

2. Патент 2788280. Способ определения типа острого деструктивного панкреатита с поражением внеорганный жировой ткани: № 2022116262; заявл. 16.06.2022; опубл. 17.01.2023. *Имаева А. К., Мустафин Т. И., Шарафутдинова Л. А., Батыршина Э. Р.*
3. *Романцова Т. И., Сыч Ю. П.* Иммунометаболизм и метавоспаление при ожирении // Ожирение и метаболизм. — 2019. — Т. 16. — № 4. — С. 3–17.
4. *Acharya C., Navina S., Singh V. P.* Role of pancreatic fat in the outcomes of pancreatitis. *Pancreatology*. 2014; 14(5):403–408.

УДК 611.813

*Кирик О. В.*

## **ВЫСТИЛКА ЖЕЛУДОЧКОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА И СТРУКТУРНЫЕ КОМПОНЕНТЫ ЛИКВОРОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА**

*Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург,  
Российская Федерация*

---

*Аннотация.* Выстилка головного мозга, которую образуют клетки эпендимы, является основным, но не единственным компонентом ликвороэнцефалического барьера.

*Цель работы:* определить элементы, которые формируют барьер между ликвором и тканью мозга.

*Методика работы* заключается в изучении фронтальных срезов головного мозга крыс линии Вистар и малого суслика (*Spermophilus rugmaeus*). Иммуногистохимические реакции поставлены с антителами к GFAP, Виментину, Iba-1, Коннексину 43 и Коллагену IV типа.

*Основные результаты работы* показали, что наряду с клетками эпендимы к структурам, образующим барьер на уровне выстилки мозговых желудочков, следует относить астроциты, клетки субэпендимной микроглии и супраэпендимные макрофаги. Отсутствие субэпендимной базальной мембраны и существование эпендимно-астроцитарных щелевых контактов обеспечивает интеграцию эпендимного и субэпендимного компартмента в единую тканеподобную систему и исключает возможность для рассмотрения эпендимы в качестве одного из вариантов эпителиальных тканей.

*Ключевые слова:* эпендима, ликвороэнцефалический барьер, микроглия, макрофаги.

*Kirik O. V.*

## **LINING OF THE VENTRICLES OF THE BRAIN AND STRUCTURAL COMPONENTS OF THE CEREBROSPINAL FLUID BARRIER**

*Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation*

---

*Abstract.* The lining of the brain, which is formed by ependymal cells, is the main, but not the only component of the cerebrospinal fluid.

The aim of the work is to identify the elements that form a barrier between the cerebrospinal fluid and brain tissue.

The methodology of the work consists in studying frontal brain slices of Wistar rats and small ground squirrel (*Spermophilus pygmaeus*). Immunohistochemical reactions were delivered with antibodies to GFAP, Vimentin, Iba-1, Connexin 43 and Type IV Collagen.

The main results of the work showed that along with ependymal cells, astrocytes, subependymal microglia cells and supraependymal macrophages should be considered as structures forming a barrier at the level of the lining of the cerebral ventricles. The absence of a sub-perpendicular basement membrane and the existence of ependymal-astrocytic slit contacts ensures the integration of the ependymal and sub-perpendicular compartment into a single tissue-like system and excludes the possibility of considering the ependyma as one of the variants of epithelial tissues.

*Keywords:* ependyma, cerebrospinal fluid barrier, microglia, macrophages.

## ВВЕДЕНИЕ

Выстилку желудочков головного мозга принято обозначать как эпендиму. Эпендимные клетки представляют собой совокупность клеток нейроглии, которые выстилают внутренние поверхности желудочков головного мозга и центральный канал спинного мозга [1, 2]. Клетки эпендимы образуют границу раздела между полостью желудочков, цереброспинальной жидкостью (ЦСЖ) и подлежащей тканью мозга [3, 4] — ликворэпенцефалический барьер (ЛЭБ). Этот барьер в отличие от гематоэпенцефалического и гематоликворного барьеров является частично проницаемым из-за отсутствия плотных контактов между эпендимоцитами [5]. Клетки эпендимы участвуют в поддержании состава СМЖ, обеспечивая транспорт ионов и метаболитов [6, 7]. Синхронное биение многочисленных ресничек на апикальной поверхности эпендимоцитов обеспечивает перемещение ликвора вдоль стенок желудочков [8, 9]. Несмотря на ведущую роль эпендимы в образовании ЛЭБ, ограничиваться рассмотрением только слоя клеток эпендимы в качестве единственной структуры не следует. Необходимо учитывать определенное участие в выполнении барьерных функций суб- и супраэпендимных структур. Целью данного исследования было определение элементов, которые формируют барьер между ликвором и тканью мозга.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа была выполнена на фронтальных срезах головного мозга половозрелых самцов крыс линии Вистар ( $n = 10$ ) и половозрелых самцов малого суслика (*Spermophilus pygmaeus*) ( $n = 3$ ). Все манипуляции проводили с соблюдением правил гуманного обращения с животными (принципы Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986 г.), Правила надлежащей лабораторной практики (приказ № 199н от 01.04.2016 г. Минздрава России)). Исследование было одобрено на заседании локального этического комитета при ФГБНУ «ИЭМ» (протокол № 1/22 от 18.02.2022). Головной мозг крыс извлекали и фиксировали погружением в цинк-этанол-формалин, обезжизняли и заливали в парафин по общепринятой методике. Головной мозг малого суслика был получен из архива Отдела общей и частной морфологии ФГБНУ «ИЭМ». Фронтальные срезы головного мозга изготавливали на ротационном микротоме (Leica, Германия) тол-

щиной 5 мкм. Иммуногистохимические реакции проводили с антителами против GFAP (мышинные моноклональные антитела, клон SPM 507), Виментина (мышинные моноклональные антитела, клон V9) и Iba-1 (кроличьи поликлональные, Huabio, КНР), Коннексина 43 (мышинные моноклональные антитела, клон F7, Santa Cruz Biotechnology, США), Коллагена IV типа (мышинные моноклональные антитела, клон CIV 22, Agilent, США). В качестве вторичных антител использовали набор UltraVision Quanto HRP DAB Detection System (TL-060-QHL, Thermo Fisher Scientific, США). Для визуализации продукта реакции использовали хромоген 3'-диаминобензидин из набора DAB+ (Agilent, США). После постановки иммуногистохимических реакций часть срезов докрашивали гематоксилином. Микроскопическое исследование препаратов в проходящем свете и фотосъемку выполняли, используя микроскоп Leica DM750 и цифровую фотокамеру Leica ICC50 (Leica, Германия).

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После постановки иммуногистохимической реакции на виментин было обнаружено, что этот белок присутствует во всех эпендимоцитах, образующих выстилку боковых и III желудочков, и части эндотелиоцитов кровеносных сосудов мозга. Реакция на виментин в эпендимоцитах была высокоинтенсивная, продукт реакции был распределен в цитоплазме клеток относительно равномерно. Как правило, все эпендимоциты располагались в один ряд и имели форму, близкую к кубической. От базальной части эпендимоцитов отходил один неветвящийся отросток. Отростки имели разнонаправленный ход и различную длину в зависимости от своего месторасположения в выстилке. Наибольшей длиной обладали отростки эпендимоцитов рядом с субвентрикулярной пролиферативной зоной. Они проникали глубоко в нейропилль, и часть из них заканчивалась в области кровеносных сосудов, где они принимали участие в формировании глиальной пограничной мембраны. Короткие отростки эпендимоцитов в дорзальной части боковых желудочков отходили под острым углом к выстилке, не проникали глубоко в ткань и контактировали друг с другом, образуя субэпендимные сплетения. На протяжении всей выстилки встречались участки уплощенной однослойной и многорядной эпендимы. Последние чаще всего располагались в нижней (вентральной) части латеральной стенки желудочка, реже — в средней части. Клетки эпендимы отличаются друг от друга длиной и направленностью отростков, что может быть связано с различными дополнительными функциями (кроме ЛЭБ) этих клеток в разных областях выстилки. Так, наличие у части эпендимоцитов достаточно длинных отростков, заканчивающихся на мелких кровеносных сосудах, сближает их с таницитами третьего мозгового желудочка [10] и делает участниками не только ликворэнцефалического, но и гематоэнцефалического барьера.

Ведущей популяцией субэпендимной зоны являются астроциты. Иммуногистохимическая реакция на GFAP показала, что плотность расположения этих клеток в субэпендимной зоне гораздо выше, чем в других областях мозга. Кроме того, GFAP-иммунопозитивные клетки в субвентрикулярной пролиферативной зоне имеют сложную форму, они отличаются от типичных астроцитов серого и белого вещества головного мозга [11]. Использование маркера щелевых контак-

тов коннексина 43 показало гетерогенность его распределения в эпендимоцитах и зависимость от области локализации клеток в выстилке. Многочисленные щелевые контакты наблюдали и на длинных отростках эпендимоцитов. По-видимому, с помощью этих контактов происходит не только согласование биения ресничек эпендимы, но и интеграция эпендимы с подлежащим слоем астроцитов. В субэпендимной зоне отростки астроцитов и эпендимоцитов переплетаются и между ними существуют многочисленные щелевые контакты, которые являются необходимыми для формирования панглиального синцития, отвечающего за транспорт воды и ионов через ЛЭБ [12].

До сих пор не решен вопрос и о тканевой идентичности клеток эпендимы. Некоторые авторы причисляют ее, по аналогии с эпителием сосудистого сплетения, к эпителиальным тканям. Однако в отличие от типичных эпителиальных тканей, эпендима не имеет базальной мембраны и напрямую контактирует с подлежащей нервной тканью. Этот вопрос удалось прояснить с помощью антител против коллагена IV типа, одного из компонентов базальной мембраны. Иммуногистохимическая реакция, поставленная на препаратах головного мозга малого суслика, показала отсутствие иммунопозитивных структур под эпендимой. Тогда как в области базальной мембраны сосудов и эпителия сосудистого сплетения регистрировали интенсивное окрашивание.

Еще одним важным компонентом ликворэнцефалического барьера являются резидентные макрофаги головного мозга: внутрижелудочковые макрофаги и субэпендимная микроглия. К внутрижелудочковым макрофагам относят клетки, которые находятся на поверхности сосудистого сплетения (клетки Колмера), клетки, перемещающиеся током ликвора в полости желудочка, и супраэпендимные макрофаги, имеющие тесный контакт с эпендимой [13]. Иммуногистохимическая реакция на белок Iba-1 хорошо выявляет все три популяции клеток. Субэпендимные микроглиоциты имели структурные особенности, отличающие их от других клеток рамнифицированной микроглии. Встречались две разновидности субэпендимных микроглиоцитов — веретеновидные и корзинчатые, а также присутствовали промежуточные формы [14]. Наибольшую концентрацию субэпендимной микроглии наблюдали в нижней части III желудочка. Веретеновидные микроглиоциты имели два главных отростка, вытянутых вдоль базальной части эпендимного пласта. От главных отростков в сторону просвета желудочка отходили тонкие неветвящиеся и разветвленные отростки, которые проникали между эпендимоцитами, достигая полости желудочка. В сторону окружающей нервной ткани отходили более тонкие и длинные разветвляющиеся отростки, имеющие изломанный ход. Корзинчатые микроглиоциты направляют свои немногочисленные и неветвящиеся толстые основные отростки в сторону полости желудочка. Отростки также проникают между эпендимными клетками. Отростки, проникающие между эпендимоцитами, имеют непосредственный контакт с СМЖ. Микроглия субэпендимной зоны реагирует как на прямое повреждение перивентрикулярных структур или эпендимы, так и на присутствие цитокинов в ЦСЖ [15]. На срезах супраэпендимные макрофаги имеют округлую форму, иногда с одним крупным отростком. Предполагается, что они выполняют те же функции на поверхности эпендимы, что и клетки Колмера на поверхности сосудистого сплетения [16].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют о том, что наряду с клетками эпендимы к структурам, образующими ЛЭБ на уровне выстилки мозговых желудочков, следует относить астроциты, клетки субэпендимной микроглии и супраэпендимные макрофаги. Отсутствие субэпендимной базальной мембраны и существование эпендимно-астроцитарных щелевых контактов обеспечивает интеграцию эпендимного и субэпендимного компартмента в единую тканеподобную систему и исключает возможность для рассмотрения эпендимы в качестве одного из вариантов эпителиальных тканей.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Del Bigio M. R.* Ependymal cells: biology and pathology. *Acta Neuropathol.* 2010; 119(1):55–73. DOI: 10.1007/s00401-009-0624-y
2. *Hamilton L. K., Truong M. K., Bednarczyk M. R., Aumont A., Fernandes K. J.* Cellular organization of the central canal ependymal zone, a niche of latent neural stem cells in the adult mammalian spinal cord. *Neuroscience.* 2009; 164(3):1044–1056. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2009.09.006
3. *Tumani H., Huss A., Bachhuber F.* The cerebrospinal fluid and barriers — anatomic and physiologic considerations. *Handb Clin Neurol.* 2017; 146:21–32. DOI: 10.1016/B978-0-12-804279-3.00002-2
4. *Cousins O., Hodges A., Schubert J.* et al. The blood-CSF-brain route of neurological disease: The indirect pathway into the brain. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2022; 48(4):e12789. DOI: 10.1111/nan.12789
5. *Johanson C. E., Duncan J. A. 3rd, Klinge P.M., Brinker T., Stopa E.G., Silverberg G.D.* Multiplicity of cerebrospinal fluid functions: New challenges in health and disease. *Cerebrospinal Fluid Res.* 2008; 5:10. DOI: 10.1186/1743-8454-5-10
6. *Jiménez A. J., Domínguez-Pinos M. D., Guerra M. M., Fernández-Llebrez P., Pérez-Fígares J. M.* Structure and function of the ependymal barrier and diseases associated with ependyma disruption. *Tissue Barriers.* 2014; 2:e28426. DOI: 10.4161/tisb.28426
7. *Spector R., Robert Snodgrass S., Johanson C. E.* A balanced view of the cerebrospinal fluid composition and functions: Focus on adult humans. *Exp Neurol.* 2015; 273:57–68. DOI: 10.1016/j.expneurol.2015.07.027
8. *Siyahhan B., Knobloch V., de Zélicourt D.* et al. Flow induced by ependymal cilia dominates near-wall cerebrospinal fluid dynamics in the lateral ventricles. *J R Soc Interface.* 2014; 11(94):20131189. DOI: 10.1098/rsif.2013.1189
9. *Kumar V., Umair Z., Kumar S., Goutam R.S., Park S., Kim J.* The regulatory roles of motile cilia in CSF circulation and hydrocephalus. *Fluids Barriers CNS.* 2021; 18(1):31. DOI: 10.1186/s12987-021-00265-0
10. *Bolborea M., Laran-Chich M. P., Rasri K.,* et al. Melatonin controls photoperiodic changes in tanycyte vimentin and neural cell adhesion molecule expression in the Djungarian hamster (*Phodopus sungorus*). *Endocrinology.* 2011; 152(10):3871–3883. DOI: 10.1210/en.2011-1039
11. *Коржевский Д. Э., Сухорукова Е. Г., Кирик О. В., Алексеева О. С.* Астроциты субвентрикулярной зоны конечного мозга // *Морфология.* — 2011. — Т. 139. — № 3. — С. 77–79.

12. *Rash J. E., Duffy H. S., Dudek F. E., Bilhartz B. L., Whalen L. R., Yasumura T.* Grid-mapped freeze-fracture analysis of gap junctions in gray and white matter of adult rat central nervous system, with evidence for a «panglial syncytium» that is not coupled to neurons. *J Comp Neurol.* 1997; 388(2):265–292. DOI: 10.1002/(sici)1096-9861(19971117)388:2<265::aid-cne6>3.0.co;2-#
13. *Ling E.A., Kaur C., Lu J.* Origin, nature, and some functional considerations of intraventricular macrophages, with special reference to the epilexus cells. *Microsc Res Tech.* 1998; 41(1):43–56. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0029(19980401)41:1<43::AID-JEMT5>3.0.CO;2-V
14. *Кирик О. В., Сухорукова Е. Г., Алексеева О. С., Коржевский Д. Э.* Субэпендимные микроглиоциты III желудочка головного мозга // *Морфология.* — 2014. — Т. 145. — № 2. — С. 67–69.
15. *Kong G. Y., Kristensson K., Bentivoglio M.* Reaction of mouse brain oligodendrocytes and their precursors, astrocytes and microglia, to proinflammatory mediators circulating in the cerebrospinal fluid, *Glia.* 2002; 37(3):191–205. DOI: 10.1002/glia.10030
16. *Коржевский Д. Э.* Сосудистое сплетение головного мозга и структурная организация гематоликворного барьера у человека // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.* — 2003. — Т. 2. — № 1(7). — С. 5–14.

УДК 611.892

*Колос Е. А., Яковлев В. С., Филиппов М. С.*

## **БЕЛОК ЩЕЛЕВЫХ КОНТАКТОВ КОННЕКСИН-43 В ГЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ЧУВСТВИТЕЛЬНОГО ГАНГЛИЯ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА**

*Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург,  
Российская Федерация*

---

*Аннотация.* Цель работы состояла в изучении распределения и локализации белка щелевых контактов коннексина-43 (Cx43) в клетках спинномозгового ганглия крысы на разных этапах постнатального онтогенеза: у новорожденных крыс, крыс в возрасте 4 месяцев и 18 месяцев. В работе использованы иммуногистохимические методы выявления Cx43, а также маркера глиоцитов — глутаминсинтетазы.

Полученные данные свидетельствуют о том, что коннексин-43-содержащие структуры присутствуют преимущественно в клетках-сателлитах новорожденных, молодых и стареющих животных. Показано, что бляшки белковых каналов, образованных белком Cx43, с возрастом становятся более многочисленными. Установленный факт увеличения числа Cx43-содержащих щелевых контактов в клетках-сателлитах после рождения может свидетельствовать об активации взаимодействия между глиальными клетками в чувствительных узлах крыс в постнатальном онтогенезе.

*Ключевые слова:* спинномозговой ганглий крысы, щелевые межклеточные контакты, коннексин-43, старение, иммуногистохимия.