

НЕЙРОТРАНСПЛАНТАЦИЯ И КЛЕТОЧНАЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКА

УДК 591.88:611.8.81

ОСОБЕННОСТИ ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ НЕЙРОНОВ В ИНТРАОКУЛЯРНЫХ ТРАНСПЛАНТАТАХ

© 2016 г. З. Н. Журавлева, С. С. Хуцянь*, Г. И. Журавлев*

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН

* Институт биофизики клетки РАН

142290 Пушкино, Московская область, ул. Институтская, д. 3

E-mail: zhuravleva@iteb.ru

Поступила в редакцию 10.06.2015 г.

Окончательный вариант получен 25.12.2015 г.

Изучали особенности нейрхимической дифференцировки нейронов в трансплантатах, развивающихся в передней камере глаза крыс. Для трансплантации использовали кусочки соматосенсорной области неокортекса, выделенные из 17-дневных плодов крыс породы Вистар. Через 6 месяцев проводили общий цитологический анализ и иммунохимическое выявление ГАМК-ергических нейронов в неокортикальных трансплантатах и в соответствующей области мозга крыс-реципиентов (контроль). В трансплантатах не выявлялась типичная для неокортекса цитоархитектоника. Кроме того, было обнаружено уменьшение (в 1.4 раза) числовой плотности всей популяции нейронов по сравнению с контролем. При этом доля ГАМК-ергических нервных клеток в трансплантированной ткани была снижена еще значительнее – в 13.1 раз. Размеры всех типов нейронов, и особенно ГАМК-ергических клеток, были больше в трансплантатах *in oculo* по сравнению с неокортексом *in situ*. Увеличение размеров происходило в большей степени за счет цитоплазмы. Так, ядра ГАМК-положительных нейронов в трансплантатах превосходили контрольные значения в 1.2 раза, а их перикарионы – в 1.5 раза. Полученные результаты показали, что условия в передней камере глаза наиболее драматически влияют на дифференцировку ГАМК-ергических нейронов и гипертрофия клеток, вероятно, является функциональной компенсацией на снижение их числа. Учитывая литературные данные о повышенной возбудимости и синхронизированной активности нейронов в интраокулярных трансплантатах, можно полагать, что такие трансплантаты можно использовать в качестве модели для изучения клеточных механизмов эпилептизации нервной ткани в условиях дефицита торможения.

Ключевые слова: интраокулярные нейротрансплантаты, неокортекс, нейроны, ГАМК иммуноцитохимия, количественный анализ, фенотипическая дифференцировка.

DOI: 10.7868/S0475145016030083

ВВЕДЕНИЕ

Передняя камера глаза (ПКГ) обладает достаточно высокой иммунной привилегированностью, что обеспечивает сохранение имплантированной в нее эмбриональной ткани в течение длительного времени, соизмеримого с жизнью экспериментального животного. Развивающаяся в ПКГ нервная ткань, прикрепляясь к радужной оболочке, получает из нее кровоснабжение и иннервацию (Zhuravleva et al., 1984; Adeghate, Donath, 2000; Журавлева, 2004; Журавлева, Косицын, 2009). Хорошему развитию трансплантатов *in oculo* способствует также наличие во внутриглазной жидкости переднего сегмента глаза большого набора ростовых факторов (Klenkler, Sheardown, 2004). Интраокулярная трансплантация нервной ткани широко применяется в экспериментальной нейробиологии для исследования структурных и функциональных закономерностей генеза различных мозговых структур. На

этой модели было изучено влияние на дифференцировку нервных и глиальных клеток биологически активных веществ и гуморальных факторов организма (Zhuravleva et al., 1997; Willis et al., 2010). Ранее мы показали, что в интраокулярных трансплантатах гиппокампа воспроизводится органотипическая цитоархитектоника ткани донора. Было также обнаружено соответствующее норме распределение возбуждающих и тормозных синапсов на сома-дендритной поверхности трансплантированных нейронов (Zhuravleva et al., 1986; Журавлева, 2004). В то же время в электрофизиологических исследованиях обнаружено, что нейроны в трансплантатах *in oculo* характеризуются повышенной возбудимостью и имеют тенденцию к синхронизации нейрональной активности (Брагин, Виноградова, 1983). Одной из возможных причин этого может быть нарушение нейромедиаторной спецификации нейронов, развивающихся в условиях анатомической изоляции от мозга. Целью

настоящей работы было изучение особенностей фенотипической дифференцировки нейронов в интраокулярных трансплантатах неокортекса. Для этого проводили количественный анализ нейронов, экспрессирующих гамма-аминомасляную кислоту (ГАМК), которая, как давно установлено, является тормозным нейромедиатором в центральной нервной системе млекопитающих (Krnjevic, 1970).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Работа была выполнена на крысах породы Вистар с соблюдением требований к экспериментальной работе с животными (ГОСТ Р ИСО 10993-2-2009 и правила Комиссии по биоэтике Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН). Материалом для трансплантации служили эмбриональные закладки соматосенсорного неокортекса, выделенные под стереомикроскопом из мозга 17-дневных плодов крыс. Для извлечения плодов самке-донору под глубоким нембуталовым наркозом (40 мг/кг) делали кесарево сечение. В качестве реципиентов использовали 5 половозрелых крыс-самцов той же породы. Трансплантацию в переднюю камеру глаза проводили под общим эфирным наркозом с дополнительной анестезией глаза путем закапывания 2% дикаина. Кусочек эмбрионального неокортекса помещали в переднюю камеру глаза через небольшой разрез в роговице с помощью пипетки Microman. Через 6 месяцев после трансплантации животных транскардиально перфузировали фиксирующим раствором (смесь 2.5% параформальдегида и 1% глутаральдегида на 0.1 М фосфатном буфере при pH 7.2). Затем трансплантаты, выделенные вместе с фрагментами радужной оболочки и роговицы, постфиксировали в 1% растворе четырехокси осмия и заливали в эпон 812. На ультрамикротоме из каждого блока через 50 мкм приготавливали пары полутонких срезов толщиной 1 мкм, один из которых окрашивали толуидиновым синим для рутинной гистологии, а следующий срез подвергали иммуноцитохимическому окрашиванию на ГАМК по методу Шомоды (Sotoguy et al., 1985). Удаление заливочной среды и четырехокси осмия производили последовательной обработкой срезов этанолом и периодатом натрия. Использовали коммерческие антитела к ГАМК (Sigma–Aldrich) в разведении 1 : 1000. Визуализацию комплекса антиген–антитело проводили с помощью пероксидазно–антипероксидазного (PAP) метода с последующей обработкой хромогенным субстратом 3,3'-диаминобензидин тетрагидрохлоридом (DAB). Аналогичные процедуры были выполнены для ткани соматосенсорной области неокортекса из мозга реципиента, использованной для контроля и сравнения с тканью интраокулярных трансплантатов.

Для количественной оценки плотности и размеров ГАМК-положительных (ГАМК+) и ГАМК-отрицательных (ГАМК–) клеток в трансплантатах и в контрольном неокортексе использовали компьютерную программу UTHSCSA Image Tool. Подсчет и измерение диаметров ядер и перикарионов производили на 10 случайно выбранных участках (200 × 200 мкм) каждого среза. Числовую плотность клеток в единице объема (1 мм³) вычисляли по формуле, предложенной Вайбел с соавторами для эллипсоидов: $N_v = (K/V) ((N_A)^{3/2}/V_V^{1/2})$, где N_v – общее число профилей ядер; N_A – число профилей ядер на единицу площади; V_V – объем изученной фракции; K и V – коэффициенты 1.05 и 1.39, которые представляют собой функции отношения осей эллипса (Weibel et al., 1966). Такой стереологический подход для подсчета клеток применялся нами ранее; в настоящей работе использованы некоторые цифровые данные из предыдущего исследования (Bragin et al., 1991). Достоверность различий полученных значений определяли по t -критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При микроскопическом изучении эмбриональной закладки неокортекса, выделенной из мозга 17-дневных эмбрионов и использованной в качестве донорского материала для трансплантации, было обнаружено, что она включает в себя большое количество слабо дифференцированных клеток. Их ламинарная организация в этот период только начинается, и кортикальную пластинку между вентрикулярной и маргинальной зоной можно было выделить лишь по более рыхлому расположению клеток. Среди множества клеточных предшественников распознать будущие нейроны или глиальные элементы также не представлялось возможным (рис. 1). Иммунохимическую идентификацию ГАМК-ергических клеток в донорской ткани в настоящей работе не проводили. Однако из других работ известно, что на этом сроке гестации в неокортикальном примордиуме присутствует большое количество ГАМК(+) клеточных элементов, преимущественно расположенных в маргинальном слое и на границе с кортикальной пластинкой (Bragin et al., 1991, 1993). Кроме того, показано, что в мозге 17-суточных эмбрионов продолжается тангенциальная миграция ГАМКергических предшественников вдоль маргинальной зоны, и в более глубокие слои неокортекса они мигрируют позже, в первые постнатальные дни и недели (Gao et al., 1999; Miyoshi, Fishell, 2011).

Предварительный визуальный анализ передней камеры глаза, произведенный сквозь прозрачную роговицу, показал наличие трансплантатов у всех пяти оперированных животных. Имплантированная ткань за 6 месяцев увеличилась

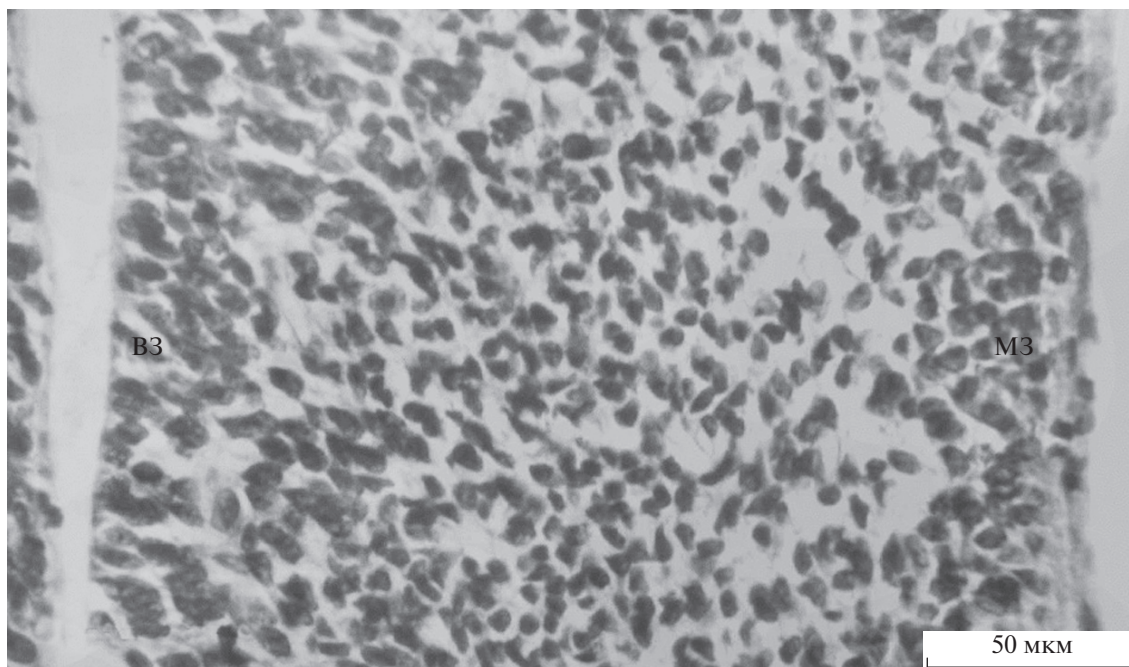


Рис. 1. Презумптивная соматосенсорная область неокортекса из эмбриона крысы на 17 день гестации, использованная в качестве донорской ткани для трансплантации. Слева – боковой желудочек мозга, справа – поверхность мозга. ВЗ – вентрикулярная зона; МЗ – маргинальная зона.

приблизительно вдвое. Трансплантаты располагались между роговицей и радужной оболочкой (рис. 2). На гистологических срезах, окрашенных толуидиновым синим, было видно, что нейроны имеют характеристики высоко дифференцированных клеток с типичными округлыми светлыми ядрами, яркими ядрышками и глыбками тигроидного вещества в цитоплазме. Однако в трансплантатах не формировалась типичная для неокортекса слоистая цитоархитектоника. Нейроны были диффузно распределены по ткани трансплантатов, образуя скопления в некоторых участках. Нарушением органотипической клеточной организации неокортикальные трансплантаты отличались от изученных нами ранее гиппокампальных трансплантатов, которые при развитии в передней камере глаза воспроизводили достаточно четкий слой пирамидных клеток (Zhuravleva et al., 1984; Журавлева, 2004). При подсчете нейронов/мм³ в интраокулярных трансплантатах и в контрольном неокортексе было обнаружено, что нейрональная плотность в трансплантированной ткани уступает контрольным значениям в 1.4 раза (соответственно, 33568 ± 5460 и 47313 ± 7920 ; $p \leq 0.001$). По-видимому, помимо высоких ростовых потенциалов эмбриональной ткани, хорошего кровоснабжения и обилия ростовых факторов в ПКГ, для развития и дифференцировки нейронов требуются и другие факторы, такие как соответствующее микроокружение и адекватная иннервация. Нарушение цитоархитектоники и снижение числа нейронов по отно-

шению к числу глиальных клеток отмечалось и в интрамозговых имплантатах неокортекса и предполагалось, что это происходит из-за элиминации части нейробластов в период адаптации к новым условиям в первые дни после пересадки (Александрова, 1998). Кроме того, есть данные, что плотность нейронов в трансплантатах находится в прямой зависимости от степени их интеграции с окружающим мозгом реципиента (Bragin et al., 1991).

После иммунохимического окрашивания на ГАМК как в нейротрансплантатах, так и в контрольном неокортексе были выявлены ГАМК-позитивные нейроны. Общая микроскопическая оценка препаратов показала, что ГАМК-ергических нейронов в интраокулярных трансплантатах значительно меньше, чем в интактной неокортикальной ткани (рис. 3, 4). Иммунореактивные нейроны имели овальную, мультиполярную или пирамидоподобную форму. Метка коричневого цвета была гомогенно распределена по всему клеточному телу, однако ядра выглядели несколько светлее, а ядрышки оставались иммунонегативными. В план среза некоторых нейрональных перикарионов входили позитивно окрашенные нервные отростки (рис. 5). Кроме того, на срезах были видны ГАМК(+) фрагменты отростков, перерезанные в разных направлениях. При малом увеличении они выглядели как точечные включения или прерывистые и изогнутые линии. Яркие иммунопозитивные вкрапления также обнаруживались на

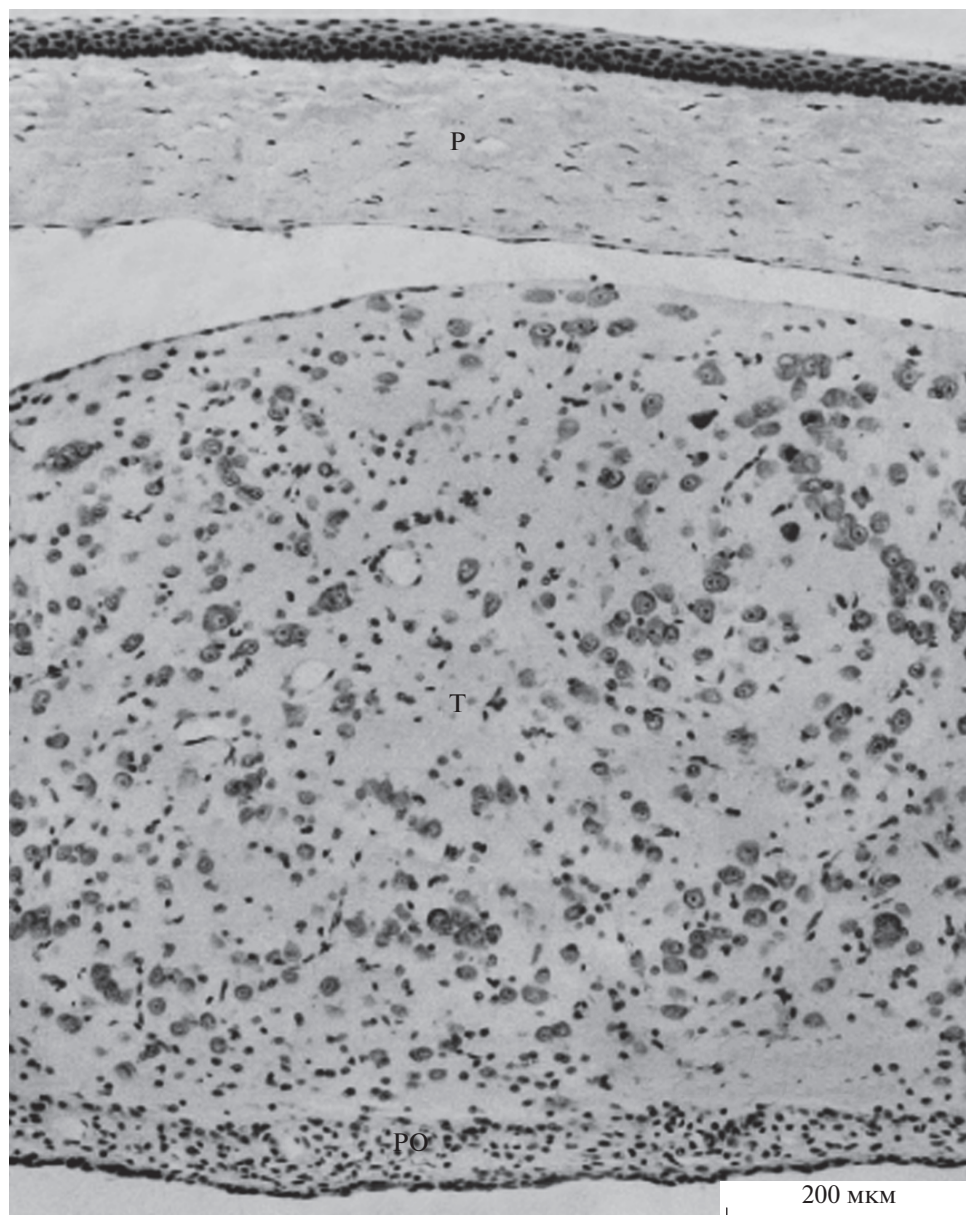


Рис. 2. Гистологический срез через трансплантат соматосенсорной области неокортекса (Т), развивающийся в передней камере глаза крыс. Р – роговица; РО – радужная оболочка.

поверхности ГАМК(–) нервных клеток и их дендритов. По-видимому, ГАМК(+) микроструктуры в виде точек могут представлять собой синаптические окончания тормозных интернейронов. Интенсивность реакции в разных ГАМК-ергических нейронах несколько варьировала, что, по-видимому, было следствием их разного биохимического или функционального состояния. Известно, что в процессе развития мозга, а также при пластических и некоторых патологических состояниях биосинтез ГАМК в нейронах может изменяться за счет активации альтернативных изоформ синтезирующих ферментов (Popp et al.,

2009). Временное прекращение или изменение уровня экспрессии ферментов, участвующих в метаболизме трансммиттеров, отмечалось также в других нейромедиаторных системах, например, при повреждении аксонов холинергических нейронов (Lams et al., 1988).

Количественный анализ подтвердил микроскопические наблюдения. Если числовая плотность ГАМК(+) нейронов/мм³ в норме достигала 5605 ± 1353 , то в трансплантатах она была лишь 296 ± 96 ($p \leq 0.0001$). Расчеты показали, что доля ГАМК-ергических нейронов в общей популяции нервных клеток составляла 11.8% в контроле, то-

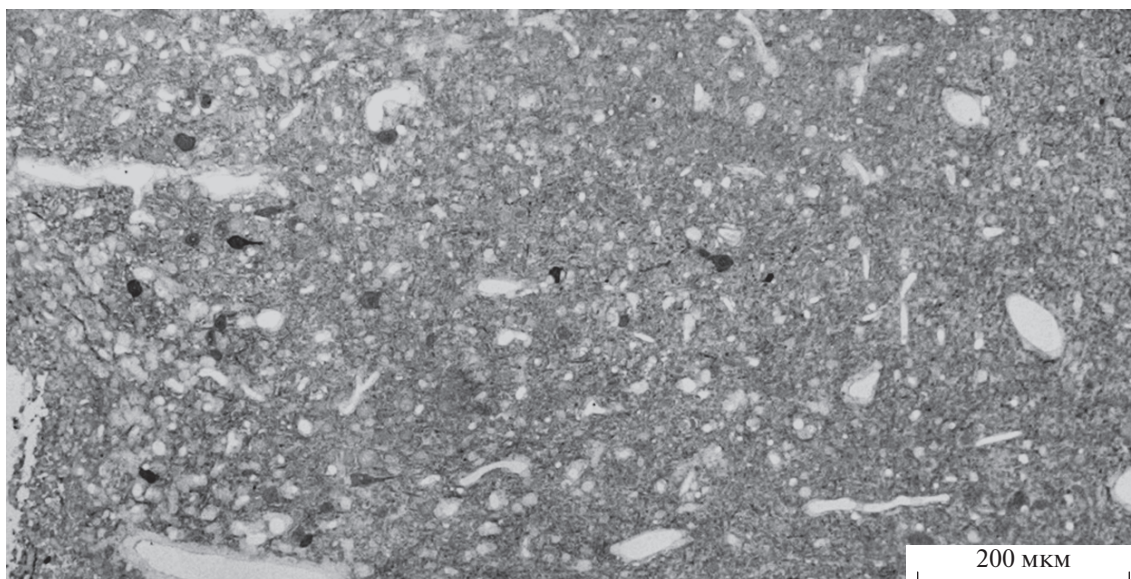


Рис. 3. Общий вид ткани интраокулярного трансплантата после проведения иммунохимической реакции на ГАМК.

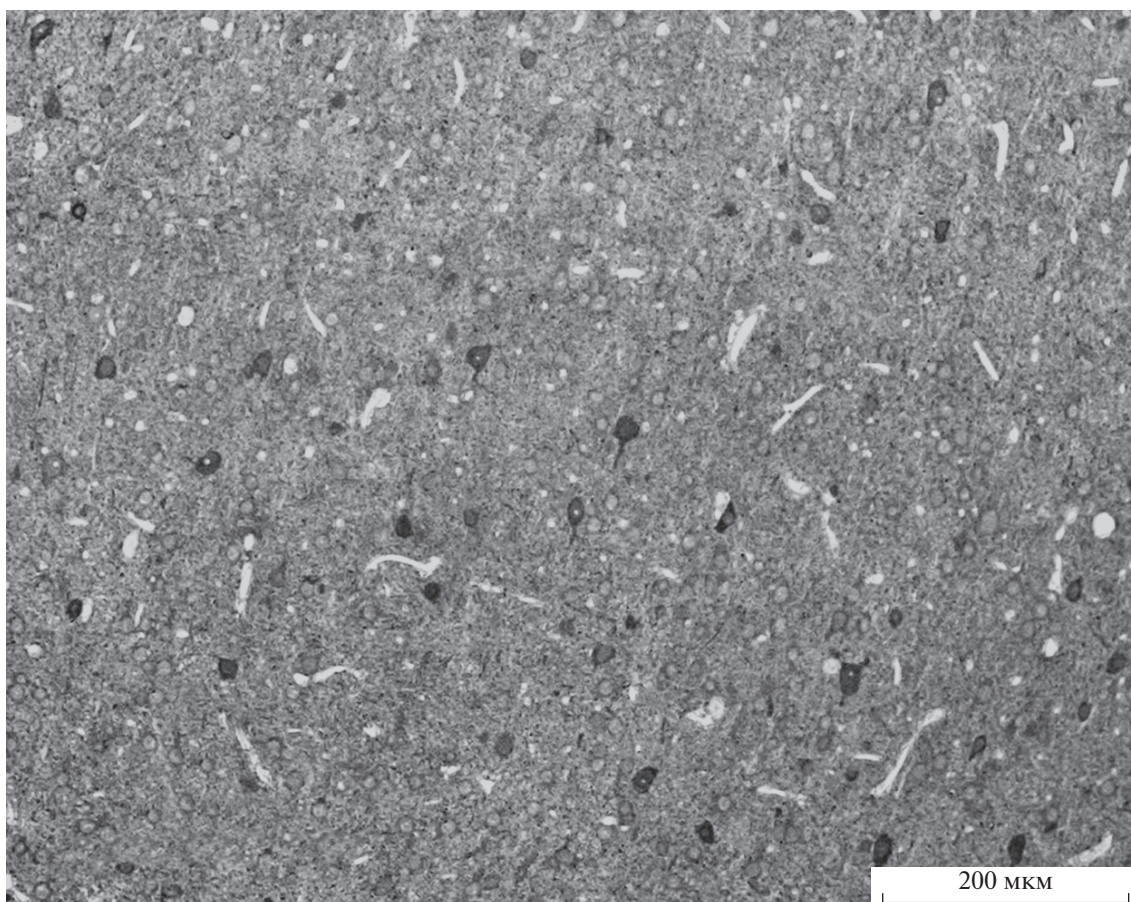


Рис. 4. ГАМК-иммунохимическое окрашивание соматосенсорной области неокортекса в мозге реципиента.

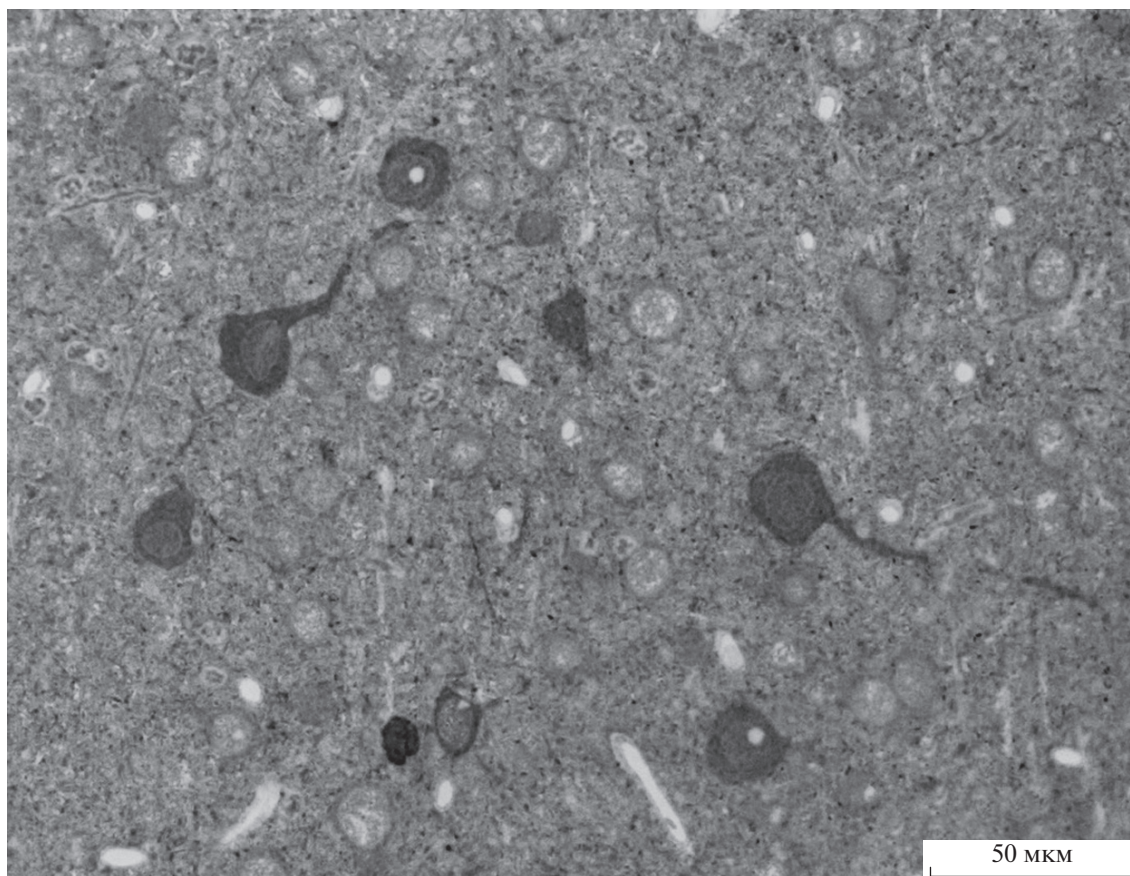


Рис. 5. Группа ГАМК-иммунопозитивных нейронов и их отростков. Видны ГАМК-положительные точечные включения на поверхности ГАМК-негативных перикарионов.

гда как в ткани *in oculo* она была равна 0.9% (снижение в 13.1 раз). Таким образом, хотя количество ГАМК-отрицательных нейронов в единице объема интраокулярных трансплантатов также было уменьшено (от 41708 ± 7816 до 33272 ± 5428 в 1 мм^3 ; при $p \leq 0.05$), основное снижение числа нейрональной популяции происходило за счет ГАМК-содержащих клеток. Уменьшение числовой плотности ГАМК-иммунореактивных нейронов наблюдали также другие авторы в неокортикальных трансплантатах, развивающихся в мозге. При этом была выявлена положительная корреляция экспрессии реакционного продукта и интеграции трансплантатов с мозгом реципиента (Bragin et al., 1991; Александрова и др., 1997).

При сравнительном морфометрическом изучении ГАМК(+) и ГАМК(-) нейронов было обнаружено увеличение размеров обоих фенотипических типов нейронов, и это увеличение происходило преимущественно за счет цитоплазмы. Если диаметр ядер тех и других нервных клеток в ткани *in oculo* в среднем был в 1.2 раза больше, то размеры перикарионов в трансплантатах превосходили контрольные значения в 1.4 раза. Сопоставление изменения размеров нейронов разной

медиаторной специфичности показало, что большее расширение цитоплазмы претерпевали ГАМК-ергические клетки. Из результатов измерений следует, что средний диаметр их ядер возрастал при трансплантации в той же пропорции, что и ГАМК(-) нейронов, а именно, с 9.5 ± 1.5 до $11.8 \pm 2.3 \text{ мкм}$ ($p \leq 0.05$), в то время как поперечник нейрональных сом ГАМК(+) нейронов был увеличен в 1.5 раза (с 16.7 ± 1.6 до $25.3 \pm 2.0 \text{ мкм}$; $p \leq 0.005$). Гипертрофия нейронов в интраокулярных трансплантатах, особенно ГАМК-синтезирующих клеток, по сравнению с нейронами в контрольном неокортексе, вероятно, является функциональной компенсацией на снижение их числа.

Значительная редукция числа ГАМК(+) клеток в интраокулярных нейротрансплантатах, несомненно, отражается на функционировании сформированных в них нейрональных сетей. ГАМК-содержащие клетки в неокортексе являются тормозными интернейронами. По данным литературы в разных отделах мозга грызунов они составляют 10–25% от всех нервных клеток, что гарантирует физиологический баланс между возбуждением и торможением (Krnjevich, 1970; Markram, 2004). Однако в мозге больных эпилеп-

сией и животных с экспериментально вызванными судорогами обнаружено резкое падение числа тормозных нейронов, что сопровождается компенсаторным усилением нейротрансдачи в тормозных синаптических окончаниях (Sperk et al., 2004). Есть данные, что к снижению ГАМК также приводит частичная деафферентация соматосенсорной коры (Garraghty et al., 1991). По-видимому, аналогичные процессы происходят в изученных нами интраокулярных трансплантатах, где нейроны дифференцируются при отсутствии естественных для них афферентных и эфферентных влияний мозга. Вместе с тем, значительно худшее выживание ГАМК(+) нейронов по сравнению с ГАМК(-) нейронами было обнаружено и в интраокулярных трансплантатах. Причем эта диспропорция возрастала по мере увеличения возраста нейротрансплантата от начала операции трансплантации до 90 дней (Bragin et al., 1993).

Драматическое снижение ГАМК-ергических нейронов в интраокулярных трансплантатах неокортекса указывает на то, что нейротрансплантаты *in oculo* могут быть удобной моделью для изучения особенностей функционирования нейрональных сетей в условиях дефицита торможения, которое, например, складывается при эпилептогенезе. Такое предположение находится в согласии с упомянутыми выше литературными данными о повышенной возбудимости и склонности к синхронизации активности нейронов, развивающихся в ПКГ (Брагин, Виноградова, 1983).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное микроскопическое и иммунохимическое исследование показало, что при трансплантации эмбриональной закладки соматосенсорной области неокортекса в ПКГ предшественники нервных клеток не отторгаются, продолжают дифференцировку и приобретают микроскопические характеристики зрелых нейронов. Вместе с тем, эктопическое положение трансплантированной ткани приводит к дезорганизации цитоархитектоники и уменьшению числовой плотности нейронов. Наиболее значимое снижение было обнаружено в популяции тормозных ГАМК-ергических клеток. Таким образом, на примере интраокулярных трансплантатов показано, что неадекватное тканевое микроокружение и дефицит нормальных функциональных влияний со стороны нервной системы могут приводить к дисбалансу тормозных и возбуждающих процессов в трансплантированной ткани и образованию фокусов патологической активности. Это обстоятельство необходимо учитывать при использовании трансплантации для компенсации неврологических нарушений.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты № 12-04-00812 и 15-04-05463).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Александрова М.А. Дифференцировка эмбрионального неокортекса при трансплантации у крыс // Бюлл. экпер. биол. мед. 1998. Т. 126. № 1. Прилож. С. 88–92.
- Александрова М.А., Гирман С.В., Ревущин А.В. Экспрессия кальций-связывающих белков парвальбумина и кальбиндина в нейронах неокортикальных трансплантатов // Доклады РАН. 1997. Т. 355. № 1. С. 130–133.
- Брагин А.Г., Виноградова О.С. Активность нейронов септум и гиппокамп, трансплантированных в переднюю камеру глаза крысы // Журн. высш. нервн. деят. 1983. Т. 33. № 4. С. 708–716.
- Журавлева З.Н. Гиппокамп и нейротрансплантация // Журн. высш. нервн. деят. 2004. Т. 54. № 2. С. 149–162.
- Журавлева З.Н., Косицын Н.С. Морфофункциональные взаимодействия периферических нервных волокон радужки с нейронами, развивающимися в передней камере глаза крысы // Морфология. 2009. Т. 135. № 3. С. 41–46.
- Adeghate E., Donáth T. Transplantation of tissue grafts into the anterior eye chamber: a method to study intrinsic neurons // Brain Res. Protoc. 2000. V. 6. № 1–2. P. 33–39.
- Bragin A., Takács J., Zhuravleva Z. et al. Number of GABA-immunopositive and GABA-immunonegative neurons in various types of neocortical transplants // Exp. Brain Res. 1991. V. 85. № 1. P. 114–128.
- Bragin A., Takács J., Vinogradova O. et al. Age-related loss of GABA-negative neurons in neocortical transplants // J. Neural. Transpl. Plast. 1993. V. 4. № 1. P. 53–59.
- Gao W.J., Newman D.E., Wormington A.B. et al. Development of inhibitory circuitry in visual and auditory cortex of postnatal ferrets: immunocytochemical localization of GABAergic neurons // J. Comp. Neurol. 1999. V. 409. № 2. P. 261–273.
- Garraghty P.E., La Chica E.A., Kaas J.H. Injury-induced reorganization of somatosensory cortex is accompanied by reductions in GABA staining // Somatosens. Mot. Res. 1991. V. 8. № 4. P. 347–354.
- Klenkler B., Sheardown H. Growth factors in the anterior segment: role in tissue maintenance, wound healing and ocular pathology // Exp. Eye Res. 2004. V. 79. № 5. P. 677–688.
- Krnjevic K. Glutamate and gamma-aminobutyric acid in brain // Nature. 1970. V. 228. № 5267. P. 119–124.
- Lams B.E., Isacson O., Sofroniew M.V. Loss of transmitter-associated enzyme staining following axotomy does not indicate death of brainstem cholinergic neurons // Brain Res. 1988. V. 475. № 2. P. 401–406.
- Markram H., Toledo-Rodriguez M., Wang Y. et al. Interneurons of the neocortical inhibitory system // Nat. Rev. Neurosci. 2004. V. 5. № 10. P. 793–807.
- Miyoshi G., Fishell G. GABAergic interneuron lineages selectively sort into specific cortical layers during early postnatal development // Cereb. Cortex. 2011. V. 21. № 4. P. 845–852.
- Popp A., Urbach A., Witte O.W. et al. Adult and embryonic GAD transcripts are spatiotemporally regulated during postnatal development in the rat brain // PLoS One. 2009. V. 4. № 2: e4371. doi: 10.1371/journal.pone.0004371

- Somogyi P., Hodgson A.J., Chubb I.W. et al.* Antisera to γ -aminobutyric acid. II. Immunocytochemical application to the central nervous system // *J. Histochem. Cytochem.* 1985. V. 33. № 3. P. 240–248.
- Sperk G., Furtinger S., Schwarzer C. et al.* GABA and its receptors in epilepsy // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2004. V. 548. P. 92–103.
- Weibel E.R., Kistler G.S., Scherle W.F.* Practical stereological methods for morphometric cytology // *J. Cell Biol.* 1966. V. 30. № 1. P. 23–38.
- Willis L.M., Freeman L., Bickford P.C.* Blueberry supplementation attenuates microglial activation in hippocampal intraocular grafts to aged hosts // *Glia.* 2010. V. 58. № 6. P. 679–690.
- Zhuravleva Z.N., Bragin A.G., Vinogradova O.S.* Organization of the nervous tissue (hippocampus and septum) developing in the anterior eye chamber. I. General characteristic and non-neural elements // *J. Hirnforsch.* 1984. Bd. 25. № 3. S. 313–330.
- Zhuravleva Z.N., Bragin A.G., Vinogradova O.S.* Organization of the nervous tissue (hippocampus and septum) developing in the anterior eye chamber. III. Axonal processes and their synaptic endings // *J. Hirnforsch.* 1986. Bd. 27. № 3. P. 323–341.
- Zhuravleva Z.N., Saifullina V.N., Zenchenko C.I.* Morphometric analysis of the hippocampal neurons in the grafts developing in the anterior eye chamber of the young and aged rats // *J. Neural. Transpl. Plast.* 1997. V. 6. № 1. P. 49–57.

Phenotypic Differentiation of Neurons in Intraocular Transplants

Z. N. Zhuravleva^a, S. S. Hutsyan^b, and G. I. Zhuravlev^b

^a *Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, ul. Institutskaya 3, Pushchino, Moscow oblast, 142290 Russia*

^b *Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, ul. Institutskaya 3, Pushchino, Moscow oblast, 142290 Russia*
e-mail: zhuravleva@iteb.ru

Received June 10, 2015; in final form, December 25, 2015

Abstract—Neurochemical differentiation of neurons in transplants developing in rat anterior chamber was studied. Pieces of the somatosensory neocortex area, isolated from 17-day fetuses of Wistar rats, were used for the transplantation. The general cytological analysis and immunochemical identification of GABAergic neurons in neocortical transplants and in the appropriate brain area of the recipient rats (control) were carried out after 6 months. Cytoarchitectonics typical for neocortex was not revealed in the transplants. Furthermore, a 1.4-fold decrease in numerical density of the entire neuron population was found compared to the control. The proportion of GABAergic nerve cells in the transplanted tissue was reduced even more dramatically—by 13.1 times. The dimensions of all types of neurons, especially GABAergic cells, were greater in the transplants in oculo compared to neocortex in situ. The increase in size occurred mostly due to the cytoplasm. Thus, the nuclei of GABA-positive neurons in the transplants were larger by 1.2 times compared to the control and their perikarya were larger by 1.5 times. The obtained results showed that the conditions in the ocular anterior chamber the most dramatically affect the differentiation of GABAergic neurons, and cell hypertrophy, probably, is the functional compensation of the decrease in their number. Considering the literature data on the increased excitability and synchronized neuronal activity in the intraocular transplants, it can be assumed that these transplants can be used as a model for studying the cellular mechanisms of nervous tissue epileptization under disinhibition conditions.

Keywords: intraocular neurotransplants, neocortex, neurons, GABA immunocytochemistry, quantitative analysis, phenotypic differentiation