

ИММУНОРЕАКТИВНОСТЬ NeuN, НЕЙРОГЛОБИНА И АТФ-СИНТАЗЫ В РАЗВИВАЮЩИХСЯ ГИСТАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНАХ ГИПОТАЛАМУСА КРЫСЫ

Зиматкин С. М., Заерко А. В., Федина Е. М.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Введение. Изучение иммунореактивности NeuN, Ngb и АТФ-синтазы в развивающихся гистаминергических нейронах представляет значительный интерес, учитывая важность и недостаточную изученность этих нейронов.

Цель исследования. Оценка содержания NeuN, Ngb и АТФ-синтазы в гистаминергических нейронах ядра E2 мозга крыс в динамике постнатального онтогенеза.

Материал и методы. Исследование выполнено на 5, 10, 20, 45 и 90-суточных беспородных белых крысах с применением иммуногистохимических, цитофотометрических и статистических методов исследования.

Результаты. В развивающихся гистаминергических нейронах мозга крыс с 5 по 90 сутки после рождения параллельно нарастает иммунореактивность MAO Б, NeuN, Ngb и АТФ-синтазы.

Выводы. В ходе постнатального развития гистаминергических нейронов параллельно их структурно-метаболическому становлению происходит синхронное возрастание иммунореактивности MAO Б, NeuN, Ngb и АТФ-синтазы.

Ключевые слова: гистаминергические нейроны, NeuN, Ngb, АТФ-синтаза, постнатальное развитие.

Для цитирования: Зиматкин, С. М. Иммунореактивность NeuN, нейроглобина и АТФ-синтазы в развивающихся гистаминергических нейронах гипоталамуса крысы / С. М. Зиматкин, А. В. Заерко, Е. М. Федина // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2020. Т. 18, № 4. С. 389-395. <http://dx.doi.org/10.25298/2221-8785-2020-18-4-389-395>.

Введение

Проблема формирования мозга в онтогенезе – одна из приоритетных в медицине и биологии. Большое число клинических наблюдений и экспериментальных исследований на животных свидетельствует о том, что воздействие неблагоприятных факторов среды в определенные периоды развития мозга (так называемые критические периоды) оставляют длительный след, создают основу для развития многообразных патологий ЦНС [1]. С появлением в арсенале нейроморфологов новых методов возможности исследования мозга значительно расширились. В последние десятилетия для изучения развития нейронов в постнатальном онтогенезе активно используются молекулярные маркеры, которые позволяют не только определять морфологические особенности созревания клеток, но и получать сведения об их дифференцировке и функциональном состоянии.

Так, маркер зрелых нейронов – белок NeuN (neuronal nuclei) – локализован в ядрах и перинуклеарной цитоплазме нейронов ЦНС млекопитающих. Данный белок активно используется в иммуногистохимических исследованиях как универсальный нейроспецифический маркер при изучении дифференцировки нейронов [2]. Нейроглобин (Ngb) – это железосодержащий белок, который, как правило, локализуется в нервной системе позвоночных, преимущественно в перинуклеарных областях нервных клеток. Он служит для депонирования и транспорта кислорода к митохондриям нейронов, тем самым способствуя поддержанию кислородного гомеостаза мозга [3], а также влияет на некоторые метаболические пути, включая поддержание ионного гомеостаза, энергетического метаболизма и пе-

редачу клеточных сигналов [4]. АТФ-синтаза – интегральный белок внутренней мембраны митохондрий. Он расположен в непосредственной близости к дыхательной цепи и обозначается как V комплекс, осуществляющий реакцию синтеза АТФ из АДФ.

Одна из наиболее важных нейротрансмиттерных систем головного мозга – гистаминергическая. Тела гистаминергических нейронов в головном мозге взрослых позвоночных ограничены туберомамиллярной областью заднего гипоталамуса, где они располагаются в отдельных группах – ядрах (E1-E5). Ядро E2 самое крупное и содержит более половины гистаминергических нейронов [5]. Подобно большинству других аминергических систем, гистаминергическая система устроена по «древовидному» принципу: очень небольшое количество крупноклеточных нейронов (в мозге крысы – лишь 3-4 тысячи, в мозге человека – 64 тысячи) иннервируют миллиарды клеток коры и подкорковых структур, и таким образом участвуют в регуляции многих функций ЦНС [6].

Представляет значительный интерес изучение иммунореактивности перечисленных выше молекулярных маркеров в развивающихся гистаминергических нейронах, поскольку в мировой литературе данные о подобных исследованиях отсутствуют.

Цель – оценка содержания NeuN, нейроглобина и АТФ-синтазы в гистаминергических нейронах ядра E2 мозга крыс в динамике постнатального онтогенеза.

Материал и методы

Исследование выполнено на потомстве беспородных белых крыс (всего 15 крысят) в соответствии с принципами биоэтики и требованиями

Директивы Европейского Парламента и Совета № 2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, используемых для научных целей [7]. На данное исследование получено разрешение комитета по биомедицинской этике Гродненского государственного медицинского университета (протокол № 1 от 30.01.2018). Животные находились на стандартном рационе вивария. Декапитация крысят осуществлялась на 5, 10, 20, 45 и 90 сутки после рождения (для лучшей оценки динамики развития из каждого помета брали по одному крысенку на каждый срок), быстро извлекали головной мозг, вырезали гипоталамус. Образцы гипоталамуса фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде [8] при +4°C (на ночь), затем заключали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм готовили с помощью микротомы (Leica RM 2125 RTS, Германия), монтировали на предметные стекла. Препараты обрабатывали согласно протоколу иммуноцитохимической реакции для световой микроскопии, исключаяющей процедуру теплового демаскирования антигенов [9].

Для идентификации гистаминергических нейронов срезы гипоталамуса обрабатывали на выявление маркера этих нейронов, ключевого фермента метаболизма гистамина моноаминоксидазы типа Б (МАО Б) [10]. Для иммуногистохимического выявления МАО Б применяли первичные поликлональные кроличьи антитела против МАО Б фирмы Elabscience, cat. No.EPP15673 (Китай) в разведении 1:100, при +4°C, 20 часов, во влажной камере. Связавшиеся первичные антитела выявляли с помощью набора детекции Elabscience cat.No. E-IR-R213 (Китай).

С целью оценки созревания гистаминергических нейронов в гипоталамусе определяли нейрональный ядерный белок NeuN (маркер зрелых нейронов) [2]. Для иммуногистохимического выявления NeuN применяли первичные поликлональные кроличьи антитела фирмы Abcam (Великобритания) – ab.128886 (в разведении 1:400, при +4°C, 20 ч, во влажной камере). Для выявления связавшихся первичных антител использовали набор EXPOSE Rabbit specific HRP/DAB detection IHC kit ab.80437 Abcam (Великобритания).

Для иммуногистохимического выявления нейроглобина – белка, вовлеченного в поддержание газового гомеостаза клетки, – применяли первичные моноклональные мышинные антитела Anti-Ngb antibody фирмы Abcam (Великобритания, ab. 14748) в разведении 1:600 при +4°C, экспозиция 20 ч, во влажной камере [3]. Для выявления связавшихся первичных антител использовали набор EXPOSE Mouse and Rabbit specific HRP/DAB detection IHC kit Abcam (Великобритания, ab. 80436).

Для определения иммунореактивности молекулярного маркера митохондрий АТФ-синтазы (комплекса V, образующего АТФ из АДФ), применяли первичные моноклональные мышинные антитела Anti-ATP5A antibody фирмы Abcam (Великобритания, ab. 14748) в разведении 1:2400 при +4°C, экспозиция 20 ч, во влажной камере.

Для выявления связавшихся первичных антител использовали набор EXPOSE Mouse and Rabbit specific HRP/DAB detection IHC kit Abcam (Великобритания, ab. 80436).

Гистологические препараты изучали, фотографировали и анализировали с помощью микроскопа Axioskop 2 plus (Zeiss, Германия), встроенной цифровой видеокамеры Leica (DFC 320, Германия), а также программы компьютерного анализа изображения Image Warp (Bit Flow, США).

Полученные данные обрабатывали методами непараметрической статистики с помощью программы Statistica 10.0 (StatSoft, Inc., США). Сравнение групп по одному признаку проводили с помощью критерия Манна-Уитни для независимых выборок (Mann-Whitney U-test). Различия между группами считали статистически значимыми, если вероятность ошибочной оценки не превышала 5% ($p < 0,05$, где p – критическое значение уровня значимости).

Результаты и обсуждение

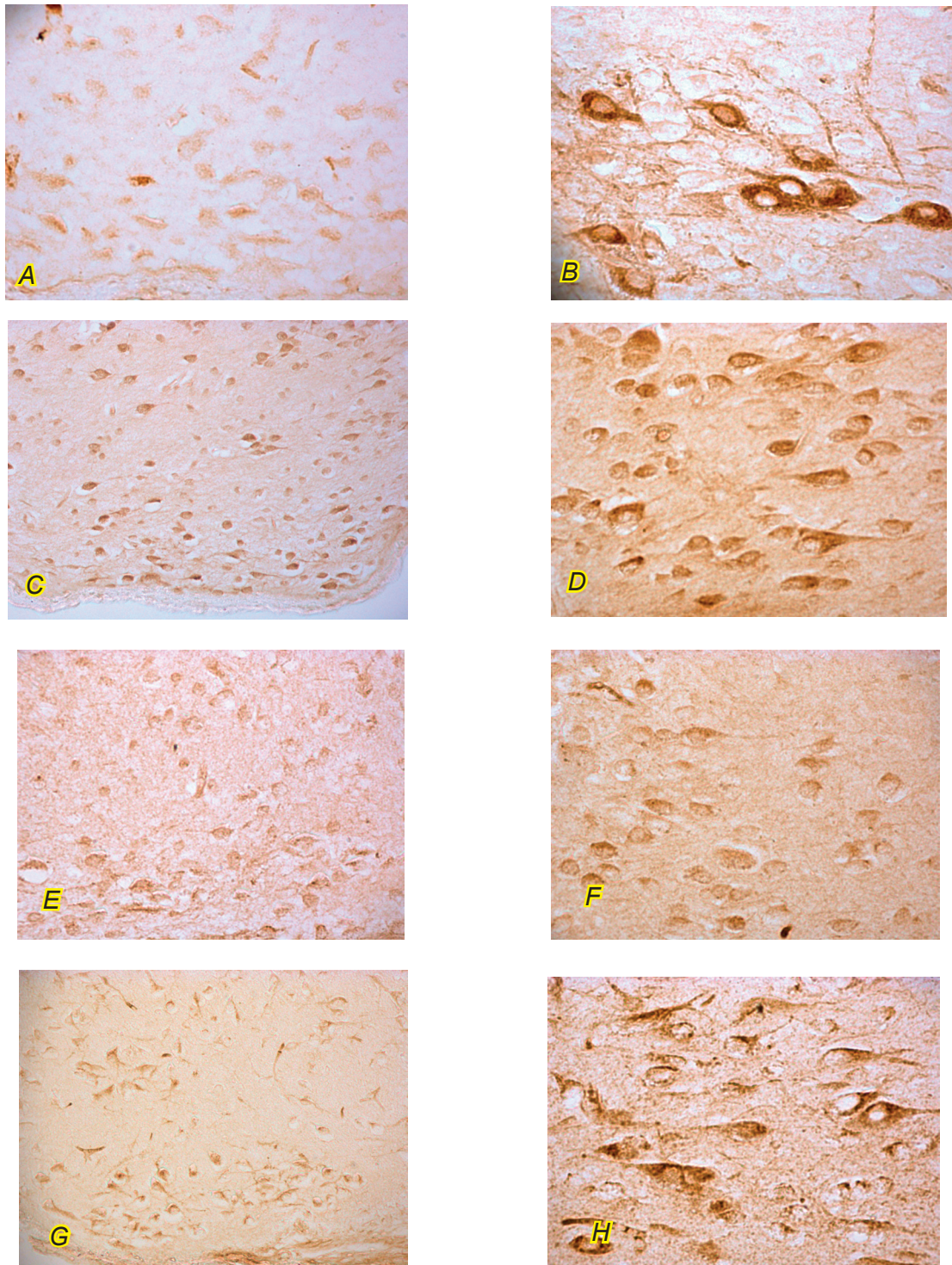
Результаты проведенного нами иммуногистохимического исследования показали, что с 5 по 90 сутки постнатального развития крыс содержание всех изученных молекулярных маркеров в гистаминергических нейронах значительно возрастает (рис. 1). На фотографиях видно, что они располагаются в виде мелкой зернистости, преимущественно в цитоплазме перикарионов, не выявляются в ядрах нейронов, их мало в нейрорпиле, между телами нейроцитов. Отчетливо видно увеличение размеров гистаминергических нейронов и увеличение содержания изученных молекулярных маркеров в их цитоплазме в постнатальном онтогенезе (рис. 1).

Установлено, что на пятые сутки после рождения в гистаминергических нейронах МАО Б не выявляется, с 10 по 90 сутки возрастает в 3,7 раза ($p < 0,001$). С 10 по 20 сутки данный показатель увеличивается в 2 раза, с 20 по 45 – в 1,4 раза, с 45 по 90 – в 1,3 раза (рис. 2А).

Иммунореактивность ядерного белка NeuN (маркер зрелых нейронов) в гистаминергических нейронах гипоталамуса с пятых по 90 сутки постнатального развития возрастает в 1,4 раза ($p < 0,001$). Так, в интервалах с пятых по 10 сутки, с 10 по 20 и с 20 по 45 сутки иммунореактивность данного маркера увеличивается в 1,1 раза, а с 45 по 90 сутки не претерпевает значительных изменений (рис. 2 В).

Экспрессия Ngb (белок, вовлеченный в поддержание кислородного гомеостаза клетки) с пятых по 90 сутки постнатального развития в гистаминергических нейронах мозга крыс возрастает в 1,6 раза ($p < 0,001$). При этом с пятых по 10 сутки иммунореактивность данного маркера увеличивается в 1,2 раза, с 10 по 20 сутки – в 1,1 раза, с 20 по 45 сутки – в 1,2 раза, а с 45 по 90 сутки существенно не меняется (рис. 2 С).

Экспрессия маркера внутренней мембраны митохондрий АТФ-синтазы в гистаминергических нейронах гипоталамуса крыс с пятых по 90 сутки постнатального развития возрастает в 1,5 раза ($p < 0,001$). При этом в интервалах с пятых



Пятые сутки (C, E, G), 10 сутки (A), 90 сутки (B, D, F, H)
 Иммуноцитохимическая реакция. Цифровая микрофотография. Ув. 800

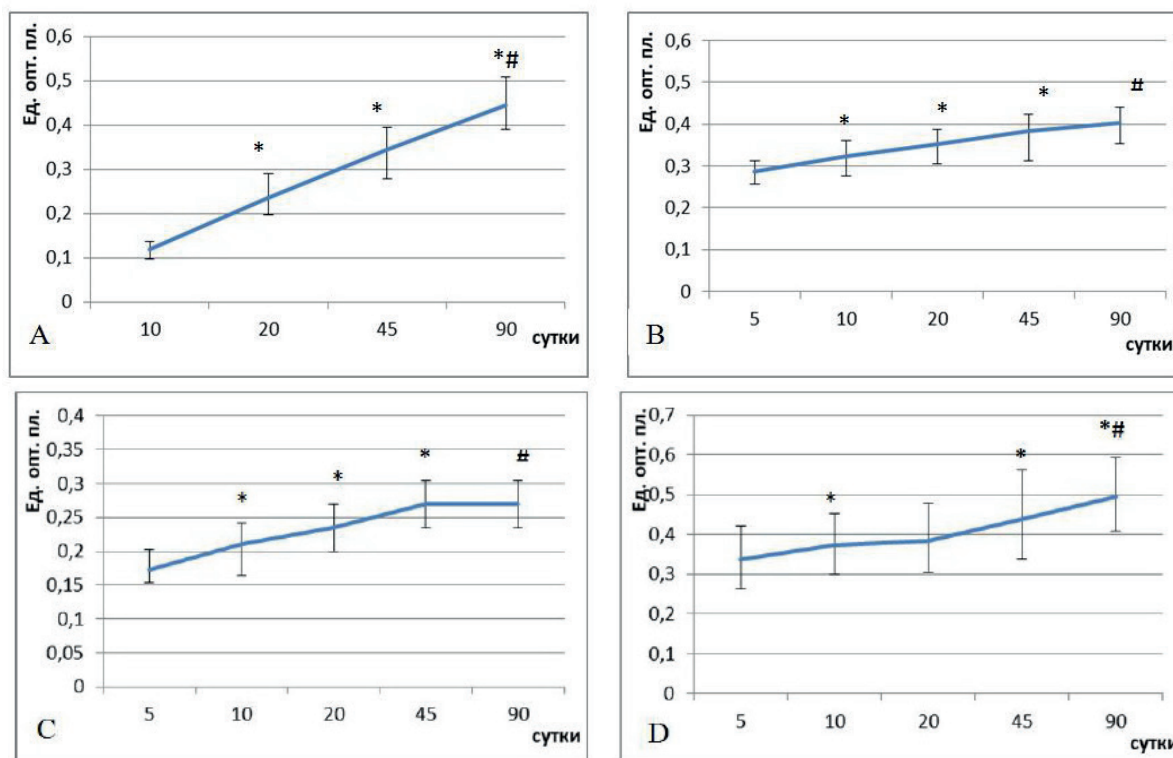
Рисунок 1. – Иммунореактивность MAO B (A, B), NeuN (C, D), Ngb (E, F) и АТФ-синтазы (G, H) в гистаминергических нейронах ядра E2 гипоталамуса крыс

Figure 1. – Immunoreactivity of MAO B (A, B), NeuN (C, D), Ngb (E, F) and ATP synthase (G, H) in E2 nucleus histaminergic neurons of rat hypothalamus

по 10, с 20 по 45 и с 45 по 90 сутки иммунореактивность данного белка увеличивается в 1,1 раза, а с 10 по 20 сутки не претерпевает существенных изменений (рис. 2 D).

В наших предварительных исследованиях показано, что переход гистаминергических ней-

ронов от малодифференцированного к зрелому состоянию в постнатальном онтогенезе сопровождается определенными изменениями их структуры. Так, с пятых по 90 сутки после рождения в ядре E2 гипоталамуса крыс наблюдается значительное увеличение размеров гистаминергиче-



Примечание: # – $p < 0,001$, сравнение клеточных показателей гистаминаргических нейронов между пятыми и 90 сутками;
* – $p < 0,001$, при сравнении показателей с предыдущим сроком

Рисунок 2. – Иммунореактивность MAO B (A), NeuN (B), Ngb (C) и АТФ-синтазы (D) в гистаминаргических нейронах ядра E2 гипоталамуса крыс в динамике постнатального онтогенеза (Me+IQR)

Figure 2. – Immunoreactivity of MAO B (A), NeuN (B), Ngb (C) and ATP synthase (D) in histaminergic neurons of the nucleus E2 of rat hypothalamus in the dynamics of postnatal ontogenesis (Me + IQR)

ских нейронов (особенно с пятых по 10 сутки), при этом расстояние между их перикарионами возрастает (преимущественно в период синаптогенеза, с пятых по 20 сутки), что отражает ускоренный рост нейрона и приводит к существенному уменьшению количества тел нейронов на единицу площади гистаминаргического ядра E2 [11]. В процессе постнатального развития в гистаминаргических нейронах происходит реорганизация ядерного аппарата, в результате которой в ядрах уменьшается число ядрышек и количество субъединиц рибосом, скапливающихся между ядрышками и кариолеммой, осуществляется переход от компактных ядрышек, наблюдаемых у пятисуточных животных, к более крупным ядрышкам классического ретикулярного типа, при этом в цитоплазме увеличивается количество всех органелл. Таким образом, идет закономерное развитие функциональных аппаратов клетки: энергетического, синтетического, а также переваривания и защиты [12].

Следует отметить, что к моменту рождения и в первые две недели жизни животных гистаминаргические нейроны не выполняют в полной мере функцию продукции гистамина. Ранее выявленное нами отсутствие на пятые сутки постнатального развития активности моноаминоксидазы типа B (MAO B), маркерного фермента гистаминаргических нейронов, свидетельствует о низком окислительном дезаминировании ги-

стамина в исследуемых нейронах [11]. В это время за формирование значительной части общего пула данного биогенного амина в головном мозге отвечают тучные клетки [13, 14]. Однако в возрасте примерно двух недель постнатального развития общее содержание гистамина, продуцируемого мастоцитами, постепенно снижается до уровня, характерного для взрослых особей [14], при этом активность MAO B в цитоплазме гистаминаргических нейронов прогрессивно нарастает [11]. Это подтверждается данными, полученными при иммуногистохимическом исследовании, которое демонстрирует нарастание иммунореактивности маркерного фермента гистаминаргических нейронов с 10 по 90 сутки постнатального развития. По мнению ряда ученых, снижение синтеза гистамина в тучных клетках обусловлено функциональным становлением гистаминаргических нейронов туберомамиллярной области, которые также начинают его вырабатывать [14].

Таким образом, после рождения животных дифференцировка гистаминаргических нейронов активно продолжается. Это сопровождается постепенно нарастающей в них (вплоть до 45 суток постнатального онтогенеза) иммунореактивности белка NeuN (маркера дифференцирующихся нервных клеток). Высокий уровень экспрессии NeuN сохраняется в исследованных нами нейронах и на 90 сутки. Согласно лите-

ратурным данным, экспрессия NeuN выявляется в течение всей жизни нейрона [15]. Следует отметить, что присутствие данного белка исключительно в нейронах, его преимущественно внутриядерная локализация и способность связываться с РНК позволили ученым высказать предположение об участии NeuN в процессах нейронспецифического сплайсинга пре-мРНК. Косвенное подтверждение его функционирования как регулятора сплайсинга – концентрирование данного белка в составе ядерных спеклов (ядерных телец, состоящих из интерхроматиновых гранул), которые являются местами хранения и модификации факторов сплайсинга. Предполагается участие NeuN в процессинге первичной микроРНК [2]. Присутствие NeuN в течение всей жизни нейрона в свою очередь указывает на роль этого белка как постоянного регулятора общих проявлений нейронального фенотипа, т. е. специфических признаков нейронов [15].

В растущей и развивающейся клетке происходит усиленный синтез пластических веществ, сопровождающийся активацией окислительных процессов и, соответственно, увеличением потребности клеток в кислороде. Поскольку нейроглобин служит для депонирования и переноса кислорода к митохондриям нейронов с целью обеспечения функционирования системы окислительного фосфорилирования [3], вполне закономерна его возрастающая иммунореактивность в гистаминергических нейронах с пятых по 90 сутки постнатального развития крыс. Предполагается, что белок нейроглобин должен концентрироваться в цитоплазматических компартментах, где непосредственно происходят окислительные процессы [16]. Следовательно, наиболее вероятна его локализация в митохондриях или вблизи этих органелл. Проведенные Lechaue и соавторами биохимические исследования указывают на присутствие нейроглобина в составе именно митохондриальной фракции [17]. Однако данные о совместном расположении этого белка и митохондриальных маркеров пока не получены, поэтому можно предположить, что нейроглобин локализуется только в части митохондрий нервных клеток.

Активно дифференцирующиеся гистаминергические нейроны нуждаются в значительном количестве энергии, запасаемой в макроэргических связях АТФ, синтез которой – одна из основных функций митохондрий. Митохондриальная мембранная АТФ-синтаза продуцирует АТФ из АДФ с помощью трансмембранного градиента протонов, который генерируется электрон-транспортными комплексами дыхательной цепи. Энергия трансмембранного градиента используется для синтеза АТФ и для активного транспорта необходимых субстратов через внутреннюю митохондриальную мембрану. Сочетание этих реакций обеспечивает эффективный обмен АТФ-АДФ между митохондрией и цитозолем, что позволяет поддерживать в клетке высокий уровень энергообеспечения. Во время

дифференцировки клеток АТФ-синтаза также способствует формированию крист митохондрий [18]. Ранее проведенное нами электронно-микроскопическое исследование показало, что количество митохондрий в цитоплазме гистаминергических нейронов по мере их развития динамично нарастает, происходит развитие их крист [12]. Поэтому продемонстрированное нами возрастание иммунореактивности АТФ-синтазы с пятых по 90 сутки постнатального развития гистаминергических нейронов гипоталамуса крыс вполне соответствует нашим электронно-микроскопическим данным.

В цитоплазме гистаминергических нейронов, окрашенных на выявление иммунореактивности АТФ-синтазы, наблюдается преимущественно равномерное распределение иммунопозитивных гранул и глыбок. У части исследуемых нейронов скопление этих агрегатов визуализируется в перинуклеарной области. Поскольку АТФ-синтаза локализуется на внутренней мембране митохондрий, расположение этих гранул и глыбок в цитоплазме гистаминергических нейронов, по-видимому, соответствует распределению в них данных органелл. Такое расположение митохондрий действительно характерно для гистаминергических нейронов гипоталамуса крыс [12]. В ходе дифференцировки гистаминергических нейронов наблюдается контакт митохондрий с ядерной оболочкой [12], что соответствует установленному нами в данном исследовании скоплению иммунопозитивных агрегатов в перинуклеарной области описываемых нейроцитов, которое указывает на высокий уровень обменных процессов со значительными энергетическими затратами именно в этой зоне.

Нарастание в цитоплазме гистаминергических нейронов иммунореактивности фермента окислительного дезаминирования гистамина, MAO Б свидетельствует о формировании специфического нейромедиаторного метаболизма этих нейронов в постнатальном онтогенезе.

Результаты проведенного нами иммуногистохимического исследования демонстрируют, что в развивающихся гистаминергических нейронах гипоталамуса с пятых по 90 сутки после рождения синхронно нарастает иммунореактивность MAO Б, NeuN, Ngb и АТФ-синтазы. Это соответствует литературным данным, согласно которым установлена положительная корреляция в мозге между экспрессией Ngb и маркера зрелых нейронов NeuN, а также нейроглобина и АТФ-синтазы [19, 20].

Заключение

В период постнатального развития гистаминергических нейронов ядра E2 гипоталамуса с пятых по 90 сутки после рождения параллельно структурному и метаболическому становлению этих нейронов, в их цитоплазме происходит синхронное возрастание иммунореактивности ряда молекулярных маркеров: MAO Б, NeuN, нейроглобина и АТФ-синтазы.

Литература

- Otellin, V. A. Prenatalnye stressornye vozdeystviya i razvivajushijisya golovnoj mozg. Adaptivnye mehanizmy, neposredstvennye i otsrochennye efekty / V. A. Otellin, L. I. Hozhaj, N. Э. Ордян. – Санкт-Петербург : Десятка, 2007. – 236 с.
- Перспективы использования ядерного белка NeuN в качестве показателя функционального состояния нервных клеток у позвоночных / О. С. Алексеева [и др.] // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2015. – Т. 51, № 5. – С. 313–323.
- Трехмерная организация цитоплазматических нейроглобин-иммунопозитивных структур нейронов продолговатого мозга крысы / О. В. Кирик [и др.] // Биологические мембраны. – 2016. – Т. 33, № 3. – С. 207–212. – doi: 10.7868/S0233475516030063.
- Xie, L. K. Brain globins in physiology and pathology / L. K. Xie, S. H. Yang // Medical Gas Research. – 2016. – Vol. 6, № 3. – P. 154–163. – doi: 10.4103/2045-9912.191361.
- Зиматкин, С. М. Гистаминергические нейроны мозга / С. М. Зиматкин. – Минск : Новое знание, 2015. – 319 с.
- Ковальзон, В. М. Нейрофизиология и нейрохимия сна [Электронный ресурс] / В. М. Ковальзон // Сомнология и медицина сна. Национальное руководство памяти А. М. Вейна и Я. И. Левина / М. Г. Полуэктов [и др.] ; под ред. М. Г. Полуэктова. – Москва, 2016. – С. 1–37. – Режим доступа: http://www.sleep.ru/lib/Medforum_2016_1.pdf. – Дата доступа: 13.04.2020.
- Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes : text with EEA relevance 20.10.2010 [Electronic resource] // Official Journal of the European Union (Strasbourg). – 2010. – 46 p. – Mode of access: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex%3A32010L0063>. – Date of access: 07.02.2018.
- Коржевский, Д. Э. Применение обезвоживающих фиксаторов, содержащих соли цинка, в нейрогистологических исследованиях / Д. Э. Коржевский, И. П. Григорьев, В. А. Отеллин // Морфология. – 2006. – Т. 129, № 1. – С. 85–86.
- Теоретические основы и практическое применение методов иммуногистохимии [Электронный ресурс] : руководство / Д. Э. Коржевский [и др.] ; под ред. Д. Э. Коржевского. – 2-е изд., испр. и доп. – Санкт-Петербург : СпецЛит, 2014. – 119 с. – Режим доступа: Ошибка! Недопустимый объект гиперссылки. – Дата доступа: 03.04.2020.
- Зиматкин, С. М. Методика выявления гистаминергических нейронов гипоталамуса / С. М. Зиматкин, А. В. Заерко // Морфология. – 2019. – Т. 156, № 4. – С. 102–105.
- Развитие гистаминергических нейронов гипоталамуса крысы в постнатальном онтогенезе / А. В. Заерко [и др.] // Новости медико-биологических наук. – 2018. – Т. 18, № 4. – С. 69–74.
- Постнатальное развитие ультраструктуры гистаминергических нейронов мозга крысы / С. М. Зиматкин [и др.] // Тюменский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 1. – С. 50–54.
- Panula, P. The histaminergic network in the brain: basic organization and role in disease / P. Panula, S. Nuutinen // Nature Reviews Neuroscience. – 2013. – Vol. 14, № 7. – P. 472–487. – doi: 10.1038/nrn3526.
- Panula, P. Developmental roles of brain histamine / P. Panula, M. Sundvik, K. Karlstedt // Trends in Neurosciences. – 2014. – Vol. 37, № 3. – P. 159–168. – doi: 10.1016/j.tins.2014.01.001.
- Neuroglobin protects nerve cells from apoptosis by inhibiting the intrinsic pathway of cell death / S. Raychaudhuri [et al.] // Apoptosis. – 2010. – Vol. 15, № 4. – P. 401–411. – doi: 10.1007/s10495-009-0436-5.
- Распределение нейроглобина в клетках Пуркинье мозжечка крысы / Д. Э. Коржевский [и др.] // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2015. – Т. 51, № 6. – С. 459–461.
- Neuroglobin involvement in respiratory chain function and retinalganglion cell integrity / C. Lechouve [et al.] // Biochimica et Biophysica Acta. – 2012. – Vol. 1823, № 12. – P. 2261–2273. – doi: 10.1016/j.bbamcr.2012.09.009.
- Бонь, Е. И. Роль митохондрий в энергетике клетки и характеризующие ее молекулярные маркеры / Е. И. Бонь, Н. Е. Максимович // Оренбургский медицинский вестник. – 2019. – Т. 7, № 1. – С. 47–52.
- The significance of neuroglobin in the brain / S. Hua [et al.] // Current Medicinal Chemistry. – 2010. – Vol. 17, № 2. – P. 160–172. – doi: 10.2174/092986710790112611.
- Узлова, Е. В. Нейроглобин: строение, функции, локализация в мозге в норме и при патологии / Е. В. Узлова, С. М. Зиматкин // Новости медико-биологических наук. – 2019. – Т. 19, № 1. – С. 91–96.

References

- Otellin VA, Hozhaj LI, Ordjan NJe. *Prenatalnye stressornye vozdeystviya i razvivajushihisya golovnoj mozg. Adaptivnye mehanizmy, neposredstvennye i otsrochennye efekty*. Saint Petersburg: Desjatka; 2007. 236 p. (Russian).
- Alekseeva OS, Guselnikova VV, Beznin GV, Korzhevskii DE. Perspektivy ispolzovanija jadernogo belka NeuN v kachestve pokazatelja funkcionalnogo sostojanija nervnyh kletok u pozvonochnyh. [Prospects for the application of neuron nuclear protein as a marker of the functional state of nerve cells in vertebrates]. *Zhurnal jevoljucionnoj biohimii i fiziologii* [Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology]. 2015;51(5):313–323. (Russian).
- Kirik OV, Grigorev IP, Alekseeva OS, Korzhevskii DE. Trehmernaja organizacija citoplazmaticheskikh nejroglobin-immunopozitivnyh struktur neyronov prodolgovatogo mozga krysy [Three-dimensional organization of the cytoplasmic neuroglobin-immunopositive structures in the rat medulla oblongata neurons]. *Biologicheskie membrany*. 2016;33(3):207–212. doi: 10.7868/S0233475516030063. (Russian).
- Xie LK, Yang SH. Brain globins in physiology and pathology. *Medical Gas Research*. 2016;6(3):154–163. doi: 10.4103/2045-9912.191361.
- Zimatkin SM. *Gistaminergicheskie nejrorny mozga* [Histaminergic neurons of the brain]. Minsk: Novoe znanie; 2015. 319 p. (Russian).
- Kovalzon VM. Nejrofiologija i nejrohimija sna [Internet]. In: Polujektov MG, Aristakesjan EA, Buzunov RV, Vataev SI; Polujektov MG, ed. *Somnologija i medicina sna. Nacionalnoe rukovodstvo pamjati AM Vejna i JaI Levina*. Moscow; 2016. p. 1–37. Available from: http://www.sleep.ru/lib/Medforum_2016_1.pdf. (Russian).
- Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes: text with EEA relevance 20.10.2010 [Internet]. *Official Journal of the European Union* (Strasbourg). 2010. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex%3A32010L0063>.
- Korzhevskiy DE, Grigoriev IP, Otellin VA. Primenenie obezvozhivajushih fiksaturov, soderzhashhih soli cinka, v nejrogistologicheskikh issledovanijah [Application of zinc-containing dehydrating fixatives for neurohistological studies] *Morfologija* [Morphology]. 2006;129(1):85–86. (Russian).
- Korzhevskij DJe, Kirik OV, Petrova ES, Karpenko MN, Grigorev IP, Suhurukova EG, Kolos EA, Giljarov AV; Korzhevskij DJe, ed. *Teoreticheskie*

- osnovy i prakticheskoe primeneniye metodov immunogistohimii*. 2nd ed. Saint Petersburg: SpecLit; 2014. 119 p. Available from: <https://speclit.su/image/catalog/978-5-299-00596-7/978-5-299-00596-7.pdf>. (Russian).
10. Zimatkin SM, Zaerko AV. Metodika vyjavleniya gistaminergicheskikh nejronov gipotalamusa [Method for visualization of brain histaminergic neurons in hypothalamus]. *Morfologija* [Morphology]. 2019;156(4):102–105. (Russian).
 11. Zaerko AV, Zimatkin SM, Phedina KM, Koronchik AE. Razvitiye gistaminergicheskikh nejronov gipotalamusa krysy v postnatalnom ontogeneze. [Development of histaminergic neurons of rat hypothalamus in postnatal ontogenesis]. *Novosti mediko-biologicheskikh nauk* [News of Biomedical Sciences]. 2018;18(4):69–74. (Russian).
 12. Zimatkin SM, Zaerko AV, Phedina KM, Ostrovskaya OB, Kononchik AE. Postnatalnoe razvitiye ultrastrukturny gistaminergicheskikh nejronov mozga krysy [The ultrastructure development of rat brain histaminergic neurons in postnatal ontogenesis]. *Tjumenskij medicinskij zhurnal* [Tyumen Medical Journal]. 2019;21(1):50–54. (Russian).
 13. Panula P, Nuutinen S. The histaminergic network in the brain: basic organization and role in disease. *Nature Reviews Neuroscience*. 2013;14(7):472–487. doi: 10.1038/nrn3526.
 14. Panula P, Sundvik M, Karlstedt K. Developmental roles of brain histamine. *Trends in Neurosciences*. 2014;37(3):159–168. doi: 10.1016/j.tins.2014.01.001.
 15. Raychaudhuri S, Skommer J, Henty K, Birch N, Brittain T. Neuroglobin protects nerve cells from apoptosis by inhibiting the intrinsic pathway of cell death. *Apoptosis*. 2010;15(4):401–411. doi: 10.1007/s10495-009-0436-5.
 16. Korzhevskii DE, Grigorev IP, Kirik OV, Alekseeva OS. Raspredeleniye nejroglobina v kletkah Purkine mozghechka krysy [Neuroglobin distribution in the rat cerebellar purkinje cells]. *Zhurnal jevoljucionnoj biohimii i fiziologii* [Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology]. 2015;51(6):459–461. (Russian).
 17. Lechauve C, Augustin S, Cwerman-Thibault H, Bouaita A, Forster V, Celier C, Rustin P, Marden MC, Sahel J-A, Corral-Debrinski M. Neuroglobin involvement in respiratory chain function and retinal ganglion cell integrity. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2012;1823(12):2261–2273. doi: 10.1016/j.bbamer.2012.09.009.
 18. Bon LI, Maksimovich NE. Rol mitohondrij v jenergetike kletki i harakterizujushhie ee molekulyarnye markery [Role of mitochondria in cells energetic and characterizing its molecular markers]. *Orenburgskij medicinskij vestnik*. 2019;7(1):47–52. (Russian).
 19. Hua S, Antao S, Corbett A, Witting P. The significance of neuroglobin in the brain. *Current Medicinal Chemistry*. 2010;17(2):160–172. doi: 10.2174/092986710790112611.
 20. Uzlova EV, Zimatkin SM. Nejroglobin: stroeniye, funkciya, lokalizatsiya v mozge v norme i pri patologii [Neuroglobin: structure, functions, localization in the brain in normal and pathological conditions]. *Novosti mediko-biologicheskikh nauk* [News of Biomedical Sciences]. 2019;19(1):91–96. (Russian).

IMMUNOREACTIVITY OF NEUN, NEUROGLOBIN AND ATP SYNTHASE IN DEVELOPING HISTAMINERGIC NEURONS OF THE RAT HYPOTHALAMUS

Zimatkin S. M., Zaerko A. V., Phedina K. M.

Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

Of particular interest is the study of the immunoreactivity of NeuN, Ngb, and ATP synthase in developing histaminergic neurons, since their importance and insufficient knowledge.

Objective. Assessment of NeuN, Ngb, and ATP synthase content in E2 nucleus histaminergic neurons of rat brain in the dynamics of postnatal ontogenesis.

Material and methods. The study was performed on 5-, 10-, 20-, 45- and 90-day old outbred white rats using immunohistochemical, cytophotometric and statistical methods.

Results. In developing histaminergic neurons of rat brain the immunoreactivity of MAO B, NeuN, Ngb, and ATP synthase simultaneously increases from day 5 to 90 after birth.

Conclusions. During the postnatal development of histaminergic neurons in parallel with their structural and metabolic formation, a simultaneous increase in the immunoreactivity of MAO B, NeuN, Ngb and ATP synthase occurs.

Keywords: *histaminergic neurons, NeuN, Ngb, ATP synthase, postnatal development.*

For citation: *Zimatkin SM, Zaerko AV, Phedina KM. Immunoreactivity of NeuN, neuroglobin and ATP synthase in developing histaminergic neurons of the rat hypothalamus. Journal of the Grodno State Medical University. 2020;18(4):389-395. <http://dx.doi.org/10.25298/2221-8785-2020-18-4-389-395>.*

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (M20M-089).
Financing. This work was supported by the Belarusian Republican Foundation for Basic Research (M20M-089).

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом.
Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local ethics committee.

Об авторах / About the authors

Зиматкин Сергей Михайлович / Zimatkin Sergey, e-mail: smzimatkin@mail.ru, ORCID: 0000-0001-5728-2588

*Заерко Анастасия Викторовна / Zaerko Anastasiya, e-mail: wersall_91@mail.ru

Федина Екатерина Михайловна / Phedina Katsiaryna, e-mail: phedina.katerina@mail.ru, ORCID: 0000-0002-6093-3684

* – автор, ответственный за переписку / corresponding author

Поступила / Received: 16.06.2020

Принята к публикации / Accepted for publication: 01.07.2020