

DOI: 10.7868/S2658655X26040029
УДК 612.82

Экспериментальная статья

Локализация клаудина-2 в нейронах мозга

А.А. Пьянков¹, И.Ю. Морина¹, И.В. Романова^{1,*}

¹*Институт эволюционной физиологии и биохимии
им. И.М. Сеченова Российской академии наук,
Санкт-Петербург, Российская Федерация
E-mail: irinaromanova@mail.ru

Аннотация. Проведено иммуногистохимическое исследование на крысах Wistar, которое демонстрирует локализацию в нейронах различных отделов мозга белка клаудина-2, который, как известно, является белком плотных контактов и характерен для эпителиальных клеток. Наибольшая плотность иммунопозитивных к клаудину-2 структур выявлена в клетках коры больших полушарий, в структурах гипоталамуса, в гиппокампе, в клетках ядра одиночного тракта в продолговатом мозге. Результаты ПЦР в реальном времени демонстрируют стабильную экспрессию гена, кодирующего клаудин-2, в коре больших полушарий и в гипоталамусе, а результаты вестерн-блот-анализа демонстрируют присутствие белка клаудина-2 в этих отделах мозга. Анализ двойного флуоресцентного иммуномечения в гипоталамусе свидетельствует о локализации клаудина-2 как в позитивных, так и в негативных к проопиомеланокортину клетках аркуатного ядра гипоталамуса, в вазопрессин-позитивных и вазопрессин-негативных клетках супраоптического и паравентрикулярного ядер, что свидетельствует о присутствии этого белка в нейронах различных нейрхимических типов. Не выявлено в ядрах гипоталамуса колокализации клаудина-2 с GFAP – маркером астроцитов, но показана колокализация с PSD-95 – белком постсинаптических утолщений. Полученные данные впервые демонстрируют локализацию клаудина-2 в нейронах мозга, что является морфологической базой для исследования его функциональной роли в мозге.

Ключевые слова: мозг, клаудин-2, гипоталамус, аркуатное ядро, супраоптическое ядро, проопиомеланокортин, вазопрессин, астроциты, постсинаптические утолщения

Финансирование. Исследование проведено с использованием оборудования центра коллективного пользования Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН в рамках государственного задания № 075-00264-26-00.

Соблюдение этических стандартов. Все экспериментальные процедуры соответствовали положениям Animal Welfare act (2006) и European Communities Council Directive 1986 (2010/63/ЕЕС), а также правилам, изложенным

в «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals». Дизайн исследования одобрен Комитетом по биоэтике Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН (протокол № 12-2/2020 от 24.12.2020 г.).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов в публикацию. РИВ – идея исследования и дизайн эксперимента; ПАА, МИЮ, РИВ – проведение экспериментов и сбор материала для исследования; ПАА, МИЮ, РИВ – обработка результатов; РИВ – написание и редактирование текста.

Ссылка для цитирования: Пьянков А.А., Морина И.Ю., Романова И.В. Локализация клаудина-2 в нейронах мозга. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова / Russian Journal of Physiology*. 2026. Т. 112. № 4. С. 856–872. <https://doi.org/10.7868/S2658655X26040029>

DOI: 10.7868/S2658655X26040029

Experimental Article

Localization of Claudin-2 in Brain Neurons

A.A. Pyankov¹, I.Yu. Morina¹, I.V. Romanova^{1,*}

¹*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry,
Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russian Federation*

*E-mail: irinaromanova@mail.ru

Abstract. An immunohistochemical study on Wistar rats demonstrated the localization of claudin-2, a tight junction protein characteristic of epithelial cells, in neurons across various brain regions. The highest density of claudin-2-immunopositive structures was detected in the cerebral cortex, hypothalamic structures, hippocampus, and in cells of the nucleus of the solitary tract in the medulla oblongata. Real-time PCR results demonstrate stable expression of the gene encoding claudin-2 in the cerebral cortex and hypothalamus, and Western blot results demonstrate the presence of claudin-2 protein in these brain regions. Double fluorescent immunolabeling analysis in the hypothalamus indicates localization of claudin-2 in both proopiomelanocortin-positive and -negative cells of the arcuate nucleus of the hypothalamus, and in vasopressin-positive and vasopressin-negative cells of the supraoptic and paraventricular nuclei, indicating the presence of this protein in neurons of various neurochemical types. No colocalization of claudin-2 with GFAP, an astrocyte marker, was detected in hypothalamic nuclei, however, colocalization with PSD-95, a postsynaptic density protein, was demonstrated. These data showed for the first time the localization of claudin-2 in brain neurons, providing a morphological basis for studying its functional role in the brain.

Keywords: brain, claudin-2, hypothalamus, arcuate nucleus, supraoptic nucleus, proopiomelanocortin, vasopressin, astrocytes, postsynaptic density

Funding. The study was conducted using equipment at the shared-use center of the Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences under state contract No. 075-00263-25-00.

Ethics declarations. All experimental procedures complied with the Animal Welfare Act (2006) and European Communities Council Directive 1986 (2010/63/EEC), as well as the rules set forth in the “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”. The study design was approved by the Bioethics Committee of the Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences (Protocol No. 12-2/2020 dated December 24, 2020).

Conflict of interests. The authors declare no conflicts of interest.

Authors contribution. RIV – research concept and experimental design; PAA, MIYu, RIV – experiment execution and data collection; PAA, MIYu, RIV – results processing; RIV – writing and editing.

For Citation: Pyankov A.A., Morina I.Yu., Romanova I.V. Localization of claudin-2 in brain neurons. *Rossiiskij fiziologicheskij zhurnal im. I.M. Sechenova / Russian Journal of Physiology*. 2026;112(4):856–872. (In Russ.)
<https://doi.org/10.7868/S2658655X26040029>

ВВЕДЕНИЕ

Клаудины – семейство трансмембранных белков, которые участвуют в формировании плотных контактов и, таким образом, являются ключевыми компонентами барьерных свойств тканей и контроля транспорта веществ между клетками. Продукцию клаудинов связывают прежде всего с эпителиальными клетками и, в частности, с эндотелием капилляров [1].

Клаудин-2 – один из белков этого семейства, особенностью которого является его участие в образовании катион-селективных пор между клетками, через которые осуществляется парацеллюлярный транспорт неорганических ионов и воды [2]. Согласно информации базы человека, наибольшая экспрессия гена *CLDN2* выявлена в почках и кишечнике, однако в значительно меньшей степени его экспрессия отмечается и в различных отделах мозга (амигдала, стриатум, гиппокамп, префронтальная кора, гипоталамус и др.) [3]. Однако вопрос о локализации белка клаудина-2 в мозге требует уточнения.

В мозге клаудин-2 выявлен в клетках сосудистых сплетений (choroid plexus) желудочков мозга и, таким образом, вовлечен в регуляцию процессов парацеллюлярного транспорта и поддержания гематоликворного барьера [4–6]. Показано, что у мышей клаудин-2 может присутствовать в эндотелиальных клетках капиллярной сети мозга и, таким образом, является компонентом гематоэнцефалического барьера [7].

Гипоталамус – важнейший центр мозга, контролирующий вегетативные функции организма и регуляцию гомеостаза. Гипоталамус характеризуется обширной васкуляризацией, что связывают с расположением здесь нейросекреторных клеток [8]. Показано, что в аркуатном (инфундибулярном у человека и приматов) ядре гипоталамуса гематоэнцефалический барьер ослаблен, что позволяет различным факторам из периферического кровотока (инсулин, лептин и др.) воздействовать на соответствующие рецепторы, локализованные на нейронах этой структуры мозга [9]. При этом клетки астроглии являются важным компонентом барьерных свойств мозга. Они занимают промежуточное положение между капиллярами

и нейронами, способствуют транспортировке питательных веществ к нейронам и защищают их от токсинов, содержащихся в крови [10]. Каких-либо данных о локализации клаудина-2 в структурах гипоталамуса нами не обнаружено.

Цель настоящего исследования – оценить экспрессию *Cldn2* и локализацию его белка в структурах гипоталамуса и сравнить с другими отделами мозга крысы.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проведены на половозрелых самцах крыс Вистар (220–250 г) в утренние часы (10:00–11:00 ч) под изофлурановой анестезией. Животных содержали в стандартных условиях вивария (12-часовой световой режим: 12 ч свет/12 ч ночь, температура 23 ± 2 °C) со свободным доступом к воде и пище.

Для молекулярных исследований мозг ($n = 6$) замораживали в сухом льду. С помощью криостата (при -20 °C) вырезали гипоталамус, который делили вдоль 3-го желудочка мозга на две симметричные части, а также участок с первичной и вторичной моторной и сенсомоторной областями коры больших полушарий. Замороженную ткань использовали для выделения тотальной РНК с помощью RNA-extract (Evrogen, Россия) согласно инструкции производителя, а также для приготовления проб и анализа уровня белка методом вестерн-блот анализа [11].

Методика ПЦР в реальном времени и приготовление обратной транскрипции (ОТ) ранее подробно описана [12, 13]. Для реакции использованы праймеры (Евроген, Россия) гена *Cldn2* (NM_001106846, Forward – TCCTCGCTGGCC TGCATTATCT, Reverse – TCCCGGAGAATGCCGTGAAGAT) и праймеры контрольного гена *Gapdh*, кодирующего Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, (NM_017008, Forward – CCCATTCTTCCACCTTTG ATGCT, Reverse – CTGTTG CTGTAGCCATATTCAT), набор ОТ MMLV RT kit (Evrogen, Россия) согласно инструкции производителя. Амплификацию проводили на приборе «Real-Time System CFX96 C1000 Touch Thermal Cycler» (BioRad Laboratories, Inc., Сингапур). Чистота продукта ПЦР оценивалась с помощью электрофореза в 30%-ном агарозном геле с бромистым этидием с помощью гель-документирующей системы (Chemidoc, BioRad, Великобритания).

Для иммуноблоттинга белка (45 мкг на лунку) разделяли с помощью электрофореза (SDS-PAGE) в 12%-ном Bis-AA полиакриламидном геле и переносили на нитроцеллюлозную мембрану. Для инкубации были использованы первичные поликлональные антитела кролика к клаудину-2 (#51-6100, Invitrogen, США; 1 : 500) и вторичные IgG козы против кролика, конъюгированные с пероксидазой (A0545, Sigma-Aldrich, США; 1 : 10000). Первичные антитела мыши к GAPDH (#T0004, Affinity Biosciences Inc., Китай, 1 : 6000) и IgG козы против мыши, конъюгированные с пероксидазой хрена, были использованы для выявления контрольного белка. Для визуализации использовали хемифлуоресцентный реагент ECL («Invitrogen, Life Technologies», США) и ChemiDoc Imaging System (Bio-Rad, Великобритания).

Для иммуногистохимических исследований мозга крысам ($n = 4$) проводили транскрипционную перфузию 4%-ным забуференным раствором параформальдегида, процедура ранее была подробно описана [14]. Из разных отделов замороженного мозга с помощью криостата (Leica CM-1510, Германия) изготавливали фронтальные срезы (20 мкм), которые монтировали на стекла SuperFrost/plus (Menzel,

Германия). Иммуногистохимические реакции проводили после демаскировки антигена кипячением стекол со срезами в цитратном буфере (pH 6,0) [11].

Для выявления клаудина-2 использовали одиночное иммуномечение АВС-ДАБ-методом, протокол реакции ранее был подробно описан [14]. Для инкубации были использованы те же антитела кролика к клаудину-2 (#51-6100, Invitrogen, США; 1 : 300, 48 ч при 4 °С), вторичные Ig козы против кролика, конъюгированные с биотином (VectorLabs., США; 1 : 800), раствор стрептавидин–пероксидаза (Sigma, США, 1:1200). Для визуализации реакции использовали 0,05%-ный раствор диаминобензидина (Sigma, США) с 0,015%-ной перекисью водорода. Препараты заключали под покровное стекло по стандартной гистологической методике с помощью Bio-Mount (Bio-Optica, Италия). Специфичность реакции проверяли с помощью негативного контроля (реакции без первичных антител). Положительным контролем иммуногистохимической реакции являлась реакция в клетках сосудистого сплетения 3-го желудочка мозга, где клаудин-2 ранее был описан [4, 5]. Полученные препараты анализировали в проходящем свете с помощью микроскопа Carl Zeiss Imager A1 (Германия), оснащенной видеокамерой AxioCam 712, с программным обеспечением Zen 3.4 (blue edition).

Для выяснения вопроса о локализации клаудина-2 в нейронах использовали двойное флуоресцентное иммуномечение по ранее описанному стандартному протоколу [12, 14]. Для реакций была использована смесь первичных поликлональных антител кролика к клаудину-2 (#51-6100, Invitrogen, США; 1 : 200) с моноклональными антителами мыши к проопиомеланокортину (ПОМС, #ab73092, Abcam, Великобритания; 1 : 1000), или к глиальному фибриллярному кислому белку (GFAP, #GB12096, Servicebio, Китай; 1 : 200), или к белку постсинаптического утолщения-95 (PSD-95, #ab2723, Abcam, Великобритания; 1 : 200), или к вазопрессину (подарок Dr Harold Heiner, NIH, США; 1 : 1000). Инкубации с первичными антителами проводили в течение 48 ч при 4 °С. После тщательной промывки срезы инкубировали в смеси вторичных IgG, конъюгированных с разными флуорохромами: цыпленка против кролика-Alexa-488 и осла против мыши-Alexa-568 (Invitrogen, США; 1 : 1000). В ряде случаев перед заключением под покровное стекло с помощью среды Мовиол (Sigma, США) срезы инкубировали в течение 10 мин в растворе ядерного красителя Торго-3 (Invitrogen, 1 : 1500). Специфичность реакции также проверяли с помощью негативного и позитивного контроля.

Анализ флуоресцентного иммуномечения проводили с помощью микроскопа DM16000 и лазерной сканирующей конфокальной установки Leica TCS SP5 (Leica Microsystems, Германия). Было проведено последовательное сканирование с помощью объектива 20× и иммерсионного объектива 63× и лазеров с длиной волны возбуждения 488, 568 и 650 нм.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты ПЦР демонстрируют стабильную экспрессию гена, кодирующего клаудин-2, в гипоталамусе у крыс Wistar, что подтверждается и результатами вестерн-блот-анализа, которые свидетельствуют о присутствии белка клаудина-2 в гипоталамусе (рис. 1). Аналогичные результаты получены и для коры больших полушарий.

Анализ препаратов с одиночным иммуномечением свидетельствует о широком распространении клаудина-2 в клетках всех отделов мозга. Наибольшая плотность

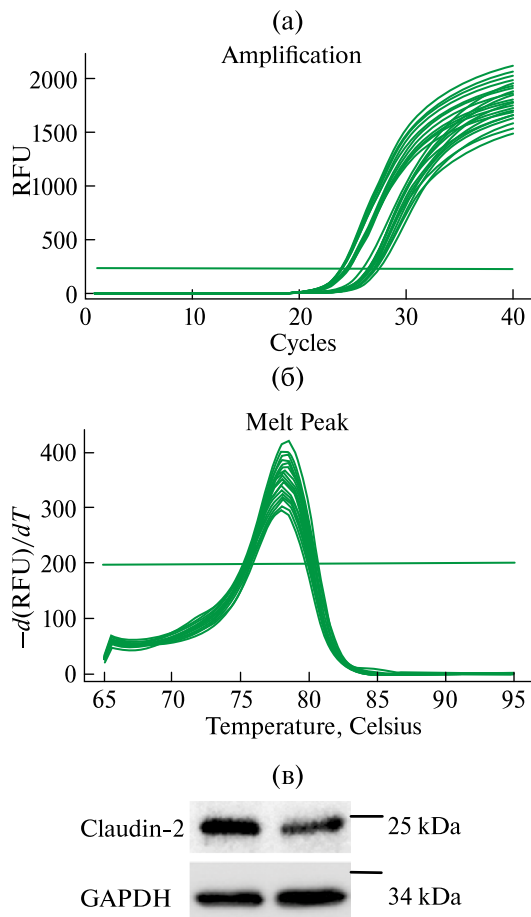


Рис. 1. Анализ гипоталамуса крысы: сигнал амплификации гена *Cldn2* (а), кривая плавления продукта ПЦР (б), уровень белка (в). Данные на (а) и (в) – скриншоты, полученные с помощью программы CFX Manager 3.1.1517.0823 (Bio-Rad)

Fig. 1. Analysis of the rat hypothalamus: *Cldn2* gene amplification signal (а), PCR product melting curve (б), and protein level (в). Data in (а) and (в) are images obtained using the CFX Manager 3.1.1517.0823 software (Bio-Rad)

иммунопозитивных структур выявлялась в ядрах гипоталамуса, в частности в аркуатном ядре (рис. 2а), в супраоптическом ядре, в нейронах полей гиппокампа, разных отделах коры больших полушарий, в продолговатом мозге в клетках ядра одиночного тракта (рис. 2б, в, г), а также в других структурах мозга.

Интенсивная иммуногистохимическая реакция к клаудину-2 отмечается в сосудистом сплетении 3-го желудочка мозга (рис. 3а), что является положительным контролем для проведенной нами реакции в мозге, так как локализация клаудина-2 в сосудистом сплетении ранее была показана [4, 5]. Реакция без первичных

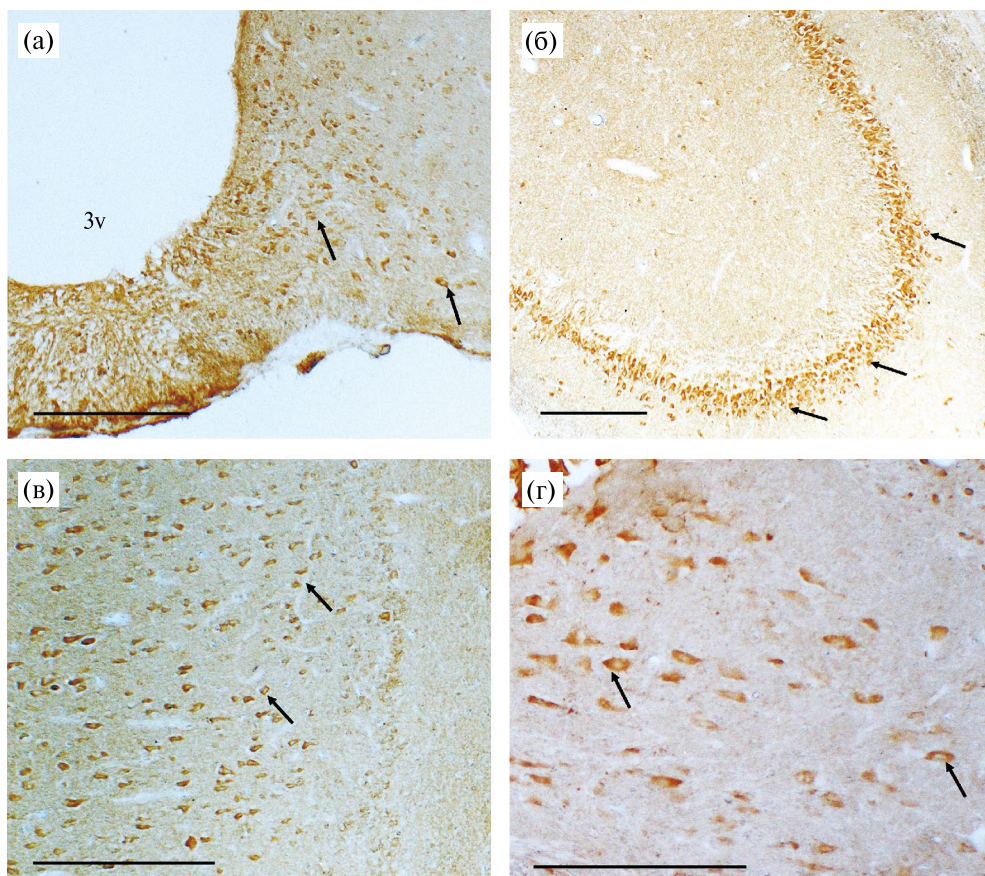


Рис. 2. Клаудин-2-иммунопозитивные клетки (стрелки) в клетках аркуатного ядра гипоталамуса (а), гиппокампа (б), коры больших полушарий (в), ядра одиночного тракта (г). 3v – третий желудочек мозга. Масштаб 200 мкм

Fig. 2. Claudin-2 immunopositive cells (arrows) in the arcuate nucleus of the hypothalamus (a), hippocampus (б), cerebral cortex (в), and nucleus of the solitary tract (г). 3v – third ventricle. Scale bars 200 μ m

антител – негативный контроль (рис. 3б) – демонстрирует отсутствие реакции, что подтверждает специфичность проведенных нами реакций.

Анализ представленных на рис. 2 структур мозга при большем увеличении (рис. 4) свидетельствует о присутствии иммунопозитивного материала в клетках в виде мелких гранул, которые наиболее интенсивно выявляются в гиппокампе (поле С1 и С3), в коре больших полушарий (рис. 4б, в).

Хорошо известно, что в аркуатном ядре гипоталамуса локализованы несколько типов нейронов, которые продуцируют различные белки, в частности POMC, вовлеченный в регуляцию пищевого поведения и энергетического баланса [9, 10]. Поэтому было проведено двойное флуоресцентное иммуномечение клаудина-2 и POMC с целью выяснить, может ли продукция клаудина-2 в аркуатном

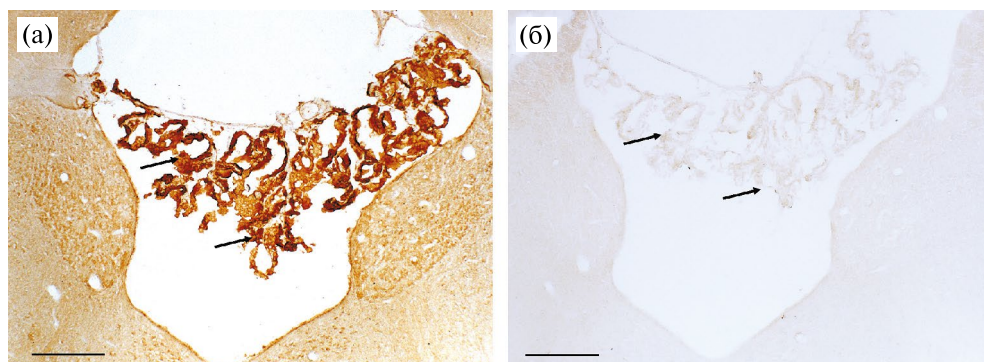


Рис. 3. Позитивный (а) и негативный ((б) – реакция без первичных антител) контроля для иммуногистохимической реакции к клаудину-2 в мозге. Стрелки указывают на сосудистое сплетение 3-го желудочка мозга крысы. Масштаб: 100 мкм

Fig. 3. Positive (a) and negative ((б) – reaction without primary antibodies) controls for the immunohistochemical reaction to claudin-2 in the brain. Arrows indicate the choroid plexus of the rat third ventricle. Scale bar: 100 μ m

ядре быть связана с каким-то конкретным нейрохимическим типом нейронов. Также было проведено двойное флуоресцентное иммуномечение клаудина-2 и GFAP – маркером астроцитарной глии, что позволит ответить на вопрос о возможной локализации клаудина-2 в астроцитах в аркуатном ядре. Полученные результаты демонстрируют локализацию клаудина-2 как в ПОМС-позитивных, так и в ПОМС-негативных нейронах (рис. 5а), а также отсутствие локализации клаудина-2 в астроцитах (рис. 5б).

Двойное флуоресцентное иммуномечение клаудина-2 и PSD-95 – маркера пост-синаптических утолщений свидетельствует об их колокализации в аркуатном ядре гипоталамуса (рис. 6), что подтверждает возможность мембранной локализации клаудина-2 в нейронах.

При исследовании препаратов как с одиночным, так и с флуоресцентным иммуномечением не было выявлено локализации клаудина-2 в капиллярах сосудистой оболочки мозга. Небольшая иммуореактивность отмечалась в вентральной области срединного возвышения (рис. 1а). При этом в стенке синусоидных капилляров, расположенных рядом с оптической хиазмой в области супраоптического ядра гипоталамуса, была выявлена интенсивная реакция к клаудину-2 (рис. 7).

Вазопрессин – нейрогормон, который, как хорошо известно, вырабатывается в нейросекреторных клетках паравентрикулярного и супраоптического ядер гипоталамуса [15]. В супраоптическом ядре клаудин-2 иммунопозитивные гранулы выявлялись в перикарионах как вазопрессин-иммунопозитивных, так и в вазопрессин-иммунонегативных клетках. При этом гранулы клаудина-2 выявлялись не во всех вазопрессин-иммунопозитивных клетках, но в некоторых клетках выявлялось довольно много гранул. Аналогичные результаты отмечены и в паравентрикулярном ядре гипоталамуса.

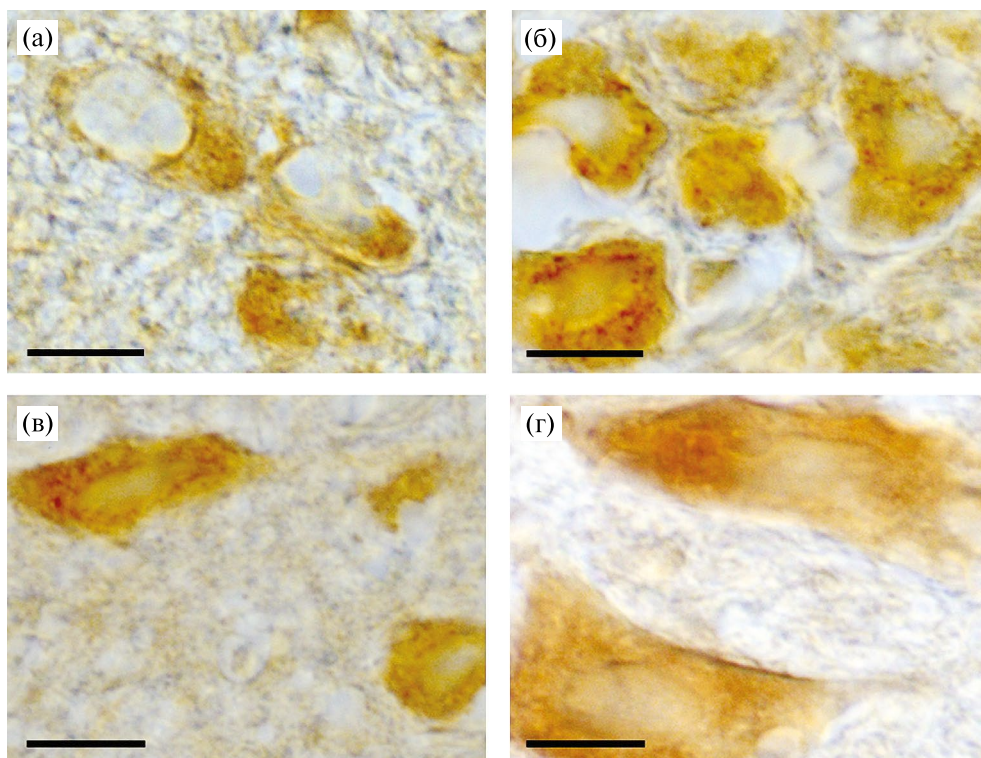


Рис. 4. Иммуногистохимическая реакция к клаудину-2 в клетках аркуатного ядра гипоталамуса (а), гиппокампа (б), коры больших полушарий (в) и ядра одиночного тракта (г). Изображения получены с помощью иммерсионного объектива 100×. Масштаб: 10 мкм

Fig. 4. Immunohistochemical reaction to claudin-2 in the cells of the hypothalamic arcuate nucleus (a), hippocampus (б), cerebral cortex (в), and nucleus of the solitary tract (г). The images were obtained using a $\times 100$ immersion objective. Scale bars: 10 μm

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные результаты демонстрируют экспрессию гена *Cldn2* и его белка в мозге крыс. Представленные данные свидетельствуют о том, что клаудин-2 может быть избирательно локализован не только в капиллярах мозга, но и непосредственно в нейронах, что характерно для различных областей мозга (разные области коры больших полушарий, ядра гипоталамуса, гиппокамп, продолговатый мозг и др.). Эти результаты выглядят несколько парадоксально, так как клаудин-2 хорошо известен как трансмембранный белок межклеточных взаимодействий и многократно был показан в эпителиальных клетках различных органов, где он участвует в формировании межклеточных пор, осуществляющих транспорт ионов и воды [6].

Мы не ставили перед собой задачу количественно оценить уровень белка. Однако при сопоставлении с контрольным белком GAPDH можно отметить

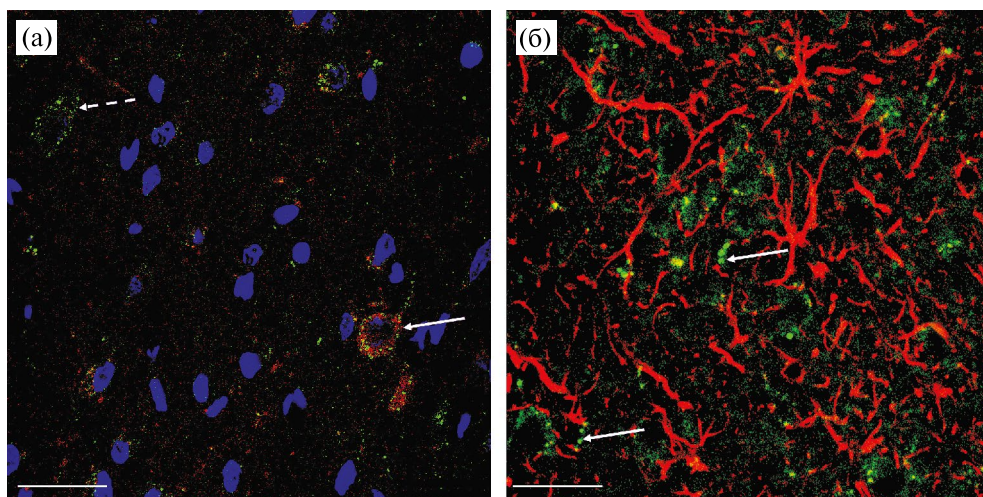


Рис. 5. Двойное флуоресцентное иммуномечение в аркуатном ядре гипоталамуса крысы клаудина-2 (зеленый цвет) с POMC (а) или с GFAP (б) (красный цвет). На (а): сплошные стрелки – клаудин-2 в POMC-положительных нейронах, штриховые стрелки – клаудин-2 в POMC-негативных нейронах, ядра мечены ядерным красителем Топро-3 (синий). На (б): сплошные стрелки – клаудин-2-положительные структуры. Масштаб: 25 мкм

Fig. 5. Double fluorescent immunolabeling in rat arcuate hypothalamic nucleus of the claudin-2 (green) with POMC (a) or GFAP (b) (red). In (a): solid arrows – claudin-2 in POMC-positive neurons, dashed arrows – claudin-2 in POMC-negative neurons, nuclei are labeled with the nuclear dye Topro-3 (blue). In (b): solid arrows – claudin-2 positive structures. Scale bars: 25 μm

существование, по-видимому, индивидуальных особенностей между животными в уровне клаудина-2, в частности в гипоталамусе.

Экспрессия гена *Cldn2* ранее была выявлена у крыс в гиппокампе и в коре больших полушарий [16], однако не было сведений о структурной локализации белка клаудина-2.

Полученные нами данные впервые демонстрируют, что клаудин-2 присутствует в различных типах нейронов: положительных и негативных к POMC (в аркуатном ядре гипоталамуса), в вазопрессин-иммунопозитивных и других, а также не локализован в астроцитах. Это, очевидно, свидетельствует о какой-то специальной функции клаудина-2 в нервной ткани. При этом колокализация клаудина-2 с маркером постсинаптических утолщений свидетельствует как о возможности его мембранной локализации, так и о вовлечении клаудина-2 в процессы синаптической передачи.

Увеличение экспрессии клаудина-2 в эпителиальных тканях выявлено при различных патологиях: при воспалительных процессах в кишечнике [17, 18], при колоректальном раке [19], при этом была показана колокализация клаудина-2 в клетках с маркерами аутофагии [20], а также в поджелудочной железе, что позволяет рассматривать клаудин-2 как маркер диабета [21], при заболеваниях почек и развитии нефропатии при диабете 1-го типа [22], что свидетельствует о вовлечении клаудина-2 в воспалительные реакции организма.

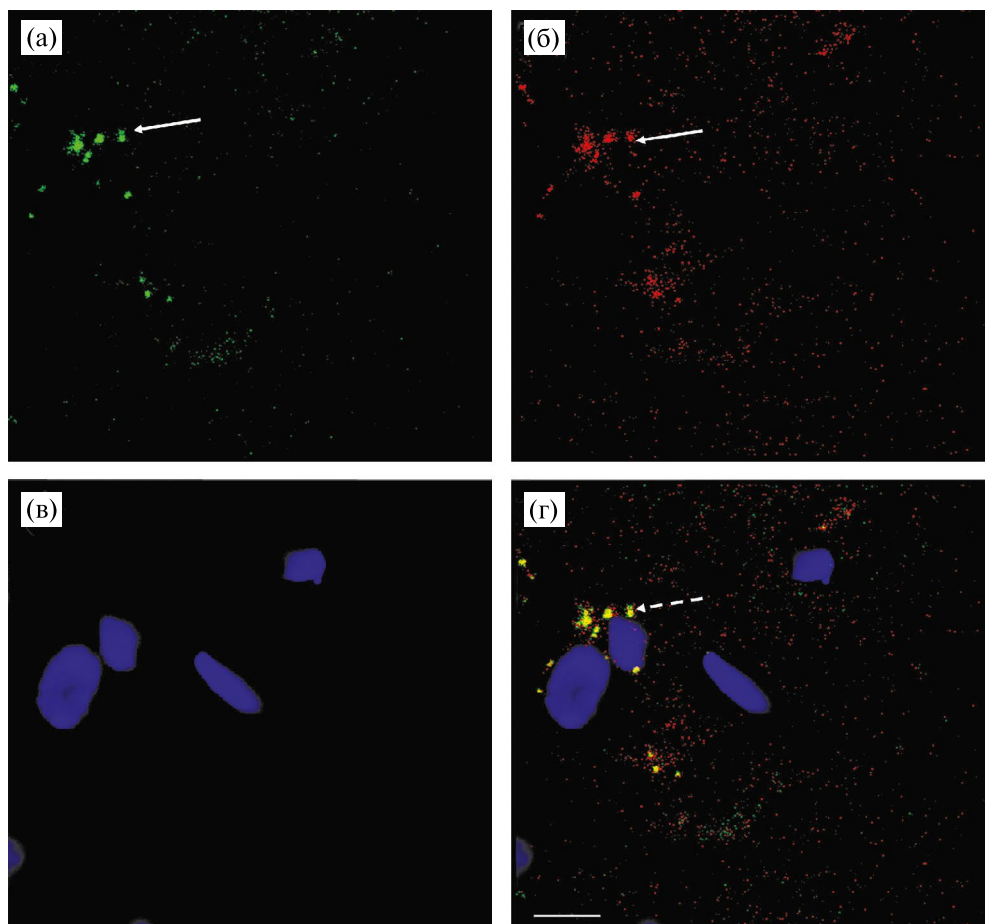


Рис. 6. Двойное флуоресцентное иммуномечение в аркуатном ядре гипоталамуса крысы клаудина-2 (а) – зеленый, PSD-95 (б) – красный, ядра (в) – синий цвет, а также их совмещение (г). Сплошные стрелки – позитивный сигнал к клаудину-2 (а) или PSD-95 (б), штриховые стрелки – их колокализация. Масштаб: 10 мкм

Fig. 6. Double fluorescent immunolabeling in rat arcuate hypothalamic nucleus of claudin-2 (a) – green, PSD-95 (б) – red, nuclei (в) – blue, and their merge (г). Solid arrows – claudin-2 (a) or PSD-95 (б) positive signal, dashed arrows – their colocalization. Scale bar: 10 μm

Экспрессия клаудина-2 также была выявлена и вне эпителия, в частности в макрофагах [23]. Однако существует точка зрения, что это может быть не физиологическим, а патологическим процессом [6]. Увеличение уровня мРНК клаудина-2 в мозге наблюдалось при эпилепсии [16], однако вывода о функциональной роли клаудина-2 в мозге не было сделано.

Наше морфологическое исследование проведено на здоровых животных, и такое широкое распределение клаудина-2 в различных типах нейронов не позволяет

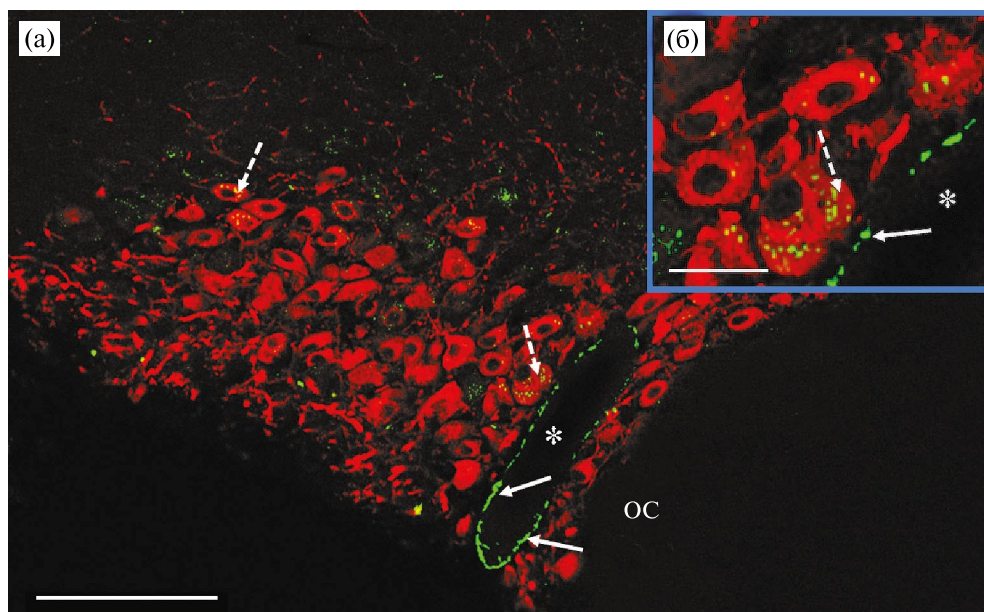


Рис. 7. Двойное флуоресцентное иммуномечение в супраоптическом ядре гипоталамуса крысы (а, б) клаудина-2 (зеленый цвет) и вазопрессина (красный). Обозначения: * – просвет капилляра, ос – оптическая хиазма, сплошные стрелки – клаудин-2 в стенке капилляра, штриховые стрелки – клаудин-2 в вазопрессин-иммунопозитивных клетках. Масштаб: 100 мкм (а), 20 мкм (б)

Fig. 7. Double fluorescent immunolabeling in the rat supraoptic nucleus of the hypothalamus (a, б) of claudin-2 (green) and vasopressin (red). Symbols: * – capillary lumen, oc – optic chiasma, solid arrows – claudin-2 in the capillary wall, dashed arrows – claudin-2 in vasopressin-immunopositive cells. Scale bars: 100 μm (a), 20 μm (б)

нам сделать вывод о том, что это патологический процесс. Однако выяснение функционального значения выявленного нами факта будет предметом нашего дальнейшего изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tsukita S., Tanaka H., Tamura A. The Claudins: From Tight Junctions to Biological Systems. *Trends Biochem. Sci.* 2019. Vol. 44. No. 2. Pp. 141–152. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2018.09.008>
2. Ganapathy A.S., Saha K., Suchanec E. et al. AP2M1 mediates autophagy-induced CLDN2 (claudin 2) degradation through endocytosis and interaction with LC3 and reduces intestinal epithelial tight junction permeability. *Autophagy.* 2022. Vol. 18. No. 9. Pp. 2086–2103. <https://doi.org/10.1080/15548627.2021.2016233>
3. CLDN2. *GeneCards*. <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=CLDN2>

4. Kratzer I., Vasiljevic A., Rey C. et al. Complexity and developmental changes in the expression pattern of claudins at the blood-CSF barrier. *Histochem. Cell Biol.* 2012. Vol. 138. No. 6. Pp. 861–879. <https://doi.org/10.1007/s00418-012-1001-9>
5. Lun M.P., Monuki E.S., Lehtinen M.K. Development and functions of the choroid plexus-cerebrospinal fluid system. *Nat. Rev. Neurosci.* 2015. Vol. 16. No. 8. Pp. 445–457. <https://doi.org/10.1038/nrn3921>
6. Venugopal S., Anwer S., Szász K. Claudin-2: Roles beyond Permeability Functions. *Int. J. Mol. Sci.* 2019. Vol. 20. No. 22. 5655. <https://doi.org/10.3390/ijms20225655>
7. Ohtsuki S., Yamaguchi H., Katsukura Y. et al. mRNA expression levels of tight junction protein genes in mouse brain capillary endothelial cells highly purified by magnetic cell sorting. *J. Neurochem.* 2008. Vol. 104. No. 1. Pp. 147–154. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.05008.x>
8. Clarke I.J. Hypothalamus as an Endocrine Organ. *Compr. Physiol.* 2015. Vol. 5. No. 1. Pp. 217–253. <https://doi.org/10.1002/j.2040-4603.2015.tb00605.x>
9. Morton G.J., Schwartz M.W. Leptin and the central nervous system control of glucose metabolism. *Physiol. Rev.* 2011. Vol. 91. No. 2. Pp. 389–411. <https://doi.org/10.1152/physrev.00007.2010>
10. Bear M.H., Reddy V., Bollu P.C. Neuroanatomy, Hypothalamus. *StatPearls. Treasure Island (FL)*. 2025.
11. Morina I.Yu., Stankova E.P., Romanova I.V. Effects of prenatal stress on the formation of the orexinergic system of the hypothalamus in rats. *Neurosci. Behav. Physiol.* 2020. Vol. 50. Pp. 607–617. <https://doi.org/10.1007/s11055-020-00942-x>
12. Romanova I.V., Mikhailova E.V., Mikhrina A.L. et al. Type 1 melanocortin receptors in pro-opiomelanocortin-, vasopressin-, and oxytocin-immunopositive neurons in different areas of mouse brain. *Anat. Rec. (Hoboken)*. 2023. Vol. 306. Pp. 2388–2399. <https://doi.org/10.1002/ar.24934>
13. Агалакова Н.И., Михайлова Е.В., Пьянков А.А. и др. Экспрессия профибротических факторов в ткани сердца крыс линии Вистар и Спрег-Доули при развитии хронической болезни почек. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2023. Т. 109. № 6. С. 737–748. <https://doi.org/10.31857/S0869811392306002X>
14. Морина И.Ю., Романова И.В. Орексин-иммунопозитивные структуры ретикулярного ядра таламуса. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2022. Т. 108. № 7. С. 836–849. <https://doi.org/10.1134/S0022093022040135>
15. Veenema A.H., Neumann I.D. Central vasopressin and oxytocin release: regulation of complex social behaviours. *Prog. Brain Res.* 2008. Vol. 170. Pp. 261–276. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(08\)00422-6](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)00422-6)
16. Lamas M., González-Mariscal L., Gutiérrez R. Presence of claudins mRNA in the brain. Selective modulation of expression by kindling epilepsy. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 2002. Vol. 104. No. 2. Pp. 250–254. [https://doi.org/10.1016/s0169-328x\(02\)00328-5](https://doi.org/10.1016/s0169-328x(02)00328-5)
17. Weber C.R., Nalle S.C., Tretiakova M. et al. Claudin-1 and claudin-2 expression is elevated in inflammatory bowel disease and may contribute to early neoplastic transformation. *Lab. Invest.* 2008. Vol. 88. No. 10. Pp. 1110–1120. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2008.78>

18. Zammarchi I., Santacroce G., Puga-Tejada M. et al. Epithelial neutrophil localization and tight junction Claudin-2 expression are innovative outcome predictors in inflammatory bowel disease. *United Eur. Gastroenterol. J.* 2024. Vol. 12. No. 9. Pp. 1155–1166. <https://doi.org/10.1002/ueg2.12677>
19. Wei M., Zhang Y., Yang X. et al. Claudin-2 promotes colorectal cancer growth and metastasis by suppressing NDRG1 transcription. *Clin. Transl. Med.* 2021. Vol. 11. No. 12. e667. <https://doi.org/10.1002/ctm2.667>
20. Ahmad R., Kumar B., Tamang R.L. et al. P62/SQSTM1 binds with claudin-2 to target for selective autophagy in stressed intestinal epithelium. *Commun. Biol.* 2023. Vol. 6. No. 1. 740. <https://doi.org/10.1038/s42003-023-05116-2>
21. Songtao Y., Fangyu L., Jie C., Li Y. Identification of claudin-2 as a promising biomarker for early diagnosis of pre-diabetes. *Front. Pharmacol.* 2024. Vol. 15. 1370708. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1370708>
22. Molina-Jijon E., Rodriguez-Munoz R., Namorado M.C. et al. Oxidative stress induces claudin-2 nitration in experimental type 1 diabetic nephropathy. *Free Radic. Biol. Med.* 2014. Vol. 72. Pp. 162–175. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.03.040>
23. Van den Bossche J., Laoui D., Morias Y. et al. Claudin-1, claudin-2 and claudin-11 genes differentially associate with distinct types of anti-inflammatory macrophages in vitro and with parasite- and tumour-elicited macrophages in vivo. *Scand. J. Immunol.* 2012. Vol. 75. No. 6. Pp. 588–598. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2012.02689.x>

REFERENCES

1. Tsukita S., Tanaka H., Tamura A. The Claudins: from tight junctions to biological systems. *Trends Biochem. Sci.* 2019;**44**(2):141–152. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2018.09.008>
2. Ganapathy A.S., Saha K., Suchanec E. et al. AP2M1 mediates autophagy-induced CLDN2 (claudin 2) degradation through endocytosis and interaction with LC3 and reduces intestinal epithelial tight junction permeability. *Autophagy.* 2022;**18**(9):2086–2103. <https://doi.org/10.1080/15548627.2021.2016233>
3. CLDN2. *GeneCards*. <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=CLDN2>
4. Kratzer I., Vasiljevic A., Rey C. et al. Complexity and developmental changes in the expression pattern of claudins at the blood-CSF barrier. *Histochem. Cell Biol.* 2012;**138**(6):861–879. <https://doi.org/10.1007/s00418-012-1001-9>
5. Lun M.P., Monuki E.S., Lehtinen M.K. Development and functions of the choroid plexus-cerebrospinal fluid system. *Nat. Rev. Neurosci.* 2015;**16**(8):445–457. <https://doi.org/10.1038/nrn3921>
6. Venugopal S., Anwer S., Szászi K. Claudin-2: roles beyond permeability functions. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;**20**(22):5655. <https://doi.org/10.3390/ijms20225655>
7. Ohtsuki S., Yamaguchi H., Katsukura Y. et al. mRNA expression levels of tight junction protein genes in mouse brain capillary endothelial cells highly purified by magnetic cell sorting. *J. Neurochem.* 2008;**104**(1):147–154. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.05008.x>

8. Clarke I.J. Hypothalamus as an endocrine organ. *Compr. Physiol.* 2015;**5**(1):217–253. <https://doi.org/10.1002/j.2040-4603.2015.tb00605.x>
9. Morton G.J., Schwartz M.W. Leptin and the central nervous system control of glucose metabolism. *Physiol. Rev.* 2011;**91**(2):389–411. <https://doi.org/10.1152/physrev.00007.2010>
10. Bear M.H., Reddy V., Bollu P.C. Neuroanatomy, hypothalamus. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025.
11. Morina I.Yu., Stankova E.P., Romanova I.V. Effects of prenatal stress on the formation of the orexinergic system of the hypothalamus in rats. *Neurosci. Behav. Physiol.* 2020;**50**:607–617. <https://doi.org/10.1007/s11055-020-00942-x>
12. Romanova I.V., Mikhailova E.V., Mikhrina A.L. et al. Type 1 melanocortin receptors in pro-opiomelanocortin-, vasopressin-, and oxytocin-immunopositive neurons in different areas of mouse brain. *Anat. Rec. (Hoboken)*. 2023;**306**:2388–2399. <https://doi.org/10.1002/ar.24934>
13. Agalakova N.I., Mikhailova E.V., Piankov A.A. et al. Ekspressiya profibroticheskikh faktorov v tkani serdtsa kryss linii Vistar i Spreg-Douli pri razvitiy khronicheskoy boleznii pochek [Expression of pro-fibrotic factors in cardiac tissue of Wistar and Sprague-Dawley rats during the development of chronic kidney disease]. *Rossiyskiy fiziologicheskij zhurnal im. I.M. Sechenova = Russian Journal of Physiology*. 2023;**109**(6):737–748. (in Russ.) <https://doi.org/10.31857/S0869811392306002X>
14. Morina I.Yu., Romanova I.V. Oreksin-immunopozitivnyye struktury retikulyarnogo yadra talamusa [Orexin-immunopositive structures of the reticular nucleus of the thalamus]. *Rossiyskiy fiziologicheskij zhurnal im. I.M. Sechenova = Russian Journal of Physiology*. 2022;**108**(7):836–849. (in Russ.) <https://doi.org/10.1134/S0022093022040135>
15. Veenema A.H., Neumann I.D. Central vasopressin and oxytocin release: regulation of complex social behaviours. *Prog. Brain Res.* 2008;**170**:261–276. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(08\)00422-6](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)00422-6)
16. Lamas M., González-Mariscal L., Gutiérrez R. Presence of claudins mRNA in the brain. Selective modulation of expression by kindling epilepsy. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 2002;**104**(2):250–254. [https://doi.org/10.1016/s0169-328x\(02\)00328-5](https://doi.org/10.1016/s0169-328x(02)00328-5)
17. Weber C.R., Nalle S.C., Tretiakova M. et al. Claudin-1 and claudin-2 expression is elevated in inflammatory bowel disease and may contribute to early neoplastic transformation. *Lab. Invest.* 2008;**88**(10):1110–1120. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2008.78>
18. Zammarchi I., Santacroce G., Puga-Tejada M. et al. Epithelial neutrophil localization and tight junction Claudin-2 expression are innovative outcome predictors in inflammatory bowel disease. *United Eur. Gastroenterol. J.* 2024;**12**(9):1155–1166. <https://doi.org/10.1002/ueg2.12677>
19. Wei M., Zhang Y., Yang X. et al. Claudin-2 promotes colorectal cancer growth and metastasis by suppressing NDRG1 transcription. *Clin. Transl. Med.* 2021;**11**(12):e667. <https://doi.org/10.1002/ctm2.667>
20. Ahmad R., Kumar B., Tamang R.L. et al. P62/SQSTM1 binds with claudin-2 to target for selective autophagy in stressed intestinal epithelium. *Commun. Biol.* 2023;**6**(1):740. <https://doi.org/10.1038/s42003-023-05116-2>

21. Songtao Y., Fangyu L., Jie C., Li Y. Identification of claudin-2 as a promising biomarker for early diagnosis of pre-diabetes. *Front. Pharmacol.* 2024;**15**:1370708. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1370708>
22. Molina-Jijon E., Rodriguez-Munoz R., Namorado M.C. et al. Oxidative stress induces claudin-2 nitration in experimental type 1 diabetic nephropathy. *Free Radic. Biol. Med.* 2014;**72**:162–175. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.03.040>
23. Van den Bossche J., Laoui D., Morias Y. et al. Claudin-1, claudin-2 and claudin-11 genes differentially associate with distinct types of anti-inflammatory macrophages in vitro and with parasite- and tumour-elicited macrophages in vivo. *Scand. J. Immunol.* 2012;**75**(6):588–598. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2012.02689.x>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Пьянков Арсений Алексеевич – ст. лаборант-исследователь,
Лаборатория интегративной нейроэндокринологии,
Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Российская Федерация
E-mail: aa.pyankov@yandex.ru
<https://orcid.org/0009-0006-9795-2463>

Морина Ирина Юрьевна – канд. биол. наук; ст. науч. сотр.,
Лаборатория интегративной нейроэндокринологии,
Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Российская Федерация
E-mail: irinamorina@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2252-0088>

Романова Ирина Владимировна – д-р биол. наук; гл. науч. сотр.;
зав. Лабораторией интегративной нейроэндокринологии,
Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Российская Федерация
E-mail: irinaromanova@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0348-0631>

Поступила в редакцию 04.12.2025
После доработки 09.12.2025
Принята к публикации 09.12.2025

ABOUT THE AUTHORS

Pyankov, Arseniy A. – Senior Research Assistant, Laboratory of Integrative Neuroendocrinology, Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russian Federation
E-mail: aa.pyankov@yandex.ru
<https://orcid.org/0009-0006-9795-2463>

Morina, Irina Yu. – Cand. Sc. (Biology); Senior Research Officer, Laboratory of Integrative Neuroendocrinology, Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russian Federation
E-mail: irinamorina@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2252-0088>

Romanova, Irina V. – Ph.D. (Biology); Chief Researcher; Head of the Laboratory of Integrative Neuroendocrinology, Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russian Federation
E-mail: irinaromanova@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0348-0631>

Received December 04, 2025
Revised December 09, 2025
Accepted December 09, 2025