

УДК 612.398:611.018.82

Пространственная организация внутриядерных структур дофаминергических нейронов мозга человека

Д. Э. Коржевский, В. В. Гусельникова*, О. В. Кирик, Е. Г. Сухорукова, И. П. Григорьев
Институт экспериментальной медицины, 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика
Павлова, 12

*E-mail: guselnicova.valeriia@yandex.ru

Поступила в редакцию 15.09.2016

Принята к печати 24.08.2017

РЕФЕРАТ Изучена внутриядерная локализация белков нуклеофосмина (B23) и убиквитина в дофаминергических нейронах черной субстанции мозга человека ($n = 6$, возраст 25–87 лет) с помощью иммуногистохимических методов и конфокальной лазерной микроскопии. Установлено, что внутриядерные убиквитин-иммунопозитивные тельца, соответствующие по морфологическим признакам тельцам Маринеско, присутствуют в дофаминергических (тирозингидроксилаза-иммуноположительных) нейронах черного вещества, но не выявлены в недофаминергических нейронах. Количество телец варьировало от 0 до 6 в одном клеточном ядре. Нуклеофосмин (B23) выявлялся в ядрышке нейронов, причем размеры ядрышка были постоянными для нигральных нейронов мозга отдельного индивида. Все наблюдаемые нейроны имели только по одному крупному ядрышку с интенсивной иммунореактивностью на нуклеофосмин и слабоокрашенной областью (до 1–2 мкм в диаметре), которая, по-видимому, представляет собой гигантский фибриллярный центр. На периферии его часто присутствует интенсивно окрашенная нуклеофосминсодержащая гранула. Использование двойной метки показало, что нуклеофосмин-иммунореактивное ядрышко и убиквитин-иммунореактивные тельца Маринеско могут располагаться как рядом, так и на отдалении друг от друга. Трехмерная реконструкция свидетельствует, что округлые тельца Маринеско полиморфны и нередко имеют сложную форму с уплощениями и вогнутостями, что может быть связано с контактом не только с ядрышком, но и, предположительно, с другими внутриядерными структурами, не содержащими убиквитин или нуклеофосмин. Вблизи телец Маринеско часто расположены убиквитин-иммунореактивные структуры сравнительно небольшого размера (до 1 мкм в длину) и разнообразной формы, подобные кластосомам [Lafarga et al., 2002]. Ни в одном случае убиквитин не был обнаружен в ядрышках дофаминергических нейронов, а нуклеофосмин/B23 – в типичных тельцах Маринеско. Полученная информация может способствовать раскрытию молекулярных механизмов избирательной чувствительности дофаминергических нейронов черной субстанции к повреждающим факторам.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА головной мозг, дофаминергические нейроны, нуклеофосмин, тельца Маринеско, убиквитин, человек, черная субстанция, ядрышко.

ВВЕДЕНИЕ

Для ядра эукариотической клетки характерна сложная внутренняя структурно-функциональная компартиментализация, которая позволяет повысить эффективность внутриклеточных процессов за счет концентрирования специализированных факторов в определенных участках ядерного пространства. Среди важнейших ядерных компартиментов принято выделять ядрышки, ядерные спеклы, тельца Кахаля, PML-тельца и др. [1]. При этом одни внутри-

ядерные структуры (например, ядрышки) присутствуют в большинстве клеток эукариот, в то время как другие характерны для конкретного типа клеток. Примером таких специфических внутриядерных структур могут служить тельца Маринеско, которые в норме выявляются исключительно в нейронах черного вещества (*substantia nigra*) и голубого пятна (*locus coeruleus*) мозга человека и приматов [2, 3]. Важно отметить, что, хотя по отдельности

и ядрышки, и тельца Маринеско являются сравнительно хорошо охарактеризованными структурами, детального изучения их формы и пространственного взаиморасположения в ядрах нервных клеток проведено не было. Решить подобную задачу позволяет метод конфокальной микроскопии, предполагающий использование первичных антител к известным маркерным белкам различных внутриядерных структур. Для ядрышка таким маркером является нуклеофосмин (nucleophosmin, NPM, B23) – полифункциональный белок, участвующий в биогенезе рибосом, дубликации centrosom, регуляции пролиферации и апоптоза [4–6]. Интересно, что B23 экспрессируется на высоком уровне не только в активно пролиферирующих клетках, но также в постмитотических нейронах, однако данные о его роли в этих нейронах практически отсутствуют [6]. Предполагают, что в ядрышке нервных клеток B23 действует как датчик клеточного стресса, инициируя механизмы, способствующие поддержанию жизнеспособности нейронов (например, стабилизируя транскрипционный фактор p53) [7]. Кроме того, нормальный уровень B23 в нейронах является, возможно, условием поддержания блокады клеточного цикла, в то время как чрезмерная экспрессия данного белка может побудить клетку к возврату в клеточный цикл и инициировать гибель нейронов, что наблюдается в ходе развития нейродегенеративных заболеваний, таких, как болезни Альцгеймера и Паркинсона, боковой амиотрофический склероз [8–10]. В связи с этим особенно существенным представляется иммуноцитохимическое исследование распределения белка B23 в дофаминергических нейронах черного вещества головного мозга человека, так как массовая гибель дофаминергических нейронов является характерным признаком болезни Паркинсона и обязательным показателем адекватности экспериментальных моделей этого заболевания [11, 12].

В отличие от B23, особенности распределения которого в дофаминергических нейронах не изучены, убиквитин как компонент протеасомной системы деградации поврежденных белков неоднократно изучали при анализе функционального состояния нейронов черного вещества в норме и при патологии [13, 14]. В настоящее время убиквитин считается специфическим маркером телец Маринеско, функциональное значение которых все еще остается непонятным [3]. При изучении внутриядерных убиквитин-иммунопозитивных телец нейронов *substantia nigra* головного мозга человека с использованием методов световой микроскопии и иммуноцитохимии было показано, что в черном веществе до 20% нейронов могут содержать убиквитин-иммунореактивные тельца, морфологическая характеристика которых соответ-

ствует тельцам Маринеско [15]. Следует отметить, что в рамках того же исследования в ядрах нейронов черного вещества обнаружены структуры, которые по ряду признаков не могли быть отнесены к тельцам Маринеско, однако содержали убиквитин в детектируемом количестве [15]. В последние годы появились данные о том, что убиквитин (вместе с убиквитин-подобными белками) играет важную роль не только в процессах внутриклеточной деградации белков, но и в биогенезе рибосом [16]. Это предполагает присутствие данного белка в составе ядрышек, однако результаты иммуноцитохимических исследований, которые подтверждали бы данное предположение, отсутствуют.

Таким образом, изучение формы и пространственного расположения B23- и убиквитин-иммунопозитивных структур в дофаминергических нейронах головного мозга человека является актуальной задачей современной нейробиологии и представляет интерес для фундаментальной неврологии. Поэтому поиск подходов к решению именно этих вопросов и составил цель нашей работы.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использованы фрагменты среднего мозга человека ($n = 6$, мужчин и женщин в возрасте от 25 до 87 лет, причина смерти которых не была связана с заболеваниями и повреждениями головного мозга). Материал получен из архива отдела общей и частной морфологии Института экспериментальной медицины. Программа исследований имеет положительное заключение Локального этического комитета ФГБНУ «ИЭМ».

Материал был фиксирован в цинк-этанол-формальдегиде [17] и залит в парафин. Из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 5, 7 и 10 мкм, которые наклеивали на предметные стекла с адгезивным покрытием (Histobond, Polysine, SuperFrost Gold, Германия). Часть препаратов окрашивали классическим нейростологическим методом – толудиновым синим по Нисслю. Перед постановкой иммуноцитохимических реакций верифицировали пригодность материала для исследования (исключали нейродегенеративный процесс и посмертный аутолиз). Для улучшения иммунореактивности выявляемых антигенов проводили их тепловое демаскирование в модифицированном цитратном буфере pH 6.1 (S1700, Dako, Дания). Контрольные иммуногистохимические реакции проводили с учетом рекомендаций производителей реагентов.

При постановке иммуногистохимических реакций для микроскопии в проходящем свете использовали следующие первичные антитела: поликлональные кроличьи антитела к убиквитину (Dako) в разведе-

дени 1 : 400; моноклональные мышинные антитела к белку V23 (нуклеофосмину) клон FC82291 (Sigma-Aldrich, США) в разведении 1 : 200 и мышинные моноклональные антитела к тирозингидроксилазе (клон 1B5) в разведении 1 : 50 (Leica-Novocastra, Великобритания). Для выявления связанных с изучаемыми маркерами кроличьих и мышинных первичных антител использовали реагент MACH2-Universal HRP-Polymer (Biocare Medical, США). Пероксидазную метку выявляли с использованием диаминобензидинового хромогена (DAB+; Dako). После постановки иммуноцитохимических реакций часть срезов подкрашивали 0.5% водным раствором крезилового фиолетового (Dr. Grubler, Германия) и 0.1% водным раствором астрового синего (Merck, Германия).

При постановке отдельных и комбинированных иммуногистохимических реакций для конфокальной лазерной микроскопии использовали те же самые первичные антитела, что и для иммунопероксидазной реакции. В двойной реакции использовали две комбинации антител – к тирозингидроксилазе/убиквитину и V23/убиквитину. После теплового демаскирования антигенов проводили инкубацию с первичными антителами в течение 65 ч при 27°C. В качестве вторичных антител для выявления первичных мышинных антител использовали моновалентный Fab-фрагмент иммуноглобулина осли, меченный биотином (Jackson ImmunoResearch, США). После обработки вторичными антителами препараты инкубировали в растворе стрептавидина, конъюгированного с флуорохромом Cy2 (Jackson ImmunoResearch). Для выявления первичных кроличьих антител использовали антитела свиньи против иммуноглобулинов кролика, конъюгированные с тетраметилродаминизотиоцианатом (TRITC), произведенные Dako. Часть препаратов после постановки одиночной реакции на белок V23 подкрашивали ядерным красителем 7-AAD (Invitrogen, США). Конфокальную микроскопию проводили с использованием микроскопа LSM 710 (Carl Zeiss, Германия).

После проведения иммуноцитохимической реакции на белок V23 определяли размер ядрышек нейронов черного вещества. Диаметр ядрышка измеряли с использованием средств компьютерной программы LAS EZ (Leica, Германия). Анализировали ядрышки только тех нейронов, в цитоплазме которых четко просматривались гранулы нейромеланина. Измерения были выполнены независимо двумя исследователями (О.В. Кирик и В.В. Гусельниковой) на двух разных микроскопах Leica DM750 (Leica), укомплектованных камерами ICC50 и ICC50HD (Leica), после проведения дополнительной калибровки системы с помощью объект-микрометра.

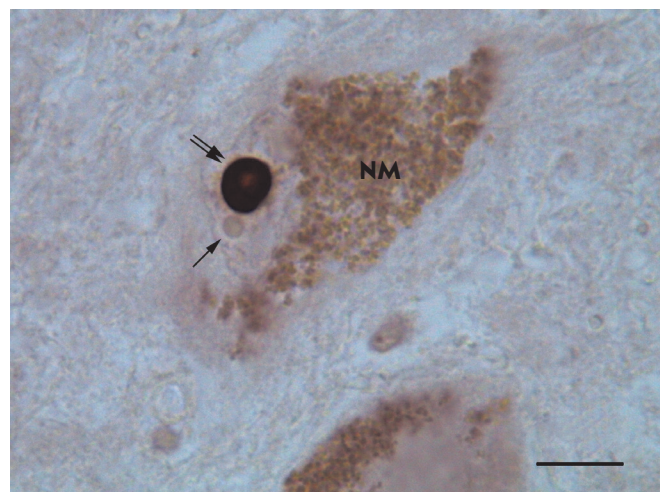


Рис. 1. Дофаминергический нейрон черного вещества головного мозга человека с V23-иммунопозитивным ядрышком. NM – гранулы нейромеланина в цитоплазме нейрона; одиночная стрелка указывает на неокрашенное тельце Маринеско, двойная – на иммунопозитивное ядрышко. Иммуноцитохимическая реакция на белок V23 без подкраски. Объектив Plan 100 × /1.25 (масляная иммерсия). Окуляр HC Plan 10 × /18. Масштабный отрезок равен 10 мкм

Количественные данные обрабатывали в программе Excel (Microsoft, США) и представляли в виде среднего значения (\bar{X}) и стандартного отклонения (σ). Для оценки однородности совокупности рассчитывали коэффициент вариации (V).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Во всех случаях в препаратах были обнаружены ядрышки нейронов (как при окраске толуидиновым синим по Нисслю, так и при реакции на белок V23) и убиквитин-иммунопозитивные тельца (рис. 1). Двойная иммунофлуоресцентная реакция на тирозингидроксилазу и убиквитин (рис. 2) показала, что внутриядерные убиквитин-иммунопозитивные тельца действительно присутствуют в дофаминергических нейронах черного вещества и отсутствуют в нейронах, не проявляющих реакцию на маркерный фермент синтеза катехоламинов – тирозингидроксилазу.

Наблюдение ядрышек с использованием реакции на нуклеофосмин (V23) позволило выявить неоднородность их структуры при постоянстве ровных контуров и округлой формы. Установлено, что для нейронов черного вещества не характерно присутствие добавочных ядрышек. Все наблюдаемые нейроны содержали только по одному крупному ядрышку, ярко окрашенному при реакции на нуклеофосмин,

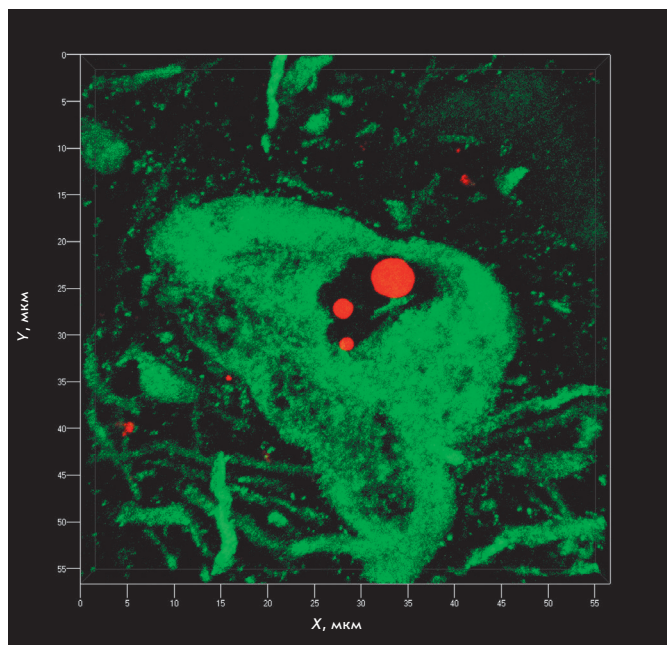


Рис. 2. Убиквитин-иммунопозитивные структуры в черном веществе головного мозга человека. Иммунопозитивную реакцию на убиквитин (красный цвет) дают три округлых тельца Маринеско в ядре нейрона и гранулы в нейропиле черного вещества. Двойная иммуноцитохимическая реакция на тирозингидроксилазу, визуализация с помощью флуорохрома Cy2 (зеленый цвет) и убиквитин; визуализация с помощью флуорохрома TRITC (красный цвет). Конфокальная лазерная микроскопия. Трехмерная реконструкция в режиме Shadow осуществлена в программном модуле ZEN 2011 (Carl Zeiss). Величина Z-серии – 5.6 мкм, количество оптических срезов – 29. Объектив 100 × /1.40 (масляная иммерсия)

в котором нередко просматривалась слабоокрашенная область. Подобную структуру, нередко выявляемую в ядрышках крупных нейронов, ранее называли ядрышковой вакуолью [18]. Позже было установлено, что она представляет собой гигантский фибриллярный центр (GFC), содержащий преимущественно фактор UBF [19]. Интересно, что ядрышки нейронов разных лиц из изученной выборки характеризовались определенной индивидуальностью в размерах и достаточно низкой вариабельностью размеров (*таблица*).

Изучение ядрышка с использованием конфокальной микроскопии подтвердило точность измерений, проведенных на иммунопероксидазных препаратах. При этом была исключена возможность ложного увеличения размеров изучаемой структуры за счет диффузии хромогена. Установлено, что ги-

гантский фибриллярный центр, который обычно располагается на периферии ядрышка, достигает 1–2 мкм в диаметре. Зона GFC характеризуется слабой флуоресценцией при реакции на белок B23, что свидетельствует о пониженной концентрации (но не об отсутствии) данного белка в этом ядрышковом компартменте. В периферической части GFC нередко обнаруживается ярко флуоресцирующая гранула, концентрирующая белок B23 (*рис. 3*).

Случай	Среднее значение диаметра (X), мкм	Стандартное отклонение, σ	Коэффициент вариации (V), %
Мужчина 25 лет	5.1	0.6	11.3
Мужчина 51 год	4.2	0.4	8.6
Мужчина 61 год	5.9	0.5	8.9
Женщина 62 года	6.1	0.3	4.9
Женщина 78 лет	5.6	0.3	5.6
Мужчина 87 лет	5.6	0.4	6.8

Проведение двойной реакции на белок B23 и убиквитин позволило четко визуализировать ядрышко и тельца Маринеско. Высокая интенсивность флуоресценции при выявлении обоих маркеров обеспечила возможность адекватной трехмерной реконструкции изучаемых структур как в режиме полупрозрачных объектов, так и в режиме контурирования их поверхностей (*рис. 4*). При пространственной реконструкции ядрышек и телец Маринеско обнаружено, что не все наблюдаемые объекты имеют правильную шаровидную форму. Так, для ядрышек типичной была форма шара или эллипсоида, однако единичные ядрышки имели грушевидную и гантелеобразную формы.

Тельца Маринеско характеризовались бóльшим полиморфизмом, но при этом всегда имели четкие контуры (*рис. 5*). Эти тельца присутствовали в ядрах нейронов в разном количестве (до шести в пределах ядра одной клетки) и занимали различное положение относительно ядрышка. Так, тельце могло быть тесно ассоциировано с ядрышком и непосредственно примыкать к его поверхности, однако в большинстве случаев оно располагалось на небольшом расстоянии от ядрышка или было удалено от него. Если одно ядро содержало несколько телец Маринеско, то эти тельца могли быть как удалены друг от друга, так и сгруппированы, иногда с непосредственным соприкосновением границ. Локализация нескольких телец относительно ядрышка также была различной. Выявлены случаи, когда часть телец непосредственно при-

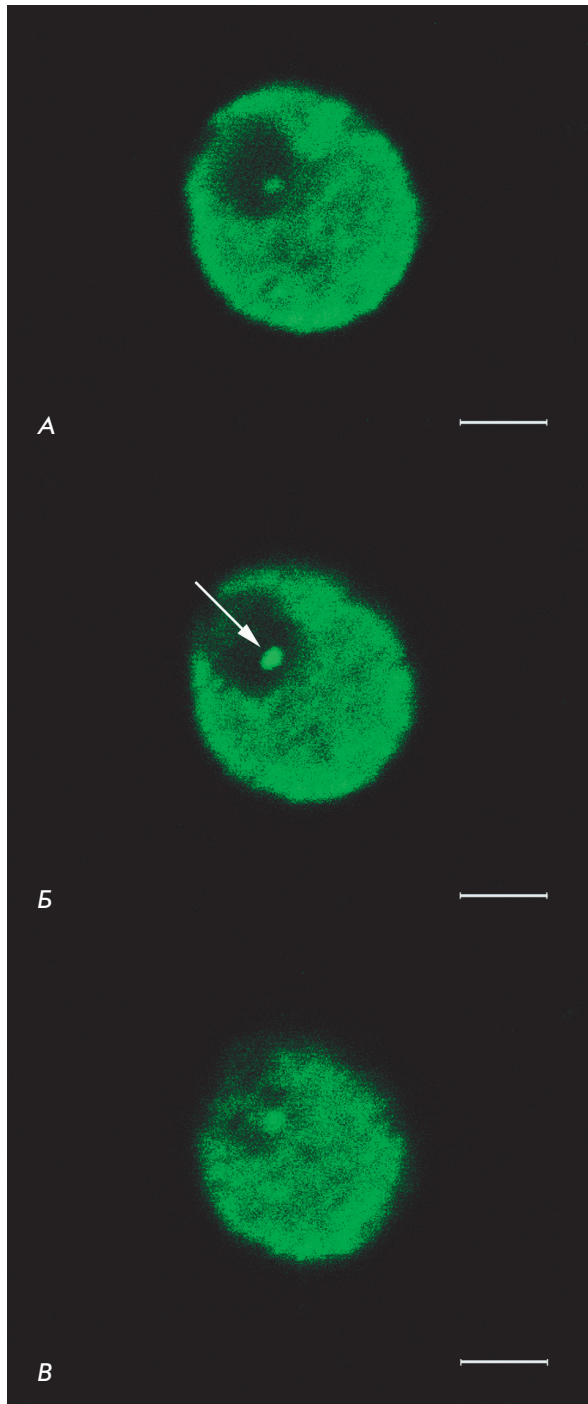


Рис. 3. Ядрышко дофаминергического нейрона черного вещества головного мозга человека. Последовательные одиночные оптические срезы, выполненные с интервалом 0.4 мкм. Стрелка указывает на иммуно-положительную гранулу в области гигантского фибриллярного центра. Иммуноцитохимическая реакция на белок B23, визуализация с помощью флуорохрома Cy2 (зеленый цвет). Конфокальная лазерная микроскопия. Объектив Plan-Apochromat 100 × /1.40 (масляная иммерсия). Масштабный отрезок равен 2 мкм

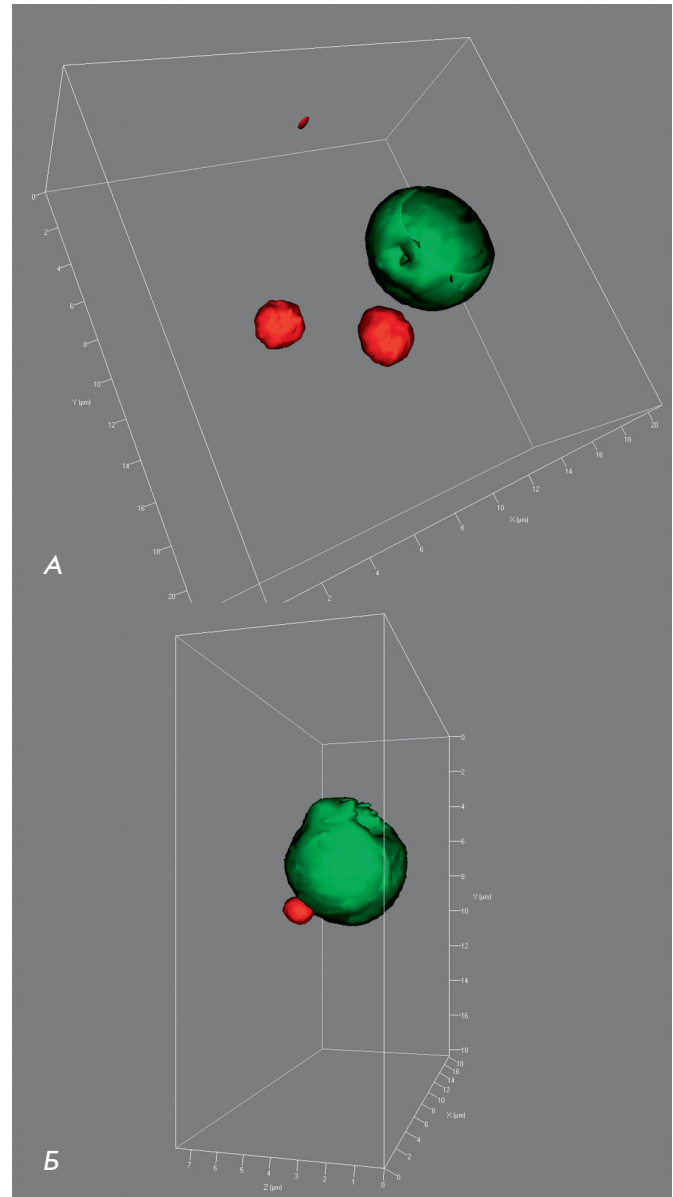


Рис. 4. Трехмерная реконструкция внутриядерных структур дофаминергического нейрона черного вещества головного мозга человека. Двойная иммуноцитохимическая реакция на белок B23, визуализация с помощью флуорохрома Cy2 (зеленый цвет – окрашено ядрышко), и убиквитин, визуализация с помощью флуорохрома TRITC (красный цвет). Конфокальная лазерная микроскопия. Реконструкция в режиме Surface осуществлена в программном модуле ZEN 2011 (Carl Zeiss). Величина Z-серии – 9.8 мкм (А) и 7.6 мкм (Б); количество оптических срезов – 50 (А) и 39 (Б). Объектив Plan-Apochromat 100 × /1.40 (масляная иммерсия)

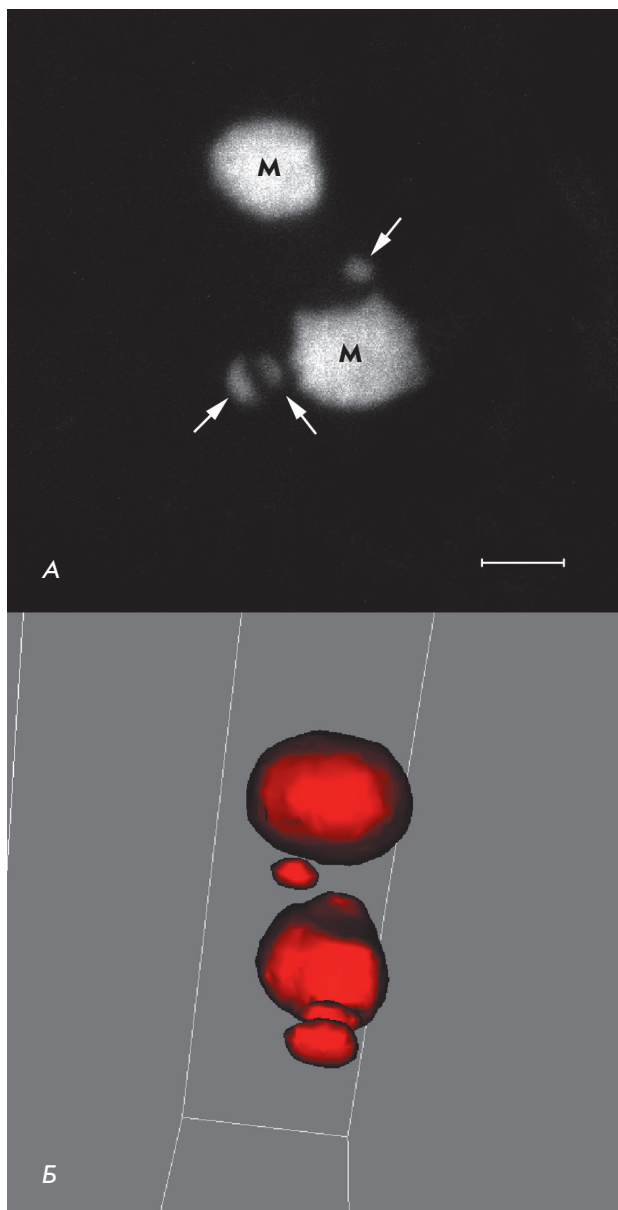


Рис. 5. Тельца Маринеско в ядре дофаминергического нейрона черного вещества головного мозга человека. **М** – тельца Маринеско; **стрелка** – убиквитин-иммуно-позитивные структуры, которые не являются типичными тельцами Маринеско. Конфокальная лазерная микроскопия. **А** – изображение является суперпозицией 30 оптических срезов, выполненных с интервалом 0.2 мкм. **Б** – трехмерная реконструкция в режиме Surface с поворотом на 90° осуществлена в программном модуле ZEN 2011 (Carl Zeiss). Величина Z-серии – 5.8 мкм, количество оптических срезов – 30. Объектив Plan-Apochromat 100 × / 1.40 (масляная иммерсия). Масштабный отрезок равен 2 мкм

мыкала к границе ядрышка, в то время как другие были удалены от него. Иногда тельца окружали ядрышко с разных сторон. В ряде случаев все тельца обнаруживались на значительном расстоянии от ядрышка. Применение метода 3D-реконструкции позволило наблюдать все детали формы выявленных телец Маринеско (рис. 5). Полученные результаты свидетельствуют о том, что большинство идентифицируемых телец имеют правильную округлую, реже – овальную форму. Тем не менее, в ряде случаев отмечено присутствие на поверхности выявляемых телец уплощенных или вогнутых участков. Формирование такой сложной структуры поверхности тельца Маринеско может быть следствием присутствия некой другой структуры, непосредственно примыкающей к поверхности данного тельца. Косвенно это подтверждается полученными нами ранее данными, свидетельствующими о том, что уплощенные или вогнутые участки убиквитин-иммунопозитивных телец могут формироваться на их поверхности в местах контакта данных телец с ядрышком [15]. Более того, в нескольких случаях отмечено присутствие убиквитин-иммунопозитивных телец, примыкающих к поверхности структуры, определенной нами как добавочное ядрышко, на поверхности таких телец в месте примыкания также формировалось уплощение или вогнутость [15]. Тем не менее, при постановке двойной реакции на убиквитин и B23 было показано, что в ряде случаев тельца Маринеско удалены от B23-позитивного ядрышка и при этом все равно имеют сложную форму поверхности. Это может быть свидетельством присутствия в ядрах нейронов черного вещества других структур, с которыми взаимодействуют тельца Маринеско. С другой стороны, неровный контур данных телец в отсутствие ограничивающей мембраны может отражать динамику макромолекул и быть следствием ухода молекул с периферических участков телец Маринеско.

Другим важным результатом, полученным при использовании конфокальной микроскопии с послойным сканированием и 3D-реконструкции, стало подробное описание морфологии особых убиквитин-позитивных структур, которые по ряду признаков не могут быть отнесены к тельцам Маринеско, но четко выявляются при постановке соответствующей реакции на убиквитин (см. рис. 5). Эти структуры имеют сравнительно небольшие размеры (до 1 мкм в длину) и разнообразную форму – округлую, овальную, палочковидную и т.п. Как и тельца Маринеско, данные структуры характеризуются вариабельностью распределения в пределах ядра, при этом часто располагаясь вблизи типичных телец Маринеско и иногда примыкая к ним. Интересно отметить, что при не-

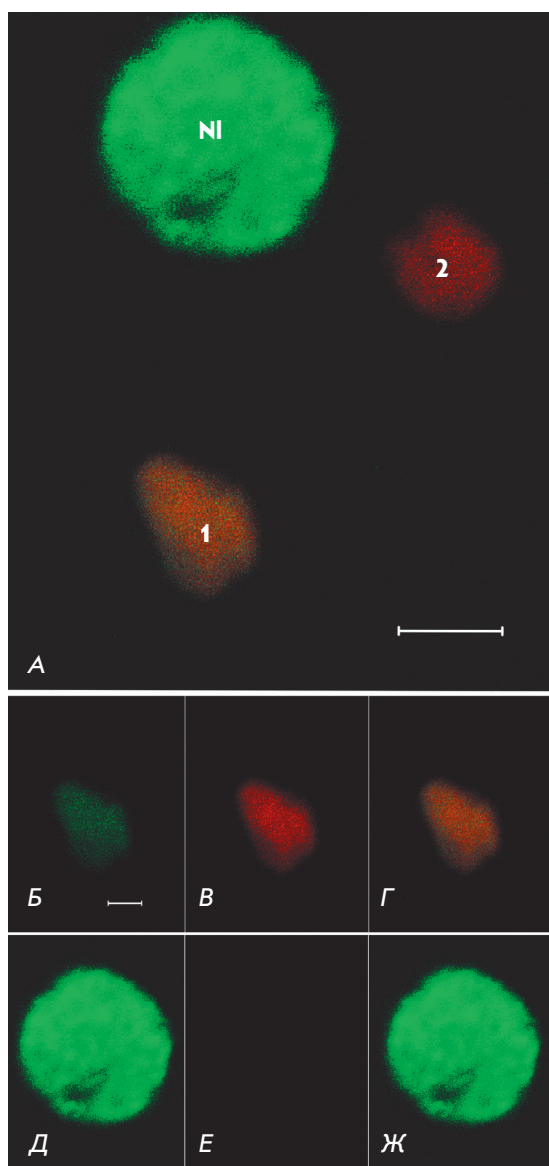


Рис. 6. Колокализация белка V23 и убиквитина в структурах ядра дофаминергического нейрона черного вещества головного мозга человека. А – общий план, показывающий иммунопозитивную реакцию структур в ядре. Б – колокализация белка V23 и убиквитина в атипичном тельце Маринеско (структура 1). NI – V23-иммунопозитивное ядрышко нейрона (колокализация выявляемых белков отсутствует); структура 2 – типичное тельце Маринеско (колокализация выявляемых белков отсутствует). В, Д – зеленый канал (белок V23). В, Е – красный канал (убиквитин). Г, Ж – совмещенное изображение. Двойная иммуноцитохимическая реакция на белок V23, визуализация с помощью флуорохрома Cy2 (зеленый цвет), и убиквитин, визуализация с помощью флуорохрома TRITC (красный цвет). Конфокальная лазерная микроскопия. Объектив Plan-Apochromat 100 × / 1.40 (масляная иммерсия). Масштабный отрезок равен 2 мкм (А) и 1 мкм (Б–Ж)

посредственным примыкании таких убиквитин-позитивных структур к типичным тельцам Маринеско на поверхности последних присутствуют уплощенные или вогнутые участки, обращенные к данной структуре, что косвенно подтверждает предположение о неслучайном характере формирования сложной поверхности телец Маринеско. Вопрос о природе выявленных убиквитин-иммунопозитивных структур, не являющихся тельцами Маринеско, остается открытым. С этой точки зрения интересны данные, представленные Lafarga М. и соавт., которые выявили (с применением конфокальной и электронной микроскопии) в ядрах нескольких типов клеток особые структуры, названные кластосомами [20]. Согласно [20], эти внутриядерные структуры содержат убиквитин в высокой концентрации и являются местом разрушения различных белков. При этом присутствие в ядрах клеток кластосом определяется интенсивностью процессов протеасомной деградации в клетке – чем более они интенсивны, тем более выражены кластосомы [20]. Данное обстоятельство могло бы объяснить обнаруженное нами присутствие убиквитин-позитивных структур лишь в отдельных нейронах черного вещества на фоне их отсутствия в большинстве клеток различным функциональным состоянием анализируемых нейронов.

Изучение колокализации двух белков (убиквитина и V23) в ядрышках дофаминергических нейронов и тельцах Маринеско показало, что в ядрышках присутствует белок V23, а убиквитин отсутствует. Белок V23 никогда не колокализуется в ядрышке с убиквитином. Даже когда убиквитин-иммунопозитивные тельца непосредственно контактируют с ядрышком (см. рис. 4Б), зона кажущейся колокализации не превышает величины разрешения использованного оборудования (0.2 мкм). В противоположность ядрышку, в тельцах Маринеско колокализация убиквитина и белка V23 хотя и не типична, но возможна (рис. 6). При этом флуоресценция V23 существенно слабее, чем в области интенсивно окрашенных зон ядрышка, и сопоставима с флуоресценцией области GFC. Идентификация в ядрах нейронов телец, в которых белок V23 присутствует и колокализован с убиквитином, ставит вопрос о природе данных структур. Опубликованы данные о том, что убиквитин (вместе с убиквитин-подобными белками) играет важную роль не только в процессах внутриклеточной деградации белков, но и в биогенезе рибосом [16], что предполагает присутствие этого белка в составе ядрышек. Однако, как видно из рис. 6, идентифицированная V23/убиквитин-иммунопозитивная структура характеризуется неправильной формой, отсутствием внутренней структурированности и области GFC, в связи с чем она не может быть определена

как ядрышко, особенно учитывая представленные выше данные об отсутствии добавочных ядрышек в дофаминергических нейронах черного вещества. Особенности формы и размеров выявленных телец, а также присутствие в них убиквитина в высокой концентрации скорее свидетельствуют в пользу того, что данные внутриядерные структуры представляют собой специфическую разновидность телец Маринеско, содержащих белок В23. Однако нельзя исключать и возможность того, что обнаруженные В23/убиквитин-иммунопозитивные структуры являются самостоятельными внутриядерными включениями, не имеющими отношения ни к тельцам Маринеско, ни к кластосомам.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в ядрах дофаминергических нейронов черного вещества человека присутствует несколько видов структур, содержащих исследованные белки и имеющих разнообразную форму. Относительно малыми размерами (до 2 мкм в диаметре), правильной формой и расположением вблизи ядрышка характеризуются структуры, подобные кластосомам. На различном расстоянии от ядрышка располагаются более крупные (чаще 2–4 мкм в диаметре) полиморфные тельца Маринеско, среди которых определяются атипичные структуры, содержащие как убиквитин, так и белок В23. Наиболее крупной и постоянной структурой ядра является ядрышко. Нами показана мономорфность и стабильность размеров ядрышек нейронов черного вещества человека. Установлено,

что для ядрышка дофаминергических нейронов характерно присутствие гигантского фибриллярного центра (GFC), ранее детально изученного только в нейронах лабораторных животных. Показано, что в составе GFC человека, в отличие от GFC крысы, обнаруживается непостоянная микроструктура, содержащая белок В23.

Все перечисленные факты содержат новую информацию о дофаминергических нейронах мозга человека. Дальнейшие исследования в этой области, направленные на изучение пространственной взаимосвязи ядрышка и телец Маринеско с другими внутриядерными структурами (тельцами Кахаля, РМЛ-тельцами, ядерными спеклами), а также изучение динамики данных структур при развитии нейродегенерации позволят сделать вывод о вовлеченности внутриядерных структур в регуляцию функционального состояния катехоламинергических нейронов. Изучение особенностей распределения белков, входящих в состав данных структур, в норме и при патологии может способствовать обнаружению новых молекулярных маркеров процесса нейродегенерации. Анализ внутриядерных структур нейронов, устойчивых к повреждающим факторам, позволит сделать вывод о наличии (или отсутствии) взаимосвязи между особенностями внутриядерных включений и избирательной чувствительностью дофаминергических нейронов черной субстанции к повреждению. ●

*Работа выполнена при поддержке Российского
научного фонда (проект № 14-15-00014).*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гаврилов А.А., Разин С.В. // Молекуляр. биология. 2015. Т. 49. № 1. С. 26–45.
2. Kettner M., Willwohl D., Hubbard G.B., Rüb U., Dick E.J. Jr., Cox A.B., Trottier Y., Auburger G., Braak H., Schultz C. // Exp. Neurol. 2002. V. 176. P. 117–121.
3. Григорьев И.П., Коржевский Д.Э. // Мед. академ. журн. 2015. Т. 15. № 2. С. 28–34.
4. Okuwaki M. // J. Biochem. 2008. V. 143. № 4. P. 441–448.
5. Colombo E., Alcalay M., Pelicci P.G. // Oncogene. 2011. V. 30. № 23. P. 2595–2609.
6. Pfister J.A., D'Mello S.R. // Exp. Biol. Med. (Maywood). 2015. V. 240. № 6. P. 774–786.
7. Marquez-Lona E.M., Tan Z., Schreiber S.S. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2012. V. 417. № 1. P. 514–520.
8. Lim A.C.B., Qi R.Z. // J. Alzheimers Dis. 2003. V. 5. P. 329–335.
9. Ranganathan S., Bowser R. // Am. J. Pathol. 2003. V. 162. P. 823–835.
10. Neve R.L., McPhie D.L. // Pharmacol. Ther. 2006. V. 111. P. 99–113.
11. Hornykiewicz O. // Pharmacol. Rev. 1966. V. 18. № 2. P. 925–964.
12. Kozina E.A., Khakimova G.R., Khaindrava V.G., Kucheryanu V.G., Vorobyeva N.E., Krasnov A.N., Georgieva S.G., Kerkerian-Le Goff L., Ugrumov M.V. // J. Neurol. Sci. 2014. V. 340. № 1–2. P. 198–207.
13. Филатова Е.В., Шадрин М.И., Алиева А.Х., Колачева А.А., Сломинский П.А., Угрюмов М.В. // Докл. Акад. наук. 2014. Т. 456. № 6. С. 728–730.
14. Alexopoulou Z., Lang J., Perrett R.M., Elshami M., Hurry M.E., Kim H.T., Mazaraki D., Szabo A., Kessler B.M., Goldberg A.L., et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2016. V. 113. № 32. P. E4688–4697.
15. Grigor'ev I.P., Korzhevskii D.E., Sukhorukova E.G., Gusel'nikova V.V., Kirik O.V. // Cell Tiss. Biol. 2016. V. 10. № 1. P. 29–36.
16. Stavreva D.A., Kawasaki M., Dunder M., Koberna K., Müller W.G., Tsujimura-Takahashi T., Komatsu W., Hayano T., Isobe T., Raska I., et al. // Mol. Cell. Biol. 2006. V. 26. № 13. P. 5131–5145.
17. Korzhevskii D.E., Sukhorukova E.G., Kirik O.V., Grigorev I.P. // Eur. J. Histochem. 2015. V. 59. № 3. P. 25–30.
18. Оксова Е.Е. // Арх. анат. 1972. Т. 63. № 10. С. 33–36.
19. Casafont I., Bengoechea R., Navascués J., Pena E., Berciano M.T., Lafarga M. // J. Struct. Biol. 2007. V. 159. № 3. P. 451–461.
20. Lafarga M., Berciano M.T., Pena E., Mayo I., Castaño J.G., Bohmann D., Rodrigues J.P., Tavanez J.P., Carmo-Fonseca M. // Mol. Biol. Cell. 2002. V. 13. № 8. P. 2771–2782.