

*И. П. Григорьев, Е. А. Фёдорова, Д. А. Суфиева, Д. Э. Коржевский*

## ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КЛЕТочНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ЭПИФИЗА ЧЕЛОВЕКА

Лаборатория функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы (зав. — проф. РАН Д. Э. Коржевский), отдел общей и частной морфологии, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

**Цель** — изучение клеточного состава эпифиза человека.

**Материал и методы.** С помощью метода иммуногистохимии с использованием цитоспецифических маркеров, избирательно выявляющих астроглиальные, эндотелиальные, нервные и тучные клетки, изучен эпифиз 7 человек в возрасте 16–68 лет. Использованы антитела к глиальному фибриллярному кислому белку (ГФКБ), виментину, низкомолекулярным белкам нейрофиламентов (клон 2F11) и триптазе тучных клеток.

**Результаты.** С помощью иммуногистохимической реакции на ГФКБ в эпифизе человека выявлено большое количество астроглиальных отростков, но мало тел астроглиальных клеток. Клетки имеют относительно мало первичных отростков, которые значительно толще, чем у звёздчатых астроцитов в других отделах мозга. Отростки астроцитов густо оплетают кровеносные сосуды и многие конкременты. Виментин-иммунореактивными являются многие клеточные отростки в строме и отчасти в паренхиме и эндотелиальные клетки кровеносных сосудов. Не обнаружено сосуществования ГФКБ и виментина в одних и тех же структурах. Низкомолекулярные белки нейрофиламентов выявлены в отдельных пинеалоцитах и их отростках. Тучные клетки, иммуногистохимически меченные антителами на триптазу, обнаружены во всех исследованных образцах эпифиза (чаще в строме).

**Выводы.** 1) ГФКБ-иммуноположительные астроциты в эпифизе человека по морфологическим признакам отличаются от типичных звёздчатых астроцитов других отделов головного мозга, что позволяет выделить пинеальные ГФКБ-иммуноположительные астроциты в отдельную подгруппу астроцитов; 2) астроциты эпифиза человека не содержат одновременно ГФКБ и виментин в отличие от пинеальных астроцитов других млекопитающих; 3) тучные клетки являются постоянным компонентом эпифиза человека — обязательным в строме и факультативным в паренхиме; 4) пинеалоциты эпифиза человека экспрессируют нейронспецифичный белок нейрофиламентов, что свидетельствует в пользу их нейроноподобной природы; 5) локализация в эпифизе человека нейроноподобных эндокринных клеток и значительного количества иммунокомпетентных тучных клеток определяет этот эндокринный орган как важный компонент единой нейроиммуноэндокринной системы организма.

**Ключевые слова:** эпифиз, астроциты, глиальный фибриллярный кислый белок, виментин, нейрофиламенты, тучные клетки, человек

**Введение.** Эпифиз (шишковидная железа) представляет собой непарную эндокринную железу, которая расположена в задней части III желудочка между передними бугорками четверохолмия и является основным источником гормона мелатонина в организме. Эпифиз воспринимает от глаза сигналы об освещённости в окружающей среде (через ретиногипоталамический путь — супрахиазматические ядра — паравентрикулярные ядра гипоталамуса — напрямую на эпифиз либо от паравентрикулярных ядер через интермедиолатеральное ядро грудного отдела спинного мозга — на верхний шейный ганглий и уже оттуда — в эпифиз [9, 10]) и в соответствии с этим секретирует мелатонин в кровь и с большой вероятностью в ликвор III мозгового

желудочка с циркадианными колебаниями (максимум — ночью). Суточные флуктуации мелатонина в крови синхронизируют фотопериодические колебания активности почти всех органов через имеющиеся на них мелатониновые рецепторы [9, 13, 14].

Помимо регуляции циркадных ритмов во всех системах организма, мелатонин оказывает влияние на процессы старения, сна, участвует в регуляции репродуктивной функции, антиоксидантной защите организма. Экспериментально показано, что введение лабораторным животным мелатонина, других пинеальных пептидов или экстракта эпифиза продлевает срок их жизни, улучшает («омоложивает») показатели функционирования эндокринной и репродуктивной системы

### Сведения об авторах:

Григорьев Игорь Павлович (e-mail: [ipg-iem@yandex.ru](mailto:ipg-iem@yandex.ru)), Фёдорова Елена Анатольевна, Суфиева Дина Азатовна, Коржевский Дмитрий Эдуардович, лаборатория функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы, отдел общей и частной морфологии, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12

и препятствует туморогенезу [4, 6]. Эпифиз играет важную роль во взаиморегуляции эндокринных желёз: он оказывает влияние на функциональную активность (секрецию гормонов) гипоталамуса, гипофиза, щитовидной железы, коры надпочечников, поджелудочной железы. Введение мелатонина или его аналогов, либо эпифизэктомия оказывают выраженное влияние на секрецию и, соответственно, концентрацию в крови многих гормонов, в результате чего изменяются (нарушаются) временные параметры полового созревания, цикличность водно-солевого обмена и эстрального цикла у животных, артериальное давление, уровень глюкозы в крови, температура тела. В свою очередь активность клеток эпифиза изменяется под действием гормонов паравентрикулярного и супраоптического ядер гипоталамуса и надпочечников [6]. Помимо упомянутой выше иннервации эпифиза нейронами паравентрикулярных ядер и верхнего шейного ганглия, в шишковидном теле имеются также афференты от ядер шва, латеральных колленчатых тел и, вероятно, других отделов мозга [6, 9, 10].

Эпифиз человека снаружи окружён соединительнотканной капсулой, от которой внутрь отходят перегородки (трабекулы), разделяющие её на отдельные дольки. Дольки заполнены преимущественно секреторными клетками пинеалоцитами, в которых синтезируется гормон мелатонин и другие возможные гормоны — производные серотонина и мелатонина [6, 9]. Кроме пинеалоцитов (секреторных клеток), в паренхиме эпифиза встречаются глиальные и тучные клетки [3, 6, 10].

Современный метод иммуногистохимии позволяет получать новые точные данные о молекулярно-химическом составе клеток. Установлено, что для определённых типов клеток характерны конкретные разновидности белков, участвующие в образовании промежуточных филаментов их цитоскелета, которые, наряду с другими белками, встречаются в ЦНС. Так, глиальный фибриллярный кислый белок (ГФКБ) — белок цитоскелета, образующий промежуточные филаменты астроцитов, отсутствует в других типах глиальных клеток и нейронах. Виментин участвует в построении цитоскелета, но экспрессируется, в первую очередь, в недифференцированных и пролиферирующих клетках мезенхимного происхождения. В зрелых, дифференцированных клетках виментин присутствует в клетках соединительной ткани, мозговых оболочек и в ряде случаев — в клетках эпендимы. При активации, вызванной травмой или иным патологическим процессом, виментин начинает

экспрессироваться в астроцитах наряду с ГФКБ. Низкомолекулярные белки нейрофиламентов, которые являются белками цитоскелета нейронов, специфичны для нервных клеток и их отростков, и, таким образом, с помощью антител к ним можно метить нервные клетки и волокна, в том числе большой длины [1]. Тучные клетки маркируют с помощью гисто- и иммуногистохимии, в эпифизе они оптимально выявляются с помощью иммуногистохимии на триптазу — сериновую протеазу, основной секреторируемый белок тучных клеток.

Как правило, ранее при изучении эпифиза основным объектом исследований являлись пинеалоциты, тогда как клетки других типов изучались значительно реже. К настоящему времени неизвестен характер взаимоотношений эндокринных, глиальных и тучных клеток, и недостаточно изучены клеточные состав и организация эпифиза. Несмотря на то, что эпифиз человека микроанатомически отличается от эпифиза животных, исследования в основном проводятся на эпифизе экспериментальных животных, а эпифиз человека изучен значительно меньше. Цель настоящего исследования — изучение клеточного состава и организации шишковидной железы человека с помощью метода иммуногистохимии с использованием цитоспецифических маркеров, таких как антитела к глиальному фибриллярному кислому белку, виментину, низкомолекулярным белкам нейрофиламентов и триптазе.

Материал и методы. Материалом для исследования служили образцы эпифиза (n=7) людей в возрасте 16–68 лет из архива отдела общей и частной морфологии Института экспериментальной медицины. Соблюдение этических норм при архивации биологического материала подтверждается положительным заключением локального этического комитета ФГБНУ ИЭМ № 58–9/1–684 от 11.12.2009 г. Материал был фиксирован в спирт-формалине или цинк-этанол-формалине, обезвожен и залит в парафин по общепринятой методике. Из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 5–7 мкм. Для иммуногистохимического исследования эпифиза мозга человека использовали антитела к глиальному фибриллярному кислому белку (ГФКБ) (разведение производителя, Dako, Дания), виментину (клон V-9 в разведении 1:100, Dako, Дания и клон SP-20 в разведении 1:200, Spring Bioscience, США), низкомолекулярным белкам нейрофиламентов (клон 2F11, разведение производителя, Dako, Дания) и триптазе тучных клеток человека (мышинные моноклональные — клон AA1, разведение производителя, BioGenex, США). В качестве вторичных антител использовали набор Mach2 Universal HRP Polymer Kit for mouse and rabbit (Biocare Medical, США). Для визуализации продукта иммуногистохимической реакции применяли 3,3-диаминобензидин (набор реагентов DAB+, Dako, Дания), часть срезов подкрашивали гематоксилином Эрлиха. Анализ полученных препаратов и фотосъёмку выполняли, используя микроскоп Leica DM750 и цифровую фотокамеру ICC50 (Leica, Германия).

Результаты исследования. Предварительный макро- и микроскопический анализ показал, что все исследованные образцы эпифиза имеют хорошую сохранность, типичное дольчатое строение, дольки заполнены многочисленными пинеалоцитами и разделены между собой соединительнотканными перегородками (трабекулами). Паренхима эпифиза пронизана большим количеством кровеносных сосудов. Пинеалоциты имеют округлое тело с крупным ядром в отличие от немногочисленных интерстициальных (глиальных) клеток, имеющих обычно многоугольную форму. В паренхиме всех образцов эпифиза независимо от возраста человека достаточно часто, иногда группами встречаются конкременты (мозговой песок, кальцификаты, или псаммомные тельца). В пинеалоцитах нередко наблюдаются гранулы меланина, как правило, группами по 2–4 штуки.

Иммуногистохимический метод показал, что глиальный фибриллярный кислый белок в эпифизе человека экспрессируется в многочисленных волокнах, образующих сеть разнонаправленных переплетающихся отростков (рис. 1, а, в). ГФКБ-иммунореактивные клеточные тела встречаются редко (см. рис. 1, б) в отличие от других областей головного мозга. В прилежащем к эпифизу участке таламуса, видимом на том же срезе, выявляется несравненно большее число ГФКБ-иммунопозитивных клеток типичной для астроцитов звёздчатой формы с тонкими отходящими от них волокнами. Для ГФКБ-иммунопозитивных клеток эпифиза характерны треугольная и многоугольная форма и в сравнении с астроцитами других областей мозга менее интенсивная иммуноокрашенность перикариона, относительно меньшее число отростков и значительно большая толщина первичных отростков.

ГФКБ-иммунопозитивные волокна располагаются внутри долек и редко пересекают трабекулы. Они окружают пинеалоциты — отдельные или малые группы по 2–3 клетки — и буквально оплетают кровеносные сосуды, встречающиеся в паренхиме эпифиза (см. рис. 1, в). На поверхности эпифиза реакция на ГФКБ выражена сильнее, чем в глубине железы. Во многих случаях можно наблюдать как ГФКБ-иммунопозитивные волокна плотно окружают конкременты (см. рис. 1, г).

Виментин экспрессируется в стромальных клетках и паренхиме эпифиза, преимущественно в тонких отростках среди пинеалоцитов и отдельных клетках треугольной или овальной формы размером чуть больше пинеалоцитов с 2–3 отростками. Виментин-иммунореактивные отростки, как правило, видны короткими фрагментами,

но в отдельных случаях их ход можно проследить на расстоянии свыше 100 мкм. Они плотно окружают кровеносные сосуды, причём на поперечных срезах сосудов толщина ободка, иммунопозитивного к виментину, иногда превышает диаметр просвета сосуда (см. рис. 1, д, е). По локализации и морфологическим признакам эти периваскулярные структуры соответствуют эндотелиальным клеткам. Отдельные кальцификаты окружены ободком виментин-иммунопозитивных отростков. Густые локальные скопления переплетающихся виментин-иммунопозитивных отростков иногда встречаются на самом краю эпифиза, граничащем с ликвором бокового желудочка. Плотность и интенсивность экспрессии виментина в эпифизе значительно выше, чем в видимых на этом же срезе прилежащих отделах мозга. Сравнение последовательных препаратов, меченных антителами к ГФКБ и виментину, не обнаружило совпадения локализации глиального фибриллярного кислого белка и виментина.

Иммуногистохимическое выявление низкомолекулярных белков нейрофиламентов показало их преимущественную локализацию в клеточных отростках. В очень редких случаях их удаётся наблюдать в цитоплазме клеток (рис. 2, а); судя по локализации, округлой форме, крупному ядру и 1–2 отросткам, это — пинеалоциты. Отростки, содержащие нейрофиламенты, располагаются внутри долек и, как правило, заканчиваются в трабекулах или вокруг сосудов. Часто можно наблюдать как иммунопозитивные отростки заканчиваются каплевидными образованиями (см. рис. 2, б).

Тучные клетки, иммуногистохимически меченные антителами на триптазу, обнаружены во всех исследованных образцах эпифиза, хотя количество их значительно варьирует от одного образца к другому. Они имеют зернистую цитоплазму и встречаются поодиночке или небольшими группами, чаще в строме (капсула, септы), но иногда также в паренхиме среди пинеалоцитов, часто вблизи кровеносных сосудов (рис. 3). Дегранулирующие тучные клетки с секреторными гранулами, располагающимися вблизи клетки, выявляются лишь в единичных случаях.

Обсуждение полученных данных. Иммуногистохимия на ГФКБ показала большое количество иммунопозитивных структур в эпифизе, что согласуется с данными других авторов [15]. ГФКБ экспрессируется, преимущественно, в отростках, тогда как тела ГФКБ-иммуноположительных астроцитов в эпифизе человека наблюдаются редко. Создаётся впечатление, что малое число астроцитов даёт начало очень большому количеству отростков, оплетаю-

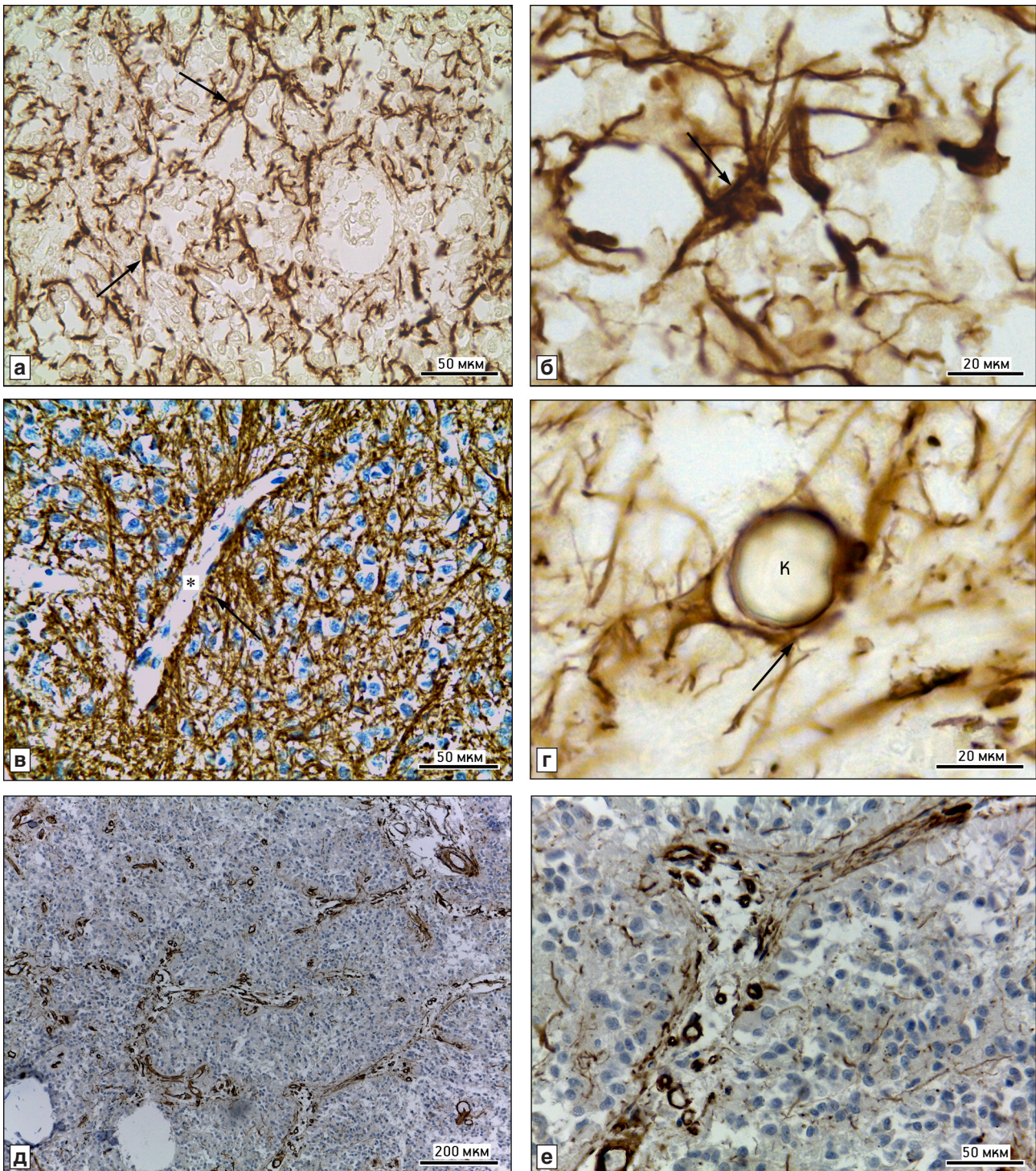


Рис. 1. Иммуногистохимическая реакция на глиальный фибриллярный кислый белок (ГФКБ) (а–г) и виментин (д–е) в эпифизе человека.

а — многочисленные ГФКБ-иммунореактивные отростки при малом количестве ГФКБ-иммунореактивных клеток (стрелки); б — ГФКБ-иммунореактивная клетка при большем увеличении (стрелка); в — многочисленные ГФКБ-иммунореактивные отростки (стрелка) заканчиваются на кровеносном сосуде; г — конкремент (К) в паренхиме эпифиза плотно окружён ГФКБ-иммунореактивными отростками (стрелка); д — общий вид эпифиза с большим числом сосудов и капилляров, окружённых виментин-иммуноположительными элементами; е — один из сосудов, окружённый виментин-иммуноположительными элементами, при большем увеличении. \* Просвет сосуда (для а и в). в, д, е — подкраска препаратов гематоксилином Эрлиха; а, б, г — без подкраски

щих пинеалоциты и сосуды. В некоторых местах они образуют сплошную сеть вокруг сосудов, что даёт наглядное представление о том, как они механически могут поддерживать упругость и целост-

ность кровеносных сосудов. Маловероятно, что использованный нами иммуногистохимический метод визуализации ГФКБ малоэффективен для выявления тел астроцитов в эпифизе,

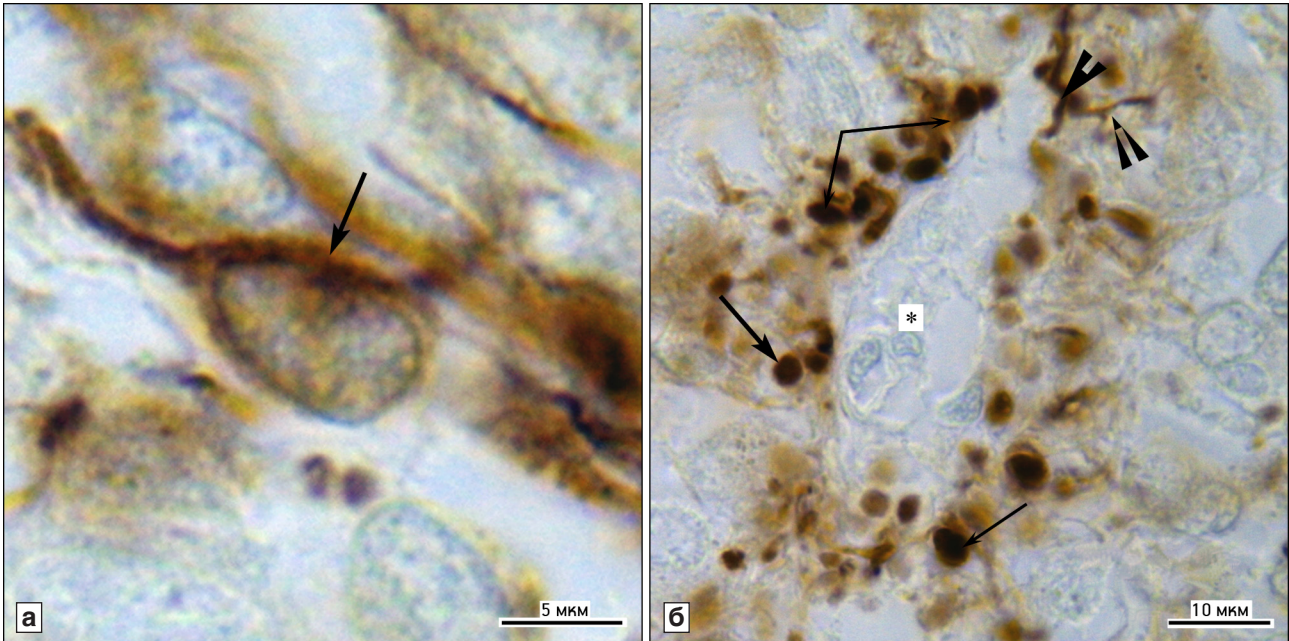


Рис. 2. Иммуногистохимическая реакция на низкомолекулярные белки нейрофиламентов (клон 2F11) в эпифизе человека. а — клетка с отростками и частью цитоплазмы, иммунопозитивные к нейрофиламентам (стрелка); б — отростки (острий стрелки) и каплевидные утолщения отростков (стрелки), иммунопозитивные к низкомолекулярным белкам нейрофиламентов, заканчивающиеся вокруг кровеносного сосуда. \* Просвет сосуда. Препараты без дополнительной подкраски

поскольку на том же срезе в прилежащих отделах мозга наблюдается большое количество ГФКБ-иммунореактивных астроглиальных клеток классической звёздчатой формы. Кроме того, малое число ГФКБ-иммунореактивных астроцитов ранее было отмечено также в эпифизе лабораторных животных [8, 15].

Как показало проведённое исследование, в эпифизе человека ГФКБ-иммунопозитивные астроциты имеют, как правило, неправильную треугольную или многоугольную форму, относительно немного отростков, причём первичные отростки необычно толстые. Большую толщину первичных отростков ГФКБ-иммунопозитивных астроцитов в эпифизе человека отмечали и другие исследователи. Сходные особенности астроцитов эпифиза (малое число первичных отростков при большой их толщине) описаны и у других млекопитающих [5, 8]. Малое число первичных отростков, имеющих большую толщину, отличает астроциты эпифиза от астроцитов других областей ЦНС человека, где они имеют, как правило, множество первичных, тонких (нитевидных) отростков [11]. В пользу этого свидетельствует то, что отчетливо наблюдаемое различие по форме ГФКБ-иммунопозитивных астроцитов в эпифизе и соседних областях мозга в настоящей работе мы наблюдали на одном и том же срезе. Это доказывает, что данный феномен не является артефактом, вызванным особенностями иммуногистохи-



Рис. 3. Иммуногистохимическая реакция на триптазу в эпифизе человека.

Тучные клетки (стрелки), иммунореактивные к триптазе, вблизи сосудов. \* Просвет сосуда. Препарат без дополнительной подкраски

мической методики. Мы полагаем, что ГФКБ-иммунопозитивные астроциты эпифиза человека и, возможно, других млекопитающих образуют отдельную подгруппу астроглиальных клеток, имеющих морфологические признаки, отличные от астроцитов других отделов мозга.

Виментин — другой белок промежуточных филаментов, который встречается, преимущественно, в эндотелиальных и иных клетках мезенхимного происхождения. В эпифизе

человека этот белок ранее не исследовался. Иммуногистохимическая реакция на виментин выявила в эпифизе человека многочисленные структурные элементы, экспрессирующие этот белок. Большая часть метки проявилась в отростках, разбросанных по всей паренхиме эпифиза, особенно многочисленных вокруг сосудов; виментин-иммуноположительные клетки встречались редко. В работах на животных также было показано большое число виментин-иммунореактивных отростков в паренхиме эпифиза, тогда как количество иммунореактивных клеток варьировало от незначительного у морской свинки до умеренного у монгольской песчанки [12]. Выявленные нами виментин-иммунореактивные клетки, судя по морфологическим признакам и локализации, являются эндотелиоцитами и в небольшом количестве глиальными клетками.

Сопоставление последовательных срезов, окрашенных иммуногистохимически на ГФКБ и виментин, показало, что, несмотря на то, что обе метки в эпифизе человека наблюдаются в большом количестве преимущественно в отростках, сосуществование этих двух белков в одной структуре встречается очень редко. Это отличается от данных, полученных на эпифизе животных (крыса), у которых показано сосуществование ГФКБ и виментина в части астроглиальных клеток [5, 8], что позволило авторам предположить наличие двух популяций пинеальных астроцитов: зрелых, содержащих одновременно ГФКБ и виментин, и незрелых — только виментин [8]. Полученные нами данные свидетельствуют, что зрелые астроциты в эпифизе человека отличаются по составу белков от таковых в эпифизе крысы, поскольку в них отсутствует со-экспрессия ГФКБ и виментина.

Интересной находкой является факт густого оплетения конкрементов в эпифизе астроцитарными отростками. Кальцификаты в шишковидной железе встречаются в большом количестве, но их происхождение и возможные функции неизвестны; имеются лишь отрывочные данные о химической структуре этих образований. Окружение их отростками астроглии может указывать на выполнение ими каких-то неизвестных пока функций в кооперации с астроцитами либо о чужеродном происхождении этих кристаллов и их изоляции астроцитарной глией от пинеальных клеток и их отростков.

Нахождение зёрен меланина в теле пинеалоцитов и вблизи их окончаний согласуется с имеющимися литературными данными о наличии меланина в эпифизе (в пинеалоцитах, астроглиальных клетках и межклеточном

пространстве) у представителей разных классов животных [6, 7]. Образование меланина в эпифизе связывают с обменом серотонина и его производных. Частота встречаемости меланина в эпифизе сильно варьирует у одного и того же вида животных, в отдельных (но не всех) исследованиях отмечается тенденция к увеличению меланиновых гранул в эпифизе человека с возрастом. Нами не отмечено взаимосвязи количества меланиновых гранул и возраста, возможно, из-за малой выборки образцов эпифиза. Функциональное значение пинеального меланина пока не установлено.

Результаты, полученные с помощью иммуногистохимии на низкомолекулярные белки нейрофиламентов, свидетельствуют, что данная группа белков интенсивно экспрессируется в эпифизе только в пинеалоцитах — преимущественно в их отростках и редко в перикарионе. Это согласуется с описанием распределения того же клона низкомолекулярных белков нейрофиламентов (2F11) в эпифизе человека [7]. Отростки пинеалоцитов заканчиваются около сосудов каплевидными окончаниями, вероятно, служащими для экзоцитоза синтезируемого секрета.

Считается установленным, что низкомолекулярные белки нейрофиламентов характерны для нейронов, и потому они используются в качестве нейронального маркера. Результаты нашей работы вкупе с данными литературы [7] свидетельствуют, что данный нейрональный маркер экспрессируется в пинеалоцитах (в большей мере в отростках, в меньшей — в теле). Этот факт важен в связи с дискуссионностью вопроса о том, можно ли пинеалоциты отнести к нейроноподобным клеткам. А.Л. Поленов (применительно к гипоталамическим нейросекреторным клеткам) считал, что нейросекреторные клетки относятся к особой форме нервных клеток. Выявление в пинеалоцитах человека нейрофиламентов — типичных белков-маркеров нейронов — согласуется с предположением о нейроноподобной природе пинеалоцитов. Представленные нами данные показывают, что в эпифизе человека имеется большое количество тучных клеток, причём они являются постоянным компонентом стромы эпифиза. Известно, что тучные клетки имеют гематогенное происхождение, участвуют в иммунной защите организма, развитии воспаления, регуляции проницаемости кровеносных сосудов и контролируют локальную гемодинамику. Именно с регуляцией проницаемости сосудов связана периваскулярная локализация мастоцитов. Обнаруженный нами факт нахождения тучных клеток в эпифизе человека в достаточно большом количестве свидетельствует об их важной роли,

однако, есть ли у них специфические для эпифиза функции, ещё предстоит установить. Для выяснения этого вопроса может иметь определённое значение обнаруженный нами факт, что в эпифизе человека лишь малая часть тучных клеток находятся в состоянии дегрануляции (процесс выброса секрета из цитоплазматических гранул в окружающую ткань), что свидетельствует об их низком уровне активности в отличие, например, от тучных клеток сосудистого сплетения, где доля дегранулирующих тучных клеток доходит до 60% [2]. По-видимому, присутствие популяции иммунокомпетентных тучных клеток в эндокринной железе (эпифизе) не установленным пока путём способствует регуляции работы единой нейроиммуноэндокринной системы организма эпифизом.

**Заключение.** Полученные в настоящем исследовании результаты позволяют сделать следующие выводы: 1) ГФКБ-иммуноположительные астроциты в эпифизе человека по морфологическим признакам (очень толстые первичные отростки, малое число первичных отростков) отличаются от типичных звёздчатых астроцитов с большим числом тонких отростков в других отделах головного мозга, что позволяет выделить пинеальные ГФКБ-иммуноположительные астроциты в отдельную подгруппу астроцитов; 2) астроциты эпифиза человека не содержат одновременно ГФКБ и виментин, как астроциты в эпифизе других млекопитающих; 3) тучные клетки являются постоянным компонентом эпифиза человека — обязательным в строге и факультативным в паренхиме; 4) пинеалоциты эпифиза человека экспрессируют нейронспецифический белок нейрофиламентов, что свидетельствует в пользу нейроноподобной природы этих клеток; 5) локализация в эпифизе человека нейроноподобных эндокринных клеток и значительного количества иммунокомпетентных тучных клеток определяет этот эндокринный орган как важный компонент единой нейроиммуноэндокринной системы организма.

#### **Вклад авторов:**

*Концепция и дизайн исследования:* Д. Э. К.

*Сбор и обработка материала:* Е. А. Ф., Д. А. С.

*Анализ и интерпретация данных:* Д. Э. К., И. П. Г.

*Написание текста:* Д. Э. К., И. П. Г.

*Оформление микрофотографий:* Д. А. С.

**Авторы сообщают об отсутствии в статье конфликта интересов.**

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Григорьев И.П., Алексеева О.С., Кирик О.В. и др. Распределение низкомолекулярных белков нейрофиламентов

в поясной коре головного мозга крысы // *Морфология*. 2018. Т. 154, вып. 5. С. 7–12 [Grigoriyev I.P., Alekseyeva O.S., Kirik O.V. et al. Distribution of neurofilament light chain proteins in rat brain cingulate cortex // *Morfologiya*. 2018. Vol. 154, № 5. P. 7–12. In Russ.].

2. Фёдорова Е.А., Григорьев И.П., Сырцова М.А. и др. Выявление морфологических признаков дегрануляции тучных клеток сосудистого сплетения головного мозга человека с использованием различных методов окраски и иммуногистохимии // *Морфология*. 2018. Т. 153, вып. 2. С. 70–75 [Fyodorova Ye.A., Grigoriyev I.P., Syrtzova M.A. et al. Detection of morphological signs of mast cell degranulation in human choroid plexus using different staining methods and immunohistochemistry // *Morfologiya*. 2018. Vol. 153, № 2. P. 70–75. In Russ.].
3. Фёдорова Е.А., Суфиева Д.А., Григорьев И.П., Коржевский Д.Э. Тучные клетки эпифиза человека // *Успехи геронтол.* 2018. Т. 31, № 4. С. 484–489 [Fedorova E.A., Sufieva D.A., Grigorev I.P., Korzhevskii D.E. Mast cells of the human pineal gland // *Uspekhi gerontologii*. 2019. Vol. 9, № 1. P. 62–66. In Russ.]. doi: 10.1134/S2079057019010053
4. Хавинсон В.Х., Кветной И.М., Попучиев В.В. и др. Влияние пептидов пинеальной железы на нейроэндокринные взаимосвязи после пинеалэктомии // *Арх. патол.* 2001. Т. 63, № 3. С. 18–21 [Khavinson V.Kh., Kvetnoĭ I.M., Popuchiev V.V. et al. Effect of pineal peptides on neuroendocrine system after pinealectomy // *Arkhiv patologii*. 2001. Vol. 63, № 3. P. 18–21. In Russ.].
5. Borregón A., Boya J., Calvo J.L., López-Muñoz F. Immunohistochemical study of the pineal glial cells in the postnatal development of the rat pineal gland // *J. Pineal Res.* 1993. Vol. 14, Iss. 2. P. 78–83. doi: 10.1111/j.1600-079X.1993.tb00489.x
6. Erlich S.S., Apuzzo M.L. The pineal gland: anatomy, physiology, and clinical significance // *J. Neurosurg.* 1985. Vol. 63, Iss. 3. P. 321–341. doi: 10.3171/jns.1985.63.3.0321
7. Jouvét A., Fevre-Montange M., Besançon R. et al. Structural and ultrastructural characteristics of human pineal gland, and pineal parenchymal tumors // *Acta Neuropathol.* 1994. Vol. 88, Iss. 4. P. 334–348. doi: 10.1007/BF00310377
8. Lopez-Munoz F., Calvo J.L., Boya J., Carboneil A.L. Coexpression of vimentin and glial fibrillary acidic protein in glial cells of the adult rat pineal gland // *J. Pineal Res.* 1992. Vol. 12, Iss. 4. P. 145–148. doi: 10.1111/j.1600-079x.1992.tb00041.x
9. Macchi M.M., Bruce J.N. Human pineal physiology and functional significance of melatonin // *Front Neuroendocrinol.* 2004. Vol. 25, Iss. 3–4. P. 177–195. doi: 10.1016/j.yfrne.2004.08.001
10. Møller M., Baeres F.M. The anatomy and innervation of the mammalian pineal gland // *Cell Tissue Res.* 2002. Vol. 309, Iss. 1. P. 139–150. doi: 10.1007/s00441-002-0580-5
11. Oberheim N.A., Takano T., Han X. et al. Uniquely hominid features of adult human astrocytes // *J. Neurosci.* 2009. Vol. 29, Iss. 10. P. 3276–3287. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4707-08.2009
12. Redecker P., Cetin Y., Korf H.-W. Differential immunocytochemical localization of calretinin in the pineal gland of three mammalian species // *J. Neurocytol.* 1996. Vol. 25, Iss. 1. P. 9–18. doi: 10.1007/bf02284782
13. Reiter R.J., Tan D.X., Kim S.J., Cruz M.H.C. Delivery of pineal melatonin to the brain and SCN: role of canaliculi, cerebrospinal fluid, tanyocytes and Virchow–Robin perivascular spaces //

- Brain Struct. Funct. 2014. Vol. 219, Iss. 6. P. 1873–1887. doi: 10.1007/s00429-014-0719-7
14. Slominski R.M., Reiter R.J., Schlabritz-Loutsevitch N. et al. Melatonin membrane receptors in peripheral tissues: distribution and functions // *Mol. Cell Endocrinol.* 2012. Vol. 351, Iss. 2. P. 152–166. doi: 10.1016/j.mce.2012.01.004
15. Zang X., Nilaver G., Stein B.M. et al. Immunocytochemistry of pineal astrocytes: species differences and functional implications // *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1985. Vol. 44, Iss. 5. P. 486–495. doi: 10.1097/00005072-198509000-00004

Поступила в редакцию 08.05.2019  
Получена после доработки 26.07.2019

### CELLULAR ORGANIZATION OF PINEAL GLAND OF HUMAN: AN IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY

*I. P. Grigorev, E. A. Fedorova, D. A. Sufieva,  
D. E. Korzhevskii*

**Objective** — to investigate the cellular composition of the human pineal gland.

**Material and methods.** Immunohistochemical staining for cytospecific markers that selectively detect astroglial, endothelial, nerve, and mast cells was carried out to study pineal gland of 7 humans aged 16–68. Antibodies to glial fibrillary acidic protein (GFAP), vimentin, light chain neurofilament protein (clone 2F11), and mast cell tryptase were used.

**Results.** GFAP immunohistochemistry revealed a large number of astroglial processes, but few bodies of astroglial cells. The cells had relatively few primary processes, which were signifi-

cantly thicker than those of stellate astrocytes in other parts of the brain. Astrocyte processes densely ensheathed the blood vessels and many concretions. Vimentin immunoreactivity was detected in many cellular processes in the stroma and partly in the parenchyma and in endothelial cells around the blood vessels. No coexistence of GFAP and vimentin was found in the same structures. Light chain neurofilaments were detected in some pinealocytes and their processes. Tryptase-immunopositive mast cells were detected in all studied samples of the pineal gland (usually in the stroma).

**Conclusions.** 1) According to morphological characteristics, GFAP-immunopositive astrocytes in the human pineal gland differ from typical stellate astrocytes in other parts of the brain, which makes it possible to allocate pineal GFAP-positive astrocytes into a separate subgroup of astrocytes; 2) astrocytes of the human pineal gland, unlike pineal astrocytes of other mammals, do not co-express GFAP and vimentin; 3) mast cells are an obligatory component of the human pineal gland — mandatory in the stroma and optional in the parenchyma; 4) human pinealocytes express neuron-specific neurofilament protein, which testifies in favor of their neuron-like nature; 5) localization of neuron-like endocrine cells and a significant number of mast cells in the human epiphysis determines this endocrine organ as an important component of a integral neuroimmune-endocrine system of the organism.

**Key words:** *pineal gland, astrocytes, glial fibrillary acidic protein (GFAP), vimentin, neurofilaments, mast cells, human*

Laboratory of Functional Morphology of the Central and Peripheral Nervous System, Department of General and Specific Morphology, Institute of Experimental Medicine, 12 Akad.Pavlova St., St. Petersburg 197376