

# КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

© Коллектив авторов, 2011  
УДК 611.813.018:599.323.4

*Д.Э. Коржевский, О.В. Кирик и А.В. Гиляров*

## КЛЕТКИ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫСЫ, СОДЕРЖАЩИЕ ЭЗРИН (ЦИТОВИЛЛИН)

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

Эзрин (цитовиллин, белок p81) является актин-связывающим белком из семейства ERM (эзрин—радиксин—моезин), представители которого участвуют в стабилизации структур, образуемых плазмолеммой. Цель настоящего исследования состояла в изучении клеток головного мозга крысы, содержащих эзрин, определении их топографии и структурных особенностей. Установлено, что наиболее интенсивная иммуноцитохимическая реакция на эзрин характерна для эпителия сосудистого сплетения, субкомиссурального органа и эпендимы желудочков. Кроме того, окрашиваются неидентифицируемые клетки субвентрикулярной зоны, рострального миграционного пути и астроциты различных областей мозга. Преимущественная локализация эзрина в клетках головного мозга, формирующих барьерные структуры, свидетельствует о его участии в обеспечении транспортных процессов в ЦНС.

**Ключевые слова:** *головной мозг, эзрин, гематоэнцефалический барьер, сосудистое сплетение, астроциты*

Эзрин (цитовиллин, белок p81) является актин-связывающим белком из семейства ERM (эзрин—радиксин—моезин) [6], представители которого участвуют в стабилизации структур, образуемых плазмолеммой, и обеспечивают ее связь с компонентами цитоскелета. Ранее было показано, что эзрин концентрируется в области поверхностных структур клетки, содержащих актин (микроворсинки, филоподии и т.п.) [3]. Распределение эзрина в различных типах эпителиоцитов изучено достаточно полно, тогда как данные, полученные при выявлении этого белка в клетках нервной ткани млекопитающих, фрагментарны и противоречивы [5, 6]. Тем не менее, сведения о локализации такого важного (с точки зрения участия в регуляции внутриклеточных процессов и межклеточных взаимодействий) компонента поверхностного аппарата клетки, как эзрин, необходимы для разработки новых подходов к определению функциональной активности клеток головного мозга *in situ*, а также для совершенствования морфологических критериев оценки состояния барьерной системы головного мозга.

Цель настоящего исследования состояла в изучении клеток головного мозга крысы, синтезирующих эзрин, определении их топографии и структурных особенностей.

**Материал и методы.** Эксперименты выполнены на 14-суточных (n=3) и половозрелых крысах-самцах (n=10) линии Вистар. Содержание и умерщвление животных осуществляли с учетом «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР). Материал фиксировали в цинк-формалине и цинк-этанол-формальдегиде, обезвоживали и

заливали в парафин обычным способом. Морфологическому исследованию подвергали фронтальные срезы головного мозга. Иммуноцитохимическое выявление эзрина проводили при помощи моноклональных (клон 3С12) мышинных антител фирмы Diagnostic BioSystems (США), в качестве вторичных реагентов использовали реактивы из набора EnVision+ HRP/DAB (Dako, Дания). Перед постановкой реакции проводили тепловое демаскирование антигена в модифицированном цитратном буфере (S1700, Dako, Дания) в течение 25 мин. Часть срезов после постановки реакции докрашивали квасцовым гематоксилином. Были поставлены общепринятые контрольные реакции.

**Результаты исследования.** Проведение реакции на эзрин на материале, фиксированном в двух различных средах, показало, что различия в локализации и объеме выявляемых иммунореактивных структур головного мозга при этом минимальны. Однако фиксация в цинк-формалине создает видимость более четких границ иммунореактивных структур при меньшей интенсивности реакции в сравнении с таковой в цинк-этанол-формальдегиде.

При изучении препаратов при малом увеличении (рис. 1) обнаруживается неодинаковое распределение иммунореактивных клеток в различных отделах головного мозга. Так, наиболее интенсивно окрашиваются стенки желудочков мозга и сосудистое сплетение. Из нервных центров наибольшая реакция характерна для латерального ядра перегородки и гиппокампа. Несколько слабее реакция в области пириформной коры и наружных слоях неокортекса. Наименее выражена реакция в таламических и гипоталамических ядрах и зонах, занимаемых белым веществом мозга.

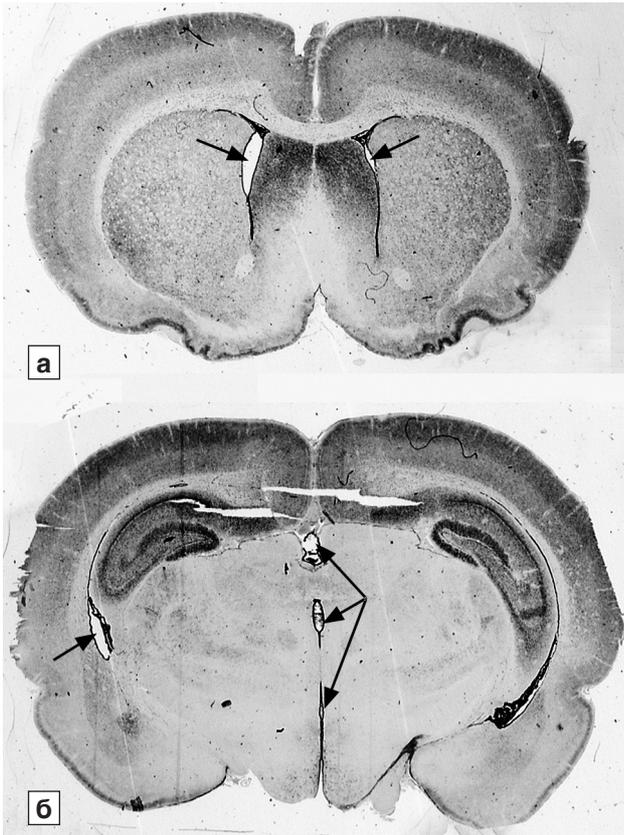


Рис. 1. Фронтальные срезы (а, б) головного мозга крысы.

Стрелки — желудочки мозга. Иммуноцитохимическая реакция на эзрин без докраски. Ув. 4.

Детальное изучение зон, имеющих повышенную иммунореактивность, показало, что интенсивно окрашен эпителий сосудистого сплетения (рис. 2), эпендима желудочков и клетки субкомиссурального органа. В эпителии сосудистого сплетения и в различных участках эпендимы наблюдается преимущественно апикальная локализация эзрина (особенно отчетливо это видно при использовании цинк-формалина в качестве фиксатора).

В субвентрикулярной зоне боковых желудочков и в области роstralного миграционного пути обнаруживаются менее интенсивно по сравнению с эпендимоцитами окрашенные клетки, которые образуют подобие довольно плотного слоя, что не позволяет охарактеризовать их структурную организацию. В стриатуме и гиппокампе (особенно отчетливо в молекулярном слое зубчатой извилины) выявляются звездчатые клетки, нередко направляющие свои отростки к мелким кровеносным сосудам. В пириформной коре и наружных слоях неокортекса, несмотря на довольно интенсивную реакцию на эзрин, продукт которой расположен в нейропиле и имеет мелкогранулярный вид, не удастся определить клеток, которым принадлежат иммунореактивные струк-

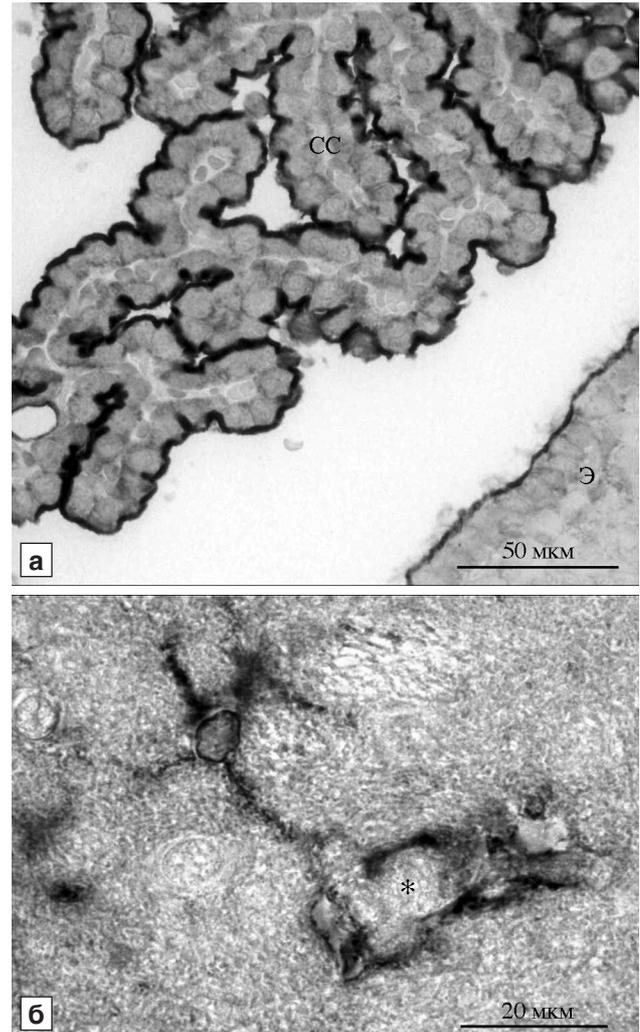


Рис. 2. Фрагменты срезов головного мозга 14-суточной (а) и взрослой (б) крысы.

СС — сосудистое сплетение III желудочка; Э — эпендима желудочка; звездочка — просвет кровеносного сосуда стриатума. Иммуноцитохимическая реакция на эзрин с докраской гематоксилином (а) и без докраски (б).

туры, поскольку перинуклеарные зоны нейронов и глиоцитов в этих слоях остаются ареактивными. Небольшое число иммунореактивных клеток обнаружено в белом веществе мозга. Отростки этих клеток проследить не удастся, поскольку эзрин в этих клетках сосредоточен в перинуклеарной цитоплазме.

В мозговых оболочках и просветах крупных кровеносных сосудов обнаруживаются единичные иммунореактивные клетки, имеющие строение, характерное для лимфоцитов.

Обсуждение полученных данных. Результаты проведенного исследования указывают на распространенность эзрина в клетках ЦНС крысы. При этом отмечена неравномерность его распределения в различных структурах мозга. С учетом высокой интенсивности транспорта

веществ через компоненты гематоликворного и ликворэнцефалического барьеров закономерно присутствие эзрина в области сложноорганизованной поверхности эпендимы желудочков и эпителия сосудистого сплетения [1]. Четко контурируемые отростчатые клетки разных областей мозга, участвующие в формировании периваскулярной глиальной пограничной мембраны с учетом их структуры и расположения, следует идентифицировать как астроциты, что укладывается в представления об участии эзрина в активации астроцитов у человека [4]. Клетки субвентрикулярной зоны и рострального миграционного пути не удается морфологически идентифицировать из-за того, что их контуры (в связи с близким расположением друг к другу и отсутствием явного градиента реакции) сливаются. Однако известно, что в субвентрикулярной зоне располагаются астроциты, мигрирующие нейробласты и нейральные стволовые клетки [2]. Не исключено, что большая часть иммунореактивных клеток являются нейробластами, миграция которых осуществляется с формированием филоподий, для образования которых необходим эзрин [3]. В связи с незначительным содержанием эзрин-иммунопозитивных клеток в белом веществе головного мозга маловероятным является предположение о присутствии этого белка в олигодендроцитах. Ни в одной из исследованных областей эзрин не был обнаружен в перикарионах нейронов. Остается неясным источник иммунореактивности в нейропиле пириформной коры и неокортекса. Учитывая локализацию эзрина в этом случае в зонах синаптогенеза, не исключено, что иммунореактивные структуры могут принадлежать и отросткам нервных клеток.

Таким образом, среди клеток головного мозга, экспрессирующих эзрин, преобладают клетки макроглии. Преимущественная локализация эзрина в клетках головного мозга, участвующих в транспорте веществ через гематоэнцефалический, ликворэнцефалический и гематоликворный барьеры, позволяет рассчитывать на то, что он окажется полезным функциональным маркером при проведении экспериментальных исследований, направленных на изучение барьерной системы ЦНС.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ (проекты 10-04-00180а, 11-04-01693а).*

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Коржевский Д.Э. Сосудистое сплетение головного мозга и структурная организация гематоликворного барьера у человека. Региональное кровообращение и микроциркуляция, 2003, т. 2, № 1(5), с. 5–14.
2. Коржевский Д.Э. Нейрогенез и нейральные стволовые клетки. Мед. акад. журн., 2010, т. 10, № 4, с. 175–182.
3. Bretscher A., Reczek D. and Berryman M. Ezrin: a protein requiring conformation activation to link microfilaments to the plasma membrane in the assembly of cell surface structure. J. Cell Sci., 1997, v. 110, p. 3011–3018.
4. Geiger K.D., Stoldt P., Schlote W. and Derouiche A. Ezrin immunoreactivity reveals specific astrocyte activation in cerebral HIV. J. Neuropathol. Exp. Neurol., 2006, v. 65, № 1, P. 87–96.
5. Johnson M.W., Miyata H. and Vinters H.V. Ezrin and moesin expression within the developing human cerebrum and tuberous sclerosis-associated cortical tubers. Acta Neuropathol., 2002, v. 104, № 2, P. 188–196.
6. Kim W.Y., Shin S.R., Kim S. et al. Cocaine regulates ezrin-radixin-moesin proteins and RhoA signaling in the nucleus accumbens. Neuroscience, 2009, v. 163, № 2, p. 501–505.

Поступила в редакцию 30.03.2011

#### RAT BRAIN CELLS CONTAINING EZRIN (CYTOVILLIN)

*D.E. Korzhevskiy, O.V. Kirik and A.V. Giliarov*

Ezrin (cytovillin or p81 protein) is an actin-binding protein, a member of ERM (ezrin, radixin and moesin) family, which species contribute to stabilization of the plasma membrane-formed structures. The aim of the present study was to demonstrate the ezrin-containing cells in the rat brain and to describe their topography and morphological features. The most pronounced immunohistochemical reaction to ezrin was found in the epithelium of the choroid plexus, cells of the subcommissural organ and ventricular ependyma. Moreover, ezrin staining was also detected in the unidentifiable cells in the subventricular zone, rostral migration pathway and astrocytes in various brain areas. Preferential ezrin localization in the brain cells contributing to formation of barrier structures suggests its involvement in transport processes in the CNS.

**Key words:** *brain, ezrin, blood-brain barrier, choroid plexus, astrocytes*

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