

А. В. Назаренкова^{1,2}, О. В. Кирик¹, Д. Э. Коржевский^{1,3}

БЕЛОК МЕЖКЛЕТОЧНЫХ КОНТАКТОВ β -КАТЕНИН В НЕЙРОНАХ ПОВОДКА ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫСЫ

¹ 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; ² кафедра цитологии и гистологии (зав. — проф. А. Д. Харазова); ³ кафедра фундаментальных проблем медицины и медицинских технологий (зав. — проф. А. Н. Суворов), Санкт-Петербургский государственный университет

Работа выполнена на фронтальных срезах головного мозга крыс (n=5) линии Вистар с использованием методов иммуноцитохимии. Впервые в ядрах зрелых нейронов медиальной части поводка был выявлен белок β -катенин. Поскольку внутриядерная локализация этого белка указывает на его участие в каноническом Wnt-сигнальном пути, который реализуется в эмбриогенезе, то можно предположить, что нейроны поводка сохраняют свойства, не характерные для зрелых нейронов.

Ключевые слова: межклеточные контакты, нейроны, головной мозг, ядро клетки, β -катенин

В клетке β -катенин может выполнять 2 принципиально разные функции. Во-первых, он участвует в формировании опоясывающих десмосом, связывая молекулы кадгерина и α -катенина и, тем самым, обеспечивая их стабильность. Во-вторых, этот белок является одним из ключевых компонентов канонического Wnt-сигнального пути, который контролирует экспрессию генов, связанных с определением судьбы клетки и морфогенезом [4].

Поводок — парный ядерный нервный центр, расположенный в каудальной части таламуса на уровне задневерхней части III желудочка. Он является главным холинергическим центром. Поводок получает информацию от лимбической системы и паллидума, передавая её в различные структуры среднего мозга. У млекопитающих поводок подразделяется на 2 части: медиальную и латеральную. В составе этих частей выделяют 15 подъядер, нейроны которых различаются по морфологическим, электрофизиологическим характеристикам, набору медиаторов и тому, в какие структуры мозга они направляют свои волокна [3]. Показано участие поводка в обонянии, пищевом поведении, эндокринной и репродуктивной функциях, восприятии боли, сне, регуляции эмоций и мотивации, работе системы вознаграждения.

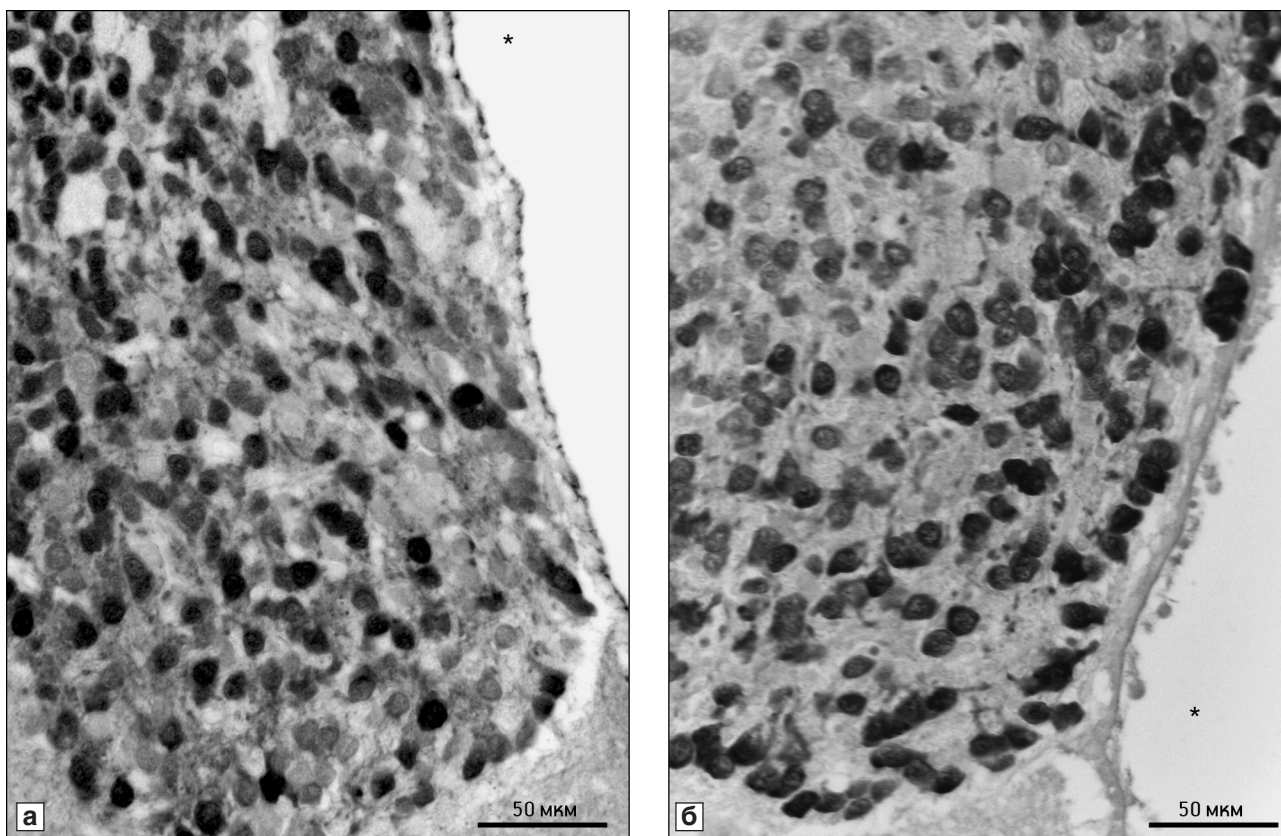
Данные о распределении β -катенина в структурах поводка в литературе отсутствуют, вследствие чего целью данной работы явилось изучение распределения β -катенина в поводке головного мозга крысы.

Материал и методы. Работа выполнена на половозрелых крысах-самцах (n=5) линии Вистар. Содержание животных и их умерщвление осуществляли с учетом «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР). Мозг фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде, обезживали и заливали в парафин стандартным способом. Для иммуноцитохимического выявления β -катенина использовали моноклональные кроличьи антитела (клон ab 2365, 1:100) (Abcam, Великобритания). Для определения зрелых нейронов использовали моноклональные мышинные антитела к белку NeuN (клон A60, 1:400) (Chemicon, США). После стандартной процедуры депарафинирования и регидратации срезы подвергали тепловому демаскированию в нагретом буфере S1700 (Dako, Дания) с последующей блокировкой эндогенной пероксидазы в 3% перекиси водорода. В качестве вторичных реагентов для выявления β -катенина использовали реагенты Reveal HRP-conjugate (Spring Bioscience, США), а для выявления NeuN — MACH 2 HRP-polymer (Biocare medical, США). Визуализацию прореагировавших антител проводили с применением диаминобензидина (DAB+, Dako, Дания). Фотосъемку выполняли, используя микроскоп Leica DM750 и фотокамеру ICC50 (Leica, Германия).

Результаты исследования. После проведения иммуногистохимической реакции на всех препаратах обнаружены β -катенин-

Сведения об авторах:

Назаренкова Анна Владимировна (e-mail: iemmorphol@yandex.ru), Кирик Ольга Викторовна (e-mail: olga_kirik@mail.ru), Коржевский Дмитрий Эдуардович (e-mail: dek2@yandex.ru), лаборатория функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы, отдел общей и частной морфологии, Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН, 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12



Медиальная часть поводка головного мозга крысы.

а — иммуногистохимическая реакция на белок β -катенин и б — на белок NeuN. Звёздочка — полость III желудочка

иммунопозитивные структуры. В поводке интенсивная реакция наблюдается в ядрах нейронов (рисунки). То, что в этой области располагаются зрелые нейроны, подтверждается положительной реакцией на нейрональный белок NeuN (см. рисунок). При этом клетки с окрашенными ядрами распределены в поводке неравномерно. Нейроны с локализацией β -катенина в ядрах располагаются только в медиальной части поводка, в латеральной его части реакция не отчётлива. Наблюдается разная интенсивность реакции на этот белок: есть ядра с интенсивной и умеренной реакцией. На препаратах видно, что некоторые нейроны, в ядрах которых локализуется β -катенин, непосредственно контактируют с кровеносными сосудами. Реакция на этот белок отсутствует в области прилегания соседних нейронов ядер поводка.

Реакция на β -катенин также наблюдается в эпендиме, покрывающей часть поводка. Продукт реакции локализуется в области латеральных границ эпендимоцитов, причем наиболее интенсивная реакция наблюдается в их верхней части.

Обсуждение полученных данных. В настоящем исследовании впервые было обнаружено наличие β -катенина в ядрах нейронов медиальной части поводка. Такая локализация

β -катенин-иммунопозитивных клеток полностью соответствовала расположению зрелых нейронов, что и было подтверждено реакцией на белок NeuN, который является маркером зрелых нейронов [1]. Локализация β -катенина в нейронах преимущественно медиальной части поводка, вероятно, связана с их специфическими функциональными характеристиками [4]. Расположение β -катенина в ядрах нейронов свидетельствует о функционировании его в качестве посредника, который направляется в ядро клетки, связывается с TCF/LEF-транскрипционным фактором и запускает транскрипцию генов-мишеней канонического Wnt-сигнального пути. По литературным данным, такой сигнальный путь отвечает за пролиферацию нейральных стволовых и прогениторных клеток в развивающемся мозгу [5]. Обычно внутриядерное накопление β -катенина наблюдается в пролиферирующих нейрональных прогениторных клетках [3]. В настоящем же случае этот белок выявлен в дифференцированных нейронах, которые, как было показано ранее [2], синтезируют и другой белок стволовых клеток — Msi-1. Это указывает на необычный статус части нейронов поводка, которые экспрессируют маркеры, характерные для нейральных стволовых и прогениторных клеток.

Таким образом, популяция нейронов поводка характеризуется необычным для зрелых нейронов профилем иммуноцитохимических маркеров, одним из которых является β -катенин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеева О.С., Гусельникова В.В., Безнин Г.В., Коржевский Д.Э. Перспективы использования ядерного белка NeuN в качестве показателя функционального состояния нервных клеток у позвоночных // Журн. эволюц. биохим. 2015. Т. 51, № 5. С. 313–323.
2. Кирик О.В., Алексеева О.С., Коржевский Д.Э. Экспрессия маркера нейральных стволовых клеток Msi-1 в конечном мозгу крысы // Морфология. 2011. Т. 139, вып. 2. С. 77–79.
3. Chao J., Yang L., Yao H., Buch S. Platelet-derived growth afctor-BB restores HIV Tat-mediated impairment of neurogenesis: role of GSK-3 β / β -catenin // J. Neuroimmune Pharmacol. 2014. Vol. 9, № 2, P. 259–268.
4. Wagner F., Stroh T., Veh R. Correlating habenular subnuclei in rat and mouse by using topographic, morphological and cytochemical criteria // J. Comp. Neurol. 2014. Vol. 522. P. 2650–2662.
5. Wisniewska M. Physiological role of beta-catenin /TCF signaling in neurons of the adult brain // Neurochem. Res. 2013. Vol. 38, № 6. P. 1144–1155.

6. Zechner D., Fujita Y., Hulsken J. et al. β -Catenin signals regulate cell growth and the balance between progenitor cell expansion and differentiation in the nervous system // Dev. Biol. 2003. Vol. 258. P. 406–418.

Поступила в редакцию 16.10.2015

INTERCELLULAR JUNCTION PROTEIN BETA-CATENIN IN NEURONS OF THE RAT BRAIN HABENULA

A.V.Nazarenkova^{1,2}, O.V.Kirik¹, D.E.Korzhevskiy^{1,3}

The study was carried out on frontal sections of the Wistar rat brain (n=5) with the use of immunocytochemical methods. For the first time beta-catenin was found in the nuclei of mature neurons of the medial part of habenula. Since intranuclear localization of this protein indicates its involvement in the canonical Wnt signaling pathway, which is normally realized in embryogenesis, it is suggested that habenular neurons retain the properties that are not characteristic of mature neurons.

Key words: *intercellular junctions, neurons, brain, cell nucleus, beta-catenin*

¹ Laboratory of the Functional Morphology of the Central and Peripheral Nervous System, Department of General and Special Morphology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg;

² Department of Cytology and Histology, ³ Department of Fundamental Medicine and Medical Technologies, St. Petersburg State University