

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

© О. В. Кирик¹, Е. Г. Сухорукова¹, О. С. Алексеева¹ и Д. Э. Коржевский^{1,2} 2014
УДК 611.814.8.018:599.323.4

О. В. Кирик¹, Е. Г. Сухорукова¹, О. С. Алексеева¹ и Д. Э. Коржевский^{1,2}

СУБЭПЕНДИМНЫЕ МИКРОГЛИОЦИТЫ III ЖЕЛУДОЧКА ГОЛОВНОГО МОЗГА

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

Цель работы состояла в идентификации клеток субэпендимной микроглии III желудочка головного мозга крысы и определении их структурных характеристик. Работа выполнена на срезах головного мозга интактных крыс-самцов линий Вистар (n=3) и Спрейг-Дуоли (n=3) с использованием методов иммуноцитохимии и конфокальной лазерной микроскопии. Установлено, что субэпендимная микроглия III желудочка является постоянно присутствующей популяцией клеток. Встречаются 2 типа субэпендимных микроглиоцитов — веретеновидные и корзинчатые. Их отростки проникают в слой эпендимы и достигают ее поверхности, контактируя с цереброспинальной жидкостью, что указывает на возможное участие этих клеток в структуре ликворозцефалического барьера.

Ключевые слова: микроглия, эпендима, головной мозг, белок Iba-1

Клетки микроглии являются специализированными макрофагами органов ЦНС [4], которые рассматриваются как ключевой элемент защитных механизмов нервной системы [5]. Несмотря на функциональную значимость этих клеток, микроглия остается одним из наименее изученных компонентов нервной ткани. В недавних исследованиях было показано, что в головном мозгу имеются микроглиоциты, которые расположены непосредственно под эпендимой боковых желудочков [1], однако детального анализа структурной организации этих клеток и их распределения в различных отделах стенок желудочков мозга выполнено не было. Поэтому цель настоящей работы состояла в идентификации клеток субэпендимной микроглии III желудочка, определении их структурных характеристик и взаиморасположения их отростков по отношению к эпендимоцитам.

Материал и методы. Работа выполнена на фронтальных срезах головного мозга интактных половозрелых крыс-самцов линии Вистар (n=3) и Спрейг-Дуоли (n=3) из архива лаборатории функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы Научно-исследовательского института экспериментальной медицины СЗО РАМН. Для идентификации микроглиоцитов использовали поликлональные козы антитела к антигену Iba-1 (Abcam, Великобритания), который является специфическим маркером микроглии [1, 5]. Инкубацию с первичными антителами к Iba-1 в разведении 1:200 проводили в течение

18 ч при 27 °С. Выявление комплекса антиген—антитело осуществляли в 2 этапа. На 1-м этапе срезы инкубировали с вторичными антикозьими биотинилированными антителами (разведение 1:200, Dako, Дания) 60 мин при 27 °С, на 2-м этапе для световой микроскопии — со стрептавидином, конъюгированным с пероксидазой (реагент «Str/HRP» из набора LSAB 2 System-HRP, Dako, Дания) 30 мин при 27 °С. Продукт иммуноцитохимической реакции визуализировали, используя хромоген DAB+ (Dako, Дания). Для конфокальной микроскопии на 2-м этапе использовали стрептавидин, конъюгированный с флюорохромом CY3 (Initrogen, США, разведение 1:100). Инкубацию проводили в течение 30 мин при 27 °С. После завершения иммуноцитохимической реакции ядра клеток в части срезов докрашивали гематоксилином или флюоресцентным красителем Sytox Green (Initrogen, США). Контрольные процедуры при постановке иммуноцитохимических реакций проводили с учетом рекомендаций производителей реагентов. Полученные препараты исследовали при помощи конфокального лазерного микроскопа LSM 710 (Zeiss, Германия) и светового микроскопа DM 750 (Leica, Германия). Клетки и их отростки измеряли, используя программу LSM Image Browser (Zeiss, Германия), для оценки интенсивности флюоресценции использовали программу ZEN 2011 Lite (Zeiss, Германия).

Результаты исследования. Установлено, что субэпендимная микроглия III желудочка является постоянно присутствующей популяцией клеток. Флюоресценция субэпендимных микроглиоцитов в 2 раза интенсивнее, чем микроглии соседних участков гипоталамуса. В верхней части III желудочка субэпендимные микроглиоциты

Сведения об авторах:

Кирик Ольга Викторовна (e-mail: olga_kirik@mail.ru), Сухорукова Елена Геннадьевна (e-mail: len48@inbox.ru), Алексеева Ольга Сергеевна (e-mail: osa72@inbox.ru), Коржевский Дмитрий Эдуардович (e-mail: iemmorphol@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. Академика Павлова, 12

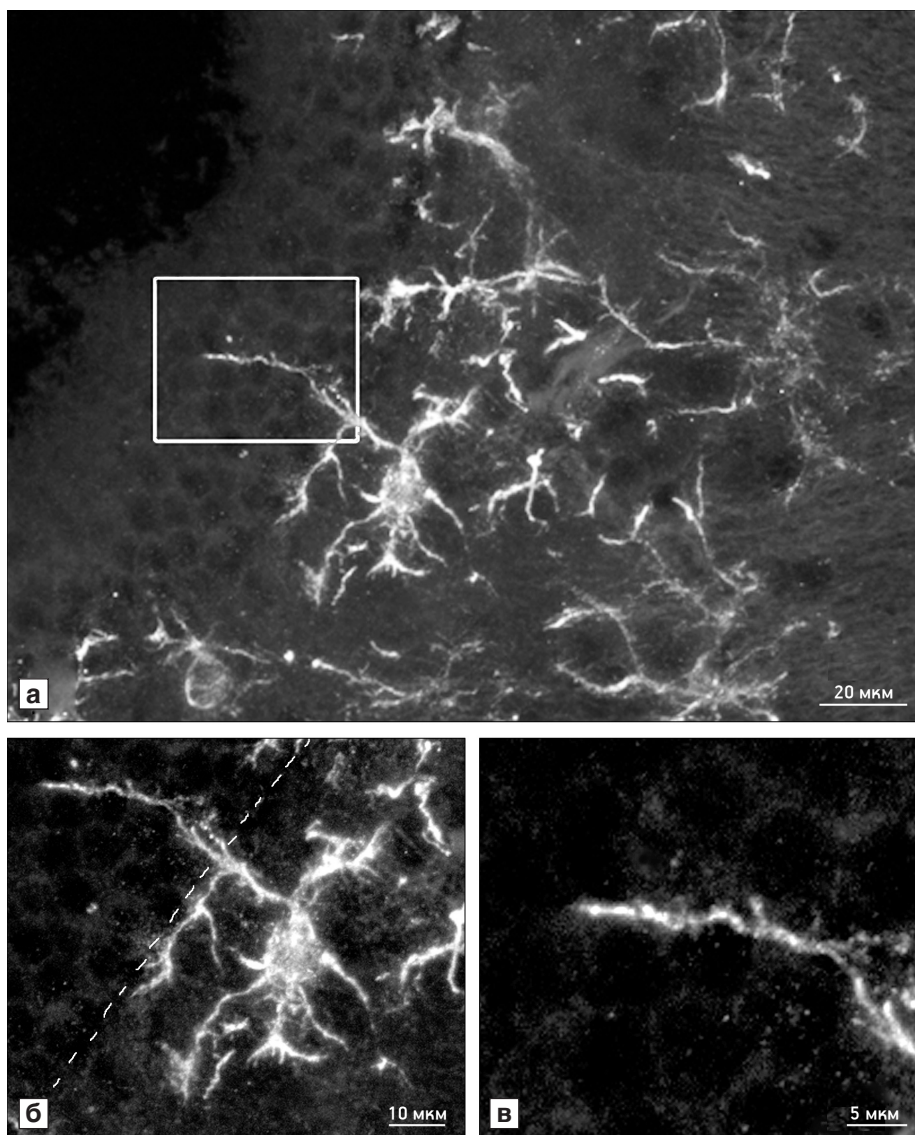


Рис. 1. Микроглиоциты субэпендимной области верхней части III желудочка головного мозга крысы.

а — общий вид. В прямоугольник заключен отросток, принадлежащий субэпендимному микроглиоциту; б — субэпендимный микроглиоцит, штриховая линия — граница между эпендимной и субэпендимной зоной; в — отросток микроглиоцита, проходящий через эпендимный слой (область, очерченная на рис. а). Иммуноцитохимическая реакция на белок Iba-1. Конфокальная микроскопия

выглядят как многоотростчатые клетки. Диаметр их ядра обычно равен 7–8 мкм, а ободок перинуклеарной цитоплазмы вне места отхождения отростков в ширину составляет не более 1 мкм. От их тел отходят по несколько (4–6) первичных отростков, обращенных в сторону нервной ткани, и 1–2 — в сторону эпендимы (рис. 1).

От первичного отростка, направленного в сторону эпендимы, отходят по 2–3 вторичных отростка. Они идут в том же направлении либо под острым углом, либо перпендикулярно первичному отростку и располагаются непосредственно под слоем эпендимоцитов. Отростки, проникающие в слой эпендимоцитов, — длинные (до 50 мкм), не ветвятся, имеют небольшие микровыросты (до 2–3 мкм), иногда достигают апикальной поверхности эпендимоцитов. От вторичных отростков, вытянутых вдоль эпендимы, отходят отростки под прямым углом, направленные в нейропил, и под острым углом, идущие вдоль эпендимы. От первичных отростков, обращенных в сторону нервной ткани, в различных направлениях отходят многочисленные вторичные отростки. Часть из них заканчиваются колбообразными расширениями, от которых отходят по несколько микровыростов.

В нижней (гипоталамической) части III желудочка, где имеется отчетливо выраженный слой реснитчатых эпендимоцитов, встречаются 2 разновидности субэпендимных микроглиоцитов — веретеновидные и корзинчатые, а также присут-

ствуют. В нижней (гипоталамической) части III желудочка, где имеется отчетливо выраженный слой реснитчатых эпендимоцитов, встречаются 2 разновидности субэпендимных микроглиоцитов — веретеновидные и корзинчатые, а также присут-

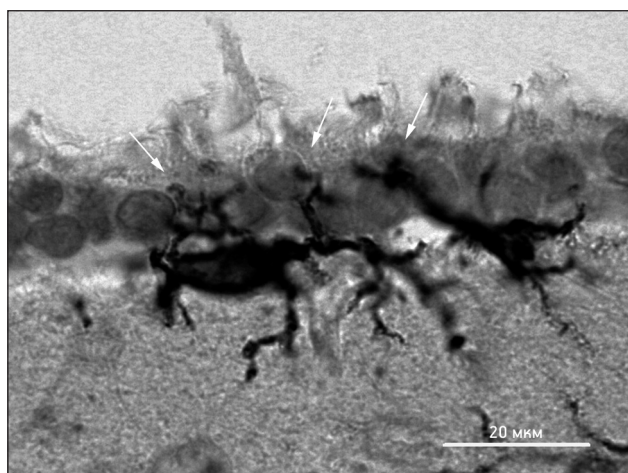


Рис. 2. Субэпендимные микроглиоциты, отростки которых (стрелки) расположены между эпендимоцитами нижней части III желудочка головного мозга крысы.

Иммуноцитохимическая реакция на белок Iba-1 с докраской гематоксилином

ствуют промежуточные формы. Веретеновидные микроглиоциты имеют 2 первичных отростка, вытянутых вдоль базальной части эпендимного пласта. От их первичных отростков в сторону просвета желудочка отходят тонкие неветвящиеся и разветвленные отростки, которые проникают между эпендимоцитами, иногда достигая полости желудочка (рис. 2).

В сторону окружающей нервной ткани направляются более тонкие и длинные разветвляющиеся отростки, имеющие изломанный ход. Корзинчатые микроглиоциты направляют свои немногочисленные и неветвящиеся толстые основные отростки в сторону полости желудочка, которые проникают в пласт эпендимных клеток. При замещении реснитчатых эпендимоцитов таницитами (уровень аркуатного ядра) слой субэпендимных микроглиоцитов исчезает.

Обсуждение полученных данных. Известно, что в области боковых желудочков конечного мозга микроглиоциты субвентрикулярной зоны участвуют в различных процессах, связанных с формированием новых нейронов и глиоцитов, а также входят в состав защитной системы головного мозга, реагирующей в ответ на такие повреждающие воздействия, как гипоксия и ишемия [2, 3]. Полученные данные свидетельствуют о том, что в области III желудочка присутствуют 2 различные формы микроглиоцитов. Их структурная организация и взаимодействие с эпендимой свидетельствуют о существовании непосредственного контакта отростков этих клеток с цереброспинальной жидкостью (ЦСЖ). Высокая интенсивность флюоресценции субэпендимных микроглиоцитов, вероятно, обусловлена более высокой цитоплазматической концентрацией белка Iba-1, который участвует в реализации специфических функций микроглии [1].

Таким образом, субэпендимные микроглиоциты, благодаря возможности прямого контакта с ЦСЖ, могут осуществлять мониторинг состава этой части внутренней среды головного мозга и

служат передовым элементом защитной системы ликвороэнцефалического барьера.

Работа выполнена при поддержке грантом РФФИ 14-04-00049.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кирик О.В., Сухорукова Е.Г. и Коржевский Д.Э. Кальций-связывающий белок Iba-1/AIF-1 в клетках головного мозга крысы. Морфология, 2010, т. 137, вып. 2, с. 5–8.
2. Коржевский Д.Э., Кирик О.В., Сухорукова Е.Г. и Власов Т.Д. Структурная организация микроглиоцитов стриатума после транзиторной фокальной ишемии. Морфология, 2012, т. 141, вып. 2, с. 28–32.
3. Хожай Л.И. и Отеллин В.А. Реактивные изменения микроглии в неокортексе и гиппокампе у крыс после воздействия острой перинатальной гипоксии. Морфология, 2013, т. 143, вып. 1, с. 23–27.
4. Davis E.J., Foster T.D. and Thomas W.E. Cellular forms and functions of brain microglia. Brain Res. Bull., 1994, v. 4, № 1, p. 73–78.
5. Graeber M.B. and Streit W.J. Microglia: biology and pathology. Acta Neuropathol., 2010, v. 119, p. 89–105.

Поступила в редакцию 23.06.2013

Получена после доработки 23.12.2013

SUBEPENDYMAL MICROGLIOCYTES OF THE THIRD VENTRICLE OF THE BRAIN

O.V.Kirik, Ye.G.Sukhorukova, O.S.Alekseyeva and D.E.Korzhevskiy

The goal of the study was to identify the subependymal microglial cells of the III ventricle of the rat brain and to determine their structural characteristics. The sections of the brain of intact Wistar (n=3) and Sprague-Dawley (n=3) male rats were studied using the methods of immunocytochemistry and confocal laser microscopy. Subependymal microglia of the III ventricle was found to be a constantly present cell population. Two types of subependymal microgliocytes were identified — spindle-like and basket cells. Their processes penetrate the ependymal layer and reach its surface, thus contacting the cerebrospinal fluid (CSF), which suggests a possible participation of these cells in the structure of CSF-brain barrier.

Key words: *microglia, ependyma, brain, Iba1 protein*

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