KO mice / *E. Dere, M.A. Souza-Silva, R.E. Spieler, J.S. Lin, H. Ohtsu, H.L. Haas, J.P. Huston* // *Eur. J. Neurosci.* 2004. V. 20. P. 1051–1058.

88. *Chen, Z.* Effects of brain histamine on memory deficit induced by nucleus basalis-lesion in rats / *Z. Chen, Y.J. Shen* // *Acta. Pharmacol. Sin.* 2002. V. 23. № 1. P. 66–70.

89. *Chiavegatto, S.* Life / *S. Chiavegatto, A.G. Nasello, M.M. Bernardi* // *Sci.* 1998. V. 62. P. 1875–1888.

90. *Chudomelka, P.J.* Transport of histidine into synaptosomes of the rat central nervous system / *P.J. Chudomelka, L.C. Murrin* // *J. Neurochem.* 1983. V. 40. P. 830–835.

91. Circadian rhythm of histamine release from the hypothalamus of freely moving rats / *T. Mochizuki, A. Yamatodani, K. Okakura, A. Horii, N. Inagaki, H. Wada* // *Physiol. Behav.* 1992. V. 51. P. 391–394.

92. *Clemmensen, J.O.* The effect of cimetidine on ethanol concentrations in fasting women and men after two different doses of alcohol / *J.O. Clemmensen, P. Ott, L. Sestoft* // *Scandinavian J. Gastroenterol.* 32. 1997. P. 217–220.

93. Cloning and functional expression of the human histamine H_3 receptor / T.W. Lovenberg, B.L. Roland, S.J. Wilson [et al.] // *Mol. Pharmacol.* 1999. V. 55. P. 1101–1107.
94. Coexistence of adenosine deaminase, histidine decarboxylase, and glutamate decarboxylase in hypothalamic neurons of the rat / E. Senba, P.E. Daddona, T. Watanabe [et al.] // *J. Neurosci.* 1985. V. 5. P. 3393–3402.
95. Colchicine induces apoptosis in cerebellar granule cells / E. Bonfoco, S. Ceccatelli, L. Manzo, P. Nicotera // *Exp. Cell. Res.* 1995. May, 218. № 1. P. 189–200.
96. *Collonier, M.* Synaptic patterns on different cell types in the different laminae of the cat visual cortex. An electron microscope study // *Brain Res.* 1969. V. 15. P. 548–551.
97. Comparison of intra-accumbens injection of histamine with histamine H_1 -receptor antagonist chlorpheniramine in effects on reinforcement and memory parameters / R.U. Hasenohrl, A. Kuhlen, C. Frisch, R. Galosi, M.L. Brandao, J.P. Huston // *Behav. Brain Res.* 2001. V. 124. P. 203–211.
98. *Cox, B.* Thermoregulatory effects of histamine / B. Cox, M.D. Green, P. Lomax // *Experientia.* 1976. V. 32. P. 498–500.
99. *Cumming, P.* Cerebral histamine levels are unaffected by MPTP administration in the mouse / P. Cumming, A. Jakubovic, S.R. Vincent // *Eur. J. Pharmacol.* 1989. V. 166. P. 299–301.
100. Decreased brain histamine content in hypocretin/orexin receptor-2 mutated narcoleptic dogs / S. Nishino, N. Fujiki, B. Ripley, E. Sakurai, M. Kato, T. Watanabe, E. Mignot, K. Yanai // *Neurosci. Lett.* 2001. V. 313. P. 125–128.
101. *Deitrich, R.A.* Acetaldehyde: déjà vu du jour // *J. Stud. Alcohol.* 65. 2004. P. 557–572.
102. Depletion of brain histamine produces regionally selective protection against thiamine deficiency-induced lesions in the rat / P.J. Langlais, R.C. McRee, J.A. Nalwalk, L.B. Hough // *Metab. Brain Dis.* 2002. V. 17. P. 199–210.
103. Detailed mapping of the histamine H_2 receptor and its gene transcripts in guinea-pig brain / M.L. Vizueté, E. Traiffort, M.L. Bouthenet [et al.] // *Neuroscience.* 1997. V. 80. P. 321–343.
104. Development of the histaminergic neurons and expression of histidine decarboxylase mRNA in the zebrafish brain in the absence of all peripheral histaminergic systems / K.S. Eriksson, N. Peitsaro, K. Karlstedt, J. Kaslin, P. Panula // *Eur. J. Neurosci.* 1998. V. 10. P. 3799–3812.
105. Differential effect of cannabinoid agonists and endocannabinoids on histamine release from distinct regions of the rat brain / G. Cenni, P. Blandina, K. Mackie, D. Nosi, L. Formigli, P. Giannoni, C. Ballini, C.L. Della, M.P. Francesco, P.M. Beatrice // *Eur. J. Neurosci.* 2006. V. 24. P. 1633–1644.

106. *Dinda, P.K.* Histamine is involved in ethanol-induced jejunal microvasculer injury in rabbits / P.K. Dinda, D.J. Leddin, I.T. Beck // *Gastroenterology*. 1988. V. 95. P. 1227–1233.

107. Dissociated histaminergic neuron cultures from the tuberomammillary nucleus of rats: culture methods and ghrelin effects / D. Bajic, H.Q. VanManh, S. Nakajima, Y. Nakajima // *J. Neurosci. Methods*. 2004. V. 132. P. 177–184.

108. Distinct monoamine oxidase A and B populations in primate brain / K.N. Westlund, R.M. Denney, L.M. Kochersperger, R.M. Rose, C.W. Abell // *Science*. 1985. V. 230. P. 181–183.

109. Distribution and modulation of histamine H₃ receptors in basal ganglia and frontal cortex of healthy controls and patients with Parkinson's disease / O.V. Anichtchik, N. Peitsaro, J.O. Rinne, H. Kalimo, P. Panula // *Neurobiol. Dis.* 2001. V. 8. P. 707–716.

110. Distribution of histaminergic neurons in the brain of the lamprey *Lampetra fluviatilis* as revealed by histamine-immunohistochemistry / L. Brodin, T. Hokfelt, S. Grillner [et al.] // *J. Comp. Neurol.* 1990. V. 292. № 3. P. 435–442.

111. Distribution of the histamine H₂ receptor in monkey brain and its mRNA localization in monkey and human brain / M.A. Honrubia, M.T. Vilaro, J.M. Palacios, G. Mengod // *Synapse*. 2000. V. 38. P. 343–354.

112. Distribution of the histaminergic neuron system in the central nervous system of rats; a fluorescent immunohistochemical analysis with histidine decarboxylase as a marker / T. Watanabe, Y. Taguchi, H., S. Shiosaka [et al.] // *Brain Res.* 1984. V. 295. P. 13–25.

113. Distribution of type B monoamine oxidase immunoreactivity in the cat brain with reference to enzyme histochemistry / K. Kitahama, R.M. Denney, T. Maeda, M. Jouvet // *Neuroscience*. 1991. V. 44. № 1. P. 185–204.

114. Dual localization of histamine in an ascending neuronal pathway and in non-neuronal cells evidenced by lesions in the lateral hypothalamic area / M. Garbarg, G. Barbin, S. Bischoff [et al.] // *Brain Res.* 1976. V. 106. P. 333–348.

115. *Edwards, F.A.* ATP receptor-mediated synaptic currents in the central nervous system / F.A. Edwards, A.J. Gibb, D. Colquhoun // *Nature*. 1992. V. 359. P. 144–147.

116. Effect of cocaine on the histaminergic neuron system in the rat brain / C. Ito, K. Onodera, E. Sakurai, M. Sato, T. Watanabe // *J. Neurochem.* 1997. V. 69. P. 875–878.

117. Effect of neurotoxic lesions in the mammillary bodies on the distribution of brain histamine / H. Niigawa, A. Yamatodani, T. Nishimura, H. Wada, R. Cacabelos // *Brain Res.* 1988. V. 459. P. 183–186.

118. Effects of (S)-alpha-fluoromethylhistidine and (R)-alpha-methylhistamine on locomotion of W/W^v mice / N. Sakai, S. Yamazaki, K. Onodera [et al.] // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1993. V. 46. P. 95–99.
119. Effects of (S)-alpha-fluoromethylhistidine and metoprine on locomotor activity and brain histamine content in mice / N. Sakai, K. Onodera, K. Maeyama, K. Yanai, T. Watanabe // *Life Sci.* 1992. V. 51. P. 397–405.
120. Effects of cimetidine on blood ethanol levels after alcohol ingestion and genetic polymorphisms of σ -alcohol dehydrogenase in Japanese / O. Kawashima, M. Yamauchi, Y. Maezawa, G. Toda // *Alcohol Clin. Exp. Res.* 1996. V. 20. P. 36–39.
121. Effects of histamine H₃ receptor ligands in experimental models of anxiety and depression / C. Perez-Garcia, L. Morales, M.V. Cano [et al.] // *Psychopharmacologie.* 1999. V. 142. P. 215–220.
122. Effects of histamine H₃-receptor ligands on brain monoamine oxidase in various mammalian species / E. Sakurai, E. Sakurai, Y. Tanaka, T. Watanabe, J.S. Singh, L. Oreland // *Brain Res.* 2001. V. 906. P. 180–183.
123. Effects of histamine H₃-receptor ligands on various biochemical indices of histaminergic neuron activity in rat brain / M. Garbarg, M.D. Tuong, C. Gros, J.C. Schwartz // *Eur. J. Pharmacol.* 1989. V. 164. P. 1–11.
124. Effects of intracerebroventricularly infused histamine and selective H₁, H₂ and H₃ agonists on food and water intake and urine flow in Wistar rats / A. Lecklin, P. Etu-Seppala, H. Stark, L. Tuomisto // *Brain Res.* 1998. V. 793. P. 279–288.
125. Effects of lesions of the histaminergic tuberomammillary nucleus on spontaneous sleep in rats / D. Gerashchenko, T.C. Chou, C.A. Blanco-Centurion, C.B. Saper, P.J. Shiromani // *Sleep.* 2004. V. 27. P. 1275–1281.
126. Effects of mizolastine and clemastine on actual driving and psychomotor performance in healthy volunteers / E.E. Vuurman, M.M. Uiterwijk, P. Rosenzweig, J.F. O'Hanlon // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 1994. V. 47. P. 253–259.
127. Effects of neurotoxic lesions in histaminergic neurons on brain tumor necrosis factor levels / X.A. Alvarez, A. Franco, L. Fernandez-Novoa, R. Cabelos // *Agents Actions.* 1994. V. 41. Spec No. P. C70–C72.
128. Effects of the acute and chronic restraint stresses on the central histaminergic neuron system of Fischer rat / C. Ito, H. Shen, H. Toyota [et al.] // *Neurosci. Lett.* 1999. V. 262. P. 143–145.
129. Effects of the histamine H₃ receptor ligands thioperamide and (R)-alpha-methylhistamine on histidine decarboxylase activity of mouse brain / N. Sakai, A. Sakurai, E. Sakurai [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1992. V. 185. P. 121–126.
130. Effects of thioperamide, a histamine H₃ receptor antagonist, on locomotor activity and brain histamine content in mast cell-deficient W/W^v

mice / N. Sakai, K. Onodera, K. Maeyama, K. Yanai, T. Watanabe // *Life Sci.* 1991. V. 48. P. 2397–2404.

131. *Ekstrom, P.* Histamine-immunoreactive neurons in the brain of the teleost *Gasterosteus aculeatus* L. Correlation with hypothalamic tyrosine hydroxylase- and serotonin-immunoreactive neurons / P. Ekstrom, B.I. Holmqvist, P. Panula // *J. Chem. Neuroanat.* 1995. V. 8. № 2. P. 75–85.

132. *Elias, M.S.* Histamine in the insect nervous system: distribution, synthesis and metabolism / M.S. Elias, P.D. Evans // *J. Neurochem.* 1983. V. 41. P. 562–568.

133. Endogenous histamine inhibits the development of morphine-induced conditioned place preference / Y.X. Gong, M. Lv, Y.P. Zhu, Y.Y. Zhu, E.Q. Wei [et al.] // *Acta Pharmacol. Sin.* 2007. V. 28. P. 10–18.

134. *Ericson, H.* Brainstem afferents to the tuberomammillary nucleus in the rat brain with special reference to monoaminergic innervation / H. Ericson, A. Blomqvist, C. Kohler // *J. Comp. Neurol.* 1989. V. 281. P. 169–192.

135. *Ericson, H.* GABA-like immunoreactivity in the tuberomammillary nucleus: an electron microscopic study in the rat / H. Ericson, A. Blomqvist, C. Kohler // *J. Comp. Neurol.* 1991. V. 305. P. 462–469.

136. *Ericson, H.* Morphological analysis of the tuberomammillary nucleus in the rat brain: delineation of subgroups with antibody against L-histidine decarboxylase as a marker / H. Ericson, T. Watanabe, C. Kohler // *J. Comp. Neurol.* 1987. V. 263. P. 1–6.

137. *Ericson, H.* Origin of neuronal inputs to the region of the tuberomammillary nucleus of the rat brain / H. Ericson, A. Blomqvist, C. Kohler // *J. Comp. Neurol.* 1991. V. 305. P. 462–469.

138. *Eriksson, K.S.* Opposite modulation of histaminergic neurons by nociceptin and morphine / K.S. Eriksson, D.R. Stevens, H.L. Haas // *Neuropharmacology.* 2000. V. 39. P. 2492–2498.

139. *Eriksson, K.S.* Serotonin excites tuberomammillary neurons by activation of $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -exchange / K.S. Eriksson, D.R. Stevens, H.L. Haas // *Neuropharmacology.* 2001. V. 40. P. 345–351.

140. *Erwin, V.G.* Brain aldehyde dehydrogenase. Localization, purification, and properties / V.G. Erwin, R.A. Deitrich // *J. Biol. Chem.* 1966. V. 241. P. 3533–3539.

141. Estrogen receptor immunoreactivity is present in the majority of central histaminergic neurons: evidence for a new neuroendocrine pathway associated with luteinizing hormone-releasing hormone-synthesizing neurons in rats and humans / C.S. Fekete, P.H. Strutton, F.R. Cagampang [et al.] // *Endocrinology.* 1999. V. 140. P. 4335–4341.

142. Ethanol inhibits the activity of the B form of monoamine oxidase in human platelet and brain tissue / B. Tabakoff, J.M. Lee, F. De Leon-Jones, P.L. Hoffman // *Psychopharmacology.* 1985. V. 87. P. 152–156.

143. Evidence for the presence of a histaminergic neuron system in the rat brain: an immunohistochemical analysis / T. Watanabe, Y. Taguchi, H. Hayashi [et al.] // *Neurosci. Lett.* 1983. V. 39. P. 249–254.
144. Evidence for the presence of histamine uptake into the synaptosomes of rat brain / E. Sakurai, E. Sakurai, L. Orelund, S. Nishiyama, M. Kato, T. Watanabe, K. Yanai // *Pharmacology*. 2006. V. 78. P. 72–80.
145. Excitation of histaminergic tuberomamillary neurons by thyrotropin-releasing hormone / R. Parmentier, S. Kolbaev, B.P. Klyuch, D. Vandael, J.S. Lin [et al.] // *J. Neurosci.* 2009. V. 29. P. 4471–4483.
146. Excitatory effect of histamine on neuronal activity of rat globus pallidus by activation of H₂ receptors in vitro / K. Chen, J.J. Wang, W.H. Yung, Y.S. Chan, B.K. Chow // *Neurosci. Res.* 2005. V. 53. P. 288–297.
147. Excitatory effect of histamine on rat spinal motoneurons by activation of both H(1) and H(2) receptors in vitro / G.Y. Wu, X.H. Han, Q.X. Zhuang, J. Zhang, W.H. Yung [et al.] // *J. Neurosci. Res.* 2012. V. 90. P. 132–142.
148. Expression of monoamine oxidase B activity in astrocytes of senile plaques / S. Nakamura, T. Kawamata, I. Akiguchi, M. Kameyama, N. Nakamura, H. Kimura // *Acta neuropath.* 1990. V. 80. P. 319–325.
149. Extracellular histamine level in the frontal cortex is positively correlated with the amount of wakefulness in rats / M. Chu, Z.L. Huang, W.M. Qu, N. Eguchi, M.H. Yao, Y. Urade // *Neurosci. Res.* 2004. V. 49. P. 417–420.
150. Facilitation of learning after lesions of the tuberomammillary nucleus region in adult and aged rats / C. Frisch, R.U. Hasenohrl, H.L. Haas [et al.] // *Exp. Brain Res.* 1998. V. 118. P. 447–456.
151. *Fekete, C.* Histamine-immunoreactive neurons of the tuberomammillary nucleus are innervated by alpha-melanocyte stimulating hormone-containing axons. Generation of a new histamine antiserum for ultrastructural studies / C. Fekete, Z. Liposits // *Brain Res.* 2003. V. 969. P. 70–77.
152. Fine structure of histaminergic neurons in the caudal magnocellular nucleus of the rat as demonstrated by immunocytochemistry using histidine decarboxylase as a marker / H. Hayashi, H. Takagi, N. Takeda [et al.] // *J. Comp. Neurol.* 1984. V. 229. P. 233–245.
153. *Fleckenstein, A.E.* Activation of noradrenergic neurons projecting to the diencephalon following central administration of histamine is mediated by H₁ receptors / A.E. Fleckenstein, K.J. Lookingland, K.E. Moore // *Brain Res.* 1994. V. 638. P. 243–247.
154. *Fleckenstein, A.E.* Differential effects of histamine on the activity of hypothalamic dopaminergic neurons in the rat / A.E. Fleckenstein, K.J. Lookingland, K.E. Moore // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1994. V. 268. P. 270–276.
155. *Fogel, W.A.* Liver damage, voluntary alcohol intake and brain histamine / W.A. Fogel, W. Andrzejewski, C. Maslinski // *Agents and Actions.* 1991. V. 33. P. 150–153.

156. Food-induced histaminosis as an epidemiological problem: plasma histamine elevation and haemodynamic alterations after oral histamine administration and blockade of diamine oxidase (DAO) / J. Sattler, D. Hafner, H.-J. Klotter, W. Lorenz, P.K. Wagner // *Agents and Actions*. 1988. V. 23. P. 361–365.

157. *Furukawa, K.* ATP-induced inward current in neurons freshly dissociated from the tuberomammillary nucleus / K. Furukawa, H. Ishibashi, N. Akaike // *J. Neurophysiol.* 1994. V. 71. P. 868–873.

158. Galanin immunoreactivity in hypothalamic neurons: further evidence for multiple chemical messengers in the tuberomammillary nucleus / C. Kohler, H. Ericson, T. Watanabe [et al.] // *J. Comp. Neurol.* 1986. V. 250. P. 58–64.

159. *Garbarg, M.* Histaminergic pathway in rat brain evidenced by lesions of the medial forebrain bundle / M. Garbarg, G. Barbin, J. Feger // *Science*. 1974. V. 186. P. 833–840.

160. *Geller, H.M.* Electrophysiological actions of histamine / H.M. Geller, S.A. Springfield, A.R. Tiberio // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1984. V. 62. P. 715–719.

161. Genetic and molecular identification of a *Drosophila* histidine decarboxylase gene required in photoreceptor transmitter synthesis / M.G. Burg, P.V. Sarthy, G. Kolians [et al.] // *EMBO J.* 1993. V. 12. P. 911–919.

162. *Gray, E.G.* Axo-somatic and axo-dendritic synapses of the cerebral cortex: an electron microscope study // *J. Anat. London*, 1959. V. 93. P. 420–423.

163. Greatly increased numbers of histamine cells in human narcolepsy with cataplexy / J. John, T.C. Thannickal, R. McGregor [et al.] // *Ann. Neurol.* 2013. V. 74. P. 786–793.

164. *Gugler, R.* H₂-antagonists and alcohol. Do they interact? // *Drug Safety*. 1994. V. 10. P. 271–280.

165. H₂ receptor-mediated inhibition of noradrenaline release in the guinea-pig brain / J. Timm, I. Marr, S. Werthwein, S. Elz, W. Schunack, E. Schlicker // *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 1998. V. 357. P. 232–239.

166. H₃ autoreceptors modulate histamine synthesis through calcium/calmodulin- and cAMP-dependent protein kinase pathways / A. Torrent, D. Moreno-Delgado, J. Gomez-Ramirez [et al.] // *Mol. Pharmacol.* 2005. V. 67. P. 195–203.

167. *Haas, H.* The role of histamine and the tuberomammillary nucleus in the nervous system / H. Haas, P. Panula // *Nat. Rev. Neurosci.* 2003. V. 4. № 2. P. 121–130.

168. *Haas, H.L.* Histamine in the nervous system / H.L. Haas, O.A. Sergeeva, O. Selbach // *Physiol. Rev.* 2008. V. 88. P. 1183–1241.

169. *Haas, H.L.* Membrane properties of histaminergic tuberomammillary neurones of the rat hypothalamus in vitro / H.L. Haas, P.B. Reiner // *J. Physiol.* 1988. V. 399. P. 633–646.
170. *Hernandez-Munoz, R.* Reversion by Histamine H₂-receptor antagonists of plasma membrane alterations in ethanol-induced gastritis / R. Hernandez-Munoz, F. Montiel-Ruiz // *Digestive Diseases & Sciences.* 1996. V. 41. P. 2156–2165.
171. *Hess, R.* The cytochemical localization of oxidative enzymes. II. Pyridine nucleotide-linked dehydrogenases / R. Hess, D.G. Scarpelli, A.G.E. Pearse // *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 1958, Lond. V. 174. P. 753–760.
172. Heterogeneity of histaminergic neurons in the tuberomammillary nucleus of the rat / P. Giannoni, M.B. Passani, D. Nosi [et al.] // *Eur. J. Neurosci.* 2009. V. 29. P. 2363–2374.
173. High-frequency oscillation in the hippocampus of the behaving rat and its modulation by the histaminergic system / A. Knoche, H. Yokoyama, A. Ponomarenko [et al.] // *Hippocampus.* 2003. V. 13. P. 273–280.
174. Highly potent and selective ligands for a new class H₃ of histamine receptor / J.-M. Arrang, M. Garbarg, J.C. Lancelot, J.M. Lecomte, H. Pollard, M. Robba, W. Schunack, J.C. Schwartz // *Invest Radiol.* 1988. V. 23. Suppl. 1. P. S130–S132.
175. Highly potent and selective ligands for histamine H₃-receptors / J.-M. Arrang, M. Garbarg, J.C. Lancelot, J.M. Lecomte, H. Pollard, M. Robba, W. Schunack, J.C. Schwartz // *Nature.* V. 327. 1987. P. 117–123.
176. *Hill, S.J.* Distribution, properties, and functional characteristics of three classes of histamine receptor // *Pharmacol. Rev.* 1990. V. 42. P. 45–83.
177. Histamine elicits neuronal excitatory response of red nucleus in the rat via H₂ receptors in vitro / K. Chen, J.N. Zhu, H.Z. Li, J.J. Wang // *Neurosci. Lett.* 2003. V. 351. P. 25–28.
178. Histamine evokes excitatory response of neurons in the cerebellar dentate nucleus via H₂ receptors / Y.T. Qin, S.H. Ma, Q.X. Zhuang [et al.] // *Neurosci. Lett.* 2011. V. 502. P. 133–137.
179. Histamine excites noradrenergic neurons in locus coeruleus in rats / T.M. Korotkova, O.A. Sergeeva, A.A. Ponomarenko, H.L. Haas // *Neuropharmacology.* 2005. V. 49. P. 129–134.
180. Histamine H₂-receptor antagonist ranitidine protects against neural death induced by oxygen-glucose deprivation / C. Malagelada, X. Xifro, N. Badiola, J. Sabria, J. Rodriguez-Alvarez // *Stroke.* 2004. V. 35. P. 2396–2401.
181. Histamine immunoreactive neurons in the brain stem of the rabbit / M. Iwase, I. Homma, S. Shioda, Y. Nakai // *Brain Res. Bull.* 1993. V. 32. P. 267–272.
182. Histamine immunoreactivity in brain of the rats genetically selected for differences in sensitivity to ataxic-hypnotic effect of ethanol. Abstracts

of the XXIX Annual Meeting of the European Histamine Research Society / V.F. Tsydik, S.M. Zimatkin, O.V. Anichtchik [et al.]. Rome, 2000. P. 53.

183. Histamine improves rat rota-rod and balance beam performances through H₂ receptors in the cerebellar interpositus nucleus / Y.N. Song, H.Z. Li, J.N. Zhu, C.L. Guo, J.J. Wang // *Neuroscience*. 2006. V. 140. P. 33–43.

184. Histamine influences body temperature by acting at H₁ and H₃ receptors on distinct populations of preoptic neurons / E.G. Lundius, M. Sanchez-Alavez, Y. Ghochani [et al.] // *J. Neurosci*. 2010. V. 30. P. 4369–4381.

185. Histamine infusion induces a selective dopaminergic neuronal death along with an inflammatory reaction in rat substantia nigra / M.L. Vizuete, M. Merino, J.L. Venero [et al.] // *J. Neurochem*. 2000. V. 75. P. 540–552.

186. Histamine innervation and activation of septohippocampal GABAergic neurones: involvement of local ACh release / C. Xu, K.A. Michelsen, M. Wu [et al.] // *J. Physiol*. 2004. V. 561. P. 657–670.

187. Histamine is required during neural stem cell proliferation to increase neuron differentiation / G. Rodriguez-Martinez, I. Velasco, G. Garcia-Lopez, K.H. Solis, H. Flores-Herrera [et al.] // *Neuroscience*. 2012. V. 216. P. 10–17.

188. Histamine monoclonal antibody for brain immunocytochemistry / K. Fujiwara, Y. Masuyama, S. Yagisawa [et al.] // *J. Biochem. Tokyo*, 1999. V. 126. P. 503–509.

189. Histamine neurons in the tuberomamillary nucleus: a whole center or distinct subpopulations / P. Blandina, L. Munari, G. Provensi, M.B. Pasani // *Front Syst. Neurosci*. 2012. V. 6. P. 33.

190. Histamine promotes rat motor performances by activation of H₂ receptors in the cerebellar fastigial nucleus / Y.C. He, G.Y. Wu, D. Li, B. Tang, B. Li [et al.] // *Behav Brain Res*. 2012. V. 228. P. 44–52.

191. Histamine protects against NMDA-induced necrosis in cultured cortical neurons through H receptor/cyclic AMP/protein kinase A and H receptor/GABA release pathways / H. Dai, Z. Zhang, Y. Zhu, Y. Shen, W. Hu, Y. Huang, J. Luo, H. Timmerman, R. Leurs, Z. Chen // *J. Neurochem*. 2006. V. 96. P. 1390–1400.

192. Histamine receptor antagonism of intolerance to alcohol in the oriental population / N.S. Miller, D.W. Goodwin, F.C. Jones [et al.] // *J. Nerv. Ment. Dis*. 1987. V. 175. P. 661–667.

193. Histamine release in the basal forebrain mediates cortical activation through cholinergic neurons / J.C. Zant, S. Rozov, H.K. Wigren, P. Panula, T. Porkka-Heiskanen // *J. Neurosci*. 2012. V. 32. P. 13244–13254.

194. Histamine, histidine decarboxylase and histamine-N-methyltransferase in brain areas of spontaneously hypertensive rats / H. Prast, V. Gujrati, S. Walser, A. Philippu // *Naunyn Schmiedeberg Arch. Pharmacol*. 1988. V. 338. P. 573–576.

195. Histamine-containing nerve fibers innervate human cerebellum / P. Panula, H. Takagi, N. Inagaki [et al.] // *Neurosci. Lett.* 1993. V. 160. P. 53–56.
196. Histamine-immunoreactive nerve fibers in the rat brain / P. Panula, U. Pirvola, S. Auvinen [et al.] // *Neuroscience*. 1989. V. 28. P. 585–610.
197. Histamine-immunoreactive neurons in the mouse and rat suprachiasmatic nucleus / K.A. Michelsen, A. Lozada, J. Kaslin [et al.] // *Eur. J. Neurosci.* 2005. V. 22. P. 1997–2004.
198. Histaminergic activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis / A. Kjaer, P.J. Larsen, U. Knigge [et al.] // *Endocrinology*. 1994. V. 135. P. 1171–1177.
199. Histaminergic and catecholaminergic interactions in the central regulation of vasopressin and oxytocin secretion / U. Knigge, E. Willems, A. Kjaer [et al.] // *Endocrinology*. 1999. V. 140. P. 3713–3719.
200. Histaminergic axons in the neostriatum and cerebral cortex of the rat: a correlated light and electron microscopic immunocytochemical study using histidine decarboxylase as a marker / H. Takagi, Y. Morishima, T. Matsuyama [et al.] // *Brain Res.* 1986. V. 364. P. 114–123.
201. Histaminergic control of energy balance in rats / T. Sakata, K. Ookuma, K. Fujimoto, K. Fukagawa, H. Yoshimatsu // *Brain Res. Bull.* 1991. V. 27. P. 371–375.
202. Histaminergic mechanisms for modulation of memory systems / C.A. Kohler, W.C. da Silva, F. Benetti, J.S. Bonini // *Neural Plast.* 2011. V. 328602.
203. Histaminergic nerve fibers in the median eminence and hypophysis of rats demonstrated immunocytochemically with antibodies against histidine decarboxylase and histamine / N. Inagaki, A. Yamatodani, K. Shinoda [et al.] // *Brain Res.* 1988. V. 439. P. 402–405.
204. Histaminergic neuron system: morphological features and possible functions / H. Wada, N. Inagaki, N. Itowi, A. Yamatodani // *Agents Actions Suppl.* 1991. V. 33. P. 11–27.
205. Histaminergic neurons protect the developing hippocampus from kainic acid-induced neuronal damage in an organotypic coculture system / T.K. Kukko-Lukjanov, S. Soini, T. Taira, K.A. Michelsen [et al.] // *J. Neurosci.* 2006. V. 26. P. 1088–1097.
206. Histaminergic projection from the premammillary and posterior hypothalamic region to the caudate-putamen complex in the rat / H.W.M. Steinbusch, Y. Saurem, H. Groenewegen, T. Watanabe, Y. Mulder // *Brain Res.* 1986. V. 368. P. 389–393.
207. Histaminergic transmission in the mammalian brain / J.C. Schwartz, J.-M. Arrang, M. Garbarg, H. Pollard, M. Ruat // *Physiol. Rev.* 1991. V. 71. P. 1–51.

208. Histidine induces lipolysis through sympathetic nerve in white adipose tissue / H. Yoshimatsu, K. Tsuda, A. Nima [et al.] // *Eur. J. Clin. Invest.* 2002. V. 32. № 4. P. 236–241.

209. Histidine, histamine, and the neuroregulation of food intake: a review and hypothesis / L.P. Mercer, S.J. Dodds, M.D. Weber, J.D. Dunn // *Nutrition.* 1990. V. 6. P. 273–277.

210. *Hough, L.B.* Cellular localization and possible functions for brain histamine: recent progress // *Prog. Neurobiol.* 1988. V. 30. P. 469–505.

211. *Hough, L.B.* Histamine turnover in regions of rat brain / L.B. Hough, J.K. Khandelwal, J.P. Green // *Brain Res.* 1984. V. 291. P. 103–109.

212. *Hu, W.W.* Role of histamine and its receptors in cerebral ischemia / W.W. Hu, Z. Chen // *ACS Chem Neurosci.* 2012. V. 3. P. 238–247.

213. *Huang, Z.L.* Arousal effect of orexin A depends on activation of the histaminergic system // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2001. V. 98. P. 9965–9970.

214. *Huang, Z.L.* Prostaglandins and adenosine in the regulation of sleep and wakefulness / Z.L. Huang, Y. Urade, O. Hayaishi // *Curr. Opin. Pharmacol.* 2006.

215. Human brain: aldehyde dehydrogenase activity and isozyme distribution in different areas / R. Pietruszko, J. Meier, L.F. Major [et al.] // *Alcohol.* 1984. V. 1. P. 363–367.

216. *Huston, J.P.* The tuberomammillary nucleus projections in the control of learning, memory and reinforcement processes: evidence for an inhibitory role / J.P. Huston, U. Wagner, R.U. Hasenohrl // *Behav. Brain Res.* 1997. V. 83. P. 97–105.

217. Hyperleptinemia, visceral adiposity, and decreased glucose tolerance in mice with a targeted disruption of the histidine decarboxylase gene / A.K. Fulop, A. Foldes, E. Buzas [et al.] // *Endocrinology.* 2003. V. 144. P. 4306–4314.

218. Hypothalamic histamine neurons activate lipolysis in rat adipose tissue / K. Tsuda, H. Yoshimatsu, A. Nijima [et al.] // *Exp. Biol. Med.* Maywood, 2002. V. 227. P. 208–213.

219. Identification of rat H₃ receptor isoforms with different brain expression and signalling properties / G. Drutel, N. Peitsaro, K. Karlstedt, K. Wieland, M.J. Smit, H. Timmerman, P. Panula, R. Leurs // *Mol. Pharmacol.* 2001. V. 59. № 1. P. 1–8.

220. *Ikarashi, Y.* Experimental anxiety induced by histaminergics in mast cell-deficient and congenitally normal mice / Y. Ikarashi, M. Yuzurihara // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2002. V. 72. P. 437–441.

221. *Imaizumi, M.* Effects of betahistine, a histamine H₁ agonist and H₃ antagonist, in a light/dark test in mice. *Methods Find Exp.* / M. Imaizumi, S. Miyazaki, K. Onodera // *Clin. Pharmacol.* 1996. V. 18. P. 19–24.

222. Impaired locomotor activiti and exploratory behavior in mice lacking histamine H₁ receptors / I. Inoue, K. Yanai, D. Kitamura [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1996. V. 93. P. 13316–13320.
223. Increased brain histamine in an alcohol-preferring rat line and modulation of ethanol consumption by H(3) receptor mechanisms / M. Lintunen, P. Hyytia, T. Sallmen [et al.] // *FASEB J.* 2001. V. 15. P. 1074–1076.
224. Increased methamphetamine-induced locomotor activity and behavioral sensitization in histamine-deficient mice / Y. Kubota, C. Ito, E. Sakurai [et al.] // *J. Neurochem.* 2002. V. 83. P. 837–845.
225. Influence of ethanol on histamine metabolism and release in the rat brain. II. Regions of the histaminergic pathway / N. Subramanian, W. Schinzel, P. Mitznegg, C.-J. Estler // *Pharmacology.* 1980. V. 20. P. 42–45.
226. Inhibition of brain histamine synthesis increases food intake and attenuates vasopressin response to salt loading in rats / L. Tuomisto, A. Yamatodani, J. Jolkkonen [et al.] // *Methods Find Exp. Clin. Pharmacol.* 1994. V. 16. P. 355–359.
227. Inhibition of cortical acetylcholine release and cognitive performance by histamine H₃ receptor activation in rats / P. Blandina, M. Giorgetti, L. Bartolini [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* 1996. V. 119. № 8. P. 1656–1664.
228. Inhibitors of histamine methylation in brain promote formation of imidazoleacetic acid, which interacts with GABA receptors / G.D. Prell, A.M. Morrishow, E. Duoyon, W.S. Lee // *J. Neurochem.* 1997. V. 68. P. 142–151.
229. Innervation of histaminergic tuberomammillary neurons by GABAergic and galaninergic neurons in the ventrolateral preoptic nucleus of the rat / J.E. Sherin, J.K. Elmquist, F. Torrealba [et al.] // *J. Neurosci.* 1998. V. 18. P. 4705–4721.
230. Interactions between neuronal histamine and halothane anesthesia in rats / T. Mammoto, Y. Yamamoto, K. Kagawa [et al.] // *J. Neurochem.* 1997. V. 69. P. 406–411.
231. International union of pharmacology. XIII. Classification of histamine receptors / S.J. Hill, C.R. Ganellin, H. Timmerman [et al.] // *Pharmacol. Rev.* 1997. V. 49. № 3. P. 253–278.
232. Investigation of the mechanism of alcohol-induced bronchial asthma / T. Shimoda, S. Kohno, A. Tacao [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* 1996. V. 97. P. 74–84.
233. Involvement of histaminergic neurons in arousal mechanisms demonstrated with H₃-receptor ligands in the cat / J.-S. Lin, K. Sakai, G. Vanni-Mercier [et al.] // *Brain Res.* 1990. V. 523. P. 325–330.
234. Involvement of hypothalamic histamine H₁ receptor in the regulation of feeding rhythm and obesity / T. Masaki, S. Chiba, T. Yasuda [et al.] // *Diabetes.* 2004. V. 53. P. 2250–2260.

235. Involvement of the brain histaminergic system in addiction and addiction-related behaviors: a comprehensive review with emphasis on the potential therapeutic use of histaminergic compounds in drug dependence / C. Brabant, L. Alleva, E. Quertemont, E. Tirelli // *Prog. Neurobiol.* 2010. V. 92. P. 421–441.
236. *Jarisch, R.* Wine and headache / R. Jarisch, F. Wantke // *Int. Arch. Allergy Immunol.* 1996. V. 110. P. 7–12.
237. *Jin, C.Y.* The laminar histamine receptor system in human prefrontal cortex suggests multiple levels of histaminergic regulation / C.Y. Jin, P. Panula // *Neuroscience.* 2005. V. 132. P. 137–149.
238. *Jones, H.* Histamine-induced excitation of spontaneously active medullary neurones in the rat brain is mediated by H_2 -receptors. A microiontophoretic study using H_1 - and H_2 -agonists and antagonists / H. Jones, P.B. Bradley, F. Roberts // *Neuropharmacology.* 1985. V. 24. P. 1231–1239.
239. *Kalivas P.W.* Histamine-induced arousal in the conscious and pentobarbital-pretreated rat // *J. Pharmacol. and Exp. Ther.* 1982. V. 222. № 1. P. 37–42.
240. *Kaslin, J.* Comparative anatomy of the histaminergic and other aminergic systems in zebrafish (*Danio rerio*) / J. Kaslin, P. Panula // *J. Comp. Neurol.* 2001. V. 440. № 4. P. 342–377.
241. *Kinnunen, N.* Histamine and tyrosine hydroxylase in developing rat brain / N. Kinnunen, P. Panula // *Agents Actions.* 1991. V. 33. № 1–2. P. 108–111.
242. *Korotkova, T.M.* Histamine excites GABAergic cells in the rat substantia nigra and ventral tegmental area in vitro / T.M. Korotkova, H.L. Haas, R.E. Brown // *Neurosci. Lett.* 2002. V. 320. P. 133–136.
243. Lack of a precursor-product relationship between histamine and its metabolites in brain after histidine loading / G.D. Prell, L.B. Hough, J. Khandelwal, J.P. Green // *J. Neurochem.* 1996. V. 67. P. 1938–1944.
244. Lack of interaction between two antihistamines, mizolastine and cetirizine, and ethanol in psychomotor and driving performance in healthy subjects / A. Patat, D. Stubbs, C. Dunmore, N. Ulliac, B. Sexton, I. Zieleniuk, A. Irving, W. Jones // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 1995. V. 48. P. 143–150.
245. Lesion of the tuberomammillary nucleus E2-region attenuates postictal seizure protection in rats / C.L. Jin, Z.B. Zhuge, D.C. Wu [et al.] // *Epilepsy Res.* 2007. V. 73. P. 250–258.
246. Lesion of the tuberomammillary nucleus E2-region attenuates postictal seizure protection in rats / C.L. Jin, Z.B. Zhuge, D.C. Wu [et al.] // *Epilepsy Res.* 2006.
247. *Leurs, R.* Molecular pharmacological aspects of histamine receptors / R. Leurs, M.J. Smit, H. Timmerman // *Pharmacol. Ther.* 1995. V. 66. P. 413–463.

248. *Levitt, P.* Immunocytochemical demonstration of monoamine oxidase B in brain astrocytes and serotonergic neurons / P. Levitt, J.E. Pintar, X.O. Breakefield // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1982. V. 79. P. 6385–6389.
249. *Lin, G.W.* Gestational ethanol consumption on tissue amino acid levels: decreased free histidine and tryptophan in fetal tissues with concomitant increase in urinary histamine excretion / G.W. Lin, T.Y. Lin, L. Jin // Alcoholism: Clin. Exp. Res. 1990. V. 14. P. 430–437.
250. *Lin, J.-S.* Evidence for histaminergic arousal mechanisms in the hypothalamus of cat / J.-S. Lin, K. Sakai, M. Jouvet // Neuropharmacology. 1988. V. 27. № 2. P. 111–122.
251. *Lintunen, M.* Brain histamine in alcohol-related behaviour and experimental epilepsy. Academic dissertation // Abo. Finland, 2001. P. 76.
252. Localization of histamine H₄ receptors in the central nervous system of human and rat / M.I. Strakhova, A.L. Nikkel, A.M. Manelli [et al.] // Brain Res. 2009. V. 1250. P. 41–48.
253. Low brain histamine content affects ethanol-induced motor impairment / M. Lintunen, K. Raatesalmi, T. Sallmen [et al.] // Neurobiol. Diseases. 2002. V. 9. P. 94–105.
254. *MacMath, T.L.* Alcohol and gastrointestinal bleeding // Emergency Med. Clin. North Am. 1990. V. 8. P. 859–872.
255. *Manning, K.A.* The distribution of histaminergic axons in the superior colliculus of the cat / K.A. Manning, D.J. Uhrlich // Neuroscience. 1993. V. 55. P. 1075–1084.
256. *Martres, M.P.* Histamine synthesis in the developing rat brain: evidence for a multiple compartmentation / M.P. Martres, M. Baudry, J.C. Schwartz // Brain Res. 1975. V. 83. P. 261–275.
257. *Masaki, T.* Molecular mechanisms of neuronal histamine and its receptors in obesity / T. Masaki, H. Yoshimatsu // Curr. Mol. Pharmacol. 2009. V. 2. P. 249–252.
258. *Masaki, T.* Neuronal histamine and its receptors in obesity and diabetes / T. Masaki, H. Yoshimatsu // Curr. Diabetes. Rev. 2007. V. 3. P. 212–216.
259. *Masaki, T.* The hypothalamic H₁ receptor: a novel therapeutic target for disrupting diurnal feeding rhythm and obesity / T. Masaki, H. Yoshimatsu // Trends Pharmacol. Sci. 2006. V. 27. P. 279–284.
260. *Matzen, S.* Brain regulation of renin secretion involves central histaminergic neurons / S. Matzen, U. Knigge, J. Warberg // Neuroendocrinology. 1990. V. 52. P. 175–180.
261. *Mazurkiewicz-Kwilecki, I.M.* Effect of stress on brain histamine / I.M. Mazurkiewicz-Kwilecki, H. Taub // Pharmacol. Biochem. Behav. 1978. V. 9. P. 465–468.
262. *McGinty, D.* The sleep-wake switch: A neuronal alarm clock. / D. McGinty, R. Szymusiak // Nat. Med. 2000. V. 6. P. 510–511.

263. *Meltzer, E.O.* Comparative safety of H₁ antihistamines // *Ann. Allergy*. 1991. V. 67. P. 625–633.
264. *Messiha, F.S.* Behavioral and metabolic aspects of cimetidine-ethanol interaction // *Brain Res. Bull.* 1989. V. 23. P. 273–276.
265. Methamphetamine and brain histamine: a study using histamine-related gene knockout mice / K. Iwabuchi, Y. Kubota, C. Ito, T. Watanabe [et al.] // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2004. V. 1025. P. 129–134.
266. *Mikkelsen, J.D.* Histamine-immunoreactive nerve fibers in the rat pineal gland: evidence for a histaminergic central innervation / J.D. Mikkelsen, P. Panula, M. Moller // *Brain Res.* 1992. V. 597. P. 200–208.
267. *Miklos, I.H.* Functional heterogeneity of the responses of histaminergic neuron subpopulations to various stress challenges / I.H. Miklos, K.J. Kovacs // *Eur. J. Neurosci.* 2003. V. 18. P. 3069–3079.
268. *Millonig, G.* Advantages of a phosphate buffer for OsO₄ solutions in fixation // *J. Appl. Physics.* 1961. V. 32. P. 1637–1643.
269. Modifying effects of histamine on circadian rhythms and neuronal excitability / L. Tuomisto, V. Lozeva, A. Valjakka, A. Lecklin // *Behav. Brain Res.* 2001. V. 124. P. 129–135.
270. Modulation of histamine H₃ receptors in the brain of 6-hydroxydopamine-lesioned rats / O.V. Anichtchik, M. Huotari, N. Peitsaro, J.W. Haycock, P.T. Mannisto, P. Panula // *Eur. J. Neurosci.* 2000. V. 12. P. 3823–3832.
271. Modulation of neurotransmitter release via histamine H₃ heteroreceptors / E. Schlicker, B. Malinowska, M. Kathmann, M. Gothert // *Fundam. Clin. Pharmacol.* 1994. V. 8. P. 128–137.
272. Modulation of the histaminergic system and behaviour by alpha-fluoromethylhistidine in zebrafish / N. Peitsaro, J. Kaslin, O.V. Anichtchik [et al.] // *J. Neurochem.* 2003. V. 86. № 2. P. 432–441.
273. Molecular biology and pharmacology of histamine receptor subtypes / M. Ruat, E. Traiffort, R. Leurs [et al.] // *Clin. Neuropharmacol.* 1992. V. 15, Suppl. 1. Pt A. P. 149A–150A.
274. Molecular mechanism of histamine clearance by primary human astrocytes / T. Yoshikawa, F. Naganuma, T. Iida, T. Nakamura, R. Harada [et al.] // *Glia.* 2013. V. 61. P. 905–916.
275. *Molina-Hernandez, A.* Histamine in brain development / A. Molina-Hernandez, N.F. Diaz, J.A. Arias-Montano // *J. Neurochem.* 2012. V. 122. P. 872–882.
276. *Monti, J.M.* Involvement of histamine in the control of the waking state // *Life Sci.* 1993. V. 53. P. 1331–1338.
277. *Morini, G.* (R)- α -methylhistamine inhibits ethanol-induced gastric lesions in the rat: involvement of histamine H₃ receptors? / G. Morini, D. Grandi, G. Bertaccini // *Digestion.* 1995. V. 56. P. 145–152.

278. Morphology of histaminergic neurons with histidine decarboxylase as a marker / M. Tohyama, R. Tamiya, N. Inagaki [et al.] // In: Histaminergic neurons: Morphology and function / Watanabe, T., Wada, H. (Eds.). New York : CRC Press, 1991. P. 107–126.

279. Mouse light/dark test reveals anxiogenic-like effects by activation of histamine H₁ receptors / P. Malmberg-Aiello, A. Ipponi, A. Bartolini [et al.] // Pharmacol. Biochem. Behav. 2002. V. 71. P. 313–318.

280. Mouse P19 embryonal carcinoma cells express functional histamine H₁-receptors / S.M. Bloemers, R. Leurs, M.J. Smit [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1993. V. 191. P. 118–125.

281. Multiple neurotransmitters in the tuberomammillary nucleus: comparison of rat, mouse, and guinea pig / M.S. Airaksinen, S. Alanen, E. Szabat, T.J. Visser, P. Panula // J. Comp. Neurol. 1994. V. 323. P. 103–116.

282. Multiple neurotransmitters in the tuberomammillary nucleus: comparison of rat, mouse, and guinea pig / M.S. Airaksinen, S. Alanen, E. Szabat, T.J. Visser // J. Comp. Neurol. 1992. V. 323. P. 103–116.

283. Multiple sites of L-histidine decarboxylase expression in mouse suggest novel developmental functions for histamine / K. Karlstedt, M. Nissinen, K.A. Michelsen, P. Panula // Dev. Dyn. 2001. V. 221. P. 81–91.

284. *Munakata, M.* Regulation of K⁺ conductance by histamine H₁ and H₂ receptors in neurones dissociated from rat neostriatum / M. Munakata, N.J. Akaike // J. Physiology. 1994. V. 480. Pt 2. P. 233–245.

285. *Nachlas, M.M.* Improvement in the histochemical localization of leucine aminopeptidase with a new substrate / M.M. Nachlas, D.G. Walker, A.M. Seligman // J. Biophys. Biochem. Cytol. 1960. V. 4. P. 261–264.

286. *Nachlas, M.M.* Cytochemical demonstration of Cytochemical dehydrogenase by the use of a new P-nitrophenyl substituted ditetrazole / M.M. Nachlas, K.-C. Tsousou, E. Souza [et al.]. // J. Histochem. Cytochem. 1957. V. 5. P. 420–436.

287. *Nagai, T.* Distribution of GABA-T-intestive neurons in the rat fore-brain and midbrain / T. Nagai, P.L. McGreer, E.G. McGreer // J. Comp. Neurol. 1983. V. 218. P. 220–238.

288. *Nassel, D.R.* Histamine in the brain of insects: a review // Microsc. Res. Tech. 1999. V. 44, № 2–3. P. 121–136.

289. Neurochemical perspectives to the function of monoamine oxidase / P. Riederer, C. Konradi, G. Hebenstreit, M.B.H. Youdim // Acta. Neural. Scand. 1989. V. 126. P. 41–45.

290. Neuronal and vascular localization of histamine N-methyltransferase in the bovine central nervous system / M. Nishibori, A. Tahara, K. Sawada, J. Sakiyama, N. Nakaya, K. Saeki // Eur. J. Neurosci. 2000. V. 12. P. 415–424.

291. Neuronal histamine and the interplay of memory, reinforcement and emotions / E. Dere, A. Zlomuzica, M.A. Souza Silva, L.A. Ruocco, A.G. Sadile [et al.] // *Behav. Brain Res.* 2010. V. 215. P. 209–220.
292. Neuronal histamine deficit in Alzheimer's disease / P. Panula, J. Rinne, K. Kuokkanen [et al.] // *Neuroscience*. 1998. V. 82. P. 993–997.
293. Neuronal histamine regulates food intake, adiposity, and uncoupling protein expression in agouti yellow (A(y)/a) obese mice / T. Masaki, S. Chiba, G. Yoshimichi, T. Yasuda [et al.] // *Endocrinology*. 2003. V. 144. P. 2741–2748.
294. Neuronal storage of histamine in the brain and tele-methylimidazole-acetic acid excretion in portocaval shunted rats / W.A. Fogel, K.A. Michelsen, G. Granerus, K. Sasiak, W. Andrzejewski, P. Panula, C. Maslinski // *J. Neurochem.* 2002. V. 80. P. 375–382.
295. Neuropeptide S promotes wakefulness through activation of the posterior hypothalamic histaminergic and orexinergic neurons / P. Zhao, Y.F. Shao, M. Zhang [et al.] // *Neuroscience*. 2012. V. 207. P. 218–226.
296. Neuropeptide Y afferents have synaptic interactions with histaminergic (histidine decarboxylase immunoreactive) neurons in the rat brain / R. Tamiya, M. Hanada, N. Narita [et al.] // *Neurosci. uh.* 1989. V. 99. P. 241–246.
297. Neuroparmacology of the histaminergic neuron system in the brain and its relationship with behavioral disorders / K. Onodera, A. Yamatodani, T. Watanabe [et al.] // *Progress in Neurobiology*. 1994. V. 42. P. 685–702.
298. *Nishibori, M.* Histamine turnover in the brain of different mammalian species: implications for neuronal histamine half-life / M. Nishibori, R. Oishi, K. Saeki // *J. Neurochem.* 1984. V. 43. P. 1544–1549.
299. N-methyl-d-aspartate receptor antagonists enhance histamine neuron activity in rodent brain / R. Faucard, V. Armand, A. Heron, V. Cochois, J.C. Schwartz, J.M. Arrang // *J. Neurochem.* 2006. V. 98. P. 1487–1496.
300. Normal levels of histamine and tele-methylhistamine in mast cell-deficient mouse brain / L.B. Hough, J.K. Khandelwal, R.C. Goldschmidt, M. Diomande, S.D. Glick // *Brain Res.* 1984. V. 292. P. 133–138.
301. *Novak, C.M.* Rhythms in Fos expression in brain areas related to the sleep-wake cycle in the diurnal *Arvicanthis niloticus* / C.M. Novak, L. Smale, A.A. Nunez // *Am. J. Physiol Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2000. V. 278. № 5. P. 1267–1274.
302. *Nowak, J.Z.* Ethanol-induced changes of histamine content in guinea-pig brain / J.Z. Nowak, C. Maslinski // *Polish J. Pharmacol. and Pharmacy*. 1984. V. 36. P. 647–651.
303. *Nowak, J.Z.* Histamine in the central nervous system; its role in circadian rhythmicity // *Acta Neurobiol. Exp. Warsz.* 1994. V. 54. P. 65–82.
304. *Nuutinen, S.* Histamine in neurotransmission and brain diseases / S. Nuutinen, P. Panula // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2010. V. 709. P. 95–107.

305. *Nuutinen, S.* Histamine in neurotransmission and brain diseases / S. Nuutinen, P. Panula // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2011. V. 709. P. 95–107.
306. *Oishi, R.* Effects of the histamine H₃-agonist (R)-methylhistamine and the antagonist thioperamide on histamine metabolism in the mouse and rat brain / R. Oishi, M. Nishibori, K. Saeki // *J. Neurochem.* 1989. V. 52. № 5. P. 1388–1392.
307. *Oishi, R.* Regional differences in the turnover of neuronal histamine in the rat brain / R. Oishi, M. Nishibori, K. Saeki // *Life Sci.* 1984. V. 34. P. 691–699.
308. *Onodera, K.* Regional changes in brain histamine levels following dietary-induced thiamine deficiency in rats / K. Onodera, K. Maeyama, T. Watanabe // *Jpn. J. Pharmacol.* 1988. V. 47. P. 323–326.
309. Orexin receptor-1 (OX-R1) immunoreactivity in chemically identified neurons of the hypothalamus: focus on orexin targets involved in control of food and water intake / M. Backberg, G. Hervieu, S. Wilson, B. Meister // *Eur. J. Neurosci.* 2002. V. 15. P. 315–328.
310. Orexins (hypocretins) directly excite tuberomammillary neurons / L. Bayer, E. Eggermann, M. Serafin, B. Saint-Mieux, D. Machard, B. Jones, M. Muhlethaler // *Eur. J. Neurosci.* 2001. V. 14. P. 1571–1575.
311. Orexins activate histaminergic neurons via the orexin 2 receptor / N. Yamanaka, H. Tsujino, K. Funahashi [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002. V. 290. № 4. P. 1237–1245.
312. Organization of histaminergic fibers in the rat brain / N. Inagaki, A. Yamatodani, M. Ando-Yamamoto [et al.] // *J. Comp. Neurol.* 1988. V. 273. P. 283–300.
313. Organization of the histaminergic system in the brain of the teleost. *Trachurus trachurus* / N. Inagaki, P. Panula, A. Yamatodani [et al.] // *J. Comp. Neurol.* 1991. V. 310. № 1. P. 94–102.
314. Origins of histamine-containing fibers in the cerebral cortex of rats studied by immunohistochemistry / N. Takeda, S. Inagaki, Y. Taguchi [et al.] // *Brain Res.* 1984. V. 323. P. 55–63.
315. *Orr, E.L.* The significance of mast cells as a source of histamine in the mouse brain / E.L. Orr, K.R. Pace // *J. Neurochem.* 1984. V. 42. P. 727–732.
316. P₂Y-receptor-mediated excitation in the posterior hypothalamus / O.A. Sergeeva, B.P. Klyuch, W. Fleischer [et al.] // *Eur. J. Neurosci.* 2006. V. 24. P. 1413–1426.
317. *Panula, P.* Histamine and H₃ receptor in alcohol-related behaviors / P. Panula, S. Nuutinen // *J. Pharmacol. Exp.* 2011. V. 336. № 1. P. 9–16.
318. *Panula, P.* Histamine in brain development and tumors / P. Panula, M. Lintunen, K. Karlstedt // *Semin. Cancer Biol.* 2000. V. 10. P. 11–14.
319. *Panula, P.* Histamine in the nervous system // *Neurohistochemistry: Modern Methods and Application.* 1986. P. 425–441.

320. *Panula, P.* Histamine-containing neurons in the rat hypothalamus / P. Panula, Y.-Y. Yang, E. Costa // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1984. V. 81. P. 2572–2576.
321. *Papanicolaou, J.* The acute effect of ethanol on behaviour, body temperature, and brain histamine in mice / J. Papanicolaou, M.R. Fennessy // Psychopharmacology. Berlin, 1980. V. 72. P. 73–77.
322. *Pardo, M.P.* Genetic implications of the alcohol-induced flushing phenomenon in orientals / M.P. Pardo, T.B. Hall // Curr. Alcsm. 1981. V. 8. P. 41–45.
323. *Paxinos, G.* The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates / G. Paxinos., C. Watson // Academic Press. 2nd ed. New York, 1986. P. 320.
324. *Pearse, A.G.E.* Гистохимия. Теоретическая и прикладная. М. : Ин. лит., 1962. 1365 с.
325. *Petersen, D.R.* Aldehyde dehydrogenase and aldehyde reductase in isolated bovine brain microvessels // Alcohol. 1985. V. 2. P. 79–83.
326. *Phelan, K.D.* Histamine depolarizes rat medial vestibular nucleus neurons recorded intracellularly in vitro / K.D. Phelan, J. Nakamura, J.P. Gallagher // Neurosci. Lett. 1990. V. 109. P. 287–292.
327. *Philippu, A.* Importance of histamine in modulatory processes, locomotion and memory / A. Philippu, H. Prast // Behav. Brain Res. 2001. V. 124. № 2. P. 151–159.
328. *Philippu, A.* Patterns of histamine release in the brain / A. Philippu, H. Prast // Agents Actions. 1991. V. 33. P. 124–125.
329. Population, genetic and family studies on aldehyde dehydrogenase deficiency and alcohol sensitivity / H.W. Goedde, D.P. Agarwal, R. Eckey [et al.] // Alcohol. 1985. V. 2. P. 383–390.
330. Postnatal expression of H₁-receptor mRNA in the rat brain: correlation to L-histidine decarboxylase expression and local upregulation in limbic seizures / M. Lintunen, T. Sallmen, K. Karlstedt [et al.] // Eur. J. Neurosci. 1998. V. 10. P. 2287–2301.
331. *Poulakos, J.J.* Studies on the cardiovascular actions of central histamine H₁ and H₂ receptors / J.J. Poulakos, S.B. Gertner // J. Pharmacol. Exp. Ther. 1989. V. 250. P. 500–507.
332. *Prast, H.* Histaminergic neurons facilitate social memory in rats / H. Prast, A. Argyriou, A. Philippu // Brain Res. 1996. V. 734. № 1–2. P. 316–318.
333. *Prast, H.* Histaminergic neurons modulate acetylcholine release in the ventral striatum: role of the H₃ histamine receptors / H. Prast, M.H. Tran, H. Fischer // Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol. 1999. V. 360. P. 558–564.
334. *Prast, H.* Release of acetylcholine in the ventral striatum is influenced by histamine receptors / H. Prast, H. Fischer, A. Philippu // Agents Actions. 1994. V. 41. Spec No. P. C85–C86.

335. *Prell, G.D.* Histamine as a neuroregulator / G.D. Prell, J.P. Green // *Annu. Rev. Neurosci.* 1986. V. 9. P. 209–254.
336. *Prell, G.D.* Rat brain histamine concentration, synthesis and metabolism: effect of acute ethanol administration / G.D. Prell, B. Bielkiewicz, I.M. Mazurkiewicz-Kwilecki // *Progress in Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 1982. V. 6. P. 427–432.
337. *Prell, G.D.* The effects of ethanol, acetaldehyde, morphine and naloxone on histamine methyltransferase activity / G.D. Prell, I.M. Mazurkiewicz-Kwilecki // *Progress in Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 1981. V. 5. P. 581–585.
338. Projection from the prefrontal cortex to histaminergic cell groups in the posterior hypothalamic region of the rat. Anterograde tracing with Phaseolus vulgaris leucoagglutinin combined with immunocytochemistry of histidine decarboxylase / F.G. Wouterlood, H.W.M. Steinbusch, P.G.M. Luiten [et al.] // *Brain Res.* 1987. V. 406. P. 330–336.
339. Promethazine protects against 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine neurotoxicity / C. Cleren, A.A. Starkov, N.Y. Calingasan, B.J. Lorenzo, J. Chen, M.F. Beal // *Neurobiol. Dis.* 2005. V. 20. P. 701–708.
340. *Quertemont, E.* The role of acetaldehyde in the neurobehavioral effects of ethanol: a comprehensive review of animal studies / E. Quertemont, S. Tambour, E. Tirelli // *Prog. Neurobiol.* 2005. V. 75. P. 247–274.
341. *Rawat, A.K.* Development of histaminergic pathways in brain as influenced by maternal alcoholism // *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 1980. V. 27. P. 91–103.
342. Regional distribution of histamine in the brain of non-mammalian vertebrates / H. Miki, N. Inogaki, A. Yamatodani [et al.] // *Brain Res.* 1992. V. 571. P. 129–132.
343. Regional expression of the histamine H₂-receptor in adult and developing rat brain / K. Karlstedt, A. Senkas, M. Ahman, P. Panula // *Neuroscience.* 2001. V. 102. P. 201–208.
344. *Reiner, P.B.* Mechanisms of antihistamine-induced sedation in the human brain: H₁ receptor activation reduces a background leakage potassium current / P.B. Reiner, A. Kamondi // *Neuroscience.* 1994. V. 59. P. 579–588.
345. *Reiner, P.B.* Ontogeny of histidine-decarboxylase-immunoreactive neurons in the tuberomammillary nucleus of the rat hypothalamus: time of origin and development of transmitter phenotype / P.B. Reiner, K. Semba, H.C. Fibiger // *J. Comp. Neurol.* 1988. V. 276. P. 304–311.
346. Relationship of brain ethanol metabolism to the hypnotic effect of ethanol. II: Studies in selectively bred rats and mice / S.M. Zimatkin, A.V. Liopo, V.I. Satanovskaya, L.R. Bardina, R.A. Deitrich // *Alcohol Clin. Exp. Res.* 2001. V. 25. P. 982–988.

347. Relationship of brain ethanol metabolism to the hypnotic effect of ethanol. I: Studies in outbred animals / S.M. Zimatkin, A.V. Liopo, V.S. Slychenkov, R.A. Deitrich // *Alcohol Clin. Exp. Res.* 2001. V. 25. P. 976–981.

348. Release of histamine in rat hypothalamus and corpus striatum in vivo / W.L. Russell, D.P. Henry, L.A. Phebus, J.A. Clemens // *Brain Res.* 1990. V. 512. P. 95–101.

349. Relief of itch by scratching: state-dependent inhibition of primate spinothalamic tract neurons / S. Davidson, X. Zhang, S.G. Khasabov, D.A. Simone, G.J. Giesler, Jr. // *Nat. Neurosci.* 2009. V. 12. P. 544–546.

350. Repeated inhalation challenge with exogenous and endogenous histamine released by acetaldehyde inhalation in asthmatic patients / S. Myou, M. Fujimura, Y. Kamio, T. Bando, Y. Nakatsumi, T. Matsuda // *Am. J. Resp. Critical Care Med.* 1995. V. 152. P. 456–460.

351. Retinopetal axons in mammals: emphasis on histamine and serotonin / M.J. Gastinger, N. Tian, T. Horvath, D.W. Marshak // *Curr. Eye Res.* 2006. V. 31. P. 655–667.

352. *Reynolds, E.S.* The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy // *J. Cell Biol.* 1963. V. 17. P. 208–212.

353. *Roberts, L.J.* Blockade of the flush associated with metastatic gastric carcinoid by combined histamine H₁ and H₂ receptor antagonists / L.J. Roberts, S.R. Marney, J.A. Oates // *New England J. Med.* 1979. V. 300. P. 236–238.

354. *Robinson-White, A.* Presence of histamine and histamine-metabolizing enzyme in rat and guinea-pig microvascular endothelial cells / A. Robinson-White, M.A. Beaven // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1982. V. 223. № 2. P. 440–445.

355. *Roeder, T.* Histamine H₁-receptor-like binding sites in the locust nervous tissue // *Neurosci Lett.* 1990. V. 116. P. 331–335.

356. Role of histaminergic neurons in development of epileptic seizures in EL mice / I. Yawata, K. Tanaka, Y. Nakagawa [et al.] // *Mol. Brain Res.* 2004. V. 132. P. 13–17.

357. Roles of histamine in regulation of arousal and cognition: functional neuroimaging of histamine H₁ receptors in human brain / M. Tashiro, H. Mochizuki, K. Iwabuchi, Y. Sakurada, M. Itoh, T. Watanabe, K. Yanai // *Life Sci.* 2002. V. 72. P. 409–414.

358. Roles of hypothalamic subgroup histamine and orexin neurons on behavioral responses to sleep deprivation induced by the treadmill method in adolescent rats / A. Xu, E. Sakurai, A. Kuramasu, J. Zhang, J. Li [et al.] // *J. Pharmacol. Sci.* 2010. V. 114. P. 444–453.

359. Safety of acid-suppressing drugs / R.A. Smallwood, R.G. Berlin, N. Castagnoli, H.P.M. Festen [et al.] // *Dig. Dis. Sci.* 1995. V. 40. P. 63–80.

360. *Sakata, T.* Feeding Behaviour // In: Watanabe, T., Wada, H. (eds.) *Histaminergic Neurons: Morphology and Function*. Boca Raton. CRC Press, 1991. P. 297–315.

361. *Sakata, T.* Hypothalamic neuronal histamine: implications of its homeostatic control of energy metabolism / T. Sakata, H. Yoshimatsu, M. Kurokawa // *Nutrition*. 1997. V. 13. P. 403–411.

362. *Sallmen, T.* Major changes in the brain histamine system of the ground squerrel *citellus lateralis* during hibernation / T. Sallmen, A.L. Beckman, T.L. Stantion // *J. Neurosci*. 1999. V. 1. P. 1824–1835.

363. *Sangalli, B.C.* Role of the central histaminergic neuronal system in the CNS toxicity of the first generation H_1 -antagonists // *Prog. Neurobiol*. 1997. V. 52. P. 145–157.

364. *Saura, J.* Differential age-related changes of MAO-A and MAO-B in mouse brain and peripheral organs / J. Saura, J.G. Richards, N. Mahy // *Neurobiology of Aging*. 1994. V. 15. № 4. P. 399–408.

365. *Schonrock, B.* Properties of tuberomammillary histamine neurons their response to galanin / B. Schonrock, D. Busselberg, H.L. Haas // *Agents Actions*. 1991. V. 33. P. 135–137.

366. *Schwartz, J.C.* Histamine as a transmitter in brain // *Life Sci*. 1975. V. 17. P. 503–517.

367. *Schwartz, J.C.* Hisaminergic transmission in the mammalian brain / J.C. Schwartz, J.-M. Arrang, M. Garbarg // *Ptysiol. Rev*. 1991. V. 71. P. 1–51.

368. *Selbach, O.* Long-term increase of hippocampal excitability by histamine and cyclic AMP / O. Selbach, R.E. Brown, H.L. Haas // *Neuropharmacology*. 1997. V. 36. P. 1539–1548.

369. *Sessa, A.* Diamine oxidase activity and related substrates in rat liver after chronic ethanol feeding / A. Sessa, A. Perin // *Agents Actions*. 1992. V. 37. P. 107–110.

370. *Sessa, A.* Effect of acute ethanol administration on diamine oxidase activity in maternal, embrional and fetal tissues / A. Sessa, M.A. Desiderio, A. Perin // *Agents Actions*. 1987. V. 21. P. 49–53.

371. *Seto, A.* Biochemical correlates of ethanol-induced flushing in Orientals / A. Seto, S. Tricomi, D.W. Goodwin // *J. Stud. of Alcohol*. 1978. V. 39. P. 1–11.

372. *Shiohara, E.* Acetaldehyde oxidazing activity in the rat brain / E. Shiohara, M. Iborra, H. Tsukada // *Jpn. J. Alcohol. Drug Dependance*. 1981. V. 16. P. 341–348.

373. *Simons, F.E.R.* H_1 -receptor antagonists. Comparative tolerability and safety // *Drug Safety*. 1994. V. 10. P. 350–380.

374. Spinal projections of hypothalamic histidine decarboxylase-immunoreactive neurons / C. Wahlestdt, G. Skagerberg, R. Hakanson [et al.] // *Agents Actions*. 1985. V. 16. P. 231–233.

375. *Staines, W.A.* The organization and hypothalamic projections of the tuberomammillary nucleus in the rat: an immunohistochemical study of ade-

nosine deaminase-positive neurons and fibers / W.A. Staines, P.E. Daddona, J.I. Nagy // *Neuroscience*. 1987. V. 23. P. 571–578.

376. *Stehle, J.* Effects of histamine on spontaneous electrical activity of neurons in rat suprachiasmatic nucleus // *Neurosci. Lett.* 1991. V. 130. P. 217–220.

377. *Steninger, T.L.* Preoptic area inhibition of histaminergic tuberomammillary neurons in vitro / T.L. Steninger, D.R. Stevens, H.L. Haas // *Society for Neuroscience*. 1997. Abstr. 23. P. 773.

378. *Stevens, D.R.* GABA-B-receptor-mediated control of GABAergic inhibition rat histaminergic neurons in vitro / D.R. Stevens, A. Kuramasu, H.L. Haas // *Eur. J. Neurosci.* 1999. V. 11. P. 1148–1154.

379. Structure and functions of the histaminergic neurone system / A. Yamatodani, N. Inagaki, P. Panula [et al.] // In: *Handbook of experimental pharmacology. Histamine and histamine antagonists*. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1991. V. 97. P. 243–283.

380. Subcellular and perisynaptic distribution of rat brain aldehyde dehydrogenase activity / T. Koivula, A.J. Turner, M. Huttunen, M. Koivusalo // *J. Neurochem.* 1981. V. 36. P. 1893–1897.

381. *Subramanian, N.* Ethanol-induced alterations in histamine content and release in the rat hypothalamus / N. Subramanian, P. Mitznegg [et al.] // *Archs. Pharmacol.* 1978. V. 302. P. 119–121.

382. *Sundvik, M.* Organization of the histaminergic system in adult zebrafish (*Danio rerio*) brain: neuron number, location, and cotransmitters / M. Sundvik, P. Panula // *J. Comp. Neurol.* 2012. V. 520. P. 3827–3845.

383. Suppression of alcohol-induced flushing by a combination of H₁ and H₂ histamine antagonists / O.T. Tan, T.J. Stafford, I. Sarkany, P.M. Gaylarde, C. Tilsey, J.P. Payne // *Br. J. Dermatol.* 1982. V. 107. P. 647–652.

384. *Swanson, L.W.* Hypothalamic integration of paraventricular and supraoptic nuclei / L.W. Swanson, P.E. Sawchenko // *Annu. Rev. Neurosci.* 1983. V. 6. P. 275–280.

385. *Takahashi, K.* Neuronal activity of histaminergic tuberomammillary neurons during wake-sleep states in the mouse / K. Takahashi, J.S. Lin, K. Sakai // *J. Neurosci.* 2006. V. 26. P. 10292–10298.

386. *Takeda, N.* Histaminergic projection from the posterior hypothalamus to the medial vestibular nucleus and its relation to motion sickness, in *The Vestibular System* / N. Takeda, M. Morita, T. Kubo // *Neurophysiol. Clin. Res.* / M.D. Graham, J.L. Kemink (Eds.). New York: Raven Press, 1987. P. 607–613.

387. *Tamiya, R.* Synaptic inputs to histaminergic neurons in the rat posterior hypothalamus // *Osaka City Med. J.* 1991. V. 37. P. 107–122.

388. *Tan, O.T.* Blocking of alcohol-induced flush with a combination of H₁ and H₂ histamine antagonists / O.T. Tan, P.M. Gaylarde, I. Sarkany // *Lancet*. 1979. V. 2. P. 365.

389. Targeted disruption of H₃ receptors results in changes in brain histamine tone leading to an obese phenotype / K. Takahashi, H. Suva, T. Ishikawa [et al.] // J. Clin. Invest. 2002. V. 110. P. 1791–1799.

390. *Tasaka, K.* Excitatory effect of histamine on EEGs of the cortex and thalamus in rat / K. Tasaka, Y.H. Chung, K. Sawada // Agents Action. 1989. V. 27. P. 127–130.

391. The connection between the septum-diagonal band complex and histaminergic neurons in the posterior hypothalamus of the rat. Anterograde tracing with Phaseolus vulgaris leucoagglutinin combined with immunocytochemistry of histidine decarboxylase / F.G. Wouterlood, R.P.A. Gaykema, H.W.M. Steinbusch [et al.] // Neuroscience. 1988. V. 26. P. 827–845.

392. The cytoarchitecture, histochemistry and projections of the tuberomammillary nucleus in the rat / C. Kohler, L.W. Swanson, L. Haglund [et al.] // Neuroscience. 1985. V. 16. P. 85–110.

393. The distribution and projection of γ -melanocyte stimulating hormone in the rat brain: an immunohistochemical analysis / Y. Kawai, S. Inagaki, S. Shiosaka [et al.] // Brain Res. 1984. V. 297. P. 21–26.

394. 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, K. Toda, I. Taniuchi [et al.] // Exp. Brain Res. 1990. V. 80. P. 374–380.

395. The histamine H₄ receptor is functionally expressed on neurons in the mammalian CNS / W.M. Connelly, F.C. Shenton, N. Lethbridge, R. Leurs, H.J. Waldvogel [et al.] // Br. J. Pharmacol. 2009. V. 157. P. 55–63.

396. The histaminergic innervation of the mesencephalic nucleus of the trigeminal nerve in rat brain: a light and electron microscopical study / N. Inagaki, A. Yamatodani, K. Shinoda [et al.] // Brain Res. 1987. V. 418. P. 388–391.

397. The histaminergic system in the brain: structural characteristics and changes in hibernation / P. Panula, K. Karlstedt, T. Sallmen [et al.] // J. Chem. Neuroanat. 2000. V. 18. P. 65–74.

398. The histaminergic tuberomammillary nucleus is critical for motivated arousal / J.L. Valdes, C. Sanchez, M.E. Riveros [et al.] // Eur. J. Neurosci. 2010. V. 31. P. 2073–2085.

399. Thyrotropin-releasing hormone-containing axons innervate histaminergic neurons in the tuberomammillary nucleus / A. Sarvari, E. Farkas, A. Kadar, G. Zseli, T. Fuzesi [et al.] // Brain Res. 2012. V. 1488. P. 72–80.

400. *Tillet, Y.* Histaminergic neurons in the sheep diencephalon / Y. Tillet, M. Batailler, P. Panula // J. Comp. Neurol. 1998. V. 400. P. 317–333.

401. Tissue distribution of histamine in a mutant mouse deficient in mast cells: clear evidence for the presence of non-mast-cell histamine / A. Yamatodani, K. Mayeama, T. Watanabe [et al.] // Biochem. Pharmacol. 1982. V. 31. P. 305–309.

402. *Torrealba, F.* Histamine and motivation // *Front. Syst. Neurosci.* 2012. V. 6. P. 1–6.
403. *Tuomisto, L.* Development of histaminergic neurons, in histaminergic neurons / L. Tuomisto, P. Panula // *Morphology and function* / T. Watanabe, H. Wada (Eds.). New York: CRC Press, 1991. P. 177–192.
404. *Tuomisto, L.* Involvement of histamine in circadian and other rhythms // In: Watanabe, T., Wada, H. (eds.). *Histaminergic neurons: morphology and function*. Boca Raton: CRC Press, 1991. P. 283–295.
405. *Uhlrich, D.J.* Effects of activation of the histaminergic tuberomammillary nucleus on visual responses of neurons in the dorsal lateral geniculate nucleus / D.J. Uhlrich, K.A. Manning, J.T. Xue // *J. Neurosci.* 2002. V. 22. P. 1098–1107.
406. *Uteshev, V.V.* Somatic Ca^{2+} dynamics in response to choline-mediated excitation in histaminergic tuberomammillary neurons / V.V. Uteshev, H.J. Knot // *Neuroscience*. 2005. V. 134. P. 133–143.
407. *Vanhala, A.* Distribution of histamine-, 5-hydroxytryptamine-, and tyrosine hydroxylase-immunoreactive neurons and nerve fibers in developing rat brain / A. Vanhala, A. Yamatodani, P. Panula // *J. Comp. Neurol.* 1994. V. 347. № 1. P. 101–114.
408. Visualization of monoamine oxidases A and B in brain and peripheral tissues with type-specific monoclonal antibodies / R.M. Denney, N.T. Patel, R.R. Fritz, W.C. Abell // *MPTP: a neurotoxin producing a Parkinsonian Syndrome* / S.P. Markey, N. Castagnoli, A.J. Trevor, I.J. Kopin. New York: Academic Press, 1986. P. 645–649.
409. *Wada, H.* Is the histaminergic neuron system a regulatory center for whole-brain activity? / H. Wada, N. Inagaki, A. Yamalodani // *Trends Neurosci.* 1991. V. 14. P. 415–418.
410. Wake-related activity of tuberomammillary neurons in rats / E.M. Ko, I.V. Estabrooke, M. McCarthy, T.E. Scammell // *Brain Res.* 2003. V. 992. P. 220–226.
411. *Wang, Q.P.* A new fixation procedure for study of the histaminergic neurons by immunoelectron microscopy using the direct antiserum against histamine / Q.P. Wang, Y. Nakai // *Biotech. Histochem.* 1996. V. 71. P. 311–316.
412. *Watanabe, T.* L-histidine decarboxylase as a probe in studies on histamine / T. Watanabe, H. Ohtsu // *Chem. Rec.* 2002. V. 2. P. 369–376.
413. *Watanabe, T.* Studies on functional roles of the histaminergic neuron system by using pharmacological agents, knockout mice and positron emission tomography / T. Watanabe, K. Yanai // *Tohoku J. Exp. Med.* 2001. V. 195. P. 197–217.
414. *Watson, M.L.* Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals // *J. Biophys. Biochem. Cyt.* 1958. V. 4. P. 475–478.

415. *Watson, S.J.* Adrenocorticotropin in rat brain: immunocytochemical localization in cells and axons / S.J. Watson, C.W. Richard, J.D. Barchas // *Sci.* 1978. V. 200. P. 1180–1186.
416. *Weinreich, D.* Endogenous levels of histamine in single neurons isolated from CNS of *Aplysia californica* / D. Weinreich, C. Weiner, R. McCaman // *Brain Res.* 1975. V. 84. P. 341–345.
417. *Weiss, M.L.* Magnocellular tuberomammillary nucleus input to the supraoptic nucleus in the rat: anatomical and in vitro electrophysiological investigations / M.L. Weiss, Q.Z. Yang, G.I. Hatton // *Neuroscience.* 1989. V. 31. P. 299–311.
418. *White, J.M.* Behavioural effects of histamine and its antagonists: a review / J.M. White, G.R. Rumbold // *Psychopharmacology.* Berlin, 1988. V. 95. P. 1–14.
419. *Wilcox, B.J.* Localization of neuronal histamine in rat brain / B.J. Wilcox, V.S. Seybold // *Neurosci. Lett.* 1982. V. 29. P. 105–110.
420. *Willoughby, J.* Histochemical localization of monoamine oxidase A and B in rat brain / J. Willoughby, V. Glover, M. Sandler // *J. Neural. Transm.* 1988. V. 74. P. 29–42.
421. *Wolff, P.H.* Ethnic differences in alcohol sensitivity // *Sci.* 1972. V. 175. P. 449–450.
422. *Woodward, J.K.* Pharmacology of antihistamines // *J. Allergy Clin. Immunol.* 1990. V. 86. P. 606–612.
423. *Wouterlood, F.G.* Histaminergic neurones in the rat brain: correlative immunocytochemistry, Golgi impregnation, and electron microscopy / F.G. Wouterlood, T.M.H.F. Sauren, H.W.M. Steinbusch // *J. Comp. Neurol.* 1986. V. 252. P. 227–244.
424. *Wouterlood, F.G.* Innervation of histaminergic neurons in the posterior hypothalamus region by medial preoptic neurons. Anterograde tracing with Phaseolus vulgaris leucoagglutinin combined with immunocytochemistry of histidine decarboxylase in the rat / F.G. Wouterlood, R.P.A. Gaykema // *Brain Res.* 1988. V. 455. P. 170–176.
425. *Yanai, K.* Excitotoxic lesions of histaminergic neurons by excitatory amino acid agonists in the rat brain / K. Yanai, X.L. Zhao, T. Watanabe // *Neurosci. Lett.* 1997. V. 232. P. 159–162.
426. *Yanai, K.* The physiological and pathophysiological roles of neuronal histamine: An insight from human positron emission tomography studies / K. Yanai, M. Tashiro // *Pharmacol. Ther.* 2006.
427. *Yang, Q.Z.* Electrophysiology of excitatory and inhibitory afferents to rat histaminergic tuberomammillary nucleus neurons from hypothalamic and forebrain sites / Q.Z. Yang, G.I. Hatton // *Brain Res.* 1997. V. 773. P. 162–172.

428. *Yokoyama, H.* The role of central histaminergic neuron system as an anticonvulsive mechanism in developing brain // *Brain Dev.* 2001. V. 23. P. 542–547.
429. *Yoshimatsu, H.* Hypothalamic neuronal histamine as a target of leptin in feeding behavior / H. Yoshimatsu, E. Itateyama, S. Kondou // *Diabetes.* 1999. V. 48. № 12. P. 2286–2291.
430. *Youdim, M.B.H.* Monoamine oxidase B: a misunderstood and misjudged enzyme / M.B.H. Youdim, P. Riederer // *Pharmac. Res. Commun.* 1988. V. 20. Suppl. IV. P. 9–14.
431. *Yuzurihara, M.* Effects of drugs acting as histamine releasers or histamine receptor blockers on an experimental anxiety model in mice / M. Yuzurihara, Y. Ikarashi, A. Ishige // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2000. V. 67. P. 145–150.
432. *Zakharov, O.Yu.* Effects of different histamine receptors ligands in modulation of the ethanol metabolism and alcohol related behaviour. East-West symposium on Biomedical Research of Alcohol-Related Diseases / O.Yu. Zakharov, A.V. Liopo, S.M. Zimatkin // *Abs. of presentations.* Grodno, 1998. P. 53–54.
433. *Zakharov, O.Yu.* Histamine H₁ receptor antagonists in regulation of alcohol-related behavior. 7th European Students' Conference of the Charite-for Students' and Young Doctors — October 17th–19th / O.Yu. Zakharov, N.Z. Makova, O.V. Anichtchik. 1996. Abs. P. 133.
434. *Zeiner, A.R.* The role of acetaldehyde in mediating reactivity to an acute dose of ethanol among different racial groups / A.R. Zeiner, A. Paredes, H.D. Christensen // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 1979. V. 3. P. 11–18.
435. *Zimatkin, S.M.* Alcohol-histamine Interactions / S.M. Zimatkin, O.V. Anichtchik // *Alcohol and Alcoholism.* 1999. V. 34. № 2. P. 141–147.
436. *Zimatkin, S.M.* Distribution and kinetics of ethanol metabolism in rat brain / S.M. Zimatkin, A.V. Liopo, R.A. Deitrich // *Alcohol Clin. Exp. Res.* 1998. P. 1623–1627.
437. *Zimatkin, S.M.* Effects of histamine H₁ receptor antagonists on alcohol related behavior and ethanol metabolism / S.M. Zimatkin, A.V. Liopo, O.Yu. Zakharov // *Alcohol and Alcoholism.* 1997. V. 32. Abs. S44. P. 361.
438. *Zimatkin, S.M.* Histochemical method for investigating the activity of monoamine oxidase A and B in the brain // *Neurosci. Behavior. Physiol.* / S.M. Zimatkin, V.F. Tsydik. 1996. V. 26. № 3. P. 231–233.
439. *Zimatkin, S.M.* Histochemical study of aldehyde dehydrogenase in the rat CNS // *J. Neurochem.* 1991. V. 56. P. 1–11.
440. *Zimatkin, S.M.* Metabolic changes in rat brain histaminergic neurons during subhepatic cholestasis / S.M. Zimatkin, O.V. Baraban, S.V. Emel'yan-chik // *Neurosci. Behav. Physiol.* 2008. V. 38. P. 807–810.

441. *Zimatkin, S.M.* Spatial organization and morphometric characteristics of histaminergic neurons in the rat brain / S.M. Zimatkin, V.B. Kuznetsova, O.N. Strik // *Neurosci. Behav. Physiol.* 2006. V. 36. P. 467–471.

442. *Zimatkin, S.M.* Structural-metabolic changes in histaminergic neurons of the rat hypothalamus in conditions of loss of bile / S.M. Zimatkin, O.V. Baraban, S.V. Emel'yanchik // *Neurosci. Behav. Physiol.* 2008. V. 38. P. 907–911.

443. *Zimmennan, E.A.* P-Lipotropin in brain: localization in hypothalamic neurons by immunoperoxidase technique / E.A. Zimmennan, A. Liotta, D.T. Krieger // *Cell. Tissue Res.* 1978. V. 186. P. 393–398.

Научное издание

Зиматкин Сергей Михайлович

ГИСТАМИНЕРГИЧЕСКИЕ НЕЙРОНЫ МОЗГА

Художник обложки

С.В. Ковалевский

Компьютерная верстка

С.И. Лученок

Корректор

Е.В. Шобик

Бумага офсетная. Гарнитура Петербург. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 20,0. Уч.-изд. л. 16,34.

Общество с ограниченной ответственностью «Новое знание».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/276 от 04.04.2014.

Пр. Пушкина, д. 15, ком. 16, Минск, Республика Беларусь.

Почтовый адрес: а/я 79, 220050, Минск, Республика Беларусь.

Телефон/факс: (10-375-17) 211-50-38

Е-mail: nk@wnk.biz

<http://wnk.biz>