

В. А. Отеллин, Л. И. Хожай и Т. Т. Шишко

РЕАКЦИИ МЕЖНЕЙРОННЫХ СИНАПСОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ГИПОКСИИ В РАННИЙ ПЕРИОД НОВОРОЖДЕННОСТИ

Лаборатория онтогенеза нервной системы (зав. — чл.-кор. РАН проф. В. А. Отеллин), Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург

Изучены реакции формирующихся синапсов в неокортексе крыс на воздействие гипоксии в ранний период новорожденности (2-е сутки). Иммуноцитохимическим методом выявления синаптофизина и электронно-микроскопически изучена сенсомоторная кора мозга крысят на 3-, 5-е и 10-е сутки постнатального развития (по 6–10 особей каждого срока) как в экспериментальной, так и в контрольной группе (интактные животные). Иммуноцитохимическое исследование у животных в контроле выявило существенные различия в количественном распределении синаптофизин-позитивных структур в разных слоях неокортекса в ранний постнатальный период развития (5-е сутки). Показано, что после воздействия перинатальной гипоксии происходит уменьшение оптической плотности продукта иммуноцитохимической реакции более чем в 2 раза и снижение плотности расположения синаптофизин-позитивных гранул во всех слоях неокортекса. Наряду с этим, обнаруживаются электронно-плотные терминалы, свидетельствующие о начале дегенеративных процессов. В нейрорпиле неокортекса резко снижается число конусов роста, мелких отростков и формирующихся синапсов, существенно увеличивается электронная плотность синаптических, особенно постсинаптических мембран и уплотнений. У подопытных животных только к 10-м суткам постнатального развития зарегистрировано увеличение числа конусов роста и формирующихся синаптических структур. Таким образом, последствия воздействия гипоксии в ранний период новорожденности, вызывающие нарушения синаптогенеза, сохраняются на протяжении всего периода исследования.

Ключевые слова: неокортекс, нейрон, синапс, синаптофизин, конус роста

Одной из актуальных задач изучения ЦНС являются исследование динамики становления ее структур на ранних этапах онтогенеза и установление механизмов влияния на нее неблагоприятных факторов среды.

В современной неонатологии используют понятие перинатального этапа развития, который включает в себя дородовой, непосредственно родовой и постнатальный (послеродовой) периоды. Этот этап определяет дальнейшее физическое, нервно-психическое и интеллектуальное развитие ребенка. В перинатальном периоде происходит созревание функций, необходимых для самостоятельного существования организма новорожденного. Именно в это время мозг млекопитающих характеризуется высокой чувствительностью к воздействию неблагоприятных факторов среды. Среди них существенное место принадлежит часто встречающейся гипоксии—ишемии, обусловленной многочисленными причинами. В результате нарушаются процессы структурно-функционального становления мозга, что приводит в последующем онтогенезе к двигательным нарушениям, судорогам, расстройствам психиче-

ского развития и другим признакам церебральной недостаточности.

В последние годы проводятся разноплановые исследования влияния гипоксически-ишемических воздействий на головной мозг доношенных и недоношенных детей. Подавляющее число таких работ выполнено методами прижизненных исследований (магнитно-резонансная томография), что позволяет исследовать динамику развития белого и серого вещества мозга, его желудочков, что само по себе актуально и востребовано клиникой. Однако низкая разрешающая способность метода не позволяет судить о состоянии клеточных и тканевых процессов.

Следует отметить, что экспериментальное изучение патогенеза гипоксических повреждений ЦНС плода и новорожденного ребенка имеют существенные этические, методологические и методические ограничения. Поэтому альтернативой является стратегия углубленного исследования патогенеза постгипоксических реакций на животных моделях с обязательным учетом вида и нейробиологических особенностей развивающегося мозга.

Сведения об авторах:

Отеллин Владимир Александрович (e-mail: votellin@mail.ru), Хожай Людмила Ивановна (e-mail: astarta0505@mail.ru), Шишко Тамара Тимофеевна, лаборатория онтогенеза нервной системы, Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6

При моделировании перинатальной церебральной патологии в подавляющем числе случаев используют крыс и мышей, поскольку в перинатальный период онтогенеза между грызунами и высшими млекопитающими имеется большое сходство в строении мозга и его реакциях на воздействия ишемии — гипоксии [1, 15]. В получившей признание работе [4] установлено, что степень развития нервных элементов мозга, равно как и строение белого вещества, крысенок линии Вистар на 2-е сутки постнатального развития по структурно-функциональным показателям соответствует мозгу глубоко недоношенного ребенка [5]. Таким образом, введение в эксперименты крысят в ранние сроки после рождения позволяет изучать постгипоксические реакции мозга доношенных животных и быть моделью для исследования воздействия гипоксии на мозг недоношенных детей.

Вероятность развития у новорожденных детей серьезных неврологических и соматических нарушений в ответ на воздействие неблагоприятных факторов среды (в частности гипоксии) очень высока, о чем свидетельствуют физиологические и клинические исследования [2].

В небольшом числе экспериментальных работ, выполненных на новорожденных животных, использованы порой несопоставимые условия гипоксически-ишемических повреждений и разные сроки последующих исследований. В литературе нам не встретились данные о становлении и строении синаптического аппарата и его реакциях на гипоксию в ранний период новорожденности, что не позволяет в полной мере судить о характере и механизмах постгипоксических реакций развивающегося головного мозга. Получение такого рода сведений в отношении сенсомоторной коры, которая принимает участие в организации и реализации высших нервных функций, явилось целью настоящего исследования.

Материал и методы. В работе были использованы 2 группы крысят: 1-я группа — животные, подвергавшиеся в барокамере воздействию гипоксии (экспериментальная группа); 2-я группа — интактные животные того же возраста (контрольная группа). Воздействие гипоксии осуществляли на 2-е сутки постнатального развития в барокамере, оснащенной устройством для автоматически управляемого обогрева, смены газовой смеси и определения скорости потока газа. Азотнокислородную газовую смесь готовили с помощью газоаналитической и газосмесительной установки (Laorg, Франция). Подопытных животных помещали в барокамеру на 1 ч. Во время экспериментов содержание кислорода в барокамере составляло 7,6–7,8%; углекислого газа — 0,15–0,20%; азота — 91,8% при $t = 21,3\text{--}23\text{ }^{\circ}\text{C}$ и нормальном общем давлении. Все процедуры проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Исследовали сенсомоторную кору мозга крысят на 3-, 5-е и 10-е сутки постнатального развития (по 6–10 особей на каждую временную точку). Для гистологического изучения

мозг крысят фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде на фосфатно-солевом буфере (pH 7,4) в течение 24 ч, обезживали и заливали в парафин по общепринятой методике, готовили серийные фронтальные срезы толщиной 5–7 мкм.

Иммуноцитохимическую реакцию на синаптофизин проводили с использованием кроличьих поликлональных антител к синаптофизину (интегральному мембранному гликопротеину) — маркеру пресинаптических пузырьков (DakoCytomation, Дания) в разведении 1:1. Для выявления комплекса антиген—антитело применяли набор реагентов LSAB+2 (Dako, Дания). Визуализацию продукта реакции проводили при помощи хромогена DAB+ (Dako, Дания). Проводили одновременное окрашивание препаратов, полученных как от контрольных животных, так и от подопытных. После проведения иммуноцитохимической реакции часть срезов докрашивали гематоксилином Джилла и заключали в Permaunt (Thermo, США).

Исследования проводили при помощи светового микроскопа Leica DME (Leica, Германия). Изображения были получены при помощи цифровой видеокамеры Leica EC3 (Leica, Германия).

Используя световой микроскоп, цифровую камеру и компьютер с программным обеспечением ВидеоТест Мастер Морфология (Видео Тест, Россия), производили оценку оптической плотности (ОП) продукта реакции в слоях неокортекса. Данные обрабатывали, вычисляя среднюю арифметическую величину и ее стандартную ошибку в исследуемых группах животных. Статистическую обработку проводили средствами анализа ANOVA (Statistica 7.0, Statsoft Inc., США). Различия считали значимыми при $P < 0,05$.

Для электронно-микроскопического исследования неокортекса (фронтальной, сенсомоторной и слуховой областей) фрагменты коры фиксировали в 2,5% растворе глутаральдегида на 0,1 М фосфатном буфере (pH 7,4) с добавлением сахарозы, дополнительно фиксировали 2% раствором четырехоксида осмия и заключали в эпон. Ультратонкие срезы получали на ультратоме LKB-III (Productor, Швеция), которые на сетках контрастировали 1,5% раствором уранил-ацетата и цитратом свинца и просматривали в электронном микроскопе JEM-100B (Jeol, Япония) при ускоряющем напряжении 70 кВ.

Результаты исследования. Иммуноцитохимическая реакция выявления синаптофизина показала, что на 3-и постнатальные сутки у интактных животных в слое I сенсомоторной коры наблюдалась высокая ОП продукта реакции ($0,154 \pm 0,015$), в слоях II–III она была более низкой. Иммунопозитивные гранулы располагались в них одиночно или небольшими группами (по 2–6) на редких отростках как в нейропиле, так и на плазмолемме тел отдельных нейронов. В глубоких слоях (V–VI) неокортекса ОП продукта реакции на синаптофизин резко увеличивалась по сравнению с таковой в слоях II–III и была в них примерно одинаковой, однако, несколько превышала ОП в слое I ($0,176 \pm 0,011$). Многочисленные скопления иммунопозитивных гранул обнаруживались в нейропиле и на плазмолемме тел нейронов.

У подопытных животных на 3-и сутки постнатального развития (через 1 сут после воздействия гипоксии) наблюдалась более низкая, чем в контроле, ОП продукта реакции на синаптофизин практически во всех слоях неокортекса. В слое

I имело место уменьшение как ОП продукта реакции — примерно в 2,0 раза ($0,077 \pm 0,016$), так и снижение плотности расположения синаптофизин-позитивных гранул (рис. 1, а, б). В слоях II–III лишь в нейропиле встречались единичные иммунопозитивные гранулы, в слоях V–VI неокортекса плотность расположения гранул была примерно одинаковая, но ОП продукта реакции на синаптофизин была значительно ниже — в 2,8 раза ($0,063 \pm 0,011$), чем в контроле.

На 5-е сутки постнатального развития у контрольных животных во всех слоях исследованных областей неокортекса имело место заметное увеличение плотности расположения синаптофизин-позитивных гранул.

У подопытных животных на 5-е сутки постнатального развития (через 3 сут после воздействия гипоксии), как и в предыдущий срок исследования, ОП продукта реакции на синаптофизин и плотность расположения синаптофизин-позитивных гранул были несколько ниже.

При электронно-микроскопическом исследовании у крысят на 2-е сутки жизни (исходный контроль) в нейропиле поверхностных слоев неокортекса было обнаружено большое число преимущественно малого размера отростков, среди которых легко по характерным дендротрубочкам определялись дендриты и множество конусов роста аксонов и дендритов, а также цитоплазматические псевдоподии, принадлежащие нейронам, с большим числом крупных и разных по размерам светлых пузырьков (рис. 2, а). Именно такие пузырьки характерны для конусов роста, а их присутствие в псевдоподиях может являться начальным этапом развития аксонов или дендритов непосредственно от тела нервных клеток (см. рис. 2).

В данный срок онтогенеза прослеживаются лишь начальные этапы формирования межнейронных синапсов. При этом доминируют ранние стадии, когда повышается электронная плотность противоположащих мембран аксона и дендрита, аксона и тела клетки с несколько расширенной щелью между ними (см. рис. 2, в). Аксонные терминалы содержат небольшое число светлых синаптических пузырьков, в разной мере сконцентрированных вблизи пресинаптической мембраны или в центре бутона, и единичные светлые митохондрии с неразвитой системой крист. Постсинаптические дендриты по размерам и числу дендротрубочек относятся к числу средних и мелких, шипики на них не определяются. Такие картины характерны для поверхностных слоев сенсомоторной коры, в слое V в сравнительно небольшом количестве присутствуют синапсы, образованные более крупными бутонами с более дифференцированными дендритами и хорошо выраженным постсинаптическим уплотнением.

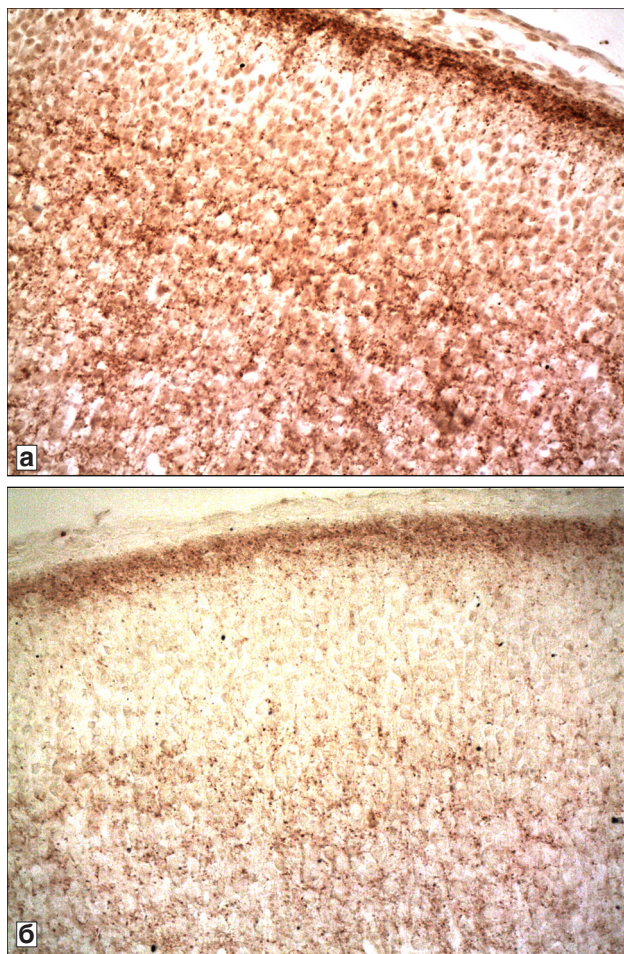


Рис. 1. Неокортекс крысы на 3-и сутки постнатального развития.

а — у крысы контрольной группы; б — снижение интенсивности иммуноцитохимической реакции на синаптофизин через 1 сут после воздействия гипоксии. Об. 100, ок. 10

Через 1 сут после гипоксии (т.е. на 3-и сутки жизни) в сенсомоторной коре резко повышается электронная плотность части пресинаптических отростков, практически полностью заполненных синаптическими пузырьками, преимущественно одного размера вблизи пресинаптической мембраны и небольшого числа крупных пузырьков на противоположном полюсе. В образуемых ими синапсах постсинаптические уплотнения (на теле нейронов или на дендритах) выражены не отчетливо и встречаются реже, чем в контроле. Такие электронно-плотные терминалы могут быть проявлением реакции по темному типу или начала процесса дегенерации (см. рис. 2, г). В нейропиле резко уменьшается число конусов роста аксонов и дендритов, а также количество синапсов ранних этапов созревания.

На 5-е сутки постнатального развития (через 3 сут после воздействия гипоксии) реакция ультраструктур неокортекса в общем мало отличается от описанной выше. Однако по сравнению с

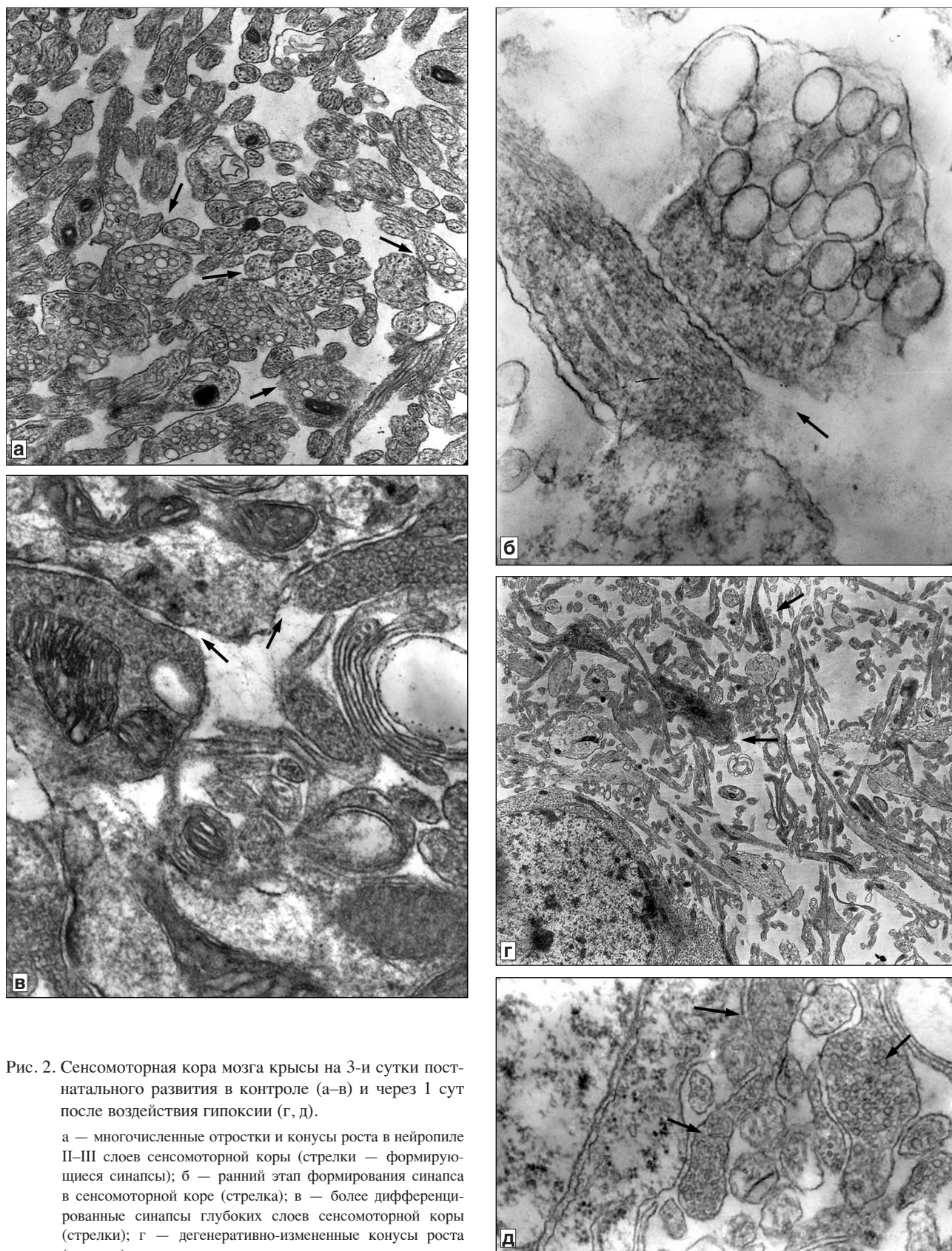


Рис. 2. Сенсомоторная кора мозга крысы на 3-и сутки постнатального развития в контроле (а-в) и через 1 сут после воздействия гипоксии (г, д).

а — многочисленные отростки и конусы роста в нейропиле II–III слоев сенсомоторной коры (стрелки — формирующиеся синапсы); б — ранний этап формирования синапса в сенсомоторной коре (стрелка); в — более дифференцированные синапсы глубоких слоев сенсомоторной коры (стрелки); г — дегенеративно-измененные конусы роста (стрелки), отсутствие начальных этапов становления синапсов в верхних слоях сенсомоторной коры; д — пресинаптические бутоны с повышенной электронной плотностью, формирующие синапсы (стрелки) в глубоких слоях сенсомоторной коры. Ув.: а — 30 000; б — 60 000; в, д — 40 000; г — 10 000

изменениями через 1 сут после гипоксии и особенно с контролем, заметно задерживается дифференцировка белоксинтезирующего аппарата в цитоплазме нейронов, что сочетается со значительным уменьшением числа конусов роста аксо-

нов и дендритов. Многие пресинаптические бутоны отличаются повышенной электронной плотностью аксоплазмы без изменения числа и размеров светлых синаптических пузырьков (см. рис. 2, д). Начальные этапы формирования синапсов практически отсутствуют. В уже сформированных синапсах уплотнения пре- и постсинаптических мембран сохраняются.

На 10-е сутки постнатального развития (через 7–8 сут после воздействия гипоксии) в нейропиле продолжают доминировать ранние фазы формирования синапсов, определяются аксонные терминалы с флоккулентным матриксом и уменьшенным числом синаптических пузырьков (последствие деструктивных процессов), но увеличивается число конусов роста нервных отростков. Шипики дендритов единичны.

Таким образом, в течение всего раннего периода новорожденности имеют место замедление синаптогенеза и реакция ряда пре- и постсинаптических отростков, проявляющиеся уменьшением числа конусов роста и задержкой формирования их ультраструктур, которые наблюдаются через 1 и 5 сут после гипоксического воздействия. Лишь к 10-м суткам несколько активизируется рост отростков аксонов и дендритов, но число зрелых синапсов остается незначительным.

Обсуждение полученных данных. Известно, что на ранних стадиях постэмбрионального периода в головном мозгу продолжают процессы миграции и дифференцировки нейронов, глии, активизируется синаптогенез.

Становление систем межнейронных связей является показателем как дифференцировки нейронов, так и развития всей ЦНС и ее многочисленных функций. Имеются данные об изменении электрофизиологических характеристик и показателей синаптической трансмиссии в пирамидных клетках поля СА1 гиппокампа после ишемически-гипоксических воздействий в период новорожденности у крыс [9]. С помощью метода флюоресцентно-электронной микроскопии показано, что перинатальная асфиксия индуцирует ранние изменения постсинаптического F-актина цитоскелета, сочетающиеся с модификацией других компонентов нейронального цитоскелета стриатума у крыс [10].

Внимание к проблемам синаптогенеза объясняется тем, что развитие межнейронных контактов и начало их функционирования являются отражением темпов созревания головного мозга, степени дифференцировки его клеточных элементов и формирования генетически обусловленных систем связей, обеспечивающих многообразие его функций. Зрелый синапс — показатель высокой дифференцировки нейронов.

Иммуногистохимический метод выявления синаптофизин-позитивных структур позволяет

объективно оценить степень созревания мозга, демонстрирует не только прогрессивное увеличение числа синаптических пузырьков, но форму и размеры содержащих их пресинаптических структур [11]. Синаптофизин является интегральным компонентом мембран синаптических пузырьков, который экспрессируется не только в зрелых синапсах, но и в конусах роста аксонов [7].

Наше светооптическое иммуноцитохимическое исследование выявило существенные различия послойного и количественного распределения синаптофизин-позитивных структур, что согласуется с данными ряда авторов, полученных на лабораторных животных и человеке [7, 9, 11–13]. Эти показатели под воздействием гипоксии, ишемии и асфиксии у плодов, как и в наших опытах, обнаруживают уменьшение числа и плотности пресинаптических бутонов [14]. Наши наблюдения свидетельствуют о том, что в процессе становления синапсов в контроле и в значительно большей мере после перинатальных гипоксических воздействий существенно изменяется электронная плотность синаптических, особенно постсинаптических мембран и уплотнений. Эти реакции в ответ на иные, чем у нас, условия и параметры экспериментальной гипоксии привлекают все большее число исследователей. Используя подкраску материала для электронно-микроскопического исследования фосфорно-вольфрамовой кислотой после внутриматочной гипоксии, авторы обнаружили дезорганизацию синапсов и увеличение ширины постсинаптических уплотнений в неостриатуме и гиппокампе у молодых крыс, причем, менее выраженные у самцов, чем у самок [3].

Методом коррелятивной флюоресцентно-электронной микроскопии установлено, что перинатальная асфиксия индуцирует ранние изменения постсинаптического F-актина цитоскелета, сочетающиеся с интенсивной модификацией других компонентов нейронального цитоскелета [10]. Авторы полагают, что накопление F-актина в шипиках дендритов может вовлекаться в постгипоксическую гибель нейронов, т.е. шипикам, срокам их развития отводится важная роль в реакциях развивающегося мозга на гипоксию. При изучении фетального и постнатального синаптогенеза у мышей высказано предположение, что синаптогенез коррелирует с развитием шипиков и экспрессией синаптофизина, т.е. созревание синапсов синхронизировано с дифференцировкой шипиков дендритов [8].

Учитывая приведенные мнения о роли шипиков дендритов в синаптогенезе и отсутствие их в нашем материале, можно, очевидно, с еще большей уверенностью говорить о незрелости синаптического аппарата на протяжении всего раннего периода новорожденности.

Несмотря на то, что у новорожденных крысят преобладают недостижные зрелости межнейронные контакты, они тем не менее функционируют в развивающемся головном мозгу. Показано, что в СА1 у новорожденных крысят тотчас после гипоксически-ишемических воздействий происходят изменения электрофизиологических характеристик нейронов и показателей синаптической передачи при участии транспортера глутамата, ряда рецепторов и синаптофизина [9]. В каких функциях участвуют исследованные нервные центры, предстоит выяснить.

В последние годы начал накапливаться материал о связи нарушенного синаптогенеза с развитием ряда нервно-психических заболеваний и синдромов (аутизм, эпилепсия, научение, поведенческие проблемы и т.п.) [6]. Данному направлению может способствовать и настоящая работа, которая, помимо фундаментального аспекта, открывает возможность тестирования фармакологических препаратов, регулирующих процессы развития головного мозга недоношенных детей и коррекции влияния неблагоприятных условий среды на структуры и функции ЦНС в последующем онтогенезе.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 13-04-00160 и гранта президиума РАН «Фундаментальные науки — медицине».

Авторы выражают глубокую признательность сотрудникам лаборатории нейроэндокринологии д-ру биол. наук Е.А.Рыбниковой и канд. биол. наук К.А.Барановой за помощь в освоении методики определения оптической плотности продукта иммунологической реакции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лебедев С.В., Карасев А.В., Рогаткин С.О. и др. Проблемы и перспективы экспериментального моделирования гипоксически-ишемических повреждений центральной нервной системы. Вестн. Рос. акад. мед. наук, 2009, № 2, с. 21–26.
2. Ушаков И.Б. и Федоров В.П. Кислород. Радиация. Мозг. Воронеж, Научная книга, 2011.
3. Cebal E. and Loidl C.F. Changes in neostriatal and hippocampal synaptic densities in perinatal asphyctic male and female young rat: role of hypothermia. Brain Res. Bull., 2011, v. 84, № 1, p. 31–38.
4. Clancy B., Darlington R.B. and Finlay B.L. Translating developmental time across mammalian species. Neuroscience, 2001, v. 105, № 1, p. 7–17.
5. Dean J.M., Moravec M.D., Grafe M. et al. Strain-specific differences in perinatal rodent oligodendrocyte lineage progression and its correlation with human. Dev. Neurosci., 2011, v. 33, № 3–4, p. 251–260.
6. Garcia-Penas J.J., Dominguez-Carral J. and Pereira-Bezani I. Abnormalities of synaptogenesis in autism. Pathogenic and therapeutic implications. Rev. Neurol., 2012, v. 54, Suppl. 1, p. 1–50.
7. Laeme L.K., Repke K.B., Hawkes R. and Rice F.L. Synaptogenesis in the rat suprachiasmatic nucleus: a light microscopic immunocytochemical survey. Brain Res., 1991, v. 544, № 1, p. 108–117.
8. Li M., Cui Z., Niu Y. et al. Synaptogenesis in the developing mouse visual cortex. Brain Res. Bull., 2010, v. 81, № 1, p. 107–113.
9. Pyeon H.J. and Lee Y.I. Differential expression levels of synaptophysin through developmental stages in hippocampal region of mouse brain. Anat. Cell Biol., 2012, v. 45, № 2, p. 97–102.
10. Saraceno G.E., Avala M.V., Badorrey M.S. et al. Effects of perinatal asphyxia on rat striatal cytoskeleton. Synapse, 2012, v. 66, № 1, p. 9–19.
11. Sarnat H.B., Auer R.N. and Flores-Sarnat L. Synaptogenesis in the fetal corpus striatum, globus pallidus, and substantia nigra: correlation with striosomes of Graybiel and dyskinesias in premature infants. J. Child Neurol., 2013, v. 28, № 1, p. 60–69.
12. Sarnat H.B. and Born D.E. Synaptophysin immunocytochemistry with thermal intensification: a marker of terminal axonal maturation in the human fetal nervous system. Brain Dev., 1999, v. 21, № 1, p. 41–50.
13. Sarnat H.B., Flores-Sarnat L. and Trevenen C.L. Synaptophysin immunoreactivity in the human hippocampus and neocortex from 6 to 41 weeks of gestation. J. Neuropathol. Exp. Neurol., 2010, v. 69, № 3, p. 234–245.
14. Strackx E., Van den Hove D.L., Steinbusch H.P. et al. Fetal asphyxia leads to the loss of striatal presynaptic boutons in adult rats. Int. J. Dev. Neurosci., 2010, v. 28, № 3, p. 277–281.
15. Vannucci S.J. and Hagberg H. Hypoxia-ischemia in the immature brain. J. Exp. Biol., 2004, v. 207, № 18, p. 3149–3154.

Поступила в редакцию 23.09.2013

REACTIONS OF THE INTERNEURONAL SYNAPSES OF RAT BRAIN TO HYPOXIA DURING THE EARLY POSTNATAL PERIOD

V.A. Otellin, L.I. Khozhai and T.T. Shishko

The reactions of forming synapses in rat neocortex to the effect of hypoxia in the early postnatal period (day 2) were studied. Using immunocytochemistry for synaptophysin demonstration and electron microscopic methods, the sensorimotor cortex was studied in rats at days 3, 4 and 10 of postnatal development (6 to 10 animals of each age) in both experimental and control groups (intact animals). Immunocytochemical study of the control animals demonstrated significant differences in the quantitative distribution of synaptophysin-positive structures in the different layers of the neocortex in the early postnatal period of development (day 5). It is shown that after exposure to perinatal hypoxia, more than 2-fold decrease of the optical density of the immunocytochemical reaction product took place together with the reduction of synaptophysin-positive granules distribution density in all cortical layers of. At the same time, electron-dense terminals demonstrating early degenerative processes were found. In the neuropil of the neocortex, a sharp decline in the number of growth cones, small processes and forming synapses was accompanied by significant changes of the electron density of synaptic, especially post-synaptic, membranes and densities. In the experimental animals, the number of growth cones and emerging synaptic structures were shown to increase only by postnatal day 10. Thus, the effects of hypoxia in the early postnatal period, causing disturbances of synaptogenesis, persist throughout the whole neonatal period examined.

Key words: *neocortex, neuron, synapse, synaptophysin, growth cone*

Laboratory of the Nervous System Ontogenesis, RAS I.P. Pavlov Institute of Physiology, St. Petersburg