ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Коллектив авторов, 2009
УДК 611.813.018:599.323.4

А.В. Ревищин, В.Е. Охотин, Л.И. Корочкин и Г.В. Павлова

НОВАЯ ПОПУЛЯЦИЯ КАЛЬРЕТИНИН-ПОЗИТИВНЫХ, ПРЕДПОЛОЖИТЕЛЬНО НЕНЕЙРОНАЛЬНЫХ, КЛЕТОК С ПОЛИМОРФНЫМИ ШИПИКАМИ В ПЕРЕДНЕМ МОЗГУ МЫШЕЙ

Лаборатория нейрогенетики и генетики развития (зав. — канд. биол. наук Г.В. Павлова) Института биологии гена РАН, Москва; e-mail: ve_okhotin@mail.ru

С помощью иммуногистохимической реакции исследовали локализацию кальретинин-позитивных клеток на фронтальных срезах передней части полушарий большого мозга мыши. В области передних рогов боковых желудочков мозга выявлена ранее не описанная популяция клеток характерного строения. Клетки имеют мелкие (8–10 мкм) округлые тела, от которых отходят 1, редко — 2 узловатых отростка, несущие редкие полиморфные шипики (PS) и неправильной формы утолщения. Относительно толстые первичные отростки ветвятся на более тонкие, также формирующие утолщения и шипики различного калибра и строения. Кальретинин-позитивные клетки с полиморфными шипиками (CR^+PS) располагаются в белом подкорковом веществе, в слое VI, значительно реже в слое V фронтальной области дорсомедиальной коры по соседству с поясным пучком (cingulum). Кроме того, CR^+PS-клетки присутствуют в ростродорсальной части комплекса хвостатое ядро — скорлупа, в переднем обонятельном ядре, в субэпендимальном слое дорсолатерального угла бокового желудочка и, реже, у дорсальной его стенки. В отличие от мозга мышей, CR^+PS-клетки в мозгу других животных (крыс, кроликов, кошки) отсутствовали. В CR^+PS-клетках также не обнаружено колокализации кальретинина с ГАМК и другими нейрональными и глиальными маркерами. Предполагается, что найденные клетки представляют ранее неизвестный, вероятно, ненейрональный тип клеток переднего мозга мышей.

Ключевые слова: *кальретинин-позитивные клетки, полиморфные шипики, ненейрональные клетки мозга, передний мозг, мышь.*

Нейрохимическое исследование интернейронов мозга требует использования большого арсенала молекулярных маркеров, среди которых кальций-связывающие белки продолжают занимать важное положение. Внутриклеточная локализация кальретинина (CR), парвальбумина (PV) и кальбиндина (CB) позволяет изучать, идентифицировать и классифицировать главные нейрохимически детерминированные фенотипы корковых интернейронов [4–6].

Гетерогенные по нейрохимическому профилю клетки одновременно разделяются на самостоятельные подтипы, которые в различных комбинациях коэкспрессируют холецистокинин, соматостатин, вазоактивный интестинальный полипептид, NO-синтазу (NOS), нейропептид Y (NPY) и холинацетилтрансферазу [2–6].

Принято считать, что подавляющее большинство CR-экспрессирущих (CR^+) клеток в коре являются ГАМК-ергическими интернейронами с гладкими бесшипиковыми дендритами [3-6]. К ним относятся: в молекулярном слое, клетки Кахаля–Ретциуса [8], а в слоях II–VI — двухбукетные клетки, биполярные клетки, двухпучковые клетки и клетки Мартинотти.

Предметом настоящей работы является, напротив, описание шипиковых CR^+-клеток, которые не синтезируют ГАМК и не экспрессируют ряд нейрональных и глиальных маркеров. Сведения об этих клетках в основном были получены нами на материале мозга мышей. В неокортексе клетки оказались не похожими по локализации и строению на типичные вышеперечисленные ГАМК-ергические бесшипиковые CR^+-интернейроны. Вследствие особенностей распространения шипиковых CR^+-клеток в сером веществе коры и за его пределами, представлялось крайне важным получить сведения об их топографии в различных отделах переднего мозга мышей, а также об их принадлежности к какому-либо из известных типов клеток мозга.

Материал и методы. Исследование проведено на 15 взрослых мышах линии C3H (самцах и самках) в возрасте 2–4 мес, которых умерщвляли летальной дозой уретана. Содержание животных и экспериментальные манипуляции осуществляли согласно с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Кровеносную систему промывали сначала солевым фосфатным буфером (PBS — pH 7,4) а затем фиксатором — 4% раствором параформальдегида в PBS. Фиксированный таким образом мозг извлекали из черепной коробки и пог-

ружали в фиксирующий раствор на 5–6 ч, после чего мозг пропитывали в 30% растворе сахарозы в PBS в течение 12 ч. После этого изготавливали фронтальные срезы полушарий большого мозга толщиной 40 мкм с помощью замораживающего микротома MSE (Великобритания). В каждом 4-м срезе иммуногистохимически выявляли CR с помощью поликлональных антител фирмы Swant (Швейцария) при разведении 1:500 или поликлональных кроличьих антител фирмы Chemicon (США) в разведении 1:100. Для этого срезы опускали на ночь в раствор антител, разведенных PBS, содержащий 2% нормальной сыворотки козы, 0,3% Triton X-100 и 0,01% азида натрия, охлажденный до 4 °С. На следующий день срезы после троекратной промывки в PBS помещали в раствор биотинилированных антител к иммуноглобулину кролика (Vector Laboratories, США), разведенных PBS в соотношении 1:100 с добавлением 0,3% Triton X-100 на 1 ч при комнатной температуре. После этого срезы троекратно промывали в PBS и помещали в раствор авидин-биотинового комплекса (Vector Laboratories, США) в PBS при разведении 1:200 также на 1 ч. После троекратной промывки проводили стандартную реакцию выявления пероксидазы с помощью 0,03% раствора диаминобензидина (Sigma, США) в PBS с добавлением 0,01% перекиси водорода. Окрашенные срезы помещали на предметные стекла, обезвоживали в этаноле возрастающей концентрации и заключали в синтетическую просветляющую среду DPX (Fluca, Германия). Соседние срезы окрашивали по Гимза.

Для двойной иммуногистохимической реакции на CR в сочетании с другими маркерами использовали окраску срезов с помощью флюоресцентно меченных вторичных антител. После обработки в растворе первичных антител в течение 12 ч при 4 °С срезы промывали в фосфатном буфере (0,1 М, pH 7,4) и помещали в раствор вторичных антител, конъюгированных с флюоресцентными красителями. Обычно для двойного окрашивания использовали коктейли первичных антител разных животных, например кроличьи антитела к CR в сочетании с мышиными антителами к декарбоксилазе глутаминовой кислоты (GAD67), а затем применяли коктейли антимышиных и антикроличьих вторичных антител, помеченных флюоресцентными красителями различных цветов. В таблице указаны использованные антитела. Срезы покрывали глицерином, рассматривали и анализировали с помощью флюоресцентного микроскопа Olympus (Япония). Некоторые из препаратов с двойной реакцией выявления CR и GAD67 были исследованы с помощью конфокального микроскопа фирмы Carl Zeiss (Германия).

Результаты исследования. На срезах переднего мозга взрослой мыши (рис. 1, 2) при постановке реакции выявления CR постоянно маркируются нервные клетки, которые по-разному распределены в слоях коры мозга. Легко заметить, что наибольшее количество CR^+-нейронов располагаются в слоях II–IV, а незначительная часть — в молекулярном и инфрагранулярных слоях.

Если в слоях I, V и VI выявляются нейроны, которые могут быть ориентированы в разных направлениях, то в слоях II–IV преобладают вертикально ориентированные биполярные клетки, среди которых можно идентифицировать двухпучковые клетки, двухбукетные клетки и модифицированные формы. К ним относятся косые биполярные клетки, а также триполяры; биполярная конфигурация последних дополняется третьим коротким дендритом, отходящим сбоку от перикариона. Дендриты CR^+-нейронов лишены шипиков, различаются по толщине и могут достигать значительной длины, пронизывая по вертикальной оси несколько соседних слоев.

В глубоких слоях дорсальной части фронтальных полей коры были найдены CR-иммунопозитивные клетки необычной формы, описания которых отсутствуют в ранее опубликованных статьях, посвященных CR^+-нейронам новой коры млекопитающих. Эти клетки имеют округлое тело диаметром 8–10 мкм (рис. 2, 3, 5, 6, 8). Один, реже два отростка характеризуются многочисленными утолщениями неправильной формы. Между утолщениями встречаются шипикообразные выросты различной формы с шаровидными утолщениями на конце или без них, которые мы определяем как полиморфные шипики (polymorphous spines — PS). Иногда от основного ствола отростка отходят тонкие шипикообразные ветви с утолщениями на конце и/или на стволе. Часто шипикообразные выросты наблюдались и на телах этих клеток (см. рис. 3).

Эти кальретининовые клетки с полиморфными шипиками (CR^+PS) локализуются в слое VI (реже в слое V) фронтальных полей новой коры мыши. Зона их распределения в ростроказадальном направлении представлена на рис. 4. Она простирается от переднего обонятельного ядра (nucleus olfactorius anterior) до переднего края дорсального гиппокампа. На фронтальных срезах полушарий большого мозга в передних отделах новой коры CR^+PS-клетки располагаются медиальнее и дорсальнее поясного пучка (cingulum) (см. рис. 4, в; 5). Каудальнее, у заднего края зоны их коркового распределения CR^+PS-клетки располагаются латеральнее поясного пучка, занимая слой VI всей дорсальной части неокортекса (см. рис. 4, г; 6, а, б). Клетки того же типа найдены также в комплексе хвостатое ядро–скорлупа и в переднем обонятельном ядре (рис. 7, а). Плотность их расположения в комплексе хвостатое ядро–скорлупа, высокая на ростральных срезах, постепенно убывает на более каудальных (см. рис. 4, в–г; 7, б–г). При этом на ростральных срезах CR^+PS-клетки распределены неравномерно. Их тела и дендриты повторяют и контурируют округлые структуры, сходные с так называемыми стриосомами или модулями стриатума (см. рис. 7, б) [1]. Нередки случаи локализации тел CR^+PS-клеток в субэпендимальном

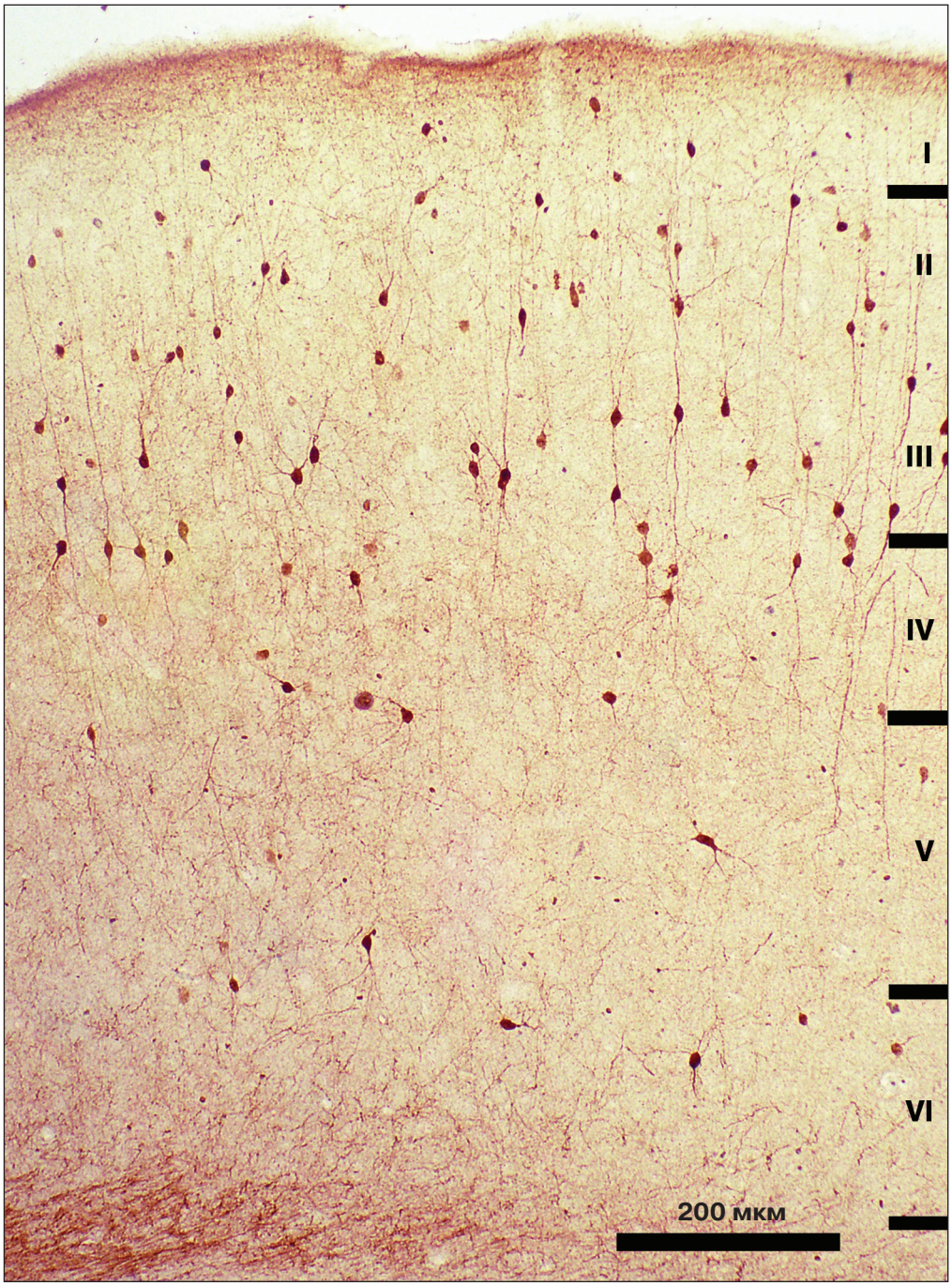

Рис. 1. Кальретинин-иммунореактивные клетки в различных слоях височной коры мозга взрослой мыши.
Римские цифры — слои коры. Иммуногистохимическая реакция выявления кальретинина.

слое латеральной стенки бокового желудочка. На фронтальных срезах переднего мозга в области дорсолатерального угла бокового желудочка, где субэпендимальный слой распространяется в латеральном направлении, далеко вклиниваясь между мозолистым телом и хвостатым ядром, CR^+PS-клетки нередко располагаются непосредственно в субэпендиме или плотно к ней примыкают (см. рис. 7, в–г). Часто тело клетки располагается в субэпендимальном слое, а отросток вторгается в серое вещество комплекса хвостатое ядро — скорлупа (см. рис. 7, в; 8, б). Некоторые клетки располагаются в других частях субэпендимального слоя у боковой и дорсальной стенок бокового желудочка непосредственно под мозолистым телом (см. рис. 7, г–д). Указанные три области локализации CR^+PS-клеток соединяются у переднего края комплекса хвостатое ядро — скорлупа, где наблюдается очень высокая плотность их расположения.

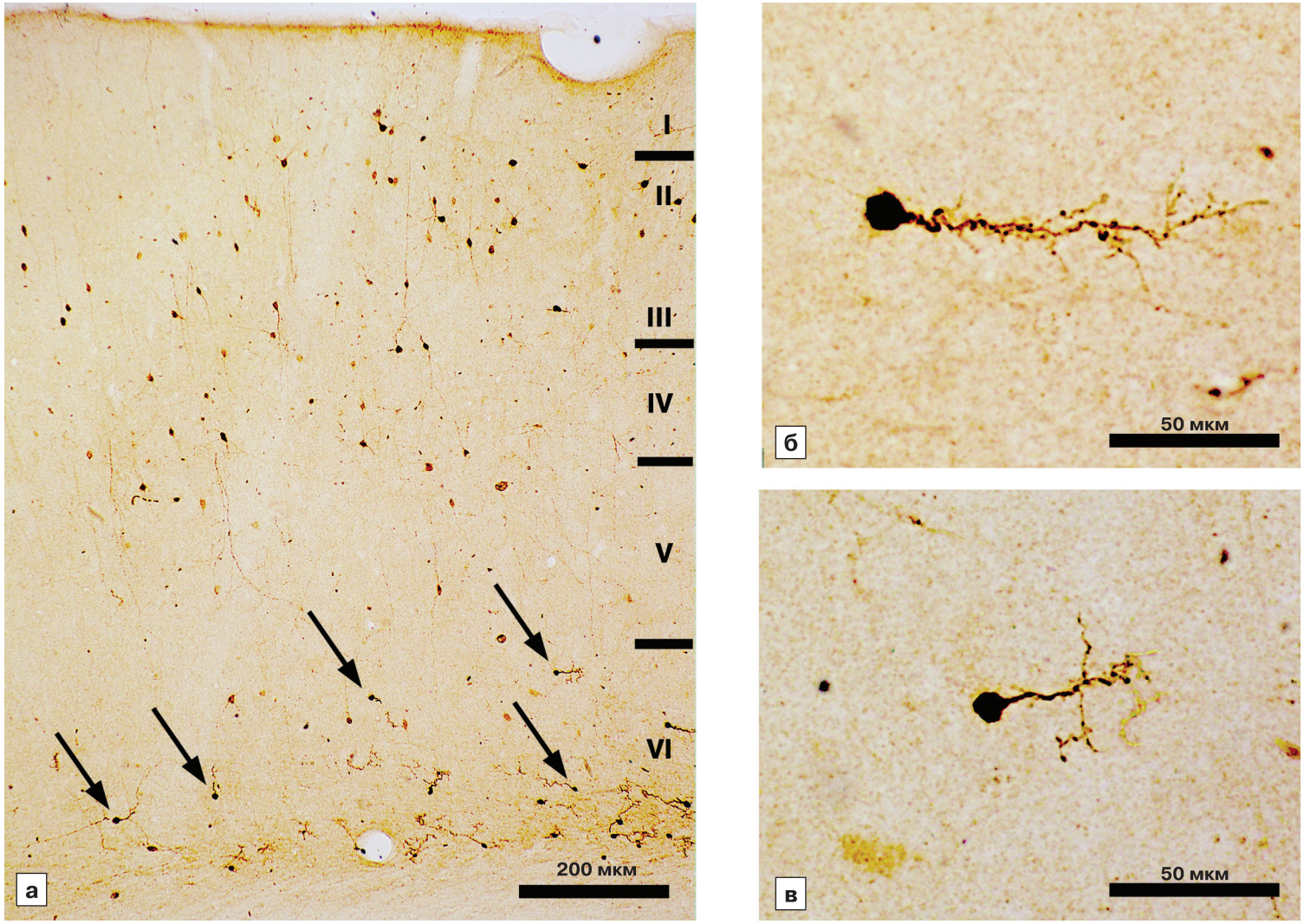

Рис. 2. Распределение кальретинин-иммунореактивных клеток в различных слоях передней области теменной коры взрослой мыши.

а — единичные униполярные кальретинин-позитивные клетки с полиморфными шипиками (CR^+PS-клетки) (стрелки) располагаются в слое VI; б, в — типичные CR^+PS-клетки коры мозга мыши. Римские цифры — слои коры. Иммуногистохимическая реакция выявления кальретинина.

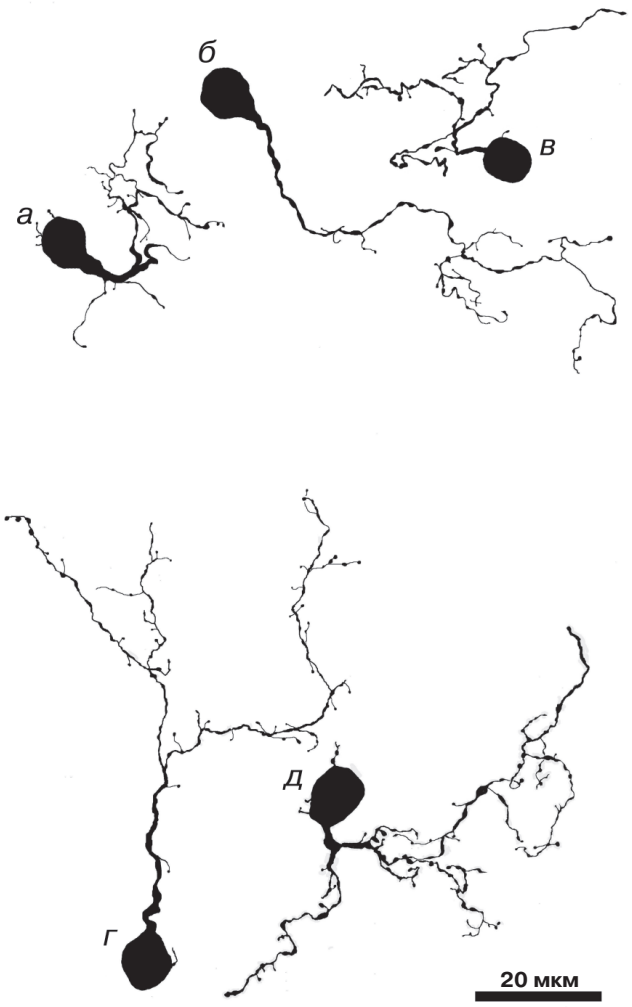

Рис. 3. Униполярные кальретинин-позитивные клетки с полиморфными шипиками в новой коре (а–в) и в комплексе хвостатое ядро — скорлупа (г, д).

Зарисовка с помощью camera lucida.

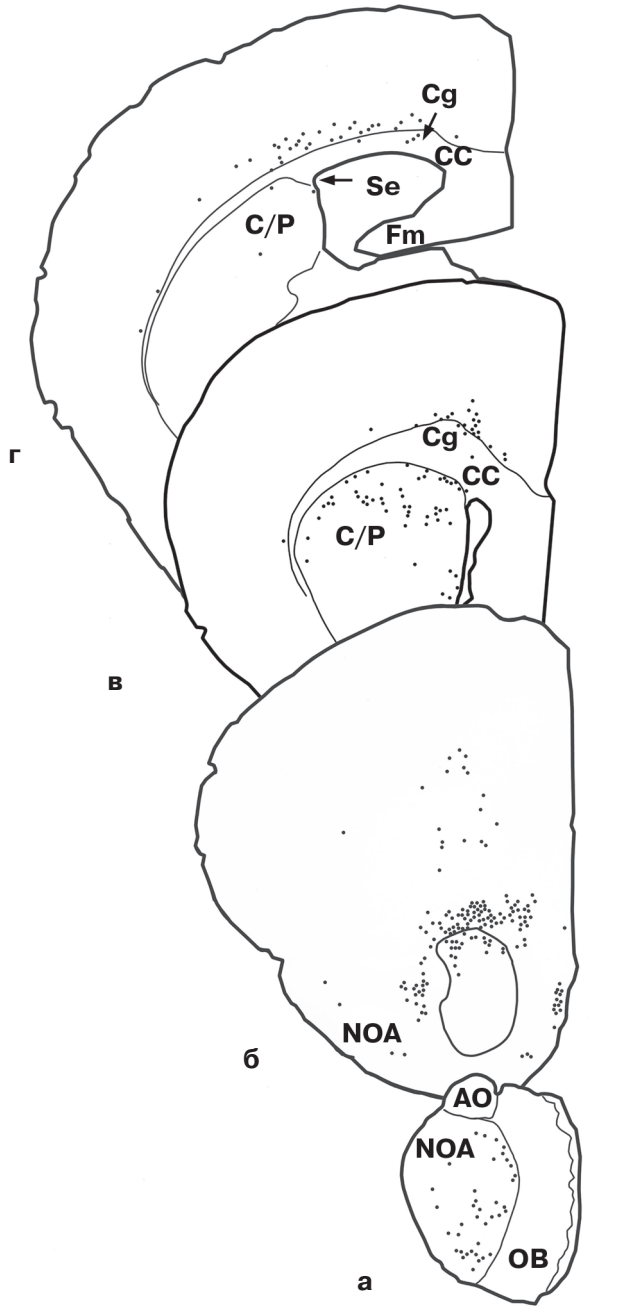

Рис. 4. Схема распределения кальретинин-позитивных клеток с полиморфными шипиками (CR^+PS-клеток) на фронтальных срезах переднего мозга мыши.

а — срез через каудальный уровень обонятельной луковицы; б — срез через переднее обонятельное ядро (NOA); в — срез на уровне передней части зоны коркового распространения CR^+PS- клеток; г — срез на уровне задней части зоны коркового распространения CR^+PS-клеток. AO — дополнительная обонятельная луковица; CC — мозолистое тело; Cg — поясной пучок; C/P — комплекс хвостатое ядро — скорлупа; Fm — бахромка гиппокампа; OB — обонятельная луковица; Se — субэпендима.

На уровне задней части их коркового распространения CR^+PS-клетки встречаются не только в корковой пластинке, но и в области поясного пучка и ниже среди волокон мозолистого тела (см. рис. 6, а, в). Локализованные таким образом CR^+PS-клетки отличались от таковых, расположенных в корковой пластинке, более коротким и менее разветвленным отростком, лишенным тонких ветвлений и несущим меньшее количество шипиков. Ростральнее комплекса хвостатое ядро–скорлупа CR^+PS-клетки локализуются в переднем обонятельном ядре и вблизи ростального миграционного пути, где их плотность была очень высока (рис. 9).

С целью выяснения природы CR^+PS-клеток нами на срезах переднего мозга была проведена двойная иммуногистохимическая реакция на CR и на несколько белковых маркеров клеток мозга различных типов, перечисленных в таблице. В CR^+PS-клетках отсутствовала колокализация CR с такими маркерами зрелых нервных клеток, как белок нейрональных ядер (NeuN) (рис. 10, а–в) и GAD67 (см. рис. 10, г–е). Нами были получены также препараты с двойной реакцией на CR

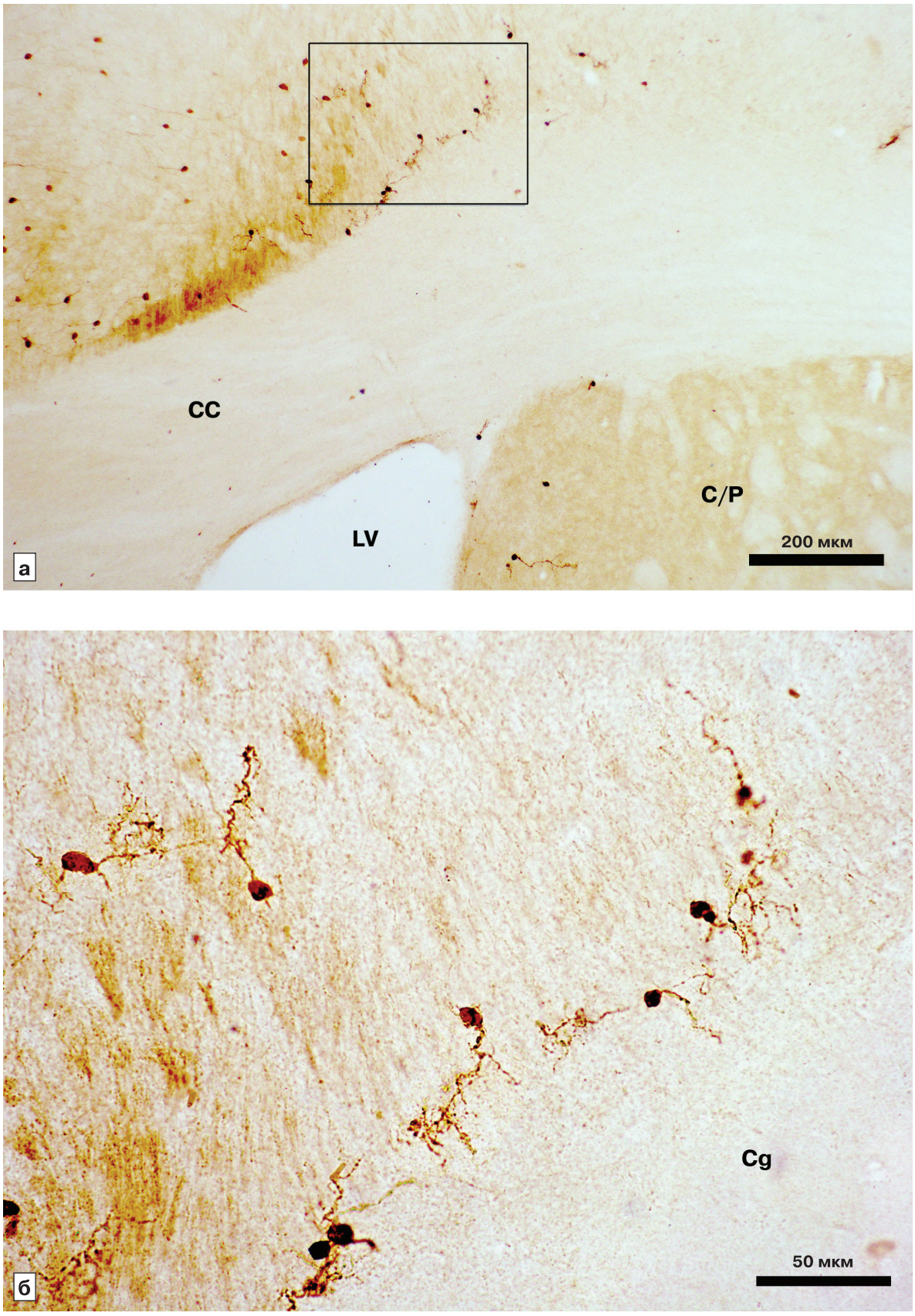

Рис. 5. Кальретинин-позитивные клетки с полиморфными шипиками (CR^+PS-клетки) передней области коры и комплекса хвостатое ядро–скорлупа (C/P) мыши.

В коре CR^+PS-клетки располагаются компактной группой медиальнее поясного пучка (Cg). LV — боковой желудочек; CC — мозолистое тело. Иммуногистохимическая реакция выявления кальретинина.

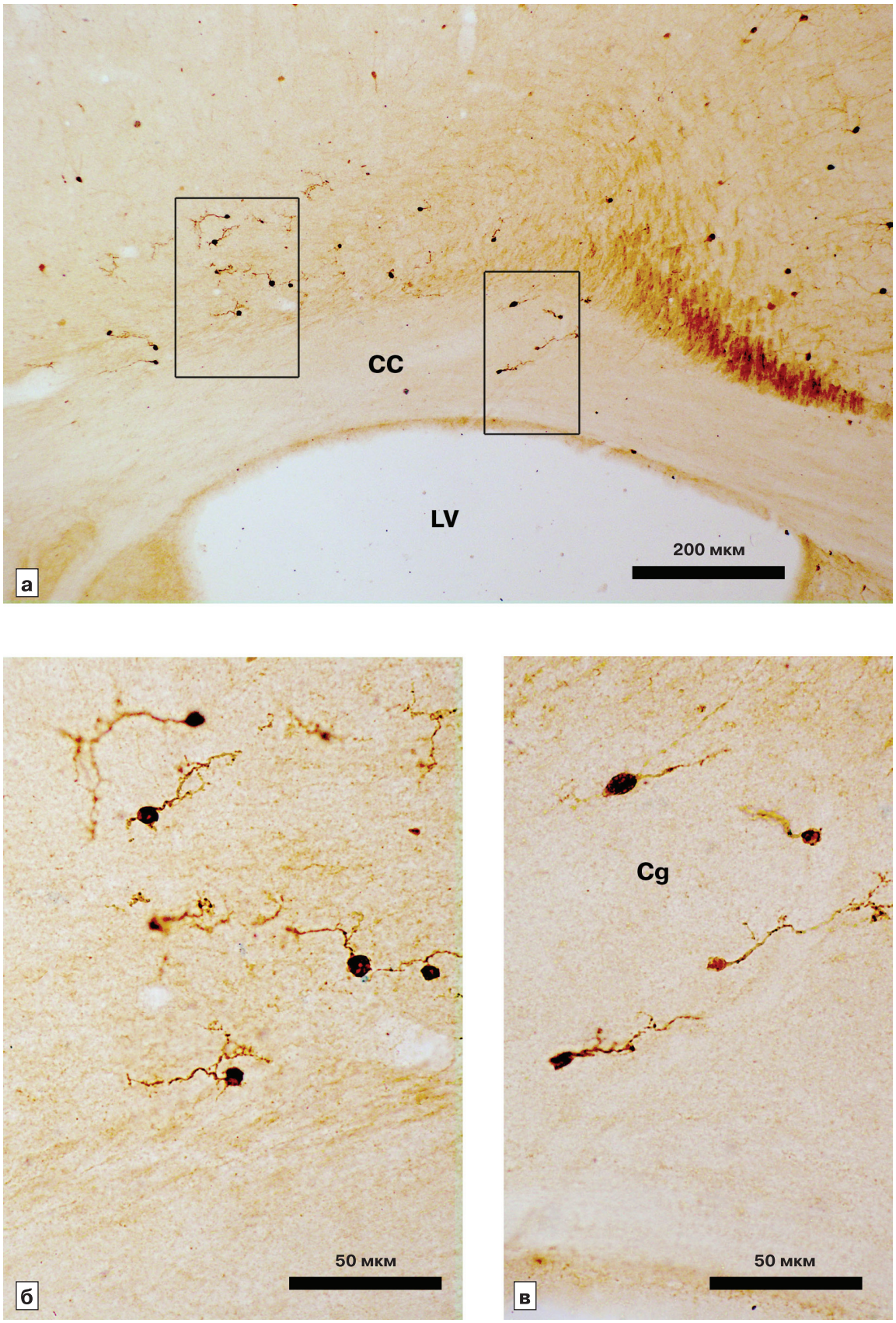

Рис. 6. Особенности распределения кальретинин-позитивных клеток с полиморфными шипиками (CR^+PS-клеток) в каудальной области коры мозга мыши.

а — общий вид; б — CR^+PS-клетки в коре локализуются латеральнее поясного пучка (Cg); в — вентральнее поясного пучка CR^+PS-клетки выявляются в мозолистом теле (CC). LV — боковой желудочек. Иммуногистохимическая реакция выявления кальретинина.

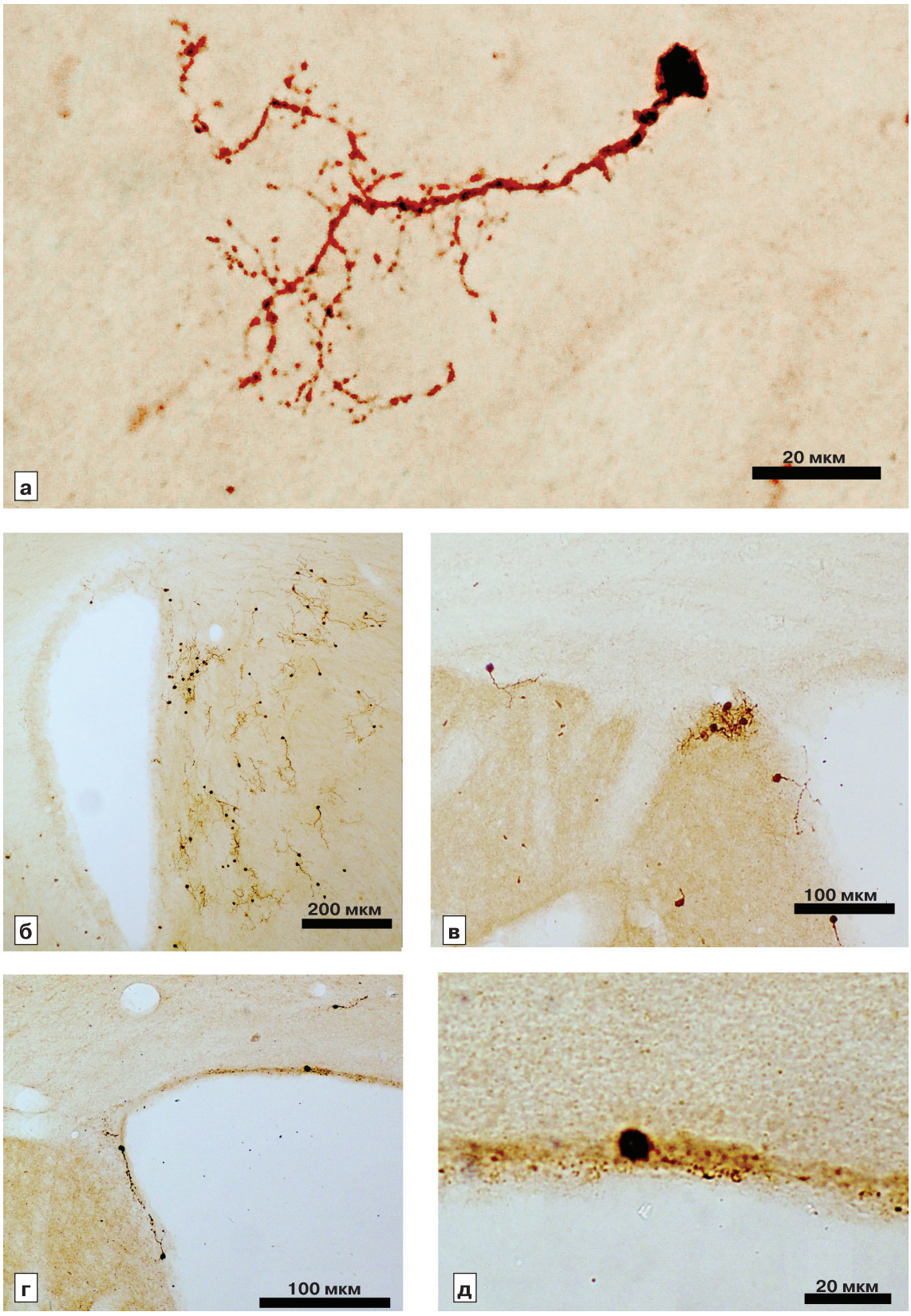

Рис. 7. Особенности распределения кальретинин-позитивных клеток с полиморфными шипиками (CR^+PS-клеток) в дорсальной части комплекса хвостатое ядро — скорлупа мыши.

а — типичная униполярная CR^+PS-клетка неостриатума; б — неравномерное распределение CR^+PS-клеток в ростральной части комплекса хвостатое ядро–скорлупа мыши; в, г — расположение CR^+PS-клеток относительно субэпендимы латеральной стенки бокового желудочка; д — CR^+PS-клетка на дорсальной стенке бокового желудочка. Иммуногистохимическая реакция выявления кальретинина.

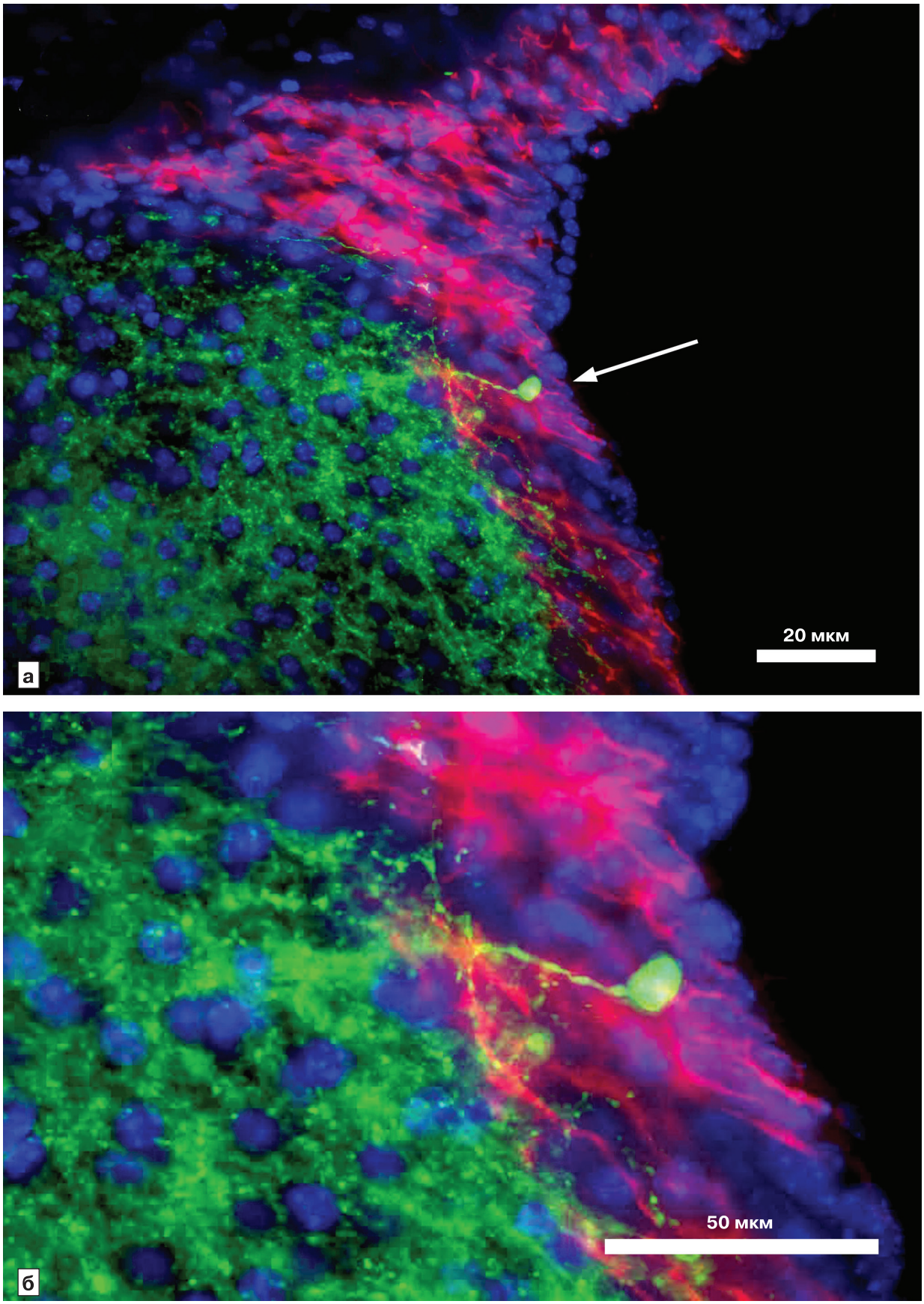

Рис. 8. Двойная иммуногистохимическая реакция выявления кальретинина и даблкортина в области латеральной стенки бокового желудочка мыши.

а, б — даблкортин-иммунопозитивные нейробласты (красные) и униполярная кальретинин-позитивная клетка (зеленая), расположенная непосредственно в субэпендимальном слое (стрелка).

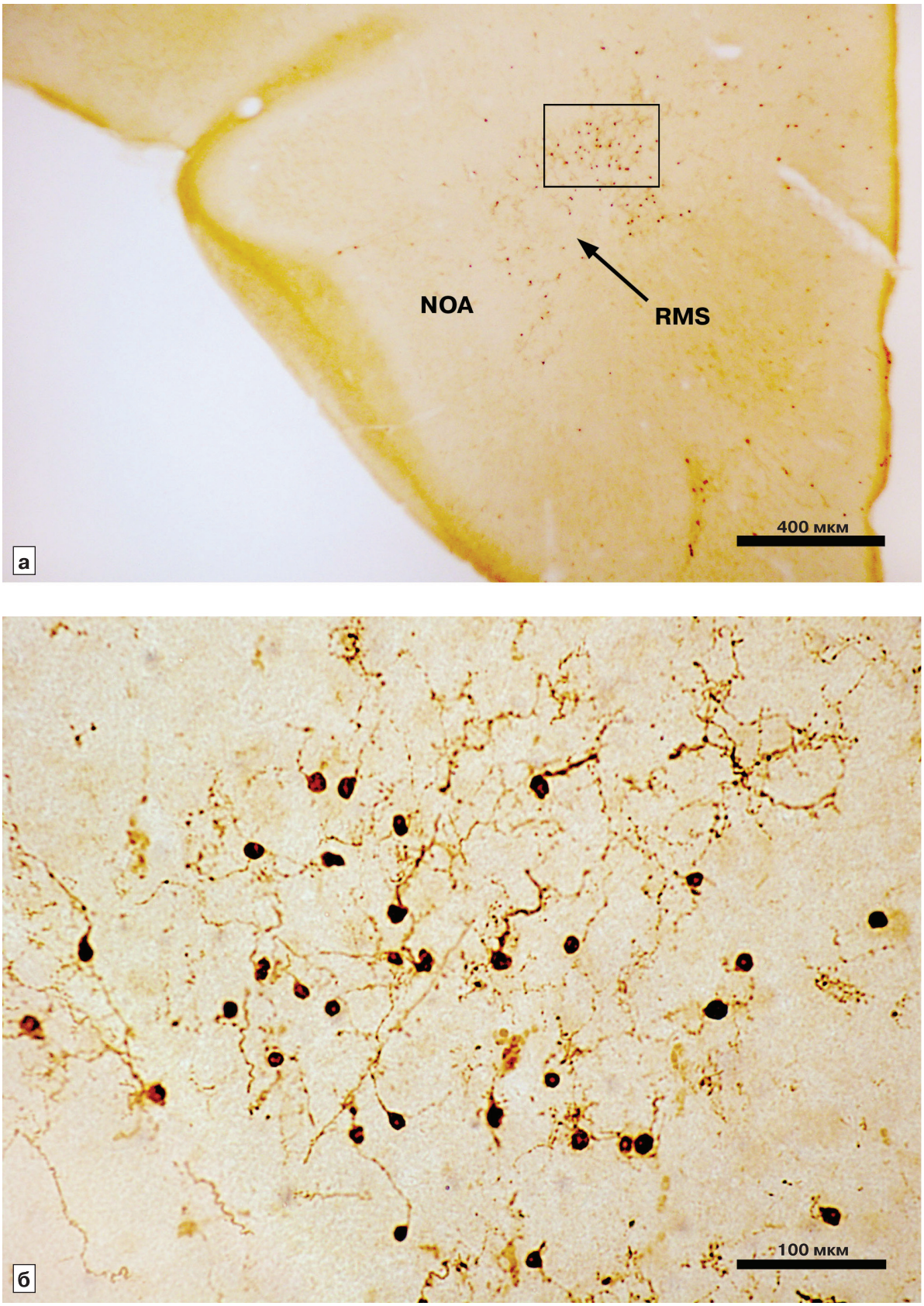

Рис. 9. Кальретинин-позитивные клетки с полиморфными шипиками (CR^+PS-клетки) в области ростального миграционного пути (RMS) и переднего обонятельного ядра (NOA).

а — CR^+PS-клетки плотно располагаются дорсальнее, латеральнее и медиальнее RMS на уровне NOA. Небольшое количество CR^+PS-клеток локализуется в NOA; б — участок плотного расположения CR^+PS-клеток дорсальнее RMS. Иммуногистохимическая реакция выявления кальретинина.

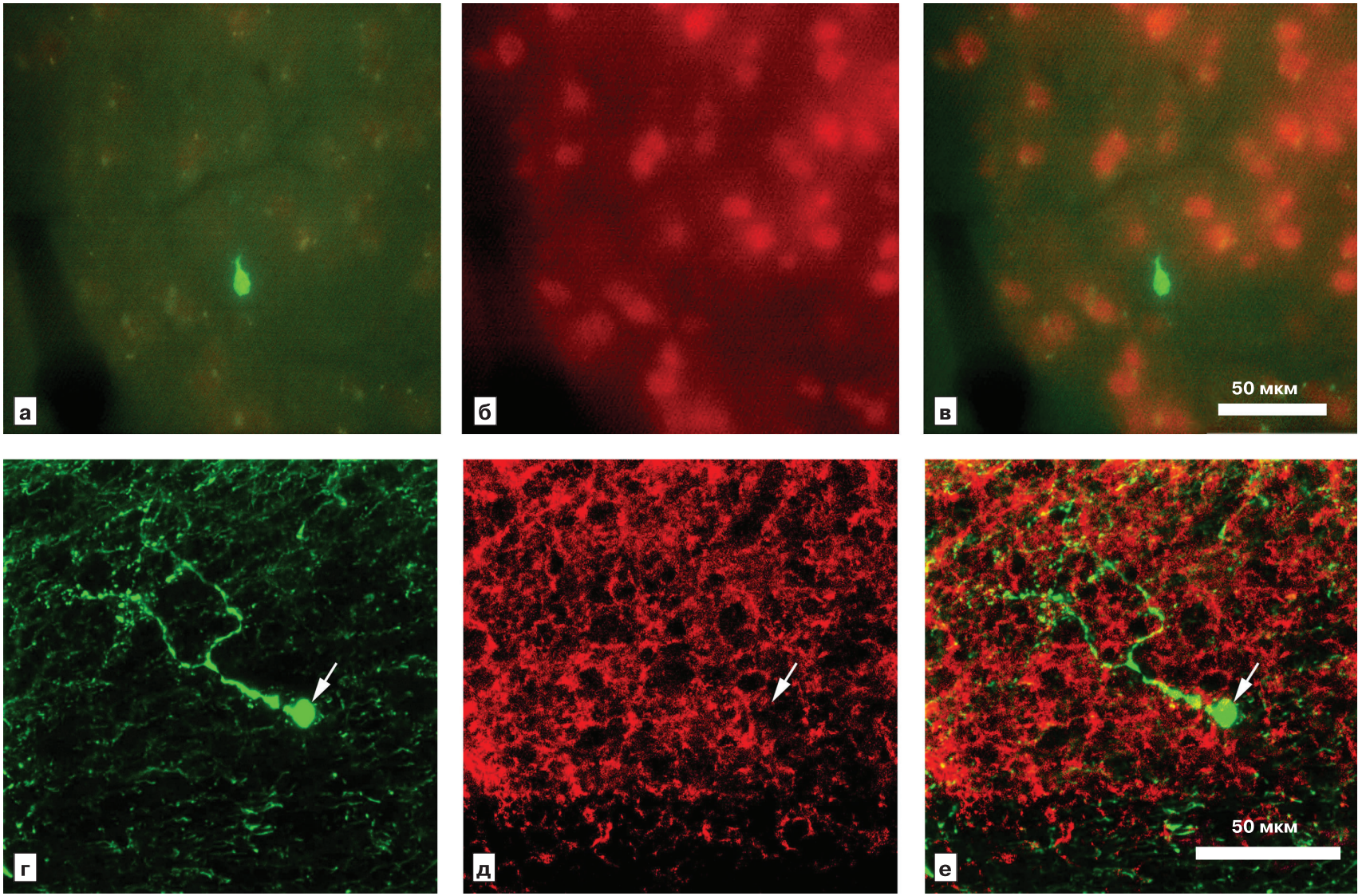

Рис. 10. Кальретинин-позитивные клетки с полиморфными шипиками (CR^+PS-клетки) в неостриатуме и коре полушарий большого мозга мыши.

а–в — двойная иммуногистохимическая реакция выявления кальретинина и ядерного нейронального белка (NeuN) в неостриатуме мыши: а — выявление кальретинина; б — выявление NeuN; в — совмещение двух реакций. Ядро CR^+PS-клетки (зеленая флюоресценция) не содержит ядерного нейронального белка (красная флюоресценция); г–е — конфокальная микроскопия среза коры мозга мыши — реакция выявления кальретинина (зеленая флюоресценция) и GAD67 (красная флюоресценция); г — выявление кальретинина; д — выявление GAD67; д — совмещение двух реакций. CR^+PS-клетка (отмечена стрелкой) не содержит GAD67 и не окружена сплетением $GAD67^+$-волокон в отличие от лежащих по соседству нервных клеток.

Характеристика антител, использованных в работе

Антиген	Локализация антигена	Сокращенное название	Животное, источник	Фирма
Кальретинин	Нейроны	CR	Кролик	Chemicon, США
Белок нейрональных ядер	Нейроны зрелые	NeuN	Мышь	Chemicon, США
Декарбоксилаза глутаминовой кислоты	ГАМК-ергические нейроны	GAD67	Мышь	Chemicon, США
Даблкортин	Нейробласты	Dx	Коза	Santa Cruz, США
Полисиаловая кислота	Нейробласты	PSA-NCAM	Мышь	Chemicon, США
β-III форма тубулина	Нейробласты	β-III-Tub	Мышь	Chemicon, США
Виментин	Ранние нейральные предшественники	Vim	Мышь	Sigma, США
Нестин	Нейральные стволовые клетки	Nestin	Кролик	Abcam, Англия
Глиальный кислый фибриллярный белок	Астроглия	GFAP	Мышь	Chemicon, США
Основной белок миелина	Олигодендроциты и миелин	MBP	Кролик	Abcam, Англия
Парвальбумин	Нейроны	PV	Мышь	Chemicon, США
Кальбиндин	Нейроны	CB	Кролик	Chemicon, США
Хондроитинсульфат протеогликан	NG2-глия	NG2	Кролик	Chemicon, США
NO-синтаза нейрональная	Нейроны	NOSn	Кролик	Sigma, США
Нейропептид Y	Нейроны	NPY	Кролик	Sigma, США
Хромогранин-А	Нейрогуморальные клетки	Chr-A	Мышь	Santa Cruz, США

и маркеры незрелых нервных клеток — даблкортин (Dx) (см. рис. 8), полисиаловую кислоту — NCAM (PSA-NCAM), а также другие маркеры клеток нейрального ряда — виментин (Vim), хромогранин (Chr-A) и глиальный кислый фибриллярный белок (GFAP). Исследование этих препаратов показало отсутствие колокализации перечисленных маркеров с CR в CR^+PS-клетках.

При исследовании препаратов с двойной реакцией на CR и GAD67 с помощью конфокального микроскопа было подтверждено, что CR^+PS-клетки не содержат GAD67, а значит, не экспрессируют ГАМК, т.е. не являются ГАМК-ергическими нейронами (см. рис. 10). Фермент отсутствовал как в теле, так и в отростках этих клеток. С помощью конфокального микроскопа было также показано, что CR^+PS/ГАМК-негативные клетки, в отличие от соседних нервных клеток, не окружены перинейрональными сплетениями GAD67-иммунопозитивных волокон, и этот факт может указывать, что изучаемые нами клетки не являются зрелыми нейральными элементами.

Аналогично на препаратах не было найдено CR^+PS-клеток с двойной реакцией на CR и PV; при этом также на CR^+PS-клетках отсутствовали перинейрональные скопления окончаний PV-иммунопозитивных волокон.

Нами были подробно изучены срезы переднего мозга, на которых проведены иммуногистохимические реакции с антителами к таким маркерным белкам, как нестин, хондроитинсульфат протеогликан-NG2, нейрональная NOS (NOSn), NPY, CB, основной белок миелина (MBP). Ни один из этих маркеров не содержался в клетках, сколько-нибудь сходных по строению с описываемыми здесь CR^+PS-клетками.

Иммуногистохимическая реакция на CR, проведенная на срезах переднего мозга крыс, кошек и кроликов, не выявила клеток, сходных по строению с описанными выше CR^+PS-клетками переднего мозга мышей.

Предварительное исследование мозга мышей той же линии разных возрастов постнатального развития (7, 10, 14, 30 сут, 2 и 6 мес) показало, что клетки, сходные по строению с CR^+PS-клеточными элементами, появляются в новой коре не ранее 10-х суток постнатального развития, а в комплексе хвостатое ядро — скорлупа — в еще более поздние сроки.

Обсуждение полученных данных. В доступной нам литературе мы не нашли данных о клетках, описанных в настоящем исследовании. Однако, судя по иллюстрациям к работе A. Jankovski и соавт. [7], CR-позитивные клетки, накапливающиеся в области переднего обонятельного ядра после удаления обонятельной луковицы у взрослых мышей, по строению сходны с исследованными нами CR^+PS-клетками. Указанные авторы считали все CR^+-клетки предшественниками нейронов [7] и не применяли других нейральных маркеров в дополнение к CR, поэтому вопрос о идентичности описанных ими и исследованных нами CR^+PS-клеточных элементов остается открытым.

Таким образом, предварительные исследования показали, что в переднем мозгу мышей существует популяция ГАМК-негативных CR^+PS-клеток, появляющаяся в ходе постнатального развития. Эти клетки не содержат белковых маркеров, специфичных для: 1) зрелых нейронов (NeuN, GAD67, PV, CB, NOSn, NPY, Chr-A); 2) нейробластов (Dx, PSA-NCAM, β-III формы тубулина); 3) стволовых (нестин) и прогениторных нейральных клеток (Vim); 4) NG2-клеток (NG2); 5) астроглии (GFAP); 6) олигодендроглии (MBP) [9]. Следовательно, по всей вероятности, CR^+PS-клетки не относятся ни к одному из этих типов клеток. Особо следует подчеркнуть, что результаты проведенных исследований не позволяют отнести CR^+PS-элементы и к клеткам нейронального ряда.

Совокупность полученных данных позволяет предположить, что описанные здесь клетки представляют некий ранее неизвестный видоспецифичный тип клеток переднего мозга мышей, экспрессия CR в которых может быть связана со стадией развития этих клеток. Дальнейшее изучение CR^+PS-клеток представляется особенно актуальным в связи с их локализацией вблизи передних рогов боковых желудочков — мощной зоны нейрогенеза мозга взрослого организма.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Госконтракта № 02[1].512.11.2224 и Российского фонда фундаментальных исследований (гранты № 07-04-12120-ОФИ и 07-04-00835-А).

ЛИТЕРАТУРА

1. Ревищин А.В., Родионова Е.И. и Леонтович Т.А. Соотношение стриосом и структурных модулей в стриатуме кошки и человека. Докл. РАН, 2000, т. 372, вып. 1, с. 124–126.
2. Benavides-Piccione R. and DeFelipe J. Different populations of tyrosine-hydroxylase-immunoreactive neurons defined by differential expression of nitric oxide synthase in the human temporal cortex. Cereb. Cortex, 2003, v. 13, p. 297–307.
3. Cauli B., Audinat E., Lambolez B. et. al. Molecular and physiological diversity of cortical nonpyramidal cells. J. Neurosci., 1997, v. 17, p. 3894–3906.
4. DeFelipe J. Types of neurons, synaptic connections and chemical characteristics of cells immunoreactive for calbindin-D28K, parvalbumin and calretinin in the neocortex. J. Chem. Neuroanat., 1997, v. 14, p. 1–19.
5. Gonchar Y. and Burkhalter A. Three distinct families of GABAergic neurons in rat visual cortex. Cereb. Cortex, 1997, v. 7, p. 347–358.
6. Gonchar Y., Wang Q. and Burkhalter A. Multiple distinct subtypes of GABAergic neurons in mouse visual cortex identified by triple immunostaining. Front. Neuroanat., 2007, v. 1, № 3, p. 1–11.
7. Jankovski A., Garcia C., Soriano E. et al. Proliferation, migration and differentiation of neuronal progenitor cells in the adult mouse subventricular zone surgically separated from its olfactory bulb. Eur. J. Neurosci., 1998, v. 10, № 12, p. 3853–3868.
8. Okhotin V.E. and Kalinichenko S.G. Neurons of layer I and their significance in the embryogenesis of the neocortex. Neurosci. Behav. Physiol., 2004, v. 34, № 1, p. 49–66.
9. Revishchin A.V., Korochkin L.I., Okhotin V.E. et. al. Neural stem cells in the mammalian brain. Int. Rev. Cytol., 2008, v. 265, p. 55–109.

Поступила в редакцию 04.04.09

A.V. Revishchin, V.Ye. Okhotin, L.I. Korochkin and G.V. Pavlova

A NOVEL POPULATION OF CALRETININ-POSITIVE, PRESUMABLY NON-NEURONAL, CELLS WITH THE POLYMORPHOUS SPINES IN MOUSE FOREBRAIN

Using the immunocytochemical method, the localization of calretinin-positive cells was studied in the frontal sections of anterior portion of the mouse cerebral hemispheres. The population of cells with a characteristic structure, that was not described previously, was detected in the area of anterior horns of lateral brain ventricles. These cells have small (8–10 μm) rounded perikarya which gave rise to 1 or, rarely, 2 nodose processes covered with widely spaced, polymorphous spines (PS) and irregular thickenings. Primary, relatively thick, processes divide to produce thinner processes that also formed thickenings and spines of different dimensions and structure. Calretinin-positive cells with PS (CR^+PS) cells are located in the white subcortical matter, layer VI, more rarely in layer V of the frontal area of dorsomedial cortex close to the cingulum. CR^+PS cells were also present in rostro-dorsal part of the caudate nucleus–putamen complex, anterior olfactory nucleus, subependymal layer of the dorsolateral angle of the lateral ventricle, and, less frequently, near its dorsal wall. In contrast to mouse brain, CR^+PS cells were not found in the brain of other animals (rats, rabbits, cats).Within CR^+PS cells, no co-localization of calretinin with GABA and other neuronal or glial markers was found. It is suggested that the cells described represent previously unknown, presumably non-neuronal type of the mouse forebrain.

Key words: *calretinin-positive cells, polymorphous spines, non-neuronal brain cells, forebrain, mouse*.

Laboratory of Neurogenetics and Developmental Genetics, RAS Institute of Gene Biology, Moscow