

DOI: <https://doi.org/10.17816/1026-3543-2021-159-1-13-19>

Моноаминоксидаза Б в развивающихся гистаминергических нейронах мозга крысы

С.М. Зиматкин, А.В. Заерко

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Гистаминергические нейроны мозга играют важную роль в регуляции многих функций, систем и реакций организма, а также в патогенезе многих патологических состояний и заболеваний. В головном мозге гистамин выполняет функции нейромедиатора и локализуется главным образом в гистаминергических нейронах. Все гистаминергические нейроны гипоталамуса, в отличие от других типов нейронов, имеют высокую активность моноаминоксидазы типа Б (МАО Б), которая является ключевым ферментом метаболизма гистамина в мозге.

Цель. Параллельная оценка активности и иммунореактивности МАО Б в гистаминергических нейронах гипоталамуса крыс в динамике постнатального онтогенеза.

Материал и методы. Исследование проведено на образцах гипоталамуса 5-, 10-, 20-, 45- и 90-суточного потомства беспородных белых крыс (45 крысят) с учётом «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». Срезы гипоталамуса обрабатывали гистохимически на выявление активности МАО Б и иммуногистохимически с использованием антител к МАО Б.

Результаты. Установлено, что активность и иммунореактивность фермента окислительного дезаминирования гистамина и маркерного фермента гистаминергических нейронов гипоталамуса МАО Б в цитоплазме гистаминергических нейронов на 5-е сут после рождения не выявляются, а затем с 10-х по 90-е сут постнатального онтогенеза параллельно нарастают.

Выводы. Синхронность постнатального развития активности и иммунореактивности МАО Б в гистаминергических нейронах мозга свидетельствует о параллельном накоплении в них белка МАО Б и росте его ферментативной активности, отражающих становление их специфического, медиаторного метаболизма.

Ключевые слова: моноаминоксидаза Б; гистаминергические нейроны; головной мозг; гипоталамус.

Как цитировать:

Зиматкин С.М., Заерко А.В. Моноаминоксидаза Б в развивающихся гистаминергических нейронах мозга крысы // Морфология. 2021. Т. 159, №1. С. 13–19. DOI: <http://doi.org/10.17816/1026-3543-2021-159-1-13-19>

DOI: <https://doi.org/10.17816/1026-3543-2021-159-1-13-19>

Monoamine oxidase B in developing histaminergic neurons of the rat brain

Sergei M. Zimatkin, Anastasia V. Zaerko

Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

ABSTRACT

BACKGROUND: Histaminergic neurons of the brain play an important role in the regulation of many functions, systems, and reactions of the body, as well as in the pathogenesis of many pathological conditions and diseases. In the brain, histamine acts as a neurotransmitter and is localized mainly in histaminergic neurons. All histaminergic neurons of the hypothalamus, unlike other types of neurons, have high activity of monoamine oxidase type B (MAO B) which is a key enzyme of histamine metabolism in the brain.

AIM: The work aimed to perform parallel assessment of MAO B activity and immunoreactivity in rat hypothalamus histaminergic neurons in the process of postnatal ontogenesis.

MATERIALS AND METHODS: The study was conducted on samples of the hypothalamus of 5, 10, 20, 45, and 90 days old offspring of outbred white rats (45 rats), conforming to the "Guidelines for the Use of Animals in Research". Sections of the hypothalamus were processed histochemically to detect MAO B activity and immunohistochemically using antibodies to MAO B.

RESULTS: It was revealed that the activity and immunoreactivity of the enzyme of histamine oxidative deamination and the marker enzyme of the hypothalamic histaminergic neurons, monoamine oxidase type B were not detected in cytoplasm of histaminergic neurons on the day 5 after birth. Then these indicators were simultaneously increasing from the day 10 to the day 90 of postnatal ontogenesis.

CONCLUSIONS: The synchronism of the postnatal development of MAO B activity and immunoreactivity in histaminergic neurons of the brain indicates a parallel accumulation of MAO B protein and its enzymatic activity, reflecting the formation of their specific, mediator metabolism.

Keywords: monoamine oxidase B; histaminergic neurons; brain, hypothalamus.

To cite this article:

Zimatkin SM, Zaerko AV. Monoamine oxidase B in developing histaminergic neurons of the rat brain. *Morphology*. 2021;159(1):13-19.

DOI: <http://doi.org/10.17816/1026-3543-2021-159-1-13-19>

Гистаминергические нейроны мозга играют 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, а также в патогенезе многих патологических состояний и заболеваний [1–5]. В головном мозге гистамин выполняет функции нейромедиатора и локализуется главным образом в гистаминергических нейронах; небольшое количество гистамина находится в тучных клетках оболочек мозга и прослоек рыхлой соединительной ткани [2, 4]. Тела гистаминергических нейронов мозга млекопитающих локализируются только в заднем гипоталамусе, где образуют пять скоплений – ядер (E1–E5) [1, 6]. При этом аксоны гистаминергических нейронов распространяются во все отделы мозга, где могут координировать другие нейронные системы [7–9].

Моноаминоксидаза типа Б (МАО Б) является ключевым ферментом метаболизма гистамина в мозге, где отсутствует гистаминоксидаза (гистаминаза), окисляющая до 40% гистамина на периферии. Метаболизм – единственный способ 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 транспортёры своих медиаторов для их обратного захвата [1, 5]. Гистамин метаболизируется ферментом гистамин-N-метилтрансферазой до теле-метилгистамина, который затем превращается с помощью МАО Б (окислительное дезаминирование) в N-теле-метилимидазолацетальдегид. Установлено, что все гистаминергические нейроны гипоталамуса, в отличие от других типов нейронов, имеют высокую активность МАО Б [1]. Другие типы нейронов гипоталамуса МАО Б не содержат, что послужило основанием для разработки нами гистохимического и иммуногистохимического методов выявления гистаминергических нейронов гипоталамуса, соответственно, в криостатных и парафиновых срезах [1, 10]. Представляло интерес сочетанное применение этих двух методов для параллельного выявления содержания ферментного белка и активности МАО Б для оценки становления специфического, медиаторного метаболизма в развивающихся гистаминергических нейронах мозга крысы.

Цель. Параллельная оценка активности и иммунореактивности МАО Б в гистаминергических нейронах гипоталамуса крыс в динамике постнатального онтогенеза.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Опыты выполнены на 12 самках беспородных белых крыс с начальной массой 230 ± 20 г и их потомстве

(всего 45 крысят). Все опыты проведены с учётом «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». На данное исследование получено разрешение комитета по биомедицинской этике Гродненского государственного медицинского университета (протокол №1 от 30.01.2018). Декапитация крысят осуществлялась на 5-е, 10-е, 20-е, 45-е и 90-е сут после рождения. При этом быстро извлекали головной мозг, вырезали гипоталамус и замораживали его в жидком азоте. С помощью криостата CM 1850 (Leica Microsystems GmbH, Германия) готовили серийные криостатные срезы толщиной 12 мкм, которые обрабатывали гистохимически на выявление активности МАО Б [Зиматкин С.М., 2015]. Другие кусочки гипоталамуса фиксировали в цинк-этанол-формалине при +4 °C (на ночь), а затем заключали в парафин. С помощью микротомы (Leica RM 2125 RTS, Германия) изготавливали серийные парафиновые срезы толщиной 5 мкм и монтировали их на предметные стёкла. Затем их обрабатывали первичными поликлональными кроличьими антителами против МАО Б (Elabscience, cat.No.EPP15673, Китай) в разведении 1:100, при +4 °C, 20 ч, во влажной камере. Связавшиеся первичные антитела выявляли с помощью набора детекции (Elabscience cat.No. E-IR-R213, Китай). Гистологические и гистохимические препараты изучали, фотографировали и анализировали с помощью микроскопа Axioskop 2 plus (Zeiss, Германия), встроенной цифровой видеокамеры Leica (DFC 320, Германия) при увеличении объектива микроскопа $\times 40$, 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

При гистохимическом исследовании установлено, что активность маркерного фермента гистаминергических нейронов гипоталамуса МАО Б на 5-е сут после рождения не выявляется, на 10-е сут она очень низка, а затем прогрессивно нарастает, становясь на 90-е сут в 6 раз выше 10-суточной. Аналогичные данные получены и при иммуногистохимическом исследовании: с 10-х по 90-е сут постнатального развития иммунореактивность МАО Б в гистаминергических нейронах возрастает в 4 раза (рис. 1, 2).

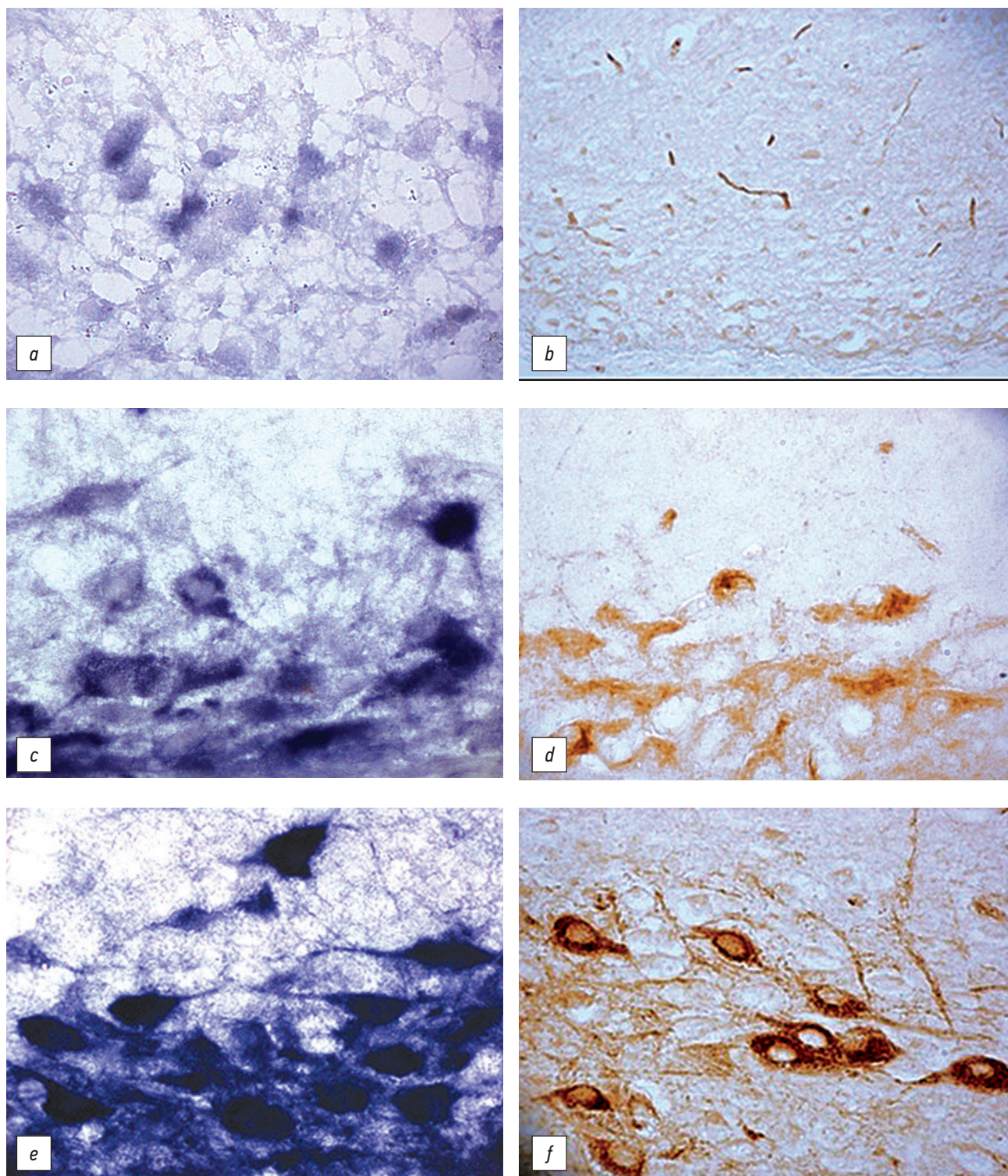


Рис. 1. MAO B в гистаминергических нейронах ядра E2 гипоталамуса крыс в постнатальном онтогенезе: (a, c, e – гистохимический метод выявления активности MAO B (по Зиматкину, Цыдику); b, d, f – иммуногистохимический метод выявления белка MAO B (по Зиматкину, Заерко); a, b – 10-е сут, c, d – 20-е сут; e, f – 90-е сут постнатального развития. Цифровая микрофотография. Ув. 400)

Fig. 1. MAO B in histaminergic neurons of the nucleus E2 of the rat hypothalamus in postnatal ontogenesis: (a, c, e – histochemical method for detecting MAO B activity (according to Zimatkin, Tsydik); b, d, f – immunohistochemical method for detecting protein MAO B (according to Zimatkin, Zaerko); a, b – day 10; c, d – day 20; e, f – day 90 of postnatal development. Digital micrograph. Magnification by 400)

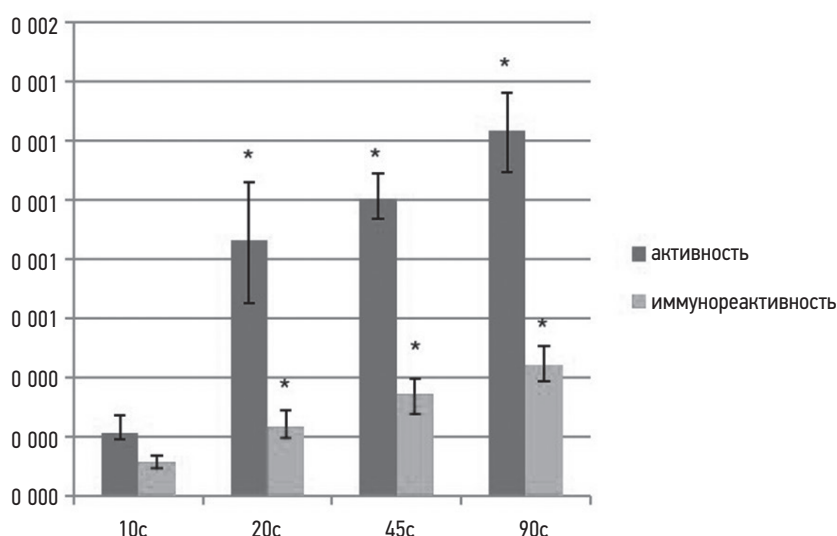


Рис. 2. Активность и иммунореактивность MAO B в гистаминергических нейронах ядра E2 гипоталамуса крыс в динамике постнатального онтогенеза. Оптическая плотность цитоплазмы нейронов при гистохимическом и иммуногистохимическом методе выявления MAO B. * $p < 0,05$ при сравнении каждого срока с предыдущим

Fig. 2. Activity and immunoreactivity of MAO B in histaminergic neurons of the nucleus E2 of the rat hypothalamus in the process of postnatal ontogenesis. The optical density of the neuron cytoplasm in the histochemical and immunohistochemical method for detection of MAO B. * $p < 0.05$ when comparing each term with the previous one

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами данные согласуются с результатами Leung и др. (1993), которые измеряли различия в региональной активности MAO A и MAO B во время постнатального развития у крыс линии Вистар и установили, что активность MAO B в гипоталамусе, полосатом теле, среднем мозге и коре больших полушарий была низкой на 5-й день, а затем, по мере развития мозга, заметно возрастала [11]. Таким образом, MAO B, фермент метаболизма гистамина и маркер гистаминергических нейронов, на 5-е сут постнатального развития не выявляется, что может свидетельствовать о низком окислительном дезаминировании гистамина в исследуемых нейронах. Однако в это время в головном мозге наблюдается пик концентрации гистамина [12], который объясняется резким увеличением числа тучных клеток [5, 13] в промежуточном парусе между развивающимися таламусом и гиппокампом [13]. Роль гистамина мастоцитов в головном мозге неясна, хотя в раннем постнатальном онтогенезе эти клетки ответственны за формирование значительной части общего пула данного биогенного амина в мозге [5]. Общее содержание гистамина, вырабатываемого тучными клетками, в возрасте примерно 2 нед. постнатального развития постепенно снижается до уровня, характерного для взрослых

особей. Снижение синтеза гистамина в тучных клетках обусловлено созреванием гистаминергических нейронов tuberomammillary области, которые также начинают его вырабатывать [14]. Это согласуется с нашими данными о прогрессивном нарастании в этих нейронах MAO B в период с 10-х по 90-е сут постнатального развития крысы. Это отражает становление медиаторной активности развивающихся гистаминергических нейронов мозга. Синхронность постнатального развития активности и иммунореактивности MAO B в гистаминергических нейронах мозга свидетельствует о параллельном накоплении в нейронах белка MAO B и росте его ферментативной активности. При наличии разработанных гистохимических и иммуногистохимических методов такой подход можно использовать и при исследованиях других ферментов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С 5-х по 90-е сут постнатального онтогенеза в цитоплазме гистаминергических нейронов гипоталамуса крысы параллельно нарастает активность и иммунореактивность фермента окислительного дезаминирования гистамина MAO B, что отражает становление в них специфического, медиаторного метаболизма.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ / ADDITIONAL INFO

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Концепция и дизайн исследования: Зиматкин С.М. Сбор и обработка материала, статистическая

обработка данных: Заерко А.В. Анализ и интерпретация данных, написание текста: Зиматкин С.М., Заерко А.В.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Author contribution. Research concept and design: Zimatkin S.M. Collection and processing of material, statistical processing of data: Zaerko A.V. Data analysis and interpretation, text writing: Zimatkin S.M., Zaerko A.V.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зиматкин С.М. Гистаминергические нейроны мозга. Мн.: Новое знание, 2015. 319 с.
2. Brown R.E., Stevens D.R., Haas H.L. The physiology of brain histamine // *Prog. Neurobiol.* 2001. Vol. 63. P. 637–672.
3. Haas H.L., Sergeeva O.A., Selbach O. Histamine in the nervous system // *Physiol. Rev.* 2008. Vol. 88. P. 1183–1241.
4. Haas H., Panula P. The role of histamine and the tuberomammillary nucleus in the nervous system // *Nat. Rev. Neurosci.* 2003. Vol. 4. P. 121–130. doi: 10.1038/nrn1034
5. Panula P., Nuutinen S. The histaminergic network in the brain: basic organization and role in disease // *Nat. Rev. Neurosci.* 2013. Vol. 14. P. 472–487. doi: 10.1038/nrn3526
6. Inagaki N., Toda K., Taniuchi I., et al. 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 // *Exp. Brain Res.* 1990. Vol. 80. P. 374–380.
7. Airaksinen M.S., Flügge G., Fuchs E., Panula P. Histaminergic system in the tree shrew brain // *J. Comp. Neurol.* 1989. Vol. 286. P. 289–310.
8. Inagaki N., Yamatodani A., Shinoda K., et al. Histaminergic nerve fibers in the median eminence and hypophysis of rats demonstrated immunocytochemically with antibodies against histidine decarboxylase and histamine // *Brain Res.* 1988. Vol. 439. P. 402–405.
9. Panula P., Yang H.Y., Costa E. Histamine-containing neurons in the rat hypothalamus // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1984. Vol. 81. P. 2572–76.
10. Зиматкин С.М., Заерко А.В. Методика выявления гистаминергических нейронов гипоталамуса // *Морфология.* 2019. Т. 156, № 4. С. 102–105.
11. Leung T.K., Lim L., Lai J.C. Brain Regional Distributions of Monoamine Oxidase Activities in Postnatal Development in Normal and Chronically Manganese-Treated Rats // *Metab Brain Dis.* 1993. Vol. 8, № 3. P. 137–149.
12. Karlstedt K., Senkas A., Ahman M., Panula P. Regional expression of the histamine H-2 receptor in adult and developing rat brain // *Neuroscience.* 2001. Vol. 102. P. 201–208.
13. Auvinen S., Panula P. Development of histamine-immunoreactive neurons in the rat brain // *J. Comp. Neurol.* 1988. № 276. P. 289–303.
14. Panula P., Sundvik M., Karlstedt K. Developmental roles of brain histamine // *Trends in neuroscience.* 2014. Vol. 37. P. 159–168. doi: 10.1016/j.tins.2014.01.001
1. Zimatkin SM. Histaminergic brain neurons. Mn.: Novoe znanie, 2015. 319 p. (In Russ).
2. Brown RE, Stevens DR, Haas HL. The physiology of brain histamine. *Prog. Neurobiol.* 2001;63:637–672.
3. Haas HL, Sergeeva OA, Selbach O. Histamine in the nervous system. *Physiol. Rev.* 2008;88:1183–1241.
4. Haas H, Panula P. The role of histamine and the tuberomammillary nucleus in the nervous system. *Nat. Rev. Neurosci.* 2003;4:121–130. doi: 10.1038/nrn1034
5. Panula P, Nuutinen S. The histaminergic network in the brain: basic organization and role in disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 2013;14:472–487. doi: 10.1038/nrn3526
6. Inagaki N, Toda K, Taniuchi I, et al. 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. *Exp. Brain Res.* 1990;80:374–380.
7. Airaksinen MS, Flügge G, Fuchs E, Panula P. Histaminergic system in the tree shrew brain. *J. Comp. Neurol.* 1989;286:289–310.
8. Inagaki N, Yamatodani A, Shinoda K, et al. Histaminergic nerve fibers in the median eminence and hypophysis of rats demonstrated immunocytochemically with antibodies against histidine decarboxylase and histamine. *Brain Res.* 1988;439:402–405.
9. Panula P, Yang HY, Costa E. Histamine-containing neurons in the rat hypothalamus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1984;81:2572–76.
10. Zimatkin SM, Zaerko AV. Method for brain histaminergic neurons visualization. *Morfologiya.* 2019;4:102–105 (In Russ).
11. Leung TK, Lim L, Lai JC. Brain Regional Distributions of Monoamine Oxidase Activities in Postnatal Development in Normal and Chronically Manganese-Treated Rats. *Metab Brain Dis.* 1993;8(3):137–149.
12. Karlstedt K, Senkas A, Ahman M, Panula P. Regional expression of the histamine H-2 receptor in adult and developing rat brain. *Neuroscience.* 2001;102:201–208.
13. Auvinen S, Panula P. Development of histamine-immunoreactive neurons in the rat brain. *J. Comp. Neurol.* 1988;276:289–303.
14. Panula P, Sundvik M, Karlstedt K. Developmental roles of brain histamine. *Trends in neuroscience.* 2014;37:159–168. doi: 10.1016/j.tins.2014.01.001

ОБ АВТОРАХ

***Зиматкин Сергей Михайлович**, д. биол. н., проф.;
адрес: 230015, Беларусь, Гродно, ул. Горького, 80;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5728-2588>;
eLibrary SPIN: 3592-5636;
e-mail: smzimatkin@mail.ru

Заерко Анастасия Викторовна;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6155-040X>;
e-mail: wersall_91@mail.ru

AUTHORS INFO

***Sergey M. Zimatkin**, MD., Dr. Sci. (Biol.), Prof.;
address: 80 Gorkogo Street, Grodno, 230015, Belarus;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5728-2588>;
eLibrary SPIN: 3592-5636;
e-mail: smzimatkin@mail.ru

Anastasiya V. Zaerko;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6155-040X>;
e-mail: wersall_91@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author