

КРАТКОЕ СООБЩЕНИЕ

© Коллектив авторов, 2012
УДК 611.018.8

И. П. Григорьев, Е. Г. Сухорукова, Е. А. Колос и Д. Э. Коржевский

НЕЙРОМЕЛАНИН В НЕЙРОНАХ ЧЕРНОГО ВЕЩЕСТВА, НЕ СОДЕРЖАЩИХ ТИРОЗИНГИДРОКСИЛАЗУ

Лаборатория функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы (зав. — д-р мед. наук Д. Э. Коржевский), отдел общей и частной морфологии, Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург, e-mail: iemmorphol@yandex.ru

Проведено иммуноцитохимическое изучение распределения тирозингидроксилазы (ТГ), ключевого фермента синтеза катехоламинов, в нейронах чёрного вещества мозга человека ($n=7$) и определена локализация в этих клетках меланина. Получены данные о существовании в чёрном веществе трёх видов нейронов: содержащих ТГ и нейромеланин, содержащих только нейромеланин и нейронов, в которых не выявлено ни ТГ, ни нейромеланина. Существование популяции нейромеланин-содержащих нейронов, в которых отсутствует ТГ (доля которых составляет 7–30%), обсуждается с точки зрения участия катехоламинов и ТГ в синтезе нейромеланина.

Ключевые слова: головной мозг, чёрное вещество, нейромеланин, катехоламины, тирозингидроксилаза

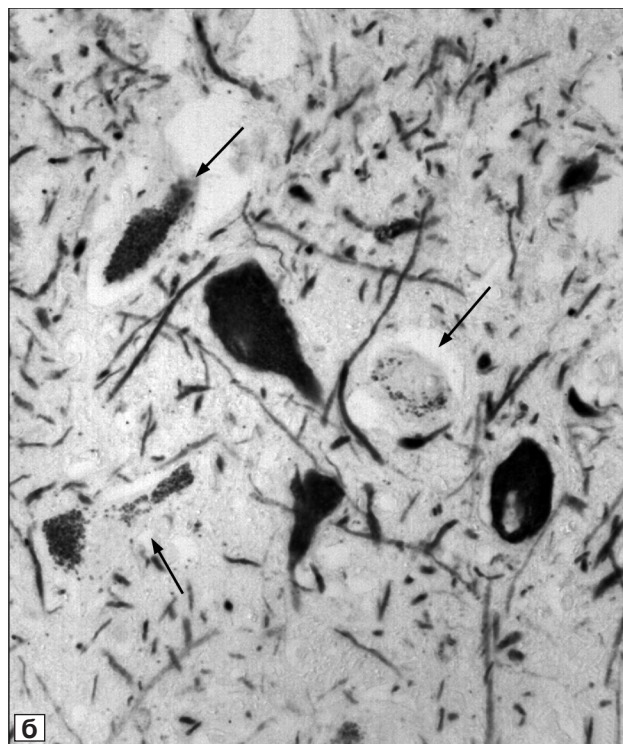
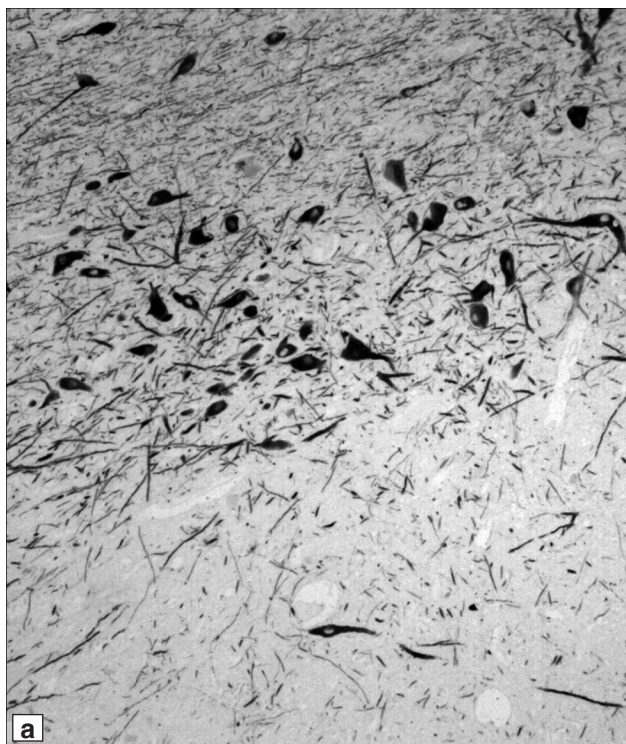
Нейромеланин является обязательным компонентом цитоплазмы катехоламинергических нейронов чёрного вещества и голубоватого места у приматов, включая человека. Структура, функции и биосинтез нейромеланина в катехоламинергических клетках не ясны, но изученные уже физико-химические свойства позволяют предполагать его участие в свободнорадикальных процессах в нервной системе, причём как в роли нейропротектора, так и нейроповреждающего агента [6]. Эти свойства, в свою очередь, указывают на высокую вероятность участия нейромеланина в патогенезе болезни Паркинсона, что делает чрезвычайно важным исследование этого пигмента в нервной системе человека. Хотя механизм синтеза нейромеланина не установлен, предполагается участие в нём дофамина и/или его предшественников — 3, 4-диоксифенилаланина (ДОФА) и тирозина [5]. Однако в чёрном веществе содержатся не только дофаминергические нейроны, но и клетки другой медиаторной принадлежности [3]. Исходя из этого, целью настоящей работы было изучение взаимосвязи внутриклеточной локализации нейромеланина и тирозингидроксилазы (ТГ) — ключевого фермента синтеза дофамина — в чёрном веществе у человека.

Материал и методы. В работе использованы фрагменты головного мозга человека ($n=7$, возраст 25–65 лет), полученные при проведении аутопсии. Программа исследования имеет положительное заключение этического комитета Научно-исследовательского института экспериментальной медицины СЗО РАМН. Материал фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде [2], обезжизняли и заливали в парафин по общепринятой методике. Готовили срезы толщиной

5 и 7 мкм. Выявление катехоламинергических структур головного мозга осуществляли при помощи иммуноцитохимической реакции на ТГ с использованием двух различных антител (мышинных моноклональных клона 1B5, Novocastra, Великобритания и кроличьих поликлональных, Abcam, Великобритания) и наборов EnVision+ (DAKO, Дания) с учетом рекомендаций производителей реагентов и собственных разработок [1]. После проведения иммуноцитохимической реакции часть срезов докрашивали квасцовым гематоксилином. Во всех случаях на срезах, проходящих через компактную часть черного вещества, подсчитывали общее число нейронов и определяли долю клеток, содержащих нейромеланин и не содержащих ТГ.

Результаты исследования. Все полученные препараты позволяли точно определять ТГ-иммунопозитивные нейроны, видеть нейромеланин в цитоплазме нервных клеток (рисунок) и не имели признаков аутолиза.

Проведенное исследование показало, что в чёрном веществе у человека имеются 3 различных вида нейронов по соотношению распределения нейромеланина и ТГ: содержащие ТГ и нейромеланин, содержащие только нейромеланин и, наконец, нейроны, в которых не выявлено ни ТГ, ни нейромеланина. Вопрос о существовании ТГ-иммунопозитивных, нейромеланин-негативных нейронов остается открытым, поскольку интенсивная реакция на ТГ может маскировать присутствие нейромеланина. Доля клеток, в которых присутствует нейромеланин, но не содержится ТГ, составляет от 7 до 30%. Нейроны, в которых отсутствует как нейромеланин, так и ТГ, в компактных нейрональных скоплениях в чёрном веществе у человека встречаются редко.



Нейроны черного вещества у человека.

а — общий вид; б — участок препарата при большем увеличении. Скопления гранул нейромеланина в цитоплазме нейронов, иммунонегативных по отношению к тирозингидроксилазе (стрелки). Иммуноцитохимическая реакция на тирозингидроксилазу без докраски.
а — об. 10, ок. 10; б — об. 40, ок. 10.

Обсуждение полученных данных. Наличие нейромеланин-содержащих нейронов, в которых отсутствует ТГ, вызывает особый интерес. Если придерживаться существующих представлений об участии дофамина и/или ДОФА в синтезе нейромеланина [5], данное наблюдение может указывать на то, что нейроны, не содержащие ТГ, но имеющие нейромеланин в своей цитоплазме, находятся в изменённом функциональном состоянии, при котором экспрессия ТГ ранее происходила, но была прекращена по каким-то причинам — физиологическим или патологическим. Возможно также, что катехоламины могут транспортироваться из нейрона, содержащего ТГ, в клетку, не имеющую данного фермента [4], и использоваться для биосинтеза нейромеланина. Наконец, нельзя исключать возможности существования формы меланина, образуемого без участия ДОФА или дофамина, что объясняет возможность его синтеза в некатехоламинергических нейронах. Против последнего предположения свидетельствует отсутствие нейромеланина в нервных центрах, не содержащих катехоламинергических нейронов.

Установленный факт присутствия нейромеланина в нейронах, не содержащих ТГ, важно учитывать при изучении патогенеза болезни

Паркинсона и моделировании сходной патологии на лабораторных животных.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проекты 10-04-00676, 11-04-01693).

ЛИТЕРАТУРА

1. Григорьев И. П., Василенко М. С., Сухорукова Е. Г. и Коржевский Д. Э. Применение различных антител к тирозингидроксилазе для изучения катехоламинергических систем головного мозга млекопитающих. *Морфология*, 2010, т. 138, вып. 6, с. 60–63.
2. Коржевский Д. Э., Григорьев И. П. и Отеллин В. А. Применение обезживающих фиксаторов, содержащих соли цинка, в нейрогистологических исследованиях. *Морфология*, 2006, т. 129, вып. 1, с. 85–87.
3. Отеллин В. А. и Арушанян Э. Б. Нигрострионигральная система. М., Медицина, 1989.
4. Угрюмов М. В. Нейроны мозга, частично экспрессирующие моноаминергический фенотип: локализация, развитие и функциональное значение. *Успехи физиол. наук*, 2007, т. 38, № 2, с. 3–25.
5. Zecca L., Tampellini D., Gerlach M. et al. Substantia nigra neuromelanin: structure, synthesis, and molecular behaviour. *Mol. Pathol.*, 2001, v. 54, p. 414–418.
6. Zecca L., Zucca F. A., Wills H. and Sulzer D. Neuromelanin of the substantia nigra: a neuronal black hole with protective and toxic characteristics. *Trends Neurosci.*, 2003, v. 26, № 11, p. 578–580.

Поступила в редакцию 16.12.2011

NEUROMELANIN IN NEURONS OF SUBSTANTIA NIGRA LACKING TYROSINE HYDROXYLASE

*I. P. Grigoriyev, Ye.G. Sukhorukova, Ye.A. Kolos
and D. E. Korzhevskiy*

The distribution of tyrosine hydroxylase (TH), a key enzyme of catecholamine synthesis, was studied immunocytochemically in the neurons of substantia nigra in the human brain (n=7), and localization of neuromelanin in these cells was determined. The evidence indicating the existence of three types of neurons in substantia nigra was obtained, including the neurons containing

both TH and neuromelanin, neurons containing only neuromelanin, and neurons expressing neither TH, nor neuromelanin. Presence of a population of neuromelanin-containing neurons lacking TH (which make up 7–30% of the cells) is discussed considering the participation of catecholamines and TH in neuromelanin synthesis.

Key words: *substantia nigra, catecholamines, tyrosine hydroxylase, neuromelanin*

Laboratory of the Functional Morphology of the Central and Peripheral Nervous System, Department of General and Special Morphology, RAMS North-Western Branch Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg