

## ГИСТАМИНЕРГИЧЕСКИЕ НЕЙРОНЫ МОЗГА КРЫС ПОСЛЕ СЕМИДНЕВНОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ НАГРУЗКИ

Зиматкин С. М. (smzimatkin@mail.ru), Федина Е. М. (phedina.katerina@mail.ru)

УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь

*Цель исследования.* Оценка морфофункционального состояния гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крысы через 1 час после седьмого введения 20% раствора этанола в дозе 4 г/кг/сутки.

*Материал и методы.* Крысам вводили 20% раствор этанола (4 г/кг/сут в течение 7 дней, декапитация через 1 час после седьмой инъекции). Исследование проведено с использованием гистологического, гистохимического, морфо- и цитофотометрического и электронно-микроскопического методов анализа.

*Результаты.* Семикратное введение алкоголя вызывает увеличение размеров и округление перикарионов и ядер гистаминергических нейронов, увеличение активности моноаминоксидазы типа Б, лактатдегидрогеназы, кислой фосфатазы, снижение активности дегидрогеназ сукцината, НАДН, НАДФН, глюкозо-6-фосфата, активацию ядерного аппарата, нарушение организации мембранных органелл, гиперплазию лизосом.

*Выводы.* Семидневное введение этанола влияет на структуру и метаболизм гистаминергических нейронов, демонстрируя как нейротоксический эффект алкоголя, так и процессы адаптации нейронов.

**Ключевые слова:** алкоголь, головной мозг, гистаминергические нейроны.

### Введение

Этанол и его метаболиты как естественные компоненты обмена веществ выступают незаменимыми участниками поддержания гомеостаза [1]. В естественных условиях содержание эндогенного этанола колеблется в пределах 1 мг/л, что гораздо меньше экзогенных количеств этилового спирта, которые, поступая в организм, оказывают отравляющее действие [2]. Известно, что алкоголь и его метаболиты нарушают микроциркуляцию, обменные процессы в нейронах и нейроглии. Это заканчивается дистрофическими и дегенеративными изменениями нервных клеток. Такие вещества приводят к повреждению синтеза, транспорта, выделения и деградации нейромедиаторов, изменению свойств их рецепторов [3].

Особый интерес представляет гистаминергическая нейромедиаторная система мозга, поскольку пути метаболизма гистамина и этанола имеют общий фермент – альдегиддегидрогеназу, что является метаболической основой для взаимодействия гистамина и алкоголя. Гистамин, лиганды гистаминовых рецепторов, регуляторы метаболизма гистамина широко используются в моделировании алкогольной интоксикации для выяснения участия гистаминергической системы в патогенезе алкоголизма [4]. В связи с этим изучение морфофункционального состояния гистаминергических нейронов при алкогольной интоксикации представляется весьма актуальным направлением.

**Цель исследования** – оценка морфофункционального состояния гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса крысы через 1 час после седьмого введения 20% раствора этанола в дозе 4 г/кг/сутки.

### Материал и методы

Исследование выполнено на 40 беспородных белых крысах-самцах массой 175±25 граммов. Животных содержали в стандартных условиях вивария. Все опыты поставлены с учётом «Пра-

вил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР). На данное исследование получено разрешение этического комитета Гродненского государственного медицинского университета. Опытным животным (20 крыс) на протяжении 7 дней внутрибрюшинно один раз в день вводили 20% раствор этанола в дозе 4 г/кг/сутки. Крысам контрольной группы (20 животных) вводили эквивалентный объём физиологического раствора. Животных выводили из эксперимента декапитацией через 1 час после последнего введения этанола или физраствора. Далее быстро извлекали головной мозг, кусочки гипоталамуса для светооптического исследования замораживали и хранили в жидком азоте.

Серийные криостатные срезы (криостат Leica CM 1840, Германия) окрашивали 0,1% толуидиновым синим по методу Ниссля, гистохимически выявляли в них активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (Г-6-Ф-ДГ), НАДН-дегидрогеназы (НАДН-ДГ), НАДФН-дегидрогеназы (НАДФН-ДГ), сукцинатдегидрогеназы (СДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), кислой фосфатазы (КФ) [5] и моноаминоксидазы типа Б (МАО Б) [6].

Размеры и форму перикарионов и ядер гистаминергических нейронов оценивали на препаратах, окрашенных по методу Ниссля. В исследуемой популяции нейронов проводили анализ типов клеток по степени хромофилии (интенсивности окраски) цитоплазмы, выявляя нормохромные (умеренное окрашивание), гипохромные (слабое окрашивание), гиперхромные (интенсивное окрашивание) нейроны и клетки-тени (очень слабое окрашивание). Активность ферментов определяли по оптической плотности получаемого в результате цитохимической реакции осадка хромогена. При идентификации скоплений (ядер) гистаминергической системы использовали соответствующие топографические схемы [7] и гистохимический метод выявления активности МАО Б [6].

Изучение гистологических препаратов, их микрофотографирование, морфометрию и цитофотометрию проводили с помощью микроскопа Axioskop 2 plus (Zeiss, Германия), цифровой видеокамеры (Leica DFC 320, Германия) и программы анализа изображения Image Warp (Bit Flow, США). В каждой экспериментальной группе оценивали не менее 120-150 нейронов, что обеспечивало достаточный объем выборки для последующего анализа.

Для электронно-микроскопического исследования образцы гипоталамуса фиксировали в 2,5% растворе глутарового альдегида на буфере Миллонига, pH 7.4 (4 часа, при 4°C), вырезали латеральные участки заднего гипоталамуса, где располагаются нейроны ядра E2, помещали в 1% осмиевый фиксатор на буфере Миллонига, pH 7.4 (1 час, при комнатной температуре) [8], обезжировали в спиртах восходящей концентрации и ацетоне, заливали в эпоксидную смолу. Ультратонкие срезы изготавливали на ультратоме MT-7000 (RMC, США), контрастировали уранилацетатом [9] и цитратом свинца [10], изучали в электронном микроскопе JEM-1011 (JEOL, Япония) и фотографировали цифровой камерой (Olympus MegaView III, Германия).

Полученные данные обрабатывали методами непараметрической статистики с помощью программы Statistica 6.0 (StatSoft, Inc., США). Количественные результаты представляли в виде «Me (LQ; UQ)», где Me – медиана, LQ – верхняя граница нижнего квартиля, UQ – нижняя граница верхнего квартиля. Достоверными считали различия между контрольной и опытной группами при значениях  $p < 0,05$  (Mann-Whitney U-test) [11].

### Результаты и обсуждение

Через 1 час после седьмого введения алкоголя в дозе 4 г/кг/сут в гистаминергическом ядре E2 гипоталамуса наблюдаются значительные гистологические изменения. При анализе гистаминергических нейронов по степени хромофилии цитоплазмы обнаружено уменьшение количества нормохромных нейронов и возрастание числа гипохромных нейронов и клеток-теней до 9,0% от общего количества гистаминергических нейронов, что является свидетельством токсического действия алкоголя на исследуемые нейроны (табл. 1). По данным ранее проведенного нами исследования [12], спустя 24 часа после седьмого введения алкоголя в гистаминергическом ядре E2 число гипохромных нейронов и клеток-теней остаётся повышенным относительно общего количества гистаминергических нейронов.

Изменение структурной организации гистаминергических нейронов проявляется в увеличении размеров и возрастании сферичности перикарионов и ядер данных клеток. Минимальный диаметр перикарионов становится больше на 4,9%, их площадь и объем увеличиваются на 4,5 и 5,5%, соответственно, значение форм-фактора возрастает на 6,6%. Минимальный диаметр ядер возрастает на 4,7%, площадь и объем увеличиваются на 5,3 и 8,0%, соответственно, а значение

**Таблица 1.** – Количество (в %) разных типов гистаминергических нейронов по степени хромофилии цитоплазмы на седьмые сутки через 1 час после 7-го введения алкоголя в дозе 4 г/кг/сут, окраска по методу Ниссля (Me (LQ; UQ))

Тип нейронов	Контроль (n=9)	Опыт (n=7)
Нормохромные нейроны	88,16 (86,29; 91,14)	75,56 (74,04; 78,55)*
Гипохромные нейроны	6,10 (5,56; 7,40)	12,24 (10,09; 13,22)*
Гиперхромные нейроны	3,03 (2,86; 3,35)	3,18 (3,11; 3,99)
Клетки-тени	2,71 (2,13; 3,16)	9,02 (7,67; 9,35)*

Примечание: \* –  $p < 0,05$  при сравнении с контролем

форм-фактора возрастает на 5,5%. Ядерно-цитоплазматическое отношение существенно не изменяется (табл. 2). Выявленные изменения могут быть связаны с токсическим набуханием и нарушением цитоскелета нейронов. По данным ранее проведенного нами исследования [12], через сутки после семидневной алкогольной интоксикации перикарионы нейронов сжимаются, а их ядра, уменьшаясь, становятся менее сферичными и несколько вытягиваются. Это может быть одной из форм адаптационных перестроек цито- и кариоскелета нервных клеток к последующему ожидаемому токсическому набуханию.

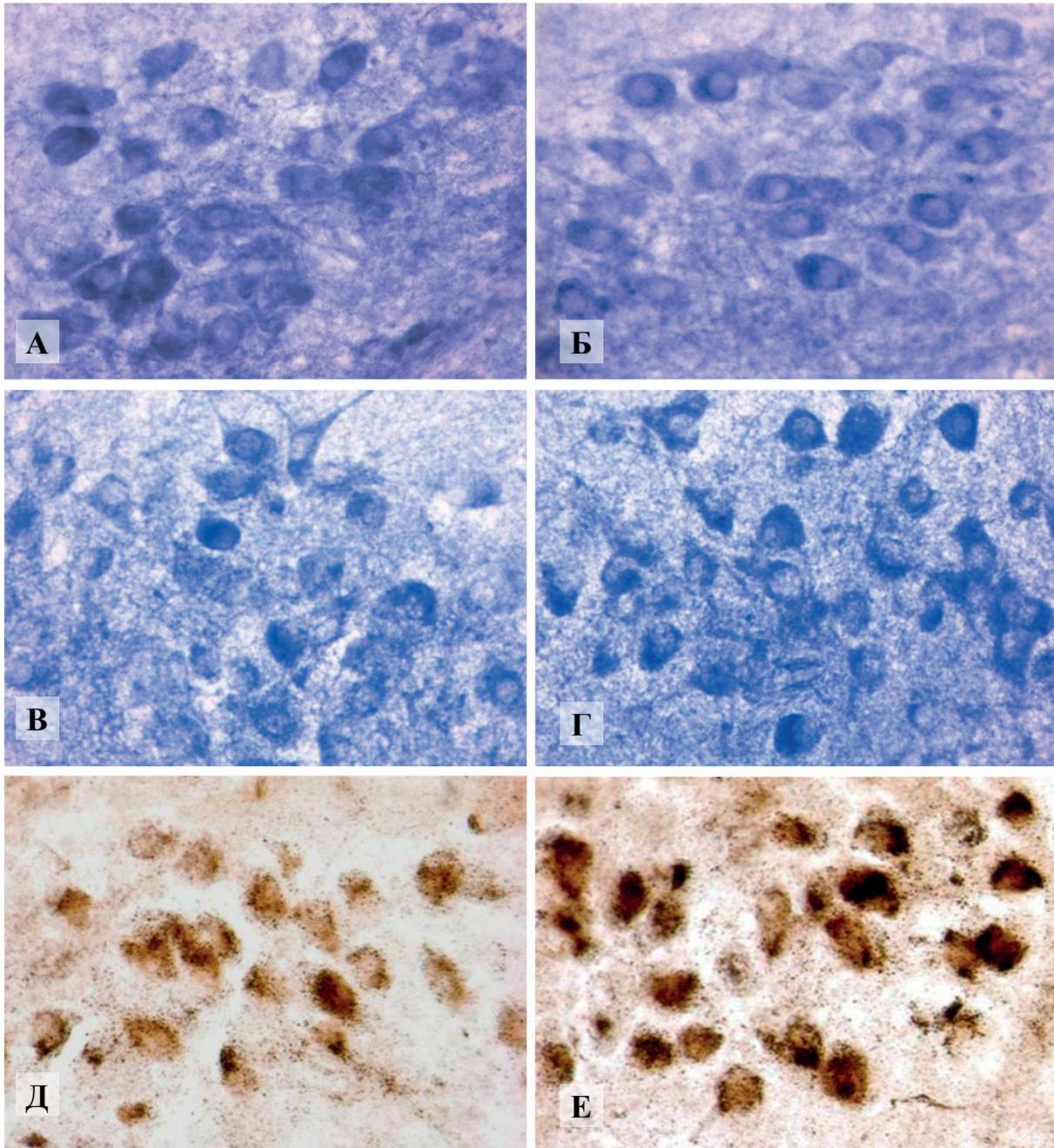
**Таблица 2.** – Показатели размеров и формы перикарионов и ядер гистаминергических нейронов мозга крыс на седьмые сутки через 1 час после седьмого введения алкоголя в дозе 4 г/кг/сут, окраска по методу Ниссля (Me (LQ; UQ))

Параметр	Контроль (n=6)	Опыт (n=6)
Перикарион		
Минимальный диаметр, мкм	11,99 (11,00; 12,07)	12,58 (12,12; 13,15)**
Максимальный диаметр, мкм	18,37 (18,14; 19,03)	18,56 (18,08; 19,27)
Периметр, мкм	60,78 (59,56; 61,07)	56,77 (54,24; 57,06)**
Площадь, мкм <sup>2</sup>	192,50 (180,32; 200,01)	201,16 (200,76; 227,78)*
Объем, мкм <sup>3</sup>	1822,66 (1678,45; 1875,57)	1922,91 (1883,54; 2220,09)*
Форм-фактор	0,66 (0,64; 0,68)	0,70 (0,69; 0,73)*
Фактор элонгации	1,53 (1,51; 1,59)	1,48 (1,47; 1,56)
Ядро		
Минимальный диаметр, мкм	6,98 (6,67; 7,09)	7,30 (7,25; 7,42)*
Максимальный диаметр, мкм	11,22 (11,03; 11,50)	11,27 (11,17; 11,76)
Периметр, мкм	31,31 (30,69; 32,51)	33,73 (31,22; 34,98)
Площадь, мкм <sup>2</sup>	65,87 (60,11; 67,17)	69,36 (67,45; 76,14)*
Объем, мкм <sup>3</sup>	401,13 (372,07; 420,32)	433,22 (424,17; 487,23)*
Форм-фактор	0,84 (0,80; 0,83)	0,89 (0,84; 0,90)**
Фактор элонгации	1,61 (1,58; 1,65)	1,54 (1,48; 1,65)
ЯЦО	0,52 (0,50; 0,60)	0,53 (0,50; 0,69)

Примечание: ЯЦО – ядерно-цитоплазматическое отношение; \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$  при сравнении с контролем

Под влиянием алкоголя происходит значительная перестройка метаболизма гистаминергических нейронов. Через 1 час после введения крысам алкоголя в дозе 4 г/кг/сут в цитоплазме нервных клеток наблюдается снижение активности СДГ на 19,6%, НАДН-ДГ – на 11,6% (рис. 1), НАДФН-ДГ – на 17,4% и Г-6-Ф-ДГ – на 9,8%; происходит компенсаторное возрастание активности ЛДГ на 22,1%, КФ – на 37,1% (рис. 1), увеличение активности маркерного фермента гистаминергических нейронов МАО Б на 9,8% в сравнении с контролем (рис. 2).

Уменьшение активности СДГ указывает на угнетение окислительно-восстановительных реакций в цикле Кребса, отражает процессы, происходящие в митохондриях – их набухание и деструкцию. НАДН-ДГ является ключевым ферментом системы транспорта электронов. НАДФН-ДГ принимает участие в процессах восстановительного синтеза. Г-6-Ф-ДГ – фермент пентозофосфатного пути. Уменьшение активности этих ферментов характеризует подавление перечисленных процессов при поступлении алкоголя в клетку. Повышенный уровень актив-



**Рисунок 1.** – Активность ферментов в цитоплазме гистаминергических нейронов мозга контрольных крыс (А, В, Д) и на седьмые сутки через 1 час после 7-го введения алкоголя в дозе 4 г/кг/сут (Б, Г, Е)

А, Б – НАДН-дегидрогеназа. Окраска по Нахласу, Уокеру, Зелигману. В, Г – лактат-дегидрогеназа. Окраска по Гесс, Скарпелли, Пирсу. Д, Е – кислая фосфатаза. Окраска по Гомори. Масштабный отрезок равен 15 мкм. Цифровые микрофотографии. Ув. 400

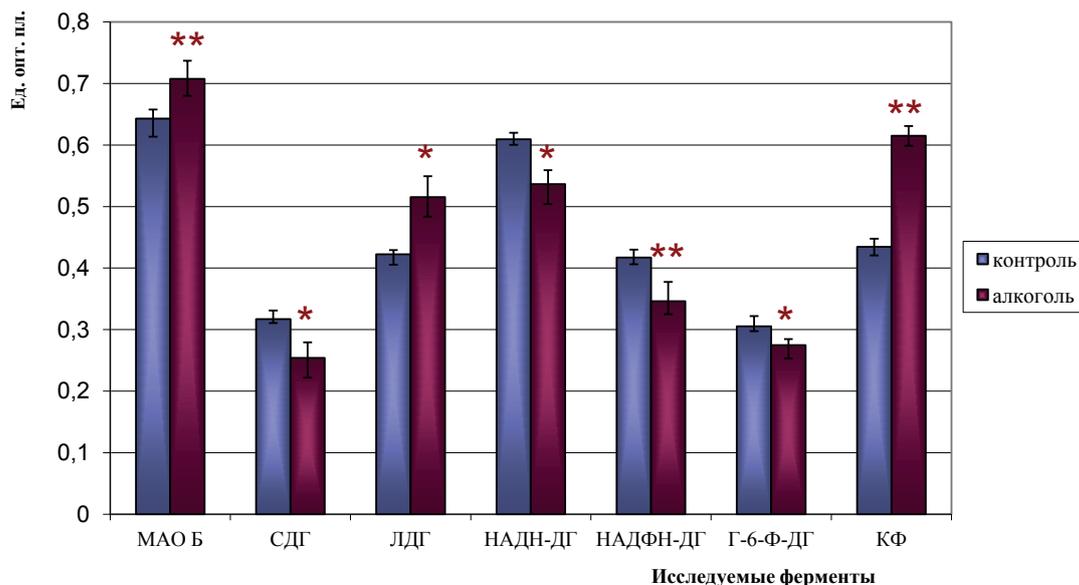


Рисунок 2. – Изменение активности ферментов в цитоплазме гистаминергических нейронов гипоталамуса крыс на седьмые сутки через 1 час после 7-го введения алкоголя в дозе 4 г/кг/сут Me (LQ; UQ); \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$  по сравнению с контролем

ности ЛДГ говорит о недостаточном снабжении клетки кислородом и указывает на перестройку энергетического метаболизма нейронов в условиях субхронической алкоголизации, когда основным энергетическим субстратом для мозга вместо глюкозы постепенно становится второй метаболит этанола – ацетат [13]. MAO B выступает в роли ключевого фермента метаболизма гистамина. Увеличение её активности свидетельствует о модулирующем действии алкоголя на окислительное дезаминирование гистамина. Повышение активности КФ в цитоплазме гистаминергических нейронов свидетельствует об усилении аутофагии, направленной на удаление разрушенных мембран и органелл.

Через 24 часа после последнего введения алкоголя активность СДГ, НАДН-ДГ и НАДФН-ДГ остается сниженной по сравнению с контрольными животными, сохраняется повышенная активность ЛДГ и КФ, однако активность Г-6-Ф-ДГ и MAO B уже существенно не отличается от нормы [12], что можно рассматривать как частичную стабилизацию метаболических процессов.

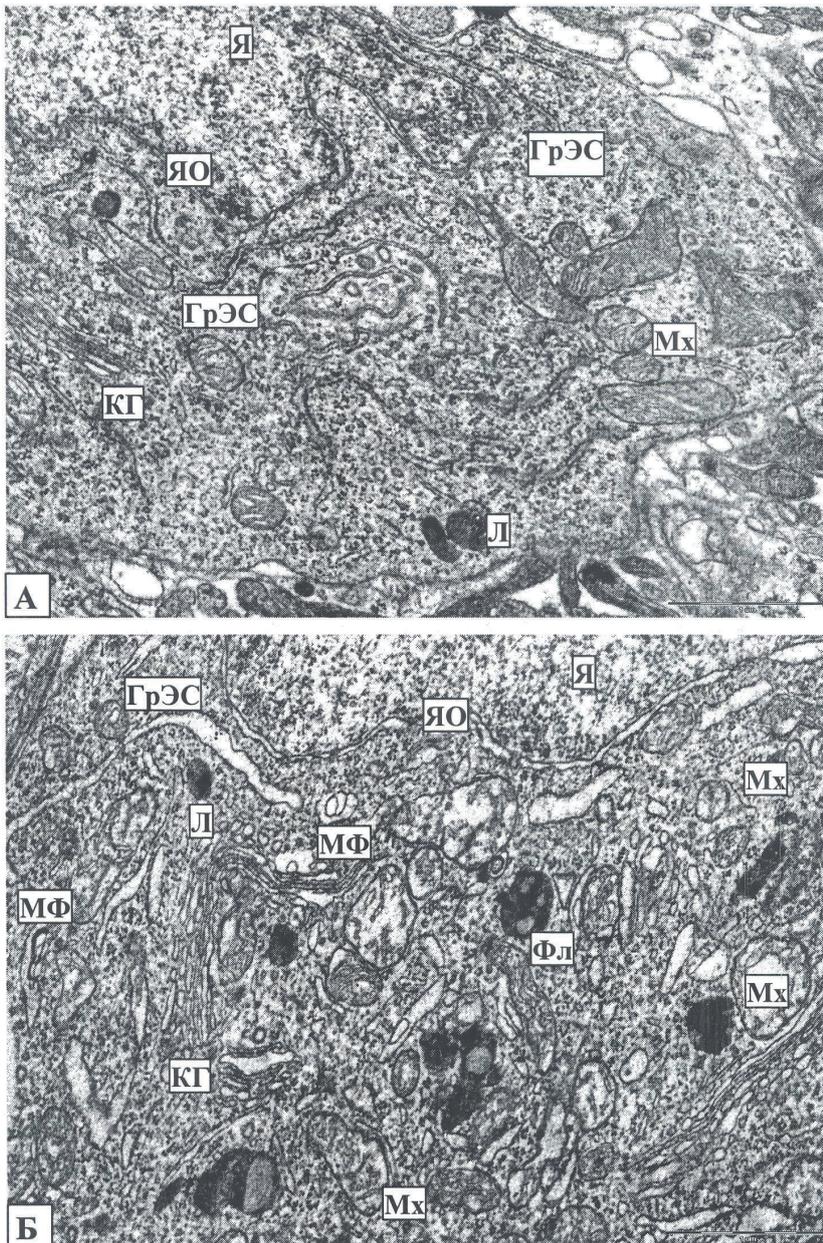
Результаты электронно-микроскопического исследования показали, что у контрольных животных нейроны ядра E2 гипоталамуса имеют полигональную форму. Крупные ядра локализуются в центре тел нейронов. Хроматин мелкозернистый, в основном равномерно распределенный в кариоплазме. Ядрышки компактные, с преобладанием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

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

внутренняя мембрана образует складки – кристы. Хорошо развита гранулярная эндоплазматическая сеть (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 цитоплазме выявляется значительное количество свободных рибосом, преимущественно в виде полисом. Хорошо развит комплекс Гольджи (КГ), 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 содержанием (рис. 3А).

Спустя 1 час после седьмого введения животным этанола в дозе 4 г/кг/сут в гистаминергических нейронах имеет место активация ядерного аппарата. Так, во многих исследованных клетках отмечается увеличение складчатости и протяженности кариолеммы, расширение перинуклеарного пространства, прослеживается его переход в расширенные каналы ГрЭС.

В отдельных нейронах наблюдается перемещение ядрышка на периферию ядра, доминирование в его структуре гранулярного компонента, конденсация субъединиц рибосом вблизи внутренней ядерной мембраны. В кариоплазме некоторых ядер выявляются вакуоли полигональной формы, окруженные одинарной биологической мембраной (рис. 4). Возможно, это срезы складок кариолеммы с локальным расширением перинуклеарного пространства.



**Рисунок 3.** – Фрагмент гистаминергического нейрона ядра E2 мозга крысы в норме (А) и на седьмые сутки через 1 час после 7-го введения алкоголя в дозе 4 г/кг/сут (Б)

Гранулярная эндоплазматическая сеть (ГрЭС), комплекс Гольджи (КГ), лизосомы (Л), миелиноподобная фигура (МФ), митохондрии (Мх), фаголизосома (Фл), ядерная оболочка (ЯО), ядро (Я). Масштабный отрезок равен 1 мкм. Электронограммы. Ув. 25000

В цитоплазме нейронов опытных животных наблюдается фрагментация ГрЭС с расширением канальцев (рис. 3Б, 4). Встречается фрагментация и гладкой эндоплазматической сети с образованием везикул разного диаметра, что, вероятно, сопровождается снижением активности НАДФН-ДГ, отмеченным нами на светооптическом уровне. Отмечается частичная гипертрофия КГ (рис. 3Б). Перечисленные изменения – типичные проявления реакции клетки в ответ на токсическое воздействие [14].

При многократном введении большой дозы алкоголя в цитоплазме гистаминергических нейронов происходит нарушение организации митохондрий – их набухание, фрагментация и деструкция крист (рис. 3Б, 4). Такие органеллы встречаются довольно часто, что объясняет снижение активности СДГ и НАДН-ДГ, выявленное нами на светооптическом уровне. Однако основная часть таких нарушений обратима, так как в большинстве исследованных клеток компенсаторные способности не исчерпаны, о чем свидетельствует присутствие в них, наряду с деструктивными органеллами, митохондрий, практически не отличающихся от нормальных. Отмечена концентрация митохондрий в околядерной области, что говорит об увеличении энергозатрат, связанных с усилением ядерно-цитоплазматической трансляции [15].

Клеточный ответ на алкогольную интоксикацию выражается у гистаминергических нейронов формированием миелиноподобных фигур из митохондрий, ГрЭС (рис. 3Б) и КГ, которые служат признаком изнашивания мембранных структур и свидетельствуют о развитии деструктивных процессов [15]. Они появляются в результате перекисного окисления липидов мембран и формируются из высвобождающихся фосфолипидов [16].

В цитоплазме нейронов опытных животных встречаются ядрышкоподобные тельца, или «стрессовые гранулы», округлой или овальной формы, не ограниченные мембраной, состоящие из гранулярного осмиофильного материала с несколькими участками просветления (что

может быть способом массовой доставки субъединиц рибосом из ядра в цитоплазму для усиления биосинтеза белка в клетке), а также слоистые структуры, образованные концентрически расположенными цистернами КГ или дегранулированными канальцами ГрЭС (рис. 4).

Имеет место активация лизосомального аппарата, которая проявляется в образовании множества вторичных лизосом (рис. 4), а на светооптическом уровне выражается в увеличении активности КФ, что является признаком усиления

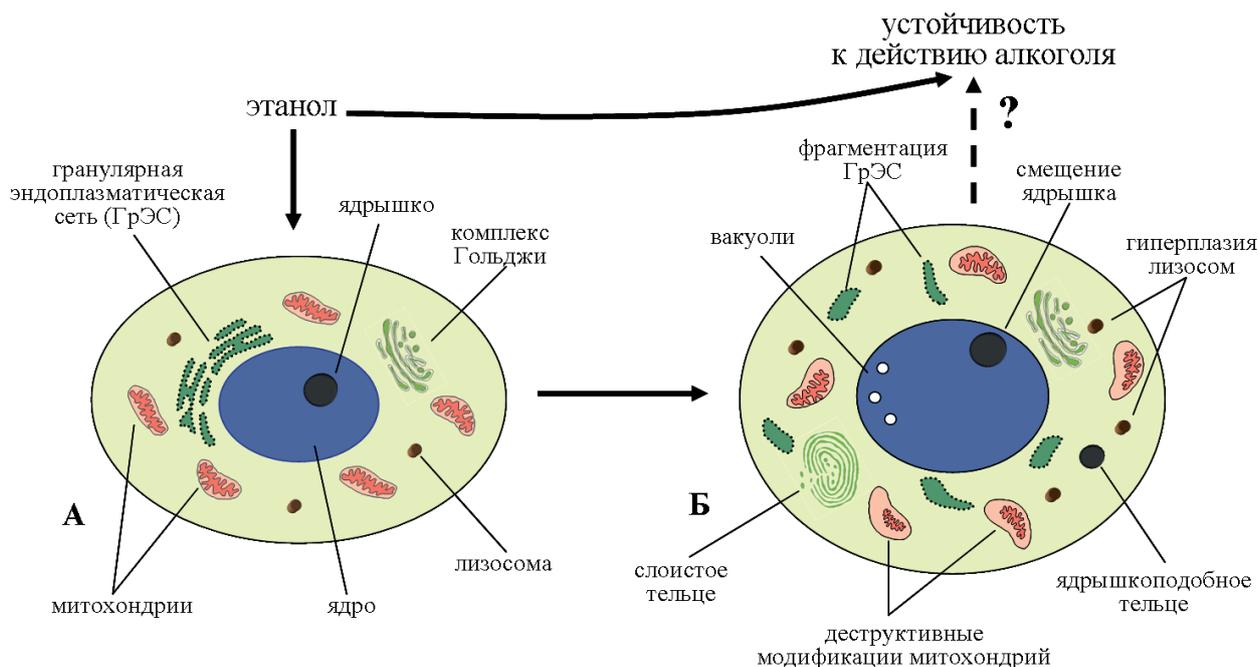


Рисунок 4. – Гистаминергический нейрон ядра E2 мозга крысы контрольной крысы (А) и на седьмые сутки через 1 час после 7-го введения алкоголя в дозе 4 г/кг/сут (Б)

аутофагии. Это можно рассматривать как одну из форм структурно-функциональной адаптации клеток, позволяющей им мобилизовать свой защитный потенциал [17].

Через 24 часа после субхронической алкогольной интоксикации характер ультраструктурных сдвигов в качественном отношении сохраняется [12]. Это говорит о долговременности и устойчивости выявленных модификаций. При этом гистаминергические нейроны проявляют достаточную устойчивость, поскольку большинство описанных ультраструктурных изменений нельзя отнести к признакам необратимой деструкции [15]. Выявленные адаптационные

изменения выступают в качестве признаков защитных реакций организма.

#### Выводы

1. При семидневном воздействии этанола в дозе 4 г/кг/сут через 1 час после последнего его введения в структуре гистаминергических нейронов выявляются как деструктивные, так и адаптационные изменения.

2. Метаболическая активность исследованных нейронов снижается, что сопровождается компенсаторной активацией анаэробного гликолиза и усилением процессов аутофагии.

#### Литература

- Ostrovsky, Yu. M. Endogenous ethanol – its metabolic, behavioral and biomedical significance / Yu. M. Ostrovsky // *Alcohol*. – 1986. – Vol. 3, iss. 4. – P. 239-247.
- Шабанов, П. Д. Биология алкоголизма / П. Д. Шабанов, С. Ю. Калишевич. – Санкт-Петербург : Лань, 1998. – 272 с.
- Зиматкин, С. М. Окисление алкоголя в мозге / С. М. Зиматкин. – Гродно : ГрГМУ, 2006. – 200 с.
- Зиматкин, С. М. Гистаминергические нейроны мозга : монография / С. М. Зиматкин. – Гродно : ГрГМУ, 2014. – 308 с.
- Пирс, Э. Гистохимия: теоретическая и прикладная / Э. Пирс. – Москва : Изд-во иностр. лит., 1962. – 962 с.
- Зиматкин, С. М. Гистохимический метод исследования активности моноаминоксидазы А и Б в мозге / С. М. Зиматкин, В. Ф. Цыдик // *Морфология*. – 1994. – № 4. – С. 157-161.
- Paxinos, G. The rat brain in stereotaxic coordinates / G. Paxinos, C. Watson. – 6nd ed. – London : Academic Press, 2007. – 448 p.

- Millonig, G. Advanvantges of a phosphate buffer for OsO<sub>4</sub> solutions in fixation / G. Millonig // *J. Appl. Physics*. – 1961. – Vol. 32. – P. 1637-1643.

- Watson, M. L. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals / M. L. Watson // *J. Biophys. Biochem. Cyt.* – 1958. – Vol. 4, iss. 4. – P. 475-478.

- Reynolds, E. S. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy / E. S. Reynolds // *J. Cell Biol.* – 1963. – Vol. 17, iss. 1. – P. 208-212.

- Батин, Н. В. Компьютерный статистический анализ данных : учеб.-метод. пособие / Н. В. Батин. – Минск : ИПНК НАН Беларуси, 2008. – 160 с.

- Zimatkin, S. M. Seven-day ethanol administration influence on the rat brain histaminergic neurons / S. M. Zimatkin, E. M. Phedina // *Alcohol*. – 2015. – Vol. 49, iss. 6. – P. 589-595.

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

- Серов, В. В. Ультраструктурная патология / В. В. Серов, В. С. Пауков. – Москва : Медицина, 1975. – 432 с.

15. Манина, А. А. Ультраструктурные изменения и репаративные процессы в центральной нервной системе при различных воздействиях / А. А. Манина. – Ленинград : Медицина, 1971. – 198 с.
16. Патологическая физиология / А. Г. Савойский [и др.]. – Уфа : Ин-форм-Реклама, 2004. – 496 с.
17. Панин, Л. Е. Лизосомы: роль в адаптации и восстановлении / Л. Е. Панин, И. Н. Маянская. – Новосибирск : Наука, 1987. – 198 с.

### References

- Ostrovsky YuM. Endogenous ethanol – its metabolic, behavioral and biomedical significance. *Alcohol*. 1986;3(4):239-247.
- Shabanov PD, Kalishevich SJu. *Biologija alkogolizma* [Biology of alcoholism]. Sankt-Peterburg: Lan; 1998. 272 p. (Russian).
- Zimatkin SM. Okislenie alkogolja v mozge [Alcohol oxidation in the brain]. Grodno: GrSMU; 2006. 200 p. (Russian).
- Zimatkin SM. Gistaminergicheskie nejrorny mozga [Histaminergic neurons of the brain]. Grodno: GrSMU; 2014. 308 p. (Russian).
- Pirs E. Gistohimija: teoreticheskaja i prikladnaja [Histochemistry: theoretical and applied]. Moscow: Izdatelstvo inostrannoju literatury; 1962. 962 p. (Russian).
- Zimatkin SM, Cydik VF. Gistohimicheskij metod issledovanija aktivnosti monoaminoksidazy A i B v mozge [A method for studying the activity of monoamine oxidase A and B in the brain]. *Morfologija* [Morphology]. 1994;4:157-161. (Russian).
- Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 6nd ed. London: Academic Press; 2007. 448 p.
- Millonig G. Advanvantges of a phosphate buffer for OsO<sub>4</sub> solutions in fixation *J. Appl. Physics*. 1961;32:1637-1643.
- Watson ML. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *J. Biophys. Biochem. Cyt*. 1958;4:475-478.
- Reynolds ES. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol*. 1963;17(1):208-212.
- Batin, NV. Komp'juternyj statisticheskij analiz dannyh [Computer statistical analysis of data]. Minsk: RTI NAS of Belarus; 2008. 160 p. (Russian).
- Zimatkin SM, Phedina EM. Seven-day ethanol administration influence on the rat brain histaminergic neurons. *Alcohol*. 2015;49(6):589-595. doi: 10.1016/j.alcohol.2015.06.003.
- Zimatkin SM, Oganessian NA, Kiselevskij YuV. Acetatzavisimye mehanizmy tolerantnosti k jetanolu [Acetate-dependent mechanisms of ethanol tolerance]. Grodno: GrSMU; 2010. 252 p. (Russian).
- Serov VV, Paukov VS. Ultrastrukturnaja patologija [Ultrastructural pathology]. Moscow: Medicine; 1975. 432 p. (Russian).
- Manina AA. Ultrastrukturnye izmenenija i reпаратivnyye processy v central'noj nervnoj sisteme pri razlichnyh vozdeystvijah [Ultrastructural changes and reparative processes in the central nervous system under various effects]. Leningrad: Medicine; 1971. 198 p. (Russian).
- Savojskij AG, Bajmatov VN, Volkova ES, Meshkov VM. Patologicheskaja fiziologija [Pathological physiology]. Ufa: Inform-Reklama; 2004. 496 p. (Russian).
- Panin LE, Majanskaja I.N. Lizosomy: rol v adaptacii i vosstanovlenii [Lysosomes: a role in adaptation and recovery]. Novosibirsk: Nauka; 1987. 198 p. (Russian).

## HISTAMINERGIC NEURONS OF RAT BRAIN FOLLOWING SEVEN-DAY ALCOHOL LOAD

Zimatkin S. M., Phedina K. M.

Educational Institution «Grodno State Medical University», Grodno, Belarus

*Objective.* To estimate morphofunctional state of E2 histaminergic neurons of rat hypothalamus 1 h after the 7th injection of 20% ethanol solution at a dose of 4 g/kg/day.

*Material and methods.* Rats were given injections of 20% ethanol solution (4 g/kg/day, for 7 days, decapitation – 1 h after the 7th injection). The examination was done by histological, histochemical, morphometric, cytophotometric and electron microscope methods.

*Results.* Seven-fold alcohol administration causes increasing and rounding of perikarya and nuclei of histaminergic neurons, the activity increasing of monoamine oxidase type B, lactate dehydrogenase, acid phosphatase, the activity decreasing of dehydrogenases of succinate, NADH, NADPH, glucose-6-phosphate, the activation of the nuclear apparatus, disturbance of the membrane organelles organization, lysosomal hyperplasia.

*Conclusions.* 7-day ethanol administration affects the structure and metabolism of histaminergic neurons, demonstrating both the neurotoxic effect of alcohol and processes of neurons adaptation.

**Keywords:** alcohol, brain, histaminergic neurons.

Поступила: 24.11.2017

Отрецензирована: 20.12.2017