

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

ЯДРЫШКО КЛЕТКИ — МЕСТО НАКОПЛЕНИЯ ЖЕЛЕЗА В НЕЙРОНАХ ЧЕРНОГО ВЕЩЕСТВА ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА

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

Распределение железа в черном веществе головного мозга человека (10 мужчин и женщин в возрасте 27–78 лет) исследовали с помощью гистохимического метода Перлса. Ионы железа выявлены в нейропиле чёрного вещества и в нейронах, содержащих меланин. Впервые в ядрах части нейронов обнаружено скопление железа, которое по четкости контура и размерам соответствует ядрышку. Обнаружение железа в ядрышке нейронов может способствовать расшифровке механизмов нейротоксичности железа для дофаминергических нейронов черного вещества.

Ключевые слова: головной мозг, чёрное вещество, ядро, ядрышко, железо

Известно, что ионы железа участвуют в патогенезе нейродегенеративных заболеваний, среди которых особое место занимает болезнь Паркинсона, при которой происходит дегенерация нейронов черного вещества (ЧВ) [6]. Несмотря на то, что имеются данные о связи железа с нейромеланином дофаминергических нейронов ЧВ, внутриклеточная локализация накоплений железа в его нейронах у человека не выявлена.

Цель настоящего исследования — изучение распределения железа в клетках ЧВ головного мозга человека.

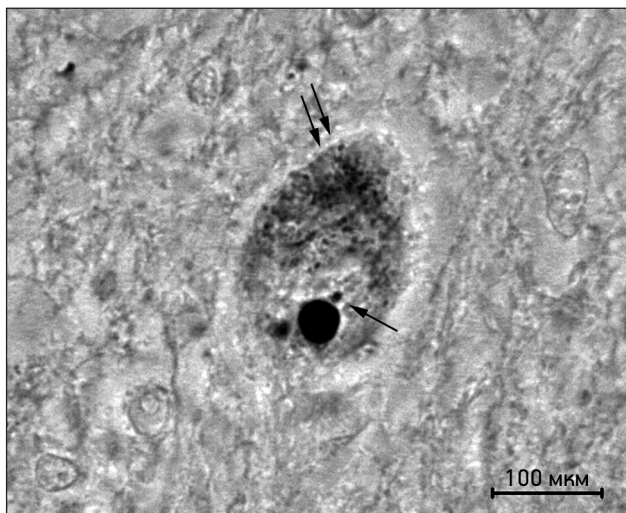
Материал и методы. В работе использованы фрагменты головного мозга человека мужчин и женщин в возрасте 27–78 лет ($n=10$), полученные при аутопсии. Материал получен из Санкт-Петербургского городского бюро судебно-медицинской экспертизы. Программа исследования имеет положительное заключение этического комитета Научно-исследовательского института экспериментальной медицины СЗО РАМН. Материал фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде [1], обезвоживали и заливали в парафин по общепринятой методике. Готовили срезы толщиной 5 мкм. Выявление железа (Fe^{3+}) осуществляли при помощи реакции Перлса. Для повышения чувствительности реакции применяли метод усиления диаминобензидином (DAB) [4]. Рабочий раствор DAB готовили, используя реагенты из набора Reveal Polyvalent HPR DAB Detection System (SpringBioscience, США). Препараты исследовали под микроскопом Leica DM750, фотосъемку выполняли с помощью фотокамеры ICC50 (Leica, Германия).

Результаты исследования. На срезах, проходящих через область расположения ЧВ (граница вентральной части ножки мозга и покрышки), во всех исследованных случаях при малом увеличении отчетливо определялась положительная реакция на железо. При большом увеличении микроскопа отмечалась диффузная реакция нейропиля, в большей степени соответствующего расположению ретикулярной части ЧВ. Помимо диффузного окрашивания, выделялись отдельные точечные и мультицентрические глыбчатые структуры, расположенные в различных участках изучаемого объекта. Нейроны ЧВ на исследуемых препаратах хорошо определялись благодаря наличию пигмента — нейромеланина. Изучение окрашенных структур показало, что часть из них локализованы в нейронах, содержащих нейромеланин. Повышение контурной резкости слабоокрашенных структур с использованием возможностей оптической системы микроскопа позволило установить, что крупная окрашенная гранула расположена в ядре нейрона (*рисунок*). Из 10 исследованных случаев внутриядерные гранулы железа в нейронах ЧВ отчетливо определялись в 7 (70%).

Обсуждение полученных данных. Обнаруженный факт концентрации железа в ядре нервных клеток заслуживает пристального внимания. Ранее ионы железа в ядрах зрелых нейронов

Сведения об авторах:

Сухорукова Елена Геннадьевна (e-mail: len48@inbox.ru), *Григорьев Игорь Павлович* (e-mail: ipg-iem@yandex.ru), *Колос Елена Андреевна* (e-mail: iemorphol@yandex.ru), *Коржевский Дмитрий Эдуардович* (e-mail: dek2@yandex.ru), отдел общей и частной морфологии, Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН, 197376 Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12



Нейрон черного вещества головного мозга человека.

Реакция на железо определяется в ядрышке и парануклеолярном тельце (стрелка); гранулы нейромеланина (две стрелки) сохраняют собственную окраску. Реакция Перлса с усилением диаминобензидином

ником не наблюдались. Возможно, нам удалось выявить их благодаря существенному повышению чувствительности гистохимической реакции [4]. Считалось, что ионы железа являются компонентом сугубо цитозоля, и лишь совсем недавно белок ферритин, транспортирующий железо, был обнаружен в ядрах развивающихся нейронов, эпителиальных клеток роговицы и гепатоцитов [3]. Следует обратить внимание на то, что ионы железа способны участвовать в процессах образования свободных радикалов, неконтролируемый синтез которых приводит к повреждению клеточных макромолекул и гибели клеток. Нахождение железа в ядрах нейронов ЧВ позволяет предполагать его возможное участие в развитии болезни Паркинсона путём свободнорадикального повреждения генетического аппарата нейронов ЧВ.

Вопрос о том, в каком компартменте ядра происходит накопление железа, может быть разрешен путем анализа структурных особенностей гистохимически окрашенного образования. Так, обнаруженные внутриядерные включения железа по четкости контура и размерам соответствуют ядрышку нейрона ЧВ. Кроме того, в окрашенном объекте иногда обнаруживается локальное просветление, которое по локализации и типичному виду соответствует внутриядрышковой вакуоли [2]. Иногда положительную реакцию на железо дает не только ядрышко, но и микрочастицы, непосредственно прилежащие к нему — парануклеолярные тельца (см. рисунок). Следует отметить, что ранее не обращали внимания на кон-

центрацию железа в ядрышках нейронов ЧВ, однако было установлено, что оно накапливается в ядрышках клеток у растений [5].

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о концентрации железа в ядрышках нейронов ЧВ головного мозга человека. Причина и функциональное значение обнаруженного факта неизвестны. Дальнейшие исследования в этом направлении могут способствовать расшифровке механизмов нейротоксичности железа для дофаминергических нейронов ЧВ.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проекты 12-04-31857, 10-04-00676).

ЛИТЕРАТУРА

1. Коржевский Д. Э., Григорьев И. П. и Отеллин В. А. Применение обезжизняющих фиксаторов, содержащих соли цинка, в нейрогистологических исследованиях. *Морфология*, 2006, т. 129, вып. 1, с. 85–86.
2. Оксова Е. Е. О вакуолизации ядрышка нейронов коры головного мозга человека. *Арх. анат.*, 1972, т. 63, вып. 10, с. 33–36.
3. Alkhateeb A. A. and Connor J. R. Nuclear ferritin: a new role for ferritin in cell biology. *Biochim. Biophys. Acta*, 2010, v. 1800, № 8, p. 793–797.
4. Meguro R., Asano Y., Odagiri S. et al. Nonheme-iron histochemistry for light and electron microscopy: a historical, theoretical and technical review. *Arch. Histol. Cytol.*, 2007, v. 70, № 1, p. 1–19
5. Roschztardt H., Grillet L., Isaure M.-P. et al. Plant cell nucleolus as a hot spot for iron. *J. Biol. Chem.*, 2011, v. 286, № 32, p. 27863–27866.
6. Wypijewska A., Galazka-Friedman J., Bauminger E. R. et al. Iron and reactive oxygen species activity in parkinsonian substantia nigra. *Parkinsonism Relat. Disord.*, 2010, v. 16, № 5, p. 329–333.

Поступила в редакцию 21.09.2012

THE NUCLEOLUS OF THE CELL IS THE SITE OF IRON ACCUMULATION IN THE SUBSTANTIA NIGRA NEURONS OF THE HUMAN BRAIN

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

Distribution of iron in the substantia nigra of the human brain (10 men and women aged 27–78 years) was studied using Perls' histochemical method. Iron ions were demonstrated in the nigral neuropil and melanin-containing neurons. For the first time the nuclei of some neurons were found to contain iron accumulations. The intranuclear iron inclusions correspond to the nucleolus according to their sharp outline and sizes. Detection of iron in the neuronal nucleolus may contribute to the understanding of mechanisms of iron neurotoxicity for nigral dopaminergic neurons.

Key words: brain, substantia nigra, nucleus, nucleolus, iron

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