

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ  
РАБОТЫ

УДК 612.82, 612.43

ЭКСПРЕССИЯ ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В РАЗЛИЧНЫХ  
ТИПАХ КЛЕТОК ГИППОКАМПА И КОРЫ НЕОНАТАЛЬНЫХ КРЫС

© 2024 г. Д. А. Ланшаков<sup>1, 2, \*</sup>, У. С. Дрозд<sup>1, 2</sup>, Н. Н. Дыгало<sup>2, 3</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, сектор постгеномной нейробиологии, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Новосибирский государственный университет, факультет естественных наук, Новосибирск, Россия

<sup>3</sup>ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, лаборатория функциональной нейрогеномики, Новосибирск, Россия

\*E-mail: lanshakov@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 22.04.2024 г.

После доработки 02.07.2024 г.

Принята к публикации 08.07.2024 г.

Глюкокортикоиды (ГК) являются критически важными регуляторами гомеостаза и функций организма. Несмотря на серьезные последствия, терапия глюкокортикоидами у новорожденных широко используется антенатально для ускорения созревания легких плода в случаях преждевременных родов. Действие ГК опосредуется через рецепторы глюкокортикоидов (ГР) – лиганд-зависимые транскрипционные факторы. Многие известно об экспрессии ГР во взрослом мозге, однако, информации о специфичности и идентичности клеток, в которых экспрессируются ГР в неонатальном мозге, не так много. В этой работе мы исследовали колокализацию ГР с основными маркерами нейронов и астроцитов в мозге новорожденных крысят. Иммуногистохимически мы выявили в поле СА1 гиппокампа и энторинальной коре экспрессию ГР и маркеров кортикальных проекционных нейронов – SATB2 и NURR1; маркеров интернейронов – кальретенина и маркеров астроцитов – GFAP. Самые высокие коэффициенты колокализации наблюдались у ГР с кальретенином. С маркером проекционных нейронов, который также является фактором транскрипции, коэффициенты колокализации увеличивались до тех же значений, что и для ГР с кальретенином, через 6 ч после инъекции дексаметазона, когда ГР транслоцировались в ядро. Таким образом, анализ показал, что в мозге неонатальных крысят ГР больше локализован в нейронах, чем в астроцитах.

*Ключевые слова:* рецепторы глюкокортикоидов, маркеры клеточных типов, развитие, гиппокамп, неокортекс

DOI: 10.31857/S1027813324030055, EDN: EQJVXP

ВВЕДЕНИЕ

Глюкокортикоиды (ГК) регулируют множество физиологических функций и необходимы для созревания, развития, метаболизма и выживания эмбриона [1]. Кортикостероиды синтезируются в коре надпочечников и секретируются в кровь, что позволяет им оказывать влияние на различные типы клеток по всему телу, включая центральную нервную систему (ЦНС) [2]. Они играют ключевую роль в ответе на стрессор и регуляции гипоталамо-гипофизарной оси. ГК осуществляют свое действие через рецепторы глюкокортикоидов (ГР) – лиганд-зависимые факторы транскрипции [3–4]. Большие дозы глюкокортикоидов используются в перинатальной медицине для ускорения созревания легких у плода, когда у женщины имеется риск преждевременных родов [5, 6], в это время развивающаяся нервная система особенно уязвима для

различных воздействий [7]. В неонатальном мозге ГК вызывают апоптоз нейронов и их предшественников [8]. Воздействие ГК в перинатальном периоде оказывает негативное влияние на дальнейшее развитие нервной системы и вызывает нарушения в поведении [9–11]. Функции гиппокампа особенно подвержены влиянию ГК, поскольку ГР в большей степени экспрессируются в этой структуре мозга [12]. У взрослых животных ГК путем острой модуляции возбудимости нейронов и прямого изменения экспрессии генов через действие ГР могут влиять на пространственную и рабочую память и реакцию на новизну [13, 14].

Для более полного понимания возможных последствий воздействия ГК на развивающуюся нервную систему важно знать, в клеточных типах какой специфичности и идентичности ГР экспрессируются в неонатальном мозге. Их действие

в неонатальном мозге до сих пор остается не вполне ясным ввиду разницы между активируемыми ГК сигнальными путями и их функциями у взрослых и в неонатальном возрасте.

В этой работе мы иммуногистохимически выявляли экспрессию ГР и ключевых маркеров клеточных типов ЦНС. Мы исследовали экспрессию ГР у неонатальных крысят в поле СА1 гиппокампа и энторинальной коре – областях наибольшей экспрессии ГР. Эти структуры мозга принимают критически важное участие в формировании стресс-реактивности, памяти и мышления у взрослых. В энторинальной коре исследовалась колокализация ГР с маркерами нейронов верхних слоев коры SATB2, нейронов субплатинки NURR1, астроцитов GFAP и интернейронов кальретинином (CALRET), в области СА1 гиппокампа только с GFAP и кальретинином.

Подробная информация о типах клеток, в которых экспрессируются ГР, поможет пролить свет на механизмы действия ГК в неонатальном мозге. Кроме того, эти результаты могут помочь будущей разработке методов снижения негативных побочных эффектов неонатальной глюкокортикоидной терапии.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Животные и дизайн эксперимента.** Все процедуры с животными проводились в соответствии с Международными Европейскими Биоэтическими стандартами (Директива ЕС 2010/63/EU), Российскими правилами работы над лабораторными животными (приказ № 199N от 1 апреля 2016) и были разрешены биоэтическим комитетом ИЦиГ СО РАН (протокол № 19 от 26.11.2013). Беременные самки крыс линии Wistar содержались в виварии ИЦиГ СО РАН индивидуально в клетках (40 см × 25 см × 15 см) в условиях свободного доступа к воде и корму, при температуре 22–24°C. Первым днем жизни крысят считали день рождения. Для эксперимента использовали по 4 животных обоих полов в группе. 0.2 мг/кг фосфата дексаметазона (DEX, KRKA Словения) вводили подкожно на третий день жизни, материал забирала через 6 часов. Схема эксперимента приведена на рис. 1.

**Иммуногистохимия.** В послеродовый день 3 животных наркотизировали авертином и транскардиально перфузировали 0.01 М PBS, затем 4% PFA. Извлеченный мозг постфиксировали 12 часов в 4% PFA, затем сутки в 30% сахарозе, после чего замораживали в OCT при температуре –80°C. Для иммуногистохимического анализа готовились срезы толщиной 18 мкм при помощи криотомы MICRON HM 550 и размещались на стеклах Superfrost. Срезы промывали в 1xPBS, затем в 1xPBS с 0.1% Tween-20 (1xPBST).

Неспецифическое связывание блокировали инкубацией в 1xPBST, содержащем 1.5 % BSA, в течение часа при комнатной температуре. С первичными антителами срезы инкубировали в течение ночи при температуре +4°C. Антитела разводили в 1xPBST, содержащем 1.5 % BSA в разведении 1:200 (anti SATB2 sc-81376, anti NURR1 sc-376984, anti GR sc-8992, anti CALRETHENIN, Santa Cruz США). После инкубации с первичными антителами срезы промывали в PBST, затем в PBS и инкубировали с вторичными антителами (donkey anti mouse Alexa 568, Jackson immuno США для маркеров клеточных типов, donkey anti rabbit Alexa 488, Jackson immuno США для ГР) в разведении 1:400 в течение 1 часа при комнатной температуре. Затем промывали в 1xPBS и заключали в среду, содержащую ядерный краситель DAPI (Mowiol, 2.5% DABCO, 1 µg/ml DAPI Sigma Aldrich США) и хранили защищенными от света при +4°C.

**Микроскопия.** Препараты фотографировали с помощью конфокального микроскопа LSM780NLO (“Carl Zeiss”, Германия) с использованием 488 нм, 561 нм и 405 нм лазеров. Панорамные изображения всего мозга были получены с использованием сканирующего режима мозаики. Изображения для анализа колокализации были получены при помощи объектива с высокой числовой апертурой и 40-кратным увеличением (EC Plan NEOFLUAR 40x/1.3 Oil DIC). Параметры колокализации (коэффициент корреляции Пирсона, коэффициент перекрытия Мандерса, взвешенные коэффициенты колокализации tM1 и tM2)

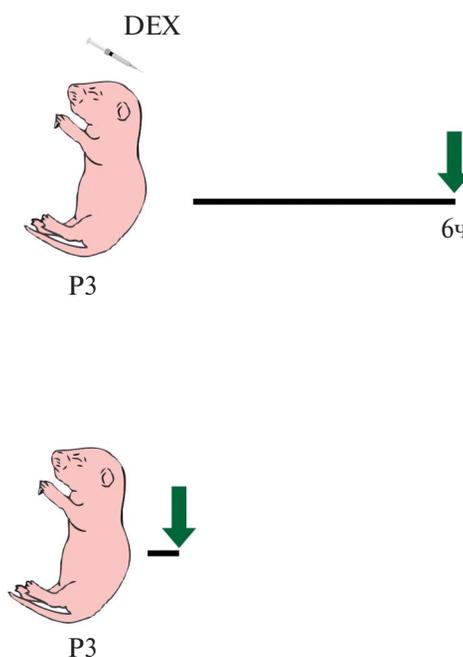


Рис. 1. Схема эксперимента. Стрелкой обозначен забор материала.

определяли в программе ZEN при помощи панели инструментов колокализации. Коэффициент Пирсона отражает корреляцию значений интенсивности сигналов и изменяется от  $-1$  до  $1$ . Коэффициент перекрытия Мандерса показывает общую колокализацию и изменяется от  $0$  до  $1$ . Дробные коэффициенты колокализации tM1 и tM2 показывают, какая часть пикселей других каналов локализована в области пикселей первого канала. tM1 отражает часть красных пикселей в зеленой области, и, наоборот, tM2 указывает часть зеленых пикселей в красной области [15–19]. Всего было проанализировано 10 изображений на одно животное.

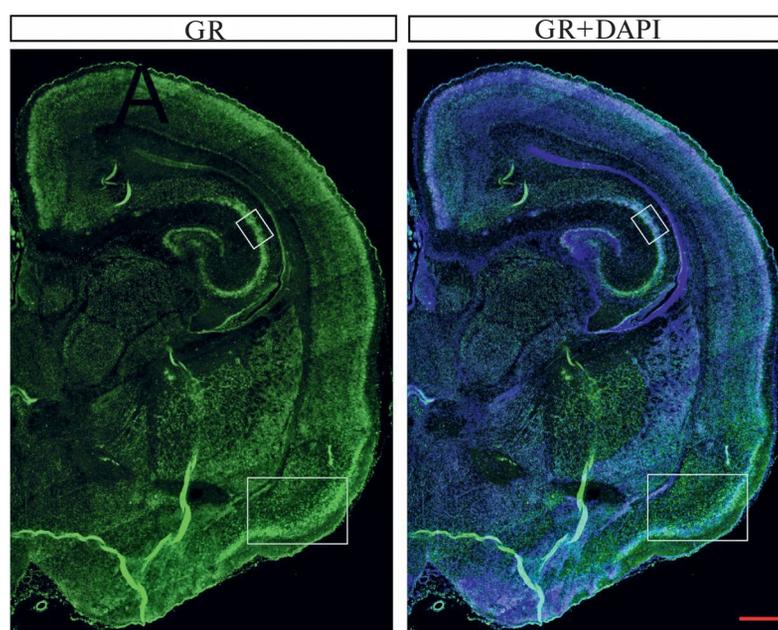
**Статистический анализ.** Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения STATISTICA 6.0. Коэффициенты перекрытия анализировались с использованием однофакторного дисперсионного анализа. Статистически значимыми считали изменения при  $p < 0.05$ . Межгрупповые различия были проанализированы с использованием апостериорного анализа по Фишеру.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

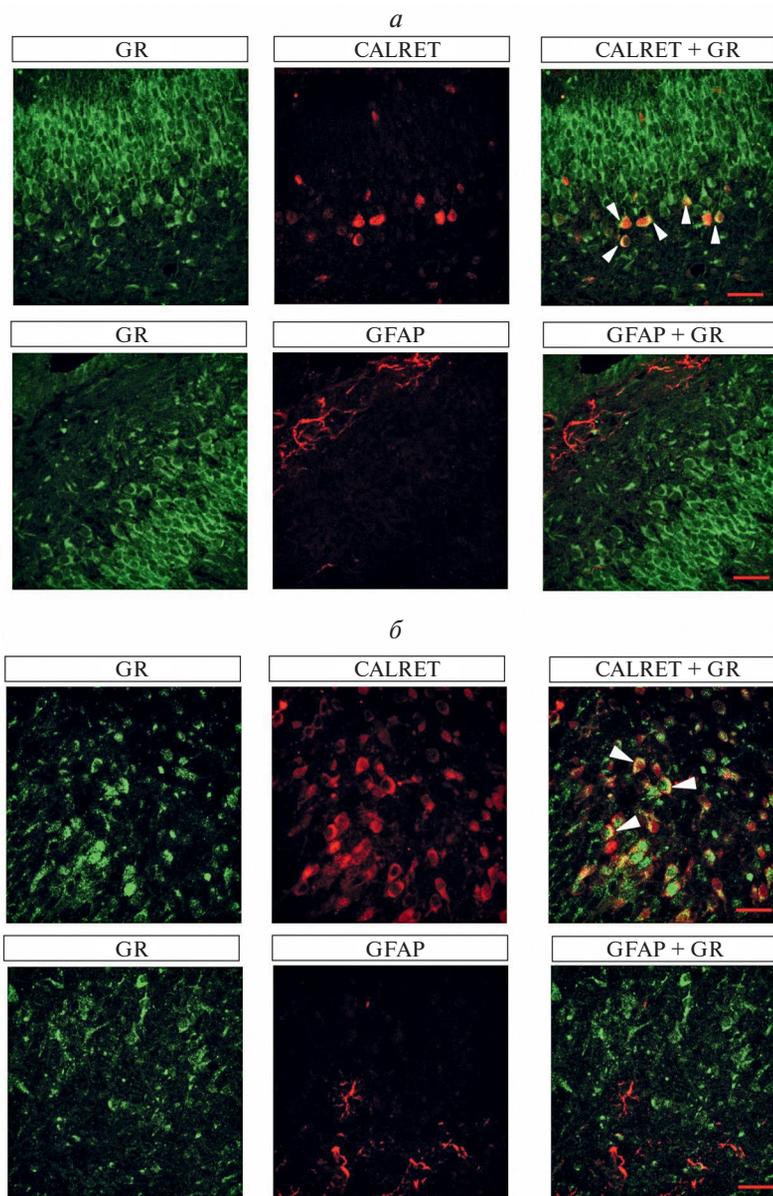
**Экспрессия ГР и маркеров клеточных типов в мозге неонатальных крысят.** В конечном мозге новорожденных крыс, как и ожидалось, наибольшее мечение ГР было обнаружено в поле CA1 гиппокампа (рис. 2). Умеренное окрашивание ГР наблюдалось в энторинальной коре. Цитоплазматические маркеры клеточных типов, такие как

специфичный для интернейронов кальретенин (CALRET) или глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP), экспрессируемый астроцитами, хорошо выявлялся в гиппокампе и коре головного мозга новорожденных крыс. Другие маркеры клеточных типов, локализованные в ядре, – родственный ядерному рецептору белок 1 (NURR1), постнатальный маркер клеток кортикальной субпластинки, а также SATB2, экспрессирующийся в верхних слоях развивающейся неокортекса, хорошо выявлялись в этих областях мозга 3-дневных крысят.

**Колокализация ГР с цитоплазматическими маркерами клеточных типов.** Иммунореактивность ГР была наиболее распространена в цитоплазме клеток гиппокампа и коры. Это наблюдение было подтверждено анализом колокализации ГР с цитоплазматическим белком, используемым в качестве маркера интернейронов – CALRET (рис. 3а-б; табл. 1). Более 50% иммуногистохимических сигналов GR колокализовались с сигналами CALRET в поле CA1 гиппокампа, а также в энторинальной коре. Высокий уровень экспрессии ГР был специфичен для нейронов этих участков мозга. Колокализация иммуногистохимических сигналов ГР с астроцитарным маркером GFAP была значительно ниже, чем с маркером интернейронов CALRET. В энторинальной коре и гиппокампе коэффициенты Мандерса (MOC) и коэффициент корреляции Пирсона ( $R_p$ ), как и коэффициент фракционного перекрытия tM2, были значительно выше для ГР с кальретенином, чем для ГР с GFAP



**Рис. 2.** Экспрессия ГР в мозге неонатальных крысят на 3 день жизни. ГР – зеленый, Alexa 488. На панорамных изображениях окрашивания по ГР (1А) область CA1 гиппокампа и энторинальная кора отмечены белыми рамками. Шкала 500 мкм.



**Рис. 3.** Изображения двойного иммунофлуоресцентного окрашивания ГР (зеленый, Alexa 488) и маркеров клеточных типов (красный, Alexa 568), снятые при помощи объектива с высокой числовой апертурой и 40-кратным увеличением в области CA1 гиппокампа (*а*) и энторинальной коре (*б*). Места колокализации отмечены белыми треугольниками. Шкала 50 мкм.

(MOC:  $F(7,28)=26.052$ ; Rp:  $F(7,28)=6.9548$ ; tM1:  $F(7,28)=7.8681$ ; tM2:  $F(7,28)=20.551$ ). Сигналы ГР и GFAP в основном не были колокализованы.

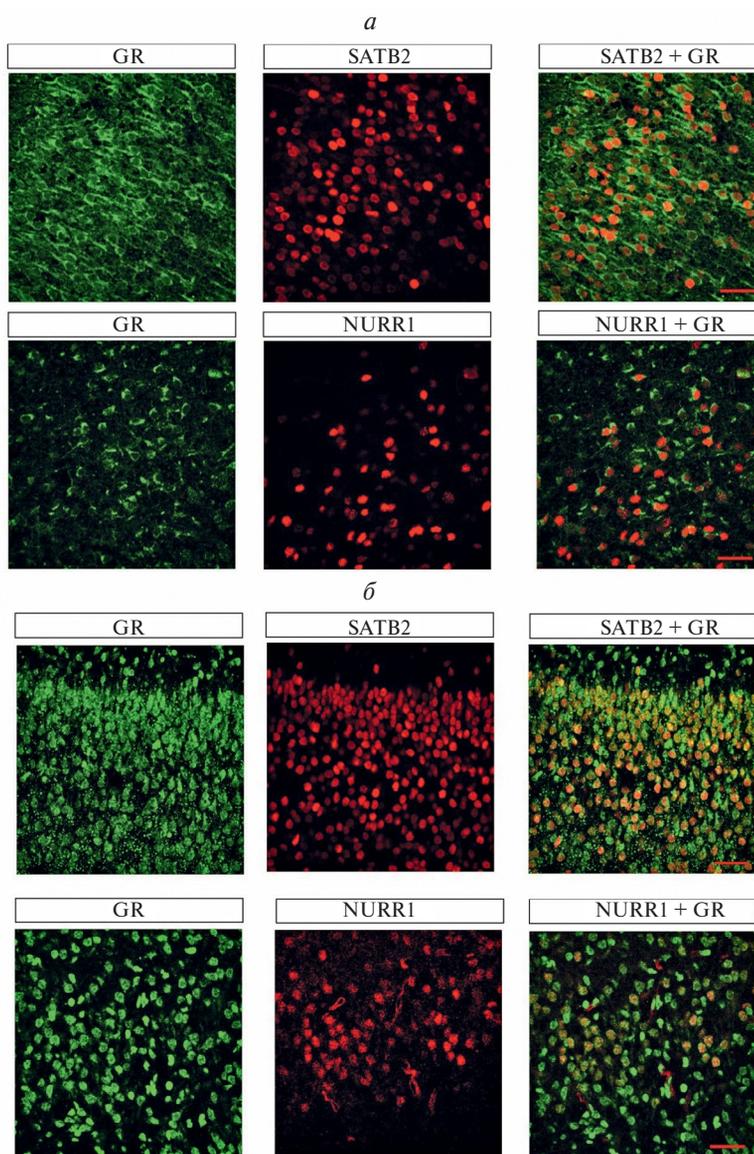
**Колокализация ГР с ядерными маркерами клеточных типов.** Иммуногистохимические сигналы NURR1 и SATB2 локализовались в ядрах корковых нейронов (рис. 4а, табл. 2), что естественно для транскрипционных факторов. Малая колокализация ГР с этими факторами подтверждают, что в мозге новорожденных крыс в естественных условиях большая часть ГР локализована в цитоплазме

нейронов. Коэффициенты колокализации ГР с маркерами типов ядерных клеток в естественных (“контрольных”) условиях были относительно низкими (табл. 2). У взрослых животных транслокация ГР из цитоплазмы в ядро зависит от активации рецептора ГК. Эндогенный уровень глюкокортикоидного гормона в крови новорожденных крыс очень низок [20]. Согласно представленным здесь результатам, естественного уровня гормона было недостаточно для активации ГР и индукции их транслокации в ядро. Проблема исключительно

**Таблица 1.** Коэффициенты колокализации ГР с цитоплазматическими маркерами клеточных типов

Область	Маркер клеточного типа	Коэффициенты колокализации			
		МОС	Rp	tM1	tM2
Гиппокамп (CA1)	CALRET	0.53±0.04*	0.15±0.01*	0.45±0.08	0.07±0.01
	GFAP	0.33±0.04	0.1±0.09	0.02±0.01	0.01±0.01
Энторинальная кора	CALRET	0.62±0.02*	0.12±0.01*	0.28±0.07	0.56±0.12*
	GFAP	0.33±0.03	0.02±0.01	0.04±0.01	0.03±0.01

МОС – коэффициент перекрытия Мандерса, Rp – коэффициент корреляции Пирсона, tM1, tM2- коэффициенты перекрытия фракций, \* –  $p < 0.05$  по сравнению с GFAP.



**Рис. 4.** Изображения двойного иммунофлуоресцентного окрашивания ГР (зеленый, Alexa 488) и маркеров клеточных типов (красный, Alexa 568), снятые при помощи объектива с высокой числовой апертурой и 40-кратным увеличением в энторинальной коре до (а) и после (б) введения DEX. ГР транслоцировались в ядро клетки через 6 часов после введения DEX в энторинальную кору. Шкала 50 мкм.

**Таблица 2.** Коэффициенты колокализации ГР с ядерными маркерами клеточных типов

Воздействие	Маркер клеточного типа	Коэффициенты колокализации			
		МОС	Rp	tM1	tM2
Контроль	NURR1	0.39±0.01	0.05±0.02	0.17±0.05	0.64±0.06*
	SATB2	0.46±0.03	0.04±0.02	0.09±0.01	0.87±0.09*
DEX	NURR1	0.67±0.03*	0.12±0.01*	0.03±0.01	0.94±0.02*
	SATB2	0.67±0.02*	0.09±0.02*	0.43±0.07*	0.89±0.04

МОС – коэффициент перекрытия Мандерса, Rp – коэффициент корреляции Пирсона, tM1, tM2- коэффициенты перекрытия фракций, \* –  $p < 0.05$  по сравнению с контролем.

в низком уровне гормона, а не в нарушении функций самого ГР или белков, участвующих в его действии. Действительно, если новорожденным крысам вводили экзогенный глюкокортикоид DEX за 6 часов до отбора проб, почти все иммуногистохимические сигналы GR были обнаружены в ядре (рис. 4б) и хорошо колокализировались с NURR1 и SATB2 (табл. 2).

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В мозге новорожденных ГК оказывают разнообразные эффекты, которые зависят от региона мозга, типа клеток и возраста. Ранее было показано, что в гиппокампе и коре головного мозга ГР экспрессируется от умеренного до высокого уровня, с максимальным уровнем экспрессии в гиппокампе [12–21]. Точный анализ того, какие клетки мозга экспрессируют ГР, безусловно, поможет понять механизм действия ГК в мозге новорожденных. В этой работе мы впервые исследовали колокализацию ГР с основными маркерами клеточного типа ЦНС в мозге неонатальных крысят. В поле СА1 гиппокампа была исследована колокализация ГР с маркером ГАМК-ергических интернейронов – кальретенином и маркером астроцитов – GFAP, а в энторинальной коре – кроме этого, с теми маркерами проекционных нейронов, которые экспрессируются в коре больших полушарий: SATB2 и NURR1.

В энторинальной коре и области СА1 гиппокампа неонатальных крысят контрольной группы ГР преимущественно был локализован в кальретениновых интернейронах. Наибольшая колокализация ГР с кальретенином могла быть обусловлена цитоплазматической локализацией ГР в исследованных интернейронах при базальном уровне ГК. Коэффициенты колокализации с факторами транскрипции SATB2 и NURR1, которые локализованы в ядре, были ниже, чем коэффициенты для ГР с кальретенином. Однако они

увеличились после введения DEX и транслокации ГР в ядро клетки. Таким образом была продемонстрирована цитоплазматическая локализация ГР при базальном уровне ГК и транслокация ГР в ядро после введения DEX.

Показано, что в ходе эмбрионального развития ГР могут иметь разную субклеточную локализацию в разных популяциях предшественников нейронов: на 11.5 день эмбрионального развития мыши в большинстве Рах6-позитивных радиальных глиальных клеток (RGC) и Tbr2-позитивных промежуточных клеток-предшественников (IPC) ГР локализованы в ядре, а в небольшой части RGC в апикальных желудочках – в цитоплазме [22]. В ходе дальнейшего развития мозга субклеточная локализация ГР меняется. Изменения характера экспрессии вместе с изменениями субклеточной локализации могут оказывать различное влияние на действие ГК в ткани головного мозга, что зависит от типа клеток, региона мозга и возраста.

Кроме регуляции экспрессии генов, ГР также обладает быстрым негеномным механизмом действия, опосредованным через мембранные рафты, ассоциированные с ГР [23], а также через сигнальный путь ERK1/2-MSK1-Elk-1 [24]. У взрослых реакция на новый стресс и негеномное действие ГР зависят от ГАМК-ергической нейротрансмиссии. ГАМК тонически контролирует эпигеномные реакции на психологически значимые события в нейронах зубчатой извилины [25]. Кроме того, ГАМК, по-видимому, осуществляет свою контролируемую активность посредством модуляции функции рецептора NMDA [26]. Однако в отличие от взрослых, у неонаталов ГАМК может действовать как возбуждающий нейромедиатор [27]. Одновременная активация ГАМК- и глутаматергической нейротрансмиссии в мозге новорожденных под действием ГК может привести к дисбалансу нейромедиаторов и эксайтотоксичности. Показано, что введение DEX в неонатальный период вызывает эксайтотоксическую гибель нейронов

основания гиппокампа [28]. Эти сведения дополняет полученный результат об экспрессии ГР в кальцитриновых ГАМК-ергических нейронах области CA1 гиппокампа неонатальных крыс. Кроме этого мы продемонстрировали экспрессию ГР в нейронах энторинальной коры, экспрессирующих SATB2 и NURR1. SATB2 – это ДНК-связывающий белок, который связывается с областями прикрепления матрикса и регулирует организацию хроматина и экспрессию генов [29, 30]. В мозге эмбриона он преимущественно экспрессируется в нейронах верхних слоев коры, аксоны которых идут через мозолистое тело [31, 32]. В отсутствие SATB2 в этих нейронах теряется идентичность и активируется генетическая программа, направляющая развитие по пути становления нейронами нижних слоев коры [31, 32]. NURR1 – это транскрипционный фактор, принадлежащий к суперсемейству орфанных ядерных рецепторов [33], который имеет решающее значение для спецификации, развития и поддержания дофаминергической системы, в неокортексе он экспрессируется в энторинальной коре и субпластинке. Первые кортикальные нейроны получают синаптические входы от аксонов таламуса, устанавливая временную связь между аксонами таламуса и их конечной целью в IV слое коры [35–39]. Эти нейроны являются первыми нейронами, проявляющими разрядную активность, в эмбриональном неокортексе [40–43]. Экспрессия ГР в этих нейронах и, что примечательно, транслокация ГР в ядро после введения DEX у неонатальных крысят так же подчеркивает их чувствительность к ГК и уязвимость для их негативного действия.

В тоже время мы обнаружили, что наименьшая колокализация ГР наблюдалась с GFAP, маркером астроглии. С одной стороны, это может быть объяснено тем, что GFAP является белком промежуточных филаментов, и GFAP с ГР локализованы в разных клеточных компартаментах, с другой стороны – низким уровнем экспрессии ГР в астроцитах. Даже в клеточной культуре только 50% астроцитарных клеток проявляют иммунореактивность к ГР [44]. Косвенным подтверждением этого является то, что головном мозге новорожденных крысят DEX вызывал гибель клеток-предшественников в зубчатой извилине, но не астроцитов [44]. Мозг представляет собой очень сложную структуру, состоящую из нейронов, глиальных клеток, олигодендроцитов и эндотелиальных клеток кровеносных сосудов ЦНС. Циркулирующая кровь отделена от клеток ЦНС гематоэнцефалическим барьером (ГЭБ), который создает градиенты поступающих в мозг веществ, например, гормонов. Предположительно, уровень ГК снижается при движении от сосудов к нейронам из-за экспрессии 11-βHSD в ГЭБ [45]. Негативная регуляция ГК экспрессии ГР

была широко продемонстрирована [46]. Более высокая экспрессия ГР в нейронах, чем в астроцитах, может быть связана с высоким уровнем ГК в сосудах и астроцитах и более низким уровнем в нейронах. Такое распределение ГР говорит о том, что именно нейроны, а не астроглия новорожденных крыс могут быть наиболее чувствительными к ГК.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе впервые установлена колокализация ГР с маркерами клеточных типов в области CA1 и энторинальной коре неонатальных крыс. Результаты указывают на то, что ГР преимущественно колокализовался с нейрональными маркерами, чем с маркером астроцитарных клеток в переднем мозге новорожденных крыс, а, следовательно, именно нейроны, а не астроглия могут быть особенно уязвимы при лечении новорожденных DEX.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность сотрудникам ЦКП микроскопического анализа ИЦиГ СО РАН, где были получены конфокальные изображения.

## ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке бюджетного проекта.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

*Конфликт интересов.* Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

*Этическое одобрение.* Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены, были разрешены биоэтическим комитетом ИЦиГ СО РАН (протокол № 19 от 26.11.2013).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Yudit M.R. and Cidlowski J.A. // *Mol. Endocrin.* 2002. V. 16. P. 1719–1726.
2. Tronche F., Kellendonk C., Kretz O., Gass P., Anlag K., Orban P.C., Bock R., Klein R., and Schütz G. // *Nat Genet.* 1999. V. 23. P. 99–103.
3. Kellendonk C., Tronche F., Reichardt H.M., and Schütz G. // *J. Ster. Biochem. Mol. Biol.* 1999. V. 69. P. 253–259.
4. Kellendonk C., Gass P., Kretz O., Schütz G., and Tronche F. // *Brain Res Bull.* 2002. V. 57. P. 73–83.
5. Doyle L.W., Ehrenkranz R.A., and Halliday H.L. // *The Coch. Collab., ed., (Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2014), p. CD001145.pub3.*

6. *Halliday H.L., Ehrenkranz R.A., and Doyle L.W.* // The Coch. Collab., ed., (Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2009), p. CD001146.pub2.
7. *Nguon. K., Baxter M.G., and Sajdel-Sulkowska E.M.* // The Cerebell. 2005. V. 4. P. 112–122.
8. *Bhatt A.J., Feng Y., Wang J., Famuyide M., and Hersey K.* // J. of Neurosci. Res. 2013. V. 91. P. 1191–1202.
9. *Holson R.R., Gough B., Sullivan P., Badger T., and Sheehan D.M.* // Neurotoxicology and Teratology. 1995. V. 17. P. 393–401.
10. *Hossain A., Hajman K., Charitidi K., Erhardt S., Zimmermann U., Knipper M., and Canlon B.* // Endocrin. 2008. V. 149. P. 6356–6365.
11. *Nagano M., Ozawa H., and Suzuki H.* // Neurosc. Res. 2008. V. 60. P. 364–371.
12. *Aronsson M., Fuxe K., Dong Y., Agnati L.F., Okret S., and Gustafsson J.A.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1988. V. 85. P. 9331–9335.
13. *Ábrahám I., Juhász G., Kékesi K.A., and Kovács K.J.* // Brain Res. 1996. V. 733. P. 56–63.
14. *Takeda A., Suzuki M., Tamano H., Takada S., Ide K., and Oku N.* // Neuroch. Intl. 2012. V. 60. P. 394–399.
15. *Zinchuk V. and Grossenbacher-Zinchuk O.* // CP Cell Biol. 2014. V. 62.
16. *Zinchuk V. and Grossenbacher-Zinchuk O.* // CP Cell Biol. 2011. V. 52.
17. *Adler J. and Parmryd I.* // PLoS ONE. 2014. V. 9. P. e111983.
18. *Adler J. and Parmryd I.* // Cyt. Pt A. 2010. V. 77A. P. 733–742.
19. *Dunn K.W., Kamocka M.M., and McDonald J.H.* // Am. J. of Phys.-Cell Phys. 2011. V. 300. P. C723–C742.
20. *Varga J., Ferenczi S., Kovács K.J., Garafova A., Jezova D., and Zelena D.* // PLoS ONE. 2013. V. 8. P. e72313.
21. *Bohn M.C., Dean D., Hussain S., and Giuliano R.* // Dev. Brain Res. 1994. V. 77. P. 157–162.
22. *Tsiarli M.A., Paula Monaghan A., and DeFranco D.B.* // Brain Res. 2013. V. 1523. P. 10–27.
23. *Vernocchi S., Battello N., Schmitz S., Revets D., Billing A.M., Turner J.D., and Muller C.P.* // Mol. & Cell. Prot. 2013. V. 12. P. 1764–1779.
24. *Gutiérrez-Mecinas M., Trollope A.F., Collins A., Morfett H., Hesketh S.A., Kersanté F., and Reul J.M.H.M.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2011. V. 108. P. 13806–13811.
25. *Papadopoulos A., Chandramohan Y., Collins A., Droste S.K., Nutt D.J., and Reul J.M.H.M.* // Eur. Neuropsych. 2011. V. 21. P. 316–324.
26. *Trollope A.F., Gutiérrez-Mecinas M., Mifsud K.R., Collins A., Saunderson E.A., and Reul J.M.H.M.* // Exp. Neurol. 2012. V. 233. P. 3–11.
27. *Ben-Ari Y.* // Nat Rev Neurosci. 2002. V. 3. P. 728–739.
28. *Lanshakov D.A., Sukhareva E.V., Kalinina T.S., and Dygalo N.N.* // Neur. of Dis. 2016. V. 91. P. 1–9.
29. *Britanova O., Akopov S., Lukyanov S., Gruss P., and Tarabykin V.* // Eur J of Neurosc. 2005. V. 21. P. 658–668.
30. *Baranek C., Dittrich M., Parthasarathy S., Bonnon C.G., Britanova O., Lanshakov D., Boukhtouche F., Sommer J.E., Colmenares C., Tarabykin V., and Atanasoski S.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2012. V. 109. P. 3546–3551.
31. *Alcamo E.A., Chirivella L., Dautzenberg M., Dobrev G., Farinas I., Grosschedl R., and McConnell S.K.* // Neur. 2008. V. 57. P. 364–377.
32. *Britanova O., De Juan Romero C., Cheung A., Kwan K.Y., Schwark M., Gyorgy A., Vogel T., Akopov S., Mitkovski M., Agoston D., Šestan N., Molnár Z., and Tarabykin V.* // Neur. 2008. V. 57. P. 378–392.
33. *Bae E.-J., Lee H.-S., Park C.-H., and Lee S.-H.* // FEBS Let. 2009. V. 583. P. 1505–1510.
34. *Perlmann T. and Wallén-Mackenzie Å.* // Cell Tissue Res. 2004. V. 318. P. 45–52.
35. *Hoerder-Suabedissen A., Oeschger F.M., Krishnan M.L., Belgard T.G., Wang W.Z., Lee S., Webber C., Petretto E., Edwards A.D., and Molnár Z.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2013. V. 110. P. 3555–3560.
36. *Hoerder-Suabedissen A. and Molnár Z.* // Cereb. Cort. 2013. V. 23. P. 1473–1483.
37. *Oeschger F.M., Wang W.-Z., Lee S., García-Moreno F., Goffinet A.M., Arbonés M.L., Rakic S., and Molnár Z.* // Cereb. Cort. 2012. V. 22. P. 1343–1359.
38. *Tolner E.A., Sheikh A., Yukin A.Y., Kaila K., and Kanold P.O.* // J. Neurosci. 2012. V. 32. P. 692–702.
39. *Viswanathan S., Bandyopadhyay S., Kao J.P.Y., and Kanold P.O.* // J. Neurosci. 2012. V. 32. P. 1589–1601.
40. *Friauf E., McConnell S., and Shatz C.* // J. Neurosci. 1990. V. 10. P. 2601–2613.
41. *McConnell S., Ghosh A., and Shatz C.* // J. Neurosci. 1994. V. 14. P. 1892–1907.
42. *McConnell S.K., Ghosh A., and Shatz C.J.* // Sci. 1989. V. 245. P. 978–982.
43. *Wang Z., Benoit G., Liu J., Prasad S., Aarnisalo P., Liu X., Xu H., Walker N.P.C., and Perlmann T.* // Nat. 2003. V. 423. P. 555–560.
44. *Yu S., Yang S., Holsboer F., Sousa N., and Almeida O.F.X.* // PLoS ONE. 2011. V. 6. P. e22419.
45. *Wyrwoll C.S., Holmes M.C., and Seckl J.R.* // Front in Neuroendo. 2011. V. 32. P. 265–286.
46. *Rosewicz S., McDonald A.R., Maddux B.A., Goldfine I.D., Miesfeld R.L., and Logsdon C.D.* // J. of Biol. Chem. 1988. V. 263. P. 2581–2584.

## Glucocorticoid Receptor Expression in the Different Cell Types of the Neonatal Rat Hippocampus and Cortex

D. A. Lanshakov<sup>1, 2</sup>, U. S. Drozd<sup>1, 2</sup>, and N. N. Dygalo<sup>2, 3</sup>

<sup>1</sup>*Postgenomics Neurobiology Sector, The Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia*

<sup>2</sup>*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

<sup>3</sup>*Functional Neurogenomics Laboratory, The Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia*

Glucocorticoids (GC) are crucial regulator of organism homeostasis and function. Despite severe outcome glucocorticoid therapy in neonates is widely used antenatally for accelerating fetal lung maturation in cases of preterm birth. GC action mediated via glucocorticoid receptors – ligand activated transcription factors. Despite broad range of information concerning GR expression in the brain, not so much known about GR expression in the neonatal brain in aspects of cell specificity and identity. In this work we perform comparative study of GR expression together with panel of main neuronal and astrocytic cell markers in the neonatal rat brain. We immunohistochemically studied GR expression in the hippocampal CA1 field and enthorinal cortex together with cortical projection neuron markers – SATB2, NURR1; Calretenin – interneurons marker, and GFAP – astrocytic marker. The highest colocalization coefficients observed for GR with Calrtetenin. With projection neuron markers that are also transcription factors colocalization coefficients increased to the same values as for GR-Calretenin 6h after dexamethasone injection and GR were translocated to the nucleus. Our analysis showed that in the neonatal rat brain GR are more localized in neurons than in astocytes.

*Keywords: glucocorticoid receptor; cell type markers, development, hippocampus, neocortex*