

© Коллектив авторов, 2012
УДК 611.018.8

О. С. Сотников¹, А. А. Лактионова¹, Н. М. Парамонова¹, Л. И. Арчакова² и Т. В. Краснова¹

ЭНУКЛЕАЦИЯ, ФОРМИРОВАНИЕ ЦИТО- И КАРИОПЛАСТОВ И ИХ СЛИЯНИЕ С ТЕЛОМ НЕЙРОНА

¹ Лаборатория функциональной морфологии и физиологии нейрона (зав. — проф. О. С. Сотников), Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург; ² Центр электронной и световой микроскопии (зав. — канд. мед. наук С. А. Новаковская), Институт физиологии НАН Беларуси, г. Минск

В настоящей работе, проведенной на изолированных нейронах моллюска *Lymnaea stagnalis*, с помощью энуклеации нейрона удалось получить цитопласт, а потом слить его с другим нейроном, получив гибрид. Эксперименты показали, что изолированные нейроны обладают способностью сливаться друг с другом, образуя двудерные нейроны, они могут быть энуклеированы с образованием цито- и кариопластов и после слияния способны образовывать комплексы: тело клетки — цитопласт, цитопласт — кариопласт и др. При этом обнаруживаются все не вызывающие сомнения показатели слияния, описанные для слияния тел нервных клеток. В работе показана возможность искусственно вызывать слияние ампутированного фрагмента нейроплазмы с телом нейрона — метаболическим центром другой клетки. Теоретически это означает, что *in vivo* ампутированный отросток нейрона также может быть слит с новой клеткой.

Ключевые слова: синцитиальная связь нейронов, слияние нейронов, энуклеация нейронов, цитопласт нейрона, нейронная теория

«На смену аналитическим методам познания организации живого начинают приходить синтетические подходы, открывающие возможность для создания, конструирования живых систем различной сложности»

М. Н. Мейсель [5, с. 3]

Клеточная инженерия — наука о реконструировании клеток, создании клеток из изолированных частей разнородных клеток и образовании гибридных клеток из клеток разных типов и разных животных. За последние 30–40 лет этот раздел науки получил широкое развитие благодаря появлению методов энуклеации клеток, т.е. химического или механического способов выделения из клеток ядра с узким слоем цитоплазмы, окруженной мембраной, и различных способов их слияния [7].

С помощью этих методов решались многие проблемы дифференцировки, старения клеток, цитоплазматической наследственности, взаимодействия ядерного и цитоплазматического геномов, цитоплазматической регуляции ядерных функций и др. [26, 28], закономерности перепрограммирования генетического кода клеток [19, 21]. Исследовались механизмы инфекции на клетках с ядром и цитопластах (цитопласт — цито-

плазма клетки, окруженная мембраной, оставшаяся после выделения ядра) [15].

Как было показано, изолированное ядро (кариопласт) имеет узкий ободок цитоплазмы и длительное время сохраняет жизнеспособность и способность к слиянию [30]. Цитопласт также сохраняет жизнеспособность и подвижность в изолированном виде в течение нескольких суток [2], и он способен к регенерации и синтезу белка [6]. При пересадке кариопласта в безъядерную цитоплазму образуется жизнеспособная реконструированная клетка [18]. Удалось путем объединения ядра соматической клетки эмбриона с энуклеированной яйцеклеткой получить полноценную мышшь [22]. В настоящее время клонирование различных животных получило широкое распространение [14, 25]. Главными процедурами при клонировании являются энуклеация яйцеклетки (приготовление цитопласта-реципиента), получение кариопласта из соматической клетки и слияние карио- и цитопласта с образованием жизнеспособной реконструированной клетки. Механизмы естественной энуклеации изучаются также на эритроблестах в процессе эритропоэза [24, 33].

Сведения об авторах:

Сотников Олег Семенович (e-mail: ossotnikov@mail.ru), Лактионова Александра Александровна, Парамонова Наталья Михайловна, Краснова Татьяна Викторовна, лаборатория функциональной морфологии и физиологии нейрона, Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6

Арчакова Людмила Ивановна (e-mail: novaakovskaya@mail.ru), Центр электронной и световой микроскопии, Институт физиологии НАН Беларуси, 220725 Беларусь, Минск, ул. Академическая, 28

Для энуклеации с получением карио- и цитопластов использованы такие агенты, как цитохалазин В, демекольцин, нокодазол и др. [16, 32]. Энуклеация и синцитиальное слияние полученных частей клетки выполнены с использованием многих типов клеток, за исключением нервных. Возможно, это было связано с утвердившимся в неврологии представлением нейронной теории о невозможности синцитиальных связей между нейронами и их слияния [9].

Тем не менее, межнейрональная синцитиальная связь уже показана во многих отделах нервной системы позвоночных и беспозвоночных в норме и патологии [9, 27]. Нам кажется целесообразным продемонстрировать, что нейроны, как и другие клетки, могут быть энуклеированы и способны к синцитиальному слиянию своих основных компонентов с образованием цибридов (клеток, слившихся с цитопластом) и кариобридов (клеток, слившихся с кариопластом). Это особенно важно в связи с тем, что, как общеизвестно, в ходе валлеровской дегенерации [31] после отделения отростка нейрона от его тела, содержащего ядро, ампутированный фрагмент обязательно должен погибнуть. Хотелось бы проверить, обязательно ли отросток нейрона должен погибнуть, или его можно слить с другим нейроном и сохранить ему жизнь. Для получения цитопластов необходимо было провести энуклеацию нейронов, однако известно, что некоторые виды клеток, например, гепатоциты, могут быть энуклеированы с огромным трудом [3].

В связи с изложенным выше, целью настоящего исследования было получение цитопласта нейрона с помощью энуклеации, а потом его слияние с другим нейроном с образованием цибрида.

Материал и методы. Методика исследования энуклеации нейронов под воздействием цитохалазина В. Объектом исследования служили изолированные нейроны моллюска *Lymnaea stagnalis* и их производные: цитопласты и кариопласты. Лишенные глии с помощью проназы нейроны [4] помещали в среду Игла MEM (Sigma, США) без глутамин и бикарбоната. Для энуклеации использовали цитохалазин В (Sigma, США), который растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО) (1 мг/мл) и затем разводили в культуральной среде

до концентрации 10 мкг/мл, с помощью бикарбоната натрия устанавливали pH 7,8. Нейроны культивировали в течение 4–8 ч и таким образом получали их кариопласты и цитопласты (рис. 1, А–В). Жизнеспособность цитопластов проверяли по гранулообразованию при окрашивании объектов метиленовым синим. Для определения момента слияния использовали не вызывающие сомнения морфологические критерии слияния [11]. Для более полного отделения большинства ядер от цитопластов нейрона проводили дополнительное механическое воздействие путем пипетирования.

В контроле проверяли, не вызывает ли выделение ядра растворитель цитохалазина ДМСО. Для этого в таких же опытах к 100 мл среды добавляли 1 мл ДМСО без цитохалазина.

Методика слияния цито- и кариопластов с телами нейронов. Вначале нейроны выдерживали в среде с цитохалазином В в течение 4 ч (1-я серия опытов) или 8 ч (2-я серия опытов), после чего проводили их пипетирование с помощью Г-образной стеклянной микропипетки с диаметром отверстия кончика 0,8 мм, а затем — с диаметром 0,6 мм. Энуклеированные клетки пипетировали в течение 5–10 мин для окончательного отделения кариопластов от цитопластов, далее их промывали чистой культуральной средой. Затем к этим компонентам добавляли свежеприготовленные изолированные нервные клетки с целью добиться слияния цитопластов с телами живых нейронов (см. рис. 1, В–Д). Для сближения целых нейронов и частей нейронов осуществляли центрифугирование в течение 5 мин при 400 об/мин и сохраняли в таком виде в культуральной среде в течение 1 сут (1-я серия опытов) и 2 суток (2-я серия опытов). Таким образом, в 1-й серии компоненты нейронов находились в питательной среде 28 ч, а во 2-й серии — в течение 56 ч.

Агрегаты слившихся тел живых нейронов и частей клеток фиксировали в 2,5% растворе глутарового альдегида на 0,1 молярном какодильном буфере и дополнительно фиксировали 1% OsO_4 (подробнее см. [10]). Ультратонкие срезы контрастировали по Рейнольдсу и исследовали в электронном микроскопе (Hitachi, Япония).

Результаты исследования. Через 2–4 ч и более содержания изолированных нейронов в среде с цитохалазином В отмечена их энуклеация (рис. 2, а, б). У разных клеток она начинается спустя неодинаковое время (через 40–90 мин) и становится отчетливо выраженной через 3–8 ч. Нередко полной изоляции кариопласта не наступает, и нейрон из 8-образной конфигурации снова возвращается к шарообразной форме. Для того, чтобы увеличить долю выхода кариопластов и соответственно увеличить число полученных цитопластов, приходится применять механическую процедуру (многократное пипетирование суспензии энуклеируемых нейронов).

В результате образуются изолированные цитопласты (см. рис. 2, г) и кариопласты (см. рис. 2, в). Отрыв некоторых выпячиваний основного цитопласта может приводить к образованию малых цитопластов.

В контрольных опытах при инкубации с ДМСО без цитохалазина в течение 8 ч энуклеация не наступала.

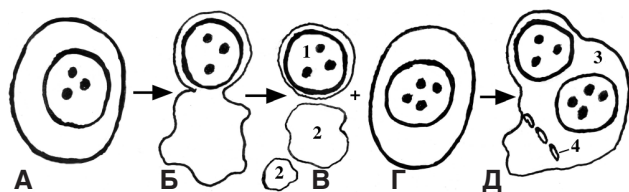


Рис. 1. Схема энуклеации (А, Б), получения цито- и кариопластов (В), их синцитиального слияния (Д) с другой клеткой (Г).

1 — кариопласт; 2 — цитопласты; 3 — цибрид; 4 — вакуолеподобные расширения межклеточной щели.

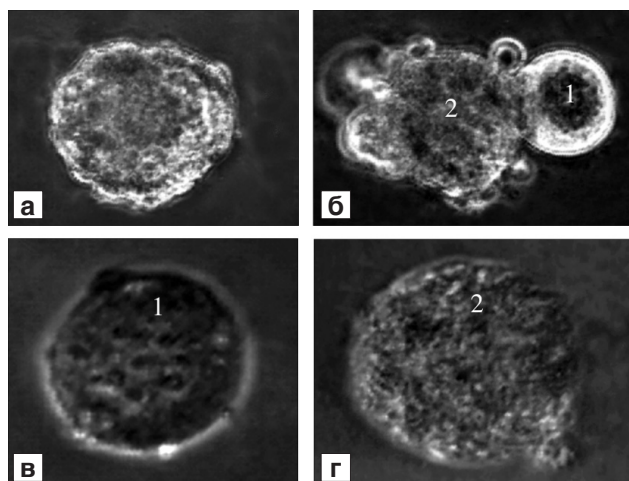


Рис. 2. Энуклеация изолированного нейрона (а, б) с образованием карио- и цитопласта (в, г).

1 — кариопласт; 2 — цитопласт. Фазовый контраст. Об. 40 Ph, ок. 10.

На электронных микрофотографиях в 1-й серии опытов обращает на себя внимание своеобразная перестройка пространственного расположения эндоплазматической сети ряда нейронов. Цистерны этой сети образуют несколько концентрических колец, ядра и цитоплазма имеют нормальную структуру (рис. 3). У некоторых нейронов отмечены отдельные вакуоли, лизосомоподобные гранулы на периферии клетки. Изолированные фрагменты цитоплазмы имеют различные размеры, относительно высокую электронную плотность (рис. 4, а). На периферии цитопластов встречаются вакуоли и лизосомоподобные гранулы (см. рис. 4). Кариопласты содержат мелкие лизосомоподобные гранулы и неизмененные ядра (см. рис. 4, в). Часть цитопластов контактируют с телами клеток (рис. 5), образуют ножки слияния, вакуолеподобные расширения межклеточной щели и сливаются с цитоплазмой тела нейронов, формируя цибриды. Вакуолеподобные структуры находятся на границе сливающихся компонентов нейрона и служат указателем процесса слияния цитопластов. При полном слиянии цитопластов с цитоплазмой тела нейрона происходит редукция пограничных вакуолеподобных структур, и цитопласт начинает

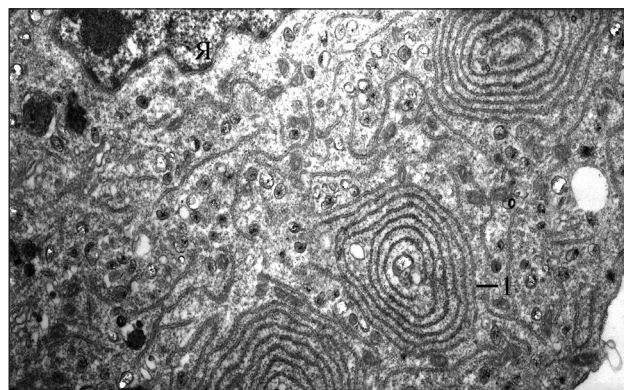


Рис. 3. Цитоплазма и ядро (Я) нейрона через 1 сут пребывания в культуральной среде вместе с цито- и кариопластами.

1 — эндоплазматическая сеть. Ув. 10 000.

напоминать выпячивание нейрона (см. рис. 5, б). Таким образом, уже через 1 сут контактирования интактных тел нейронов с цитопластами в культуральной среде отмечается слияние некоторых из них с образованием цибридов (клеток, слившихся с цитопластом).

Во 2-й серии опытов, когда тела нейронов и их фрагменты после энуклеации находились в контакте 2 сут, число слившихся структур было больше. Помимо слияния цитопластов (рис. 6, а) и кариопластов (см. рис. 6, б) с телами нейронов, встречались фигуры слияния цитопластов между собой и с кариопластами. Цитоплазма цитопластов выглядела более электронно-плотной (см.

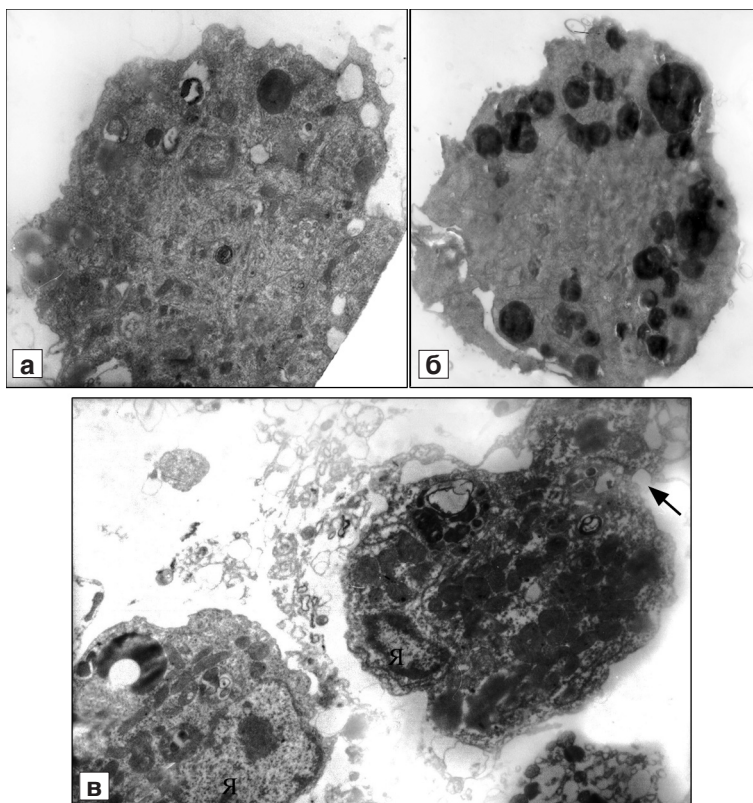


Рис. 4. Цитопласты через 1 (а) и 2 (б) сут пребывания в культуральной среде и кариопласты (в) через 1 сут инкубации в этой же среде. Стрелка — место слияния кариопласта с телом нейрона; Я — верхушечный срез ядра. Ув.: а, б — 20 000, в — 10 000.

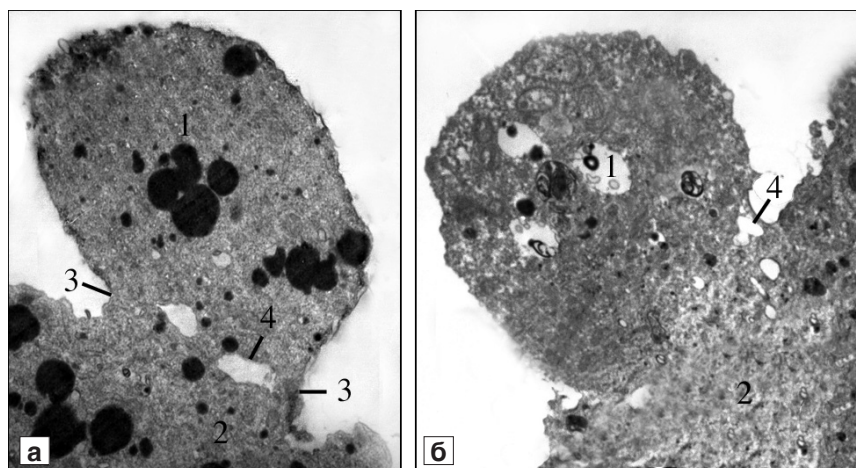


Рис. 5. Варианты (а, б) малых цитопластов, слившихся с телом нейрона через 1 сут инкубации в культуральной среде с нейронами.

1 — цитопласты; 2 — тело нейрона; 3 — мостики слияния; 4 — вакуолеподобные структуры на границе слияния цитопласта и нейрона. Ув. 10 000.

рис. 4, б). Число лизосомоподобных гранул было увеличено.

Обсуждение полученных данных. Проведенные эксперименты показали, что изолированные нейроны не только обладают способностью сливаться друг с другом [11], образуя двуклеточные нейроны (гомодикарионы), но, как и все другие ненервные клетки, могут быть энуклеированы с образованием цито- и кариопластов и после слияния способны создавать комплексы: тело клетки — цитопласт, цитопласт — кариопласт и другие. Обнаруживаются все признаки слияния, описанные для слияния тел нервных клеток [11]. При большом увеличении всегда прослеживается разрушение расположенных рядом мембран тела нейрона и цитопласта. Так же, как и при слия-

нии тел нейронов, обнаруживается варикозная деформация межклеточной щели и деструкция пограничных мембран. Остаточные фрагменты мембран (рис. 7) имеют округлые контуры или форму сфероидных остаточных телец [10]. Следовательно, нервная клетка не является исключением, как неспособная образовывать цитоплазматические синцитиальные связи [20]. Нервные клетки обладают всеми основными характерными для них свойствами, и чтобы проявилась способность к образованию синцития и слиянию, необходимо отсутствие разделяющей их глии [8]. В работе показана возможность искусственно сливать ампутированный участок нейроплазмы с телом — метаболическим центром другой клетки. Теоретически это означает, что *in vivo* ампутированный отросток нейрона также может быть слит с новой клеткой. Для процесса валлеровской дегенерации появляется исключение: отсеченное нервное волокно не обязательно должно дегенерировать. Теоретически, оно может быть заново слито с телом нейрона.

Сходные попытки описаны в литературе, на примере ракообразных показано, что центральная культя перерезанного нервного волокна может быть сращена с периферическим отрезком [12, 13, 17]. Конечно, для позвоночных, у которых преобладают миелиновые нервные волокна, возможность слияния изолированных дистальных и проксимальных отделов нейрона — пока только теоретическая, проблематичная

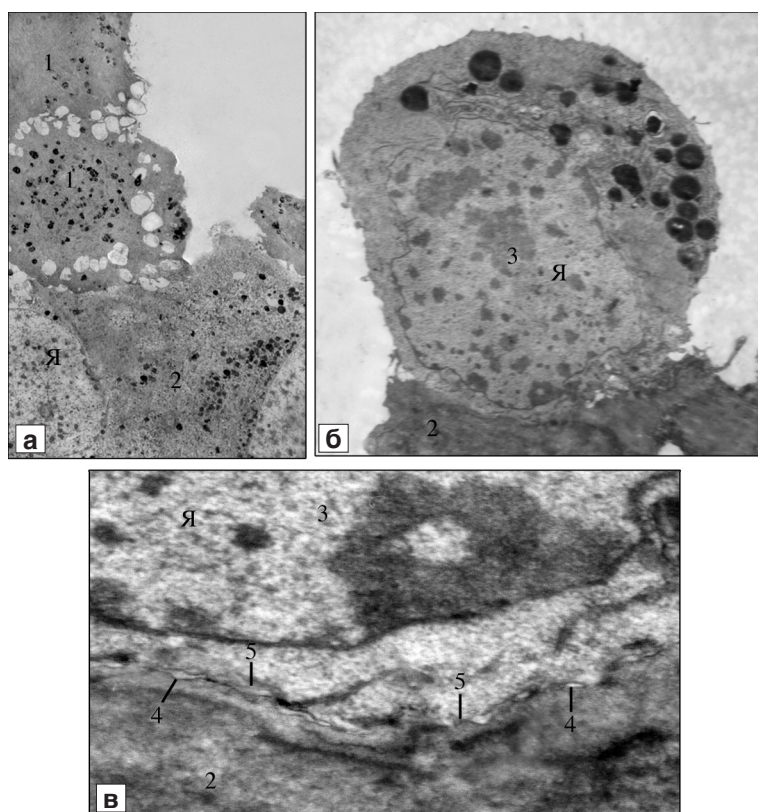


Рис. 6. Слияние цитопластов и кариопластов между собой и с телом нейрона (2-е сутки от начала слияния).

а — слияние двух цитопластов с телом нейрона; б — слияние кариопласта с телом нейрона; в — фрагмент рис. 6, б (видны разрушающиеся пограничные мембраны кариопласта и тела нервной клетки). 1 — цитопласты; 2 — тела нейронов; 3 — кариопласт; 4 — разрушенные пограничные мембраны; 5 — синцитиальные перфорации; Я — ядро. Ув.: а — 10 000; б — 25 000; в — 36 000.

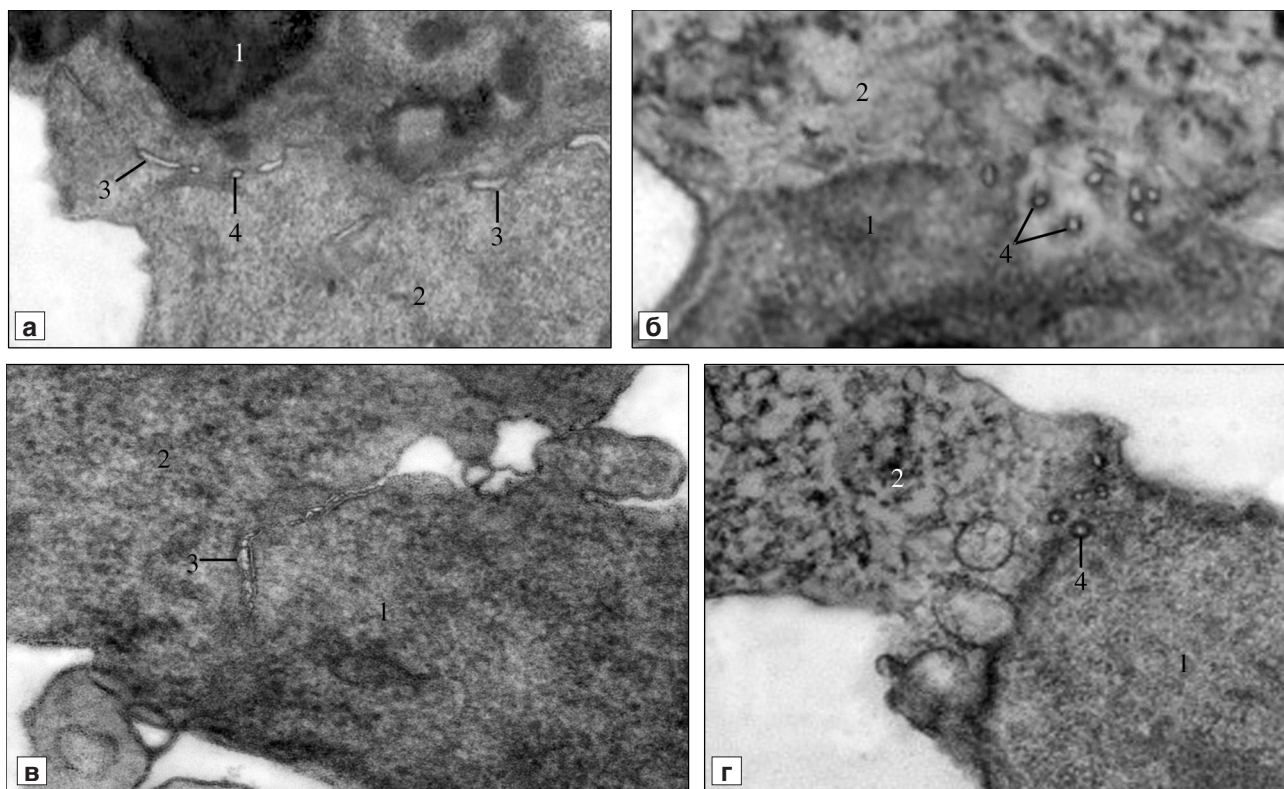


Рис. 7. Разрушающиеся пограничные мембраны в области мостиков слияния цитопластов с телом нейронов через 2 сут после начала процедуры слияния.

а — фрагменты разрушенных мембран и остаточные тельца на границе слияния цитопласта и тела нейрона; б — множественные остаточные тельца при полностью лизированных пограничных мембранах между цитопластом и нейроном; в — мостик слияния между цитопластом и нейроном с разрушенными пограничными мембранами; г — остаточные тельца на месте лизированных пограничных мембран в области мостика слияния. 1 — цитопласт; 2 — тело нейрона; 3 — фрагменты разрушенных пограничных мембран между цитопластом и телом нейрона; 4 — остаточные мембранные тельца на месте бывших пограничных мембран. Ув.: а, в — 30 000; б, г — 36 000.

и практически трудно реализуемая задача, однако уже полученные данные позволяют усомниться в необратимости процесса вторичной дегенерации, описанного А. Валлером [31], и намечают большие перспективы для нейротравматологии.

Главная проблема и наша дальнейшая задача состоят в том, чтобы продлить время жизни цитопластов, ослабить их травму при энуклеации и ускорить процесс слияния цитопласта с телом нейрона. Появление в цитопластах на 2-е сутки значительного количества лизосомоподобных электронно-плотных гранул, напоминающих гранулы тромбоцитов [1], возможно, свидетельствует об ухудшении их состояния. Многочисленные современные работы по усовершенствованию протоколов клонирования животных направлены именно на эти задачи, хотя и с использованием других клеток [29]. Так, предложены более «мягкие» агенты, диссоциирующие актиновый цитоскелет при энуклеации, другие среды для культивирования цитопластов, варианты концентрации Ca^{2+} и дополнительные сливающие агенты [23]. Способность нейронов и их частей к цитоплазма-

тическому слиянию открывает новые возможности в экспериментальной неврологии.

Работа поддержана грантами РФФИ № 10-04-90000-Бел_а, № 09-01-00473.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вашкинел В. К. и Петров М. Н. Ультраструктура и функция тромбоцитов человека. Л., Наука. 1982.
2. Зеленин А. В. и Бандрина И. Н. Ранние этапы слияния клеток. Итоги науки и техники. Серия «Биофизика мембран». Взаимодействие и слияние мембран. М., ВИНТИ, 1984, т. 3, с. 218–242.
3. Зеленин А. В., Куш А. А. и Прудовский И. А. Реконструированная клетка. М., Наука, 1982.
4. Костенко М. А., Сотников О. С., Чистякова И. А. и др. Методические и методологические подходы к исследованию изолированных нейронов мозга взрослого животного (*Lymnaea stagnalis*) в культуре ткани. Морфология, 1998, т. 114, вып. 4, с. 102–106.
5. Мейсель М. Н. Предисловие. В кн.: Реконструированная клетка. М., Наука, 1982, с. 3–4.
6. Нейфах А. А. и Тимофеева М. Я. Молекулярная биология процессов развития. М., Наука. 1977.
7. Рингерц Н. и Сэвидж Р. Гибридные клетки. М., Мир. 1979.
8. Сотников О. С. Статика и структурная кинетика живых асимпатических дендритов. СПб., Наука, 2008.

9. Сотников О. С. К дискуссии о синцитиальной связи в нервной системе. *Морфология*, 2010, т. 137, вып. 3, с. 76–83.
10. Сотников О. С. и Парамонова Н. М. Цитоплазматическая синцитиальная связь — одна из трех форм межнейронной связи. *Успехи физиол. наук*, 2010, т. 41, № 1, с. 45–57.
11. Сотников О. С., Парамонова Н. М., Лактионова А. А. и Соловьева И. А. Экспериментальное моделирование и дискуссия о синцитиальных связях в нервной системе. *Морфология*, 2010, т. 138, вып. 6, с. 15–20.
12. Bittner G. D. Long term survival of severed distal axonal stumps in vertebrates and invertebrates. *Amer. Zool.*, 1988, v. 28, p. 1165–1179.
13. Bouton M. S. and Bittner G. D. Regeneration of motor axons in crayfish limbs: Distal stump activation followed by synaptic reformation. *Cell Tissue Res.*, 1981, v. 219, p. 379–392.
14. Chen D.Y., Jiang M.X., Zhao Z.J. et al. Cloning of Asian yellow goat (*C. hircus*) by somatic cell nuclear transfer: telophase enucleation combined with whole cell intracytoplasmic injection. *Mol. Reprod. Dev.*, 2007, v. 74, № 1, p. 28–34.
15. Coimbra V.C., Yamamoto D., Khusal K.G. et al. Enucleated L929 cells support invasion, differentiation, and multiplication of *Trypanosoma cruzi* parasites. *Infect. Immun.*, 2007, v. 75, № 8, p. 3700–3706.
16. Costa-Borges N., Paramio M.T., Santaló J. and Ibáñez E. Demecolcine and nocodazole-induced enucleation in mouse and goat oocytes for the preparation of recipient cytoplasts in somatic cell nuclear transfer procedures. *Theriogenology*, 2011, v. 75, № 3, p. 527–541.
17. Deriemer S. A., Elliot E. J., Macagno E. R. et al. Morphological evidence that regeneration axons can fuse with axon segment. *Brain Res.*, 1983, v. 272, p. 157–161.
18. DiBerardino M. E. Genetic stability and modulation of metazoan nuclei transplanted into eggs and oocytes. *Differentiation*, 1980, v. 17, p. 17–30.
19. Du L., Lin G. and Lu G. Cytoplast containing reprogramming-related factors from human embryonic stem cells arrested at metaphase. *Dev. Growth. Differ.*, 2011, v. 53, № 1, p. 18–25.
20. Guillery R. W. Relating the neuron doctrine to the cell theory. Should contemporary knowledge change our view of the neuron doctrine? *Brain Res. Rev.*, 2007, v. 5, № 2, p. 411–421.
21. Guo J., Tecirliglu R.T., Nguyen L. et al. Reprogramming factors involved in hybrids and cybrids of human embryonic stem cells fused with hepatocytes. *Cell Reprogram.*, 2010, v. 12, № 5, p. 529–541.
22. Illmensee K. and Hoppe P. C. Nuclear transplantation in *Mus musculus*: developmental potential of nuclei from preimplantation embryos. *Cell*, 1981, v. 23, p. 9–18.
23. Imsoonthornruk S., Lorthongpanich C., Sangmalee A. et al. The effects of manipulation medium, culture system and recipient cytoplast on *in vitro* development of intraspecies and intergeneric felid embryos. *J. Reprod. Dev.*, 2011, v. 57, № 3, p. 385–392.
24. Keerthivasan G., Small S., Liu H. et al. Vesicle trafficking plays a novel role in erythroblast enucleation. *Blood*, 2010, v. 116, № 17, p. 3331–3340.
25. Liu L., Oldenbourg R., Trimarchi J.R. and Keefe D.L. A reliable, noninvasive technique for spindle imaging and enucleation of mammalian oocytes. *Nat. Biotechnol.*, 2000, v. 18, № 2, p. 223–225.
26. Salomao M., Chen K., Villalobos J. et al. Hereditary spherocytosis and hereditary elliptocytosis: aberrant protein sorting during erythroblast enucleation. *Blood*, 2010, v. 116, № 2, p. 267–269.
27. Sotnikov O. S., Paramonova N. M. and Archakova L. I. Ultrastructural analysis of interneuronal syncytial perforations. *Int. Cell Biol.*, 2010, v. 34, № 4, p. 361–364.
28. Sumer H., Jones K.L., Liu J. et al. Transcriptional changes in somatic cells recovered from embryonic stem-somatic heterokaryons. *Stem. Cells Dev.*, 2009, v. 18, № 9, p. 1361–1368.
29. Tseng J.K., Liu H.K., Lin T.A. et al. Calcium release and development of heat-shocked porcine oocytes after nucleus-ooplasm reconstruction. *Cloning Stem. Cells*. 2009, v. 11, № 4, p. 557–563.
30. Veomett G., Prescott D. M., Shay J. and Porter K. R. Reconstruction of mammalian cells from nuclear and cytoplasmic components separated by treatment with cytochalasin B. *PNAS*, 1974, v. 71, p. 1999–2002.
31. Waller A. Experiments on the section of the glossa pharyngeal and hypoglossal nerves of the frog, and observations of the alterations produced thereby in the structure of their primitive fibres. *Phil. Trans., R Soc. London*, 1850, v. 140, p. 423–429.
32. Wang Y., Liu J., Tang S. et al. Modifications of chemically induced-enucleated nuclear transfer technique by reverse-order nuclear transfer in mouse. *Zygote*, 2009, v. 17, № 3, p. 261–268.
33. Zhang L., Flygare J., Wong P. et al. miR-191 regulates mouse erythroblast enucleation by down-regulating *RioK3* and *Mxi1*. *Genes Dev.*, 2011, v. 25, № 2, p. 119–124.

Поступила в редакцию 20.07.2011

ENUCLEATION, FORMATION OF CYTO- AND KARYOPLASTS, AND THEIR FUSION WITH NEURONAL BODY

O. S. Sotnikov, A. A. Laktionova, N.M. Paramonova, L. I. Archakova and T. V. Krasnova

In this research that was performed on isolated neurons of mollusk *Lymnaea stagnalis*, using neuron enucleation, the cytoplast was obtained which was then fused with another neuron resulting in cybrid formation. The experiments performed have shown that the isolated neurons are able to fuse with each other, forming binuclear neurons; also, like all other cells, they could be enucleated with the formation of cyto- and karyoplasts and, after fusion, they can form cell body–cytoplast, cytoplasts–karyoplast, and other complexes. This is associated with the appearance of all doubtless indicators of fusion described for fusion of nerve cell bodies. This work demonstrates the possibility to artificially fuse the amputated neuroplasm fragment with neuronal cell body — the metabolic center of another cell. Theoretically, this means that *in vivo* amputated neuronal process also can be fused with a novel cell.

Key words: *syncytial connections of neuron, neuronal fusion, neuronal enucleation, neuronal cytoplast, neuron theory*

Laboratory of Neuron Functional Morphology and Physiology, RAS I. P. Pavlov Institute of Physiology, St. Petersburg; Center of Electron and Light Microscopy, Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk