

О. С. Сотников, Н. Ю. Васягина, Т. В. Краснова

ИЗОМЕТРИЧЕСКАЯ РЕТРАКЦИЯ И ОТРОСТКИ-НЕВИДИМКИ НЕРВНЫХ КЛЕТОК

Лаборатория функциональной морфологии и физиологии нейрона (зав. — проф. О. С. Сотников), Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург

В последнее время в большом количестве физиологических исследований, посвященных стрессу и гибернации, отмечен необычный морфологический феномен быстрого исчезновения и восстановления апикальных дендритов пирамидных нейронов гиппокампа, префронтальной коры и других отделов мозга. В статье сделана попытка объяснить это явление, базируясь на морфологическом анализе естественных эластических свойств нейроплазмы и кинетике структуры частично сохранных отростков живых изолированных нейронов. Установлено движение нейроплазмы в отростках при её бидирекционном токе. Описано новое физиологическое явление — изометрическая ретракция отростков нервных клеток, при которой токи нейроплазмы направлены в противоположные стороны, что приводит к резкому истончению их средних отделов и утолщению обоих концов. Высказано предположение о том, что предельно истонченные отростки могут достигать субмикроскопических размеров, при которых они становятся невидимыми под световым микроскопом. Повторное обратимое «исчезновение» и «появление» отростков продемонстрировано прижизненно в культуре нейронов и клеток нейроblastомы C-1300. Уменьшение диаметра отростков до предела их видимости показано на примере естественного растяжения последних. Этот же эффект отмечен в участках между обратимыми варикозностями отростков. Такие участки становятся предельно тонкими, а затем невидимыми. Истончаясь, отростки способны резко удлиняться. Обзор имеющейся литературы и собственные данные позволяют высказать положение о том, что феномен исчезновения апикальных дендритов объясняется их изометрической ретракцией, которая приводит к появлению «отростков-невидимок».

Ключевые слова: нейроны, отростки нервных клеток, механические свойства, механизм истончения, ретракция нейроплазмы

Светооптические и ультраструктурные исследования

В последнее время в нейробиологической литературе широкое распространение получило описание удивительного феномена. Речь идет о дендритных ветвях и их шипиках у пирамидных нейронов гиппокампа, префронтальной коры и других отделов мозга. Эти нейроны обладают необычным свойством в определенных условиях быстро «терять» (или прятать) свои дендриты, которые вновь появляются в течение 2 ч при восстановлении прежних условий. Исследователи обычно отмечают быструю временную потерю и стремительное восстановление ветвей апикальных дендритов во многих чрезвычайных ситуациях [1, 8, 27, 30]. Указанное явление неоднократно описано у позвоночных при повторном стрессе [13, 18, 20, 23, 26, 28, 29], в частности, у линии тревожных крыс [11, 16, 17] и в культуре ткани [14]. Быстрая обратимость феномена показана и при воздействии анестетика пропофола [4, 21, 36].

Значительное, обратимое укорочение дендритов и дендритных шипиков при гибернации выявлено у земляных белок [5], европейского хомячка [19], сибирских сусликов и других животных [27, 37]. По данным указанных авторов, восстановление апикальных дендритов при согревании животных происходит в течение 2 ч. На наш взгляд, при решении этого вопроса следует обратить особое внимание на электронно-микроскопические данные, полученные при изучении нейронов гиппокампа во время гибернации [27]. Вопреки представлениям, основанным на данных световой микроскопии (методика Гольджи), «укорачиваются», «атрофируются» или «исчезают» далеко не все апикальные дендриты. Авторы показали, что в гиппокампе среднее количество шипиков, исходно контактирующих с моховидными волокнами, уменьшается менее чем на $\frac{1}{3}$, т.е. более $\frac{2}{3}$ контактов остаются сохраненными. Потеря общей поверхности контактов на срезах — 26%. Следовательно, 74% их площади соответствуют сохранным дендритам, а значит, и большинство синаптических апикальных

Сведения об авторах:

Сотников Олег Семенович (e-mail: ossotnikov@mail.ru), Васягина Надежда Юрьевна (e-mail: vasy-nadezhda@yandex.ru), Краснова Татьяна Викторовна (e-mail: kratka27@yandex.ru), лаборатория функциональной морфологии и физиологии нейрона, Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6

дендритов должны оставаться непрерывными, хотя они и не выявляются под световым микроскопом при импрегнации нитратом серебра по Гольджи. Эти данные позволяют искать альтернативные объяснения эффекта «исчезновения» апикальных дендритов. Возможно, этому смогут помочь ультраструктурные данные В.И.Попова и Л.С.Бочаровой [27] о том, что оставшиеся при гибернации постсинапсы имеют гораздо меньшие размеры. Следовательно, возможно, измененные дендриты не исчезают окончательно, а лишь резко истончаются и просто невидимы в световой микроскоп.

В настоящее время, судя по литературе, очевидно, нет данных о механизмах истончения нервных отростков, тем более, в такой степени. В то же время, нет и описания таких механизмов, которые обеспечивали бы «отрастание» или удлинение ранее «исчезнувших» дендритов в течение 2 ч после прекращения спячки животного или других изменений [34]. Однако такой, казалось бы «невозможный», факт все-таки существует, и его следует как-то объяснить. Можно было бы предположить, что апикальные отростки ампутируются, резорбируются, дегенерируют или атрофируются. Однако на изученных препаратах никаких признаков ампутации и дегенерации не обнаружено. Нет колб ретракции, овоидов дегенерации или конусов роста, свидетельствующих о регенерации волокон [22, 29]. Возможно также, что отростки нервных клеток обладают какой-то естественной эластичностью, объясняющей их истончение, при котором они становятся невидимыми. Остаточные невидимые фрагменты таких отростков могли бы ускорять обратное антероградное восстановительное «удлинение» сокращенных апикальных дендритов, но таких данных пока также нет. Наиболее вероятное объяснение описанного феномена — это ретракция дендритов [31, 37].

Как известно, многие морфологические структуры, которые не видны под световым микроскопом, легко визуализируются под электронным микроскопом. Так, еще Н.Fernandez-Moran [15] в 1952 г. описал субмикроскопические отростки нервных клеток диаметром 0,1–0,06 мкм. Это означает, что и многие морфологические явления, затрагивающие живые структуры, также могут быть невидимыми при разрешении светоптического микроскопа. К сожалению, данные электронно-микроскопических исследований исчезающих апикальных дендритов в литературе отсутствуют. Однако еще есть одна теоретическая возможность объяснения «исчезающих» отростков, которая пока никем не исследовалась. Это — уникальное и быстрое их истончение до

ультраструктурных размеров при естественном эластическом натяжении. Мы попытались исследовать, насколько это вероятно. Почти все отмеченные работы по «исчезновению» апикальных дендритов выполнены светоптическими методами. Поэтому и неудивительно, что при истончении живых отростков до ультраструктурных размеров они становятся невидимыми. На некоторых электронно-микроскопических снимках аксошиповых синапсов в гиппокампе при гибернации встречаются группы очень тонких (в пределах 0,1 мкм) отростков, которые, естественно, являются «невидимками» при исследовании под световым микроскопом. Можно предположить, что таких же размеров способны достигать и апикальные дендриты при их ретракции.

Обнаружено уменьшение не только длины апикальных дендритных ветвей, но и общего объема цитоплазмы апикальных дендритов [12]. Ранее уже отмечалось [32], что в отростках нервных клеток, кроме ретроградного цитоплазматического тока, обеспечивающего их укорочение, имеется и боковое смещение нейроплазмы, т.е. увеличение их диаметра и объема при уменьшении длины. При хроническом введении кортикостерона объем цитоплазмы дендритов, расположенный проксимально к соме нейрона, увеличивается на 21% [37]. В некоторых случаях, наряду с редукцией ветвей апикальных дендритов при стрессе, удалось показать и увеличение объема их проксимальной цитоплазмы [12]. Это свидетельствует о том, что в дендритах, как и в аксонах, одновременно существует ретроградный нейроплазматический ток, который увеличивает объем проксимальной цитоплазмы дендритов (у авторов — максимально на 58%). Это предполагает перемещение нейроплазмы от периферии арборизаций в проксимальном направлении. Ретроградный ток, видимо, ведет к утолщению базальных дендритных ветвей. К сожалению, в связи с техническими трудностями определить, насколько увеличивается диаметр одиночного дендрита при его ретракции, довольно сложно, так как он постоянно изменяется. Известно только, что диаметр сомы нейрона при ретракции в него дендрита в эксперименте может увеличиваться на 30% за 450 мин [32]. Еще важно отметить, что, несмотря на существенное видимое на светоптическом уровне уменьшение количества дендритов, число синаптических терминалей моховидных волокон почти не различается в экспериментальных группах [19]. Возникает предположение, что при описанном изменении часть необъяснимо «исчезающих» отростков не прерываются и не восстанавливают синапсы заново, как предполагают некоторые авторы [19], а резко

истончаясь, теряют свойство аргентофилии и перестают быть видимыми. О том, что дендриты не прерываются, свидетельствует главная особенность феномена: быстрое исчезновение и крайне быстрое восстановление отростков, невозможное для естественной регенерации. О сохранности якобы исчезающих отростков при гибернации свидетельствуют и электронно-микроскопические препараты, на которых видны многочисленные сохранившиеся анатомические связи терминалей апикальных дендритов нейронов гиппокампа и аксонов моховидных волокон [25]. Напрашивается предположение о естественном растяжении и утончении дендритов. Однако известны эксперименты D. Gray [9, 10] с искусственным растяжением аксонов в культуре с помощью специального микроэлектрода вплоть до 960 мкм в течение 24 ч. Исследовались динамическое растяжение «вязкоупругой природы» цитоплазмы дендритов [11] и ее связь с устойчивостью нейротрубочек. Феномен значительного естественного эластического растяжения и истончения отростков нервных клеток, кажется, еще никем не показан, но обнаружен нами при так называемом изометрическом сокращении. Поэтому в настоящей статье нами высказано предположение, что именно этот феномен лежит в основе быстрого исчезновения и восстановления дендритов в описанных выше экспериментах.

Изометрическая объемная ретракция отростков

Опыты показали, что в нервной системе сокращаются и теряют оптическую плотность не только тонкие претерминальные веточки в культуре ткани, но и относительно крупные отростки нервных клеток. Как оказалось, живые отростки нервных клеток обладают не только бидирекционной подвижностью, но и высокой естественной эластичностью, которая проявляется растяжимостью в экспериментах с живыми нейронами. Для того, чтобы выявить предполагаемую эластичность отростков, необходимо было разработать соответствующий препарат (рис. 1), который, кроме тела нейрона, обычно используемого для культивирования, обладал бы частично сохраненным живым отростком, способным к сокращению. Для этого были использованы нейроны окологлоточных ганглиев моллюсков, обработанные ферментом проназой [31].

Ретракция таких нейронов продолжалась 2–18 ч, демонстрируя динамику поведения отростков и тела клетки. Любая перерезка отростка нервных клеток обязательно сопровождается его медленной и полной ретракцией (см. рис. 1, а), подобно сокращающейся полоске резины, т.е.

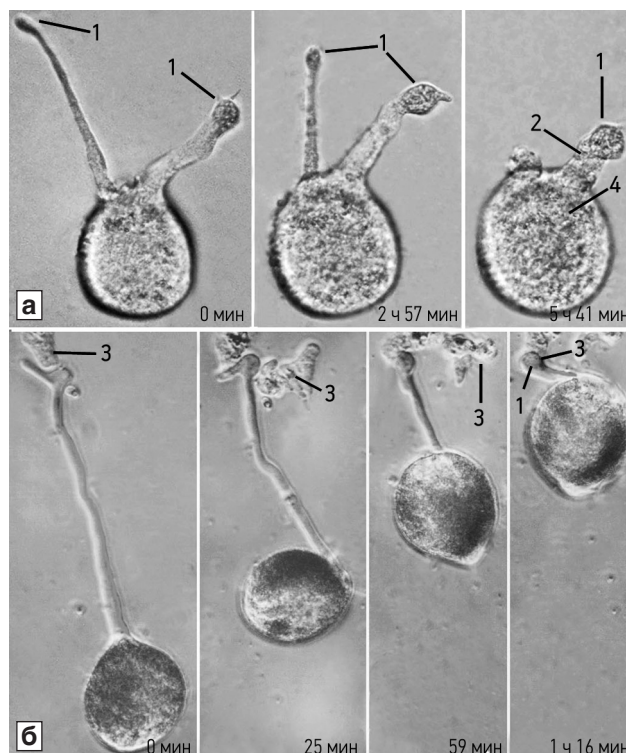


Рис. 1. Изменение направления ретракции при смене точки опоры (адгезии) изолированных нейронов с частично сохраненными отростками.

а — сокращение отростка в направлении точки крепления в области тела нейрона; б — движение тела нейрона при креплении конца отростка. 1 — концевые колбы ретракции; 2 — утолщенный сократившийся отросток; 3 — случайный объект, используемый в качестве ориентира; 4 — увеличенный объем тела клетки в результате ретракции отростка. Прижизненная видеомикроскопия. Фазовый контраст. Об. 40 Ph, ок. 10

нейроплазма обладает свойством эластичности натяжения. Скорость сокращения разных отростков резко колеблется (от 0,003 до 14 мкм/мин), независимо от их диаметра. Направление сокращения отростка меняется не только в зависимости от места крепления препарата, но и от точек адгезии вдоль него. В качестве естественных точек сцепления препарата в этих опытах служили дополнительные группы неподвижных ненервных клеток (рис. 2), расположенные на теле нейрона, на конце или на средней части сокращающегося отростка.

В наших препаратах нейроплазма чаще перемещалась к телу нейрона от дистального отдела отростка, сокращая его длину (см. рис. 1, а). Аксон при этом утолщался. Если закрепить дистальный конец препарата, вектор его движения меняется на противоположный. Перемещается тело нейрона к концу отростка (см. рис. 1, б). Естественно, сокращение, утолщение или удлинение отростка одновременно означает и соответствующее

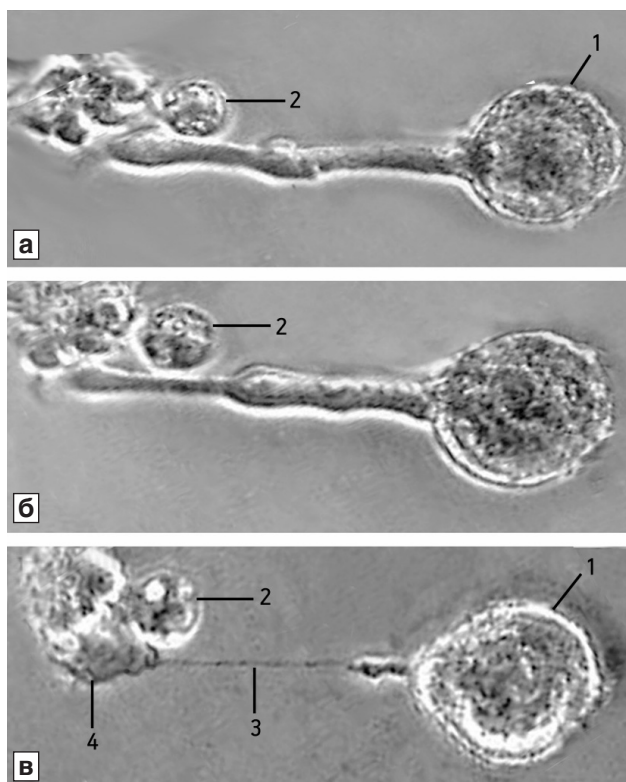


Рис. 2. Истончение ретрагирующего отростка нервной клетки при наличии точек адгезии на двух его концах (а–в) — процесс изометрической (объемной) ретракции препарата.

1 — увеличение объема тела нейрона при истончении отростка (нейроплазматический ток в противоположные стороны); 2 — остатки посторонних клеток среды, обеспечивающие вторую точку удержания препарата; 3 — резкое естественное истончение эластичного отростка, который перестает быть видимым на светооптическом уровне; 4 — увеличение объема колбы ретракции. Прижизненная видеомикроскопия. Фазовый контраст. Об. 40 Ph, ок. 10

перемещение массы его нейроплазмы. Изменяя положение точки крепления по длине препарата, можно менять и направление движения нейроплазмы [33]. Таким образом, направление движения эластичного аксона регулируется точкой его удержания. Как известно, еще П.Ф.Лесгафт [2] показал это при ретракции мышечного волокна, когда последнее обязательно движется к фиксированной точке от подвижной.

Было важно уточнить, как поведет себя отросток нервной клетки, если закрепить оба его конца. К нашему удивлению его ретракция при этом не прекращается, а принципиально изменяет форму. Был отмечен совершенно новый физиологический эффект. Отросток, лишенный возможности изменять свою длину, стал истончаться, сокращалась его толщина. Вместо укорочения его длины уменьшался объем его средней части за счет утолщения концов. Мы назвали это явление объемным сокращением или изометри-

ческой ретракцией (см. рис. 2). Сам отросток растягивался и истончался тем больше, чем дольше продолжался процесс. За несколько десятков минут он истончался в 5–10 раз. При этом эффект саморастяжения—истончения требовал наличия общей ретракции нейроплазмы и присутствия двух точек опоры. Возможно, такой эффект истончения отростка является ранее не описанным механизмом изменения его геометрии и, соответственно, пассивных электрических свойств. Нам кажется возможным с помощью этого феномена изометрической (объемной) ретракции объяснить вероятный механизм эластического истончения отростков нервных клеток, которые перестают быть видимыми. Такое предположение проверено нами в опытах на культуре ткани.

Изометрическая ретракция аксонов в культуре ткани

Чтобы подтвердить результаты опытов, проведенных на изолированных препаратах, были исследованы первичные культуры нейронов моллюсков (рис. 3), которые инкубировали в питательной среде RPMI-40. Клетки культивировали 5 сут. В сплетениях отростков нервных клеток удобно анализировать динамику одиночных аксонов. Смещение массы нейроплазмы определяли по изменению толщины отростка. Исчезновением отростка считали точку, в которой его оптическая плотность уравнивалась с плотностью фона. Масса аксоплазмы перемещалась вдоль аксона при его сокращении. Поэтому и движение объекта, и перемещение цитоплазмы рассматривались нами как один и тот же процесс [32].

Процессы, происходящие в сплетениях, вполне сопоставимы с протекающими в изолированных отростках (см. рис. 3). Они также имеют минимум 2 точки опоры (тело клетки и синапс) и, контактируя друг с другом, образуют множество таких точек. Однако ретракция таких отростков сплетения в культуре существенно отличается от сокращения одиночных проводников. Они почти не изменяются по длине, а в основном демонстрируют изометрическое сокращение, истончаясь или увеличиваясь в толщину. Их нейроплазма постоянно меняет направление своего движения на противоположное, представляя собой особый вид ретракции. Некоторые из контактирующих отростков истончаются настолько, что перестают быть видимыми под световым микроскопом (как бы исчезают), но затем быстро восстанавливают свой диаметр и видимое в микроскоп строение.

Так, на рис. 3, а верхний отросток (А) утолщен, отросток (Б) почти полностью невидим. В результате перемещения нейроплазмы его оптическая

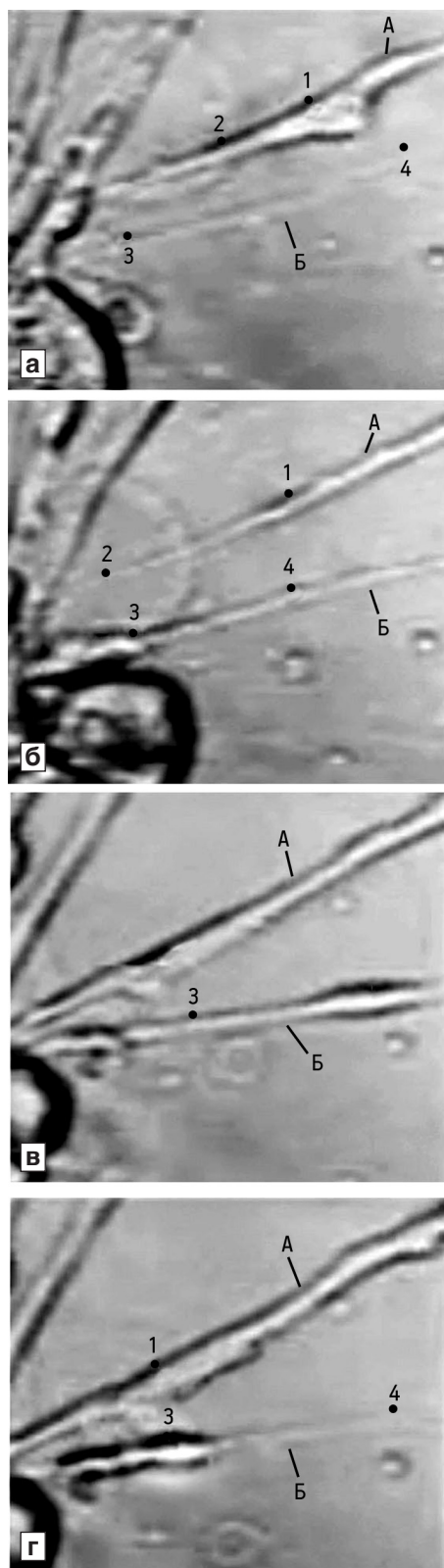


Рис. 3. Динамика изменения (а–г) толщины и оптической плотности аксонов в культуре диссоциированных нейронов.

1–4 — точки определения диаметров и максимальной оптической плотности аксонов (см. описание в тексте). Прижизненная видеомикроскопия. Фазовый контраст. Об. 40 Ph, ок. 10

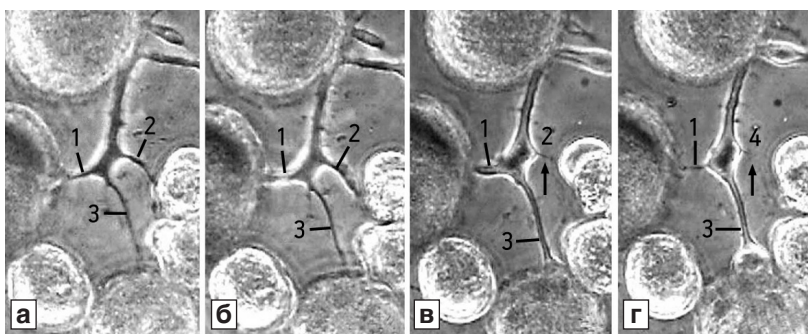


Рис. 4. Динамика объемной изометрической ретракции (а–г) межнейронных отростков в культуре ткани.

1–3 — претерминальные нервные отростки, постоянно меняющие свою толщину без изменения длины; 4 — возможно отросток-невидимка, сохранивший угол у своего основания (стрелка) (см. описание в тексте). Прижизненная видеомикроскопия. Фазовый контраст. Об. 40 Ph, ок. 10

плотность равна оптической плотности фона. На рис. 3, б, наоборот, верхняя ветвь А временно частично теряет оптическую плотность, отросток истончается и исчезает. Диаметры обоих отростков (А, Б) восстанавливаются через 10 мин (см. рис. 3, в), т.е. процесс этот легко обратим. На рис. 3, г верхний отросток (А) имеет высокую оптическую плотность, тогда как нижний (Б) вновь истончается настолько, что становится оптически невидимым, превращаясь в «отросток-невидимку». В центральных отделах сплетений предельное истончение отростков и их восстановление — обязательный закономерный процесс.

На рис. 4 видно, что одни и те же претерминальные отростки постоянно меняют свою толщину. Они то утолщаются (см. рис. 4, а–в, 1), то истончаются и перестают быть видимыми (см. рис. 4, в, г, 1). Истонченный отросток (см. рис. 4, а, 2) тоже то утолщается (см. рис. 4, б, 2), то, наоборот, становится почти невидимым (см. рис. 4, в, 2). Такой же процесс изменения диаметра отмечен у отростка под цифрой 3 (см. рис. 4, а–г). Вполне вероятно, что повторное «исчезновение» зависит от предельного истончения и потери оптической плотности отростков нервных клеток. Следовательно, в динамике живых нейронов, как и других морфологических объектов, есть значительный промежуток, на который редко обращают внимание, но, возможно, именно с ним связан феномен «исчезающих» апикальных дендритов нейронов гиппокампа, т.е. существует объективное препятствие, которое мешает полному исследованию морфологической кинетики, в частности, подвижности истончающихся дендритов при их изометрическом сокращении.

Локальные изменения оптических свойств отростков живых нервных клеток на короткие промежутки времени могут превращать их в «отростки-невидимки», и этот процесс в культуре нейронов происходит постоянно. Точно также ведут себя отростки клеток нейробластомы С-1300 Ниренберга. Обращает на себя внимание не только сам факт многократного исчезновения и повторного появления отростка, но и удивительная точность его восстановления (рис. 5). Часто можно наблюдать, что, казалось бы, полностью прерванные отростки быстро восстанавливаются в прежнем размере и точно на том же месте, где они исчезли. Другими словами, появляется полная убежденность в том, что произошел не разрыв отростка нервной клетки, а его времен-

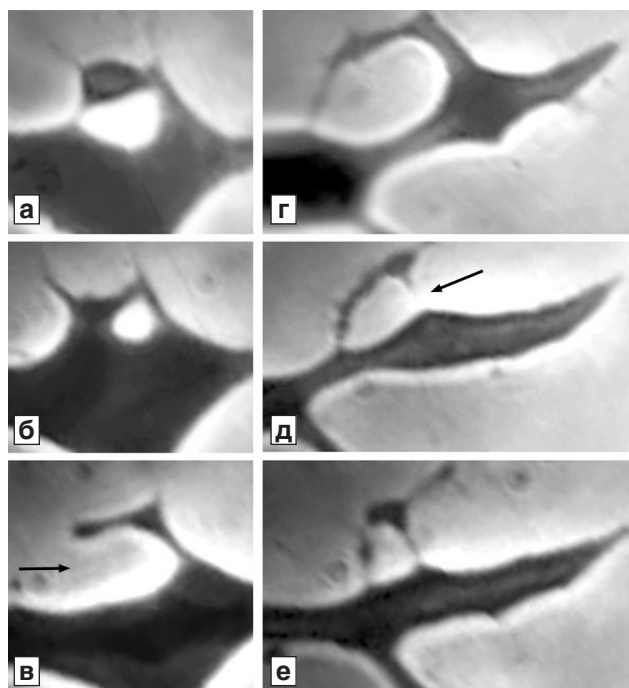


Рис. 5. Стадии повторного процесса появления отростка-невидимки в области протоплазматического кольца отростка нейрона.

а, г, е — оптически исчезающие фрагменты отростка; б — полное нейроплазматическое кольцо; в, д — отростки-невидимки (стрелки). Прижизненная видеомикроскопия культуры клеток нейробластомы. Фазовый контраст. Об. 40 Ph, ок. 10

ное оптическое исчезновение и появление вновь. Это также связано с бидирекциональным перемещением нейроплазмы, регулирующим размеры отростков [32].

По-видимому, истончение отростков нервных клеток является распространенным процессом, происходящим как в норме, так и при обратимых реактивных процессах, связанных с внешним воздействием. Это наблюдается при образовании варикозностей, бусинок, монилиформных структур [3, 20]. С помощью цейтраферной видеосъемки нами показано, что варикозности отростков нервных клеток являются не локальными набуханиями, как предполагали некоторые авторы [3], а динамическим перераспределением нейроплазмы с резким поочередным локальным истончением и соответствующим вздутием нервных проводников (рис. 6).

На рис. 7 мы продемонстрировали чрезвычайно выраженное эластическое истончение цитоплазмы отростков нервных клеток. Диаметры ветвей в данном случае уменьшились в несколько десятков раз, и не исключено еще более выраженное истончение отростков, которые становятся невидимыми на светооптическом уровне. При наблюдении изометрического сокращения возникают новые представления о механизмах

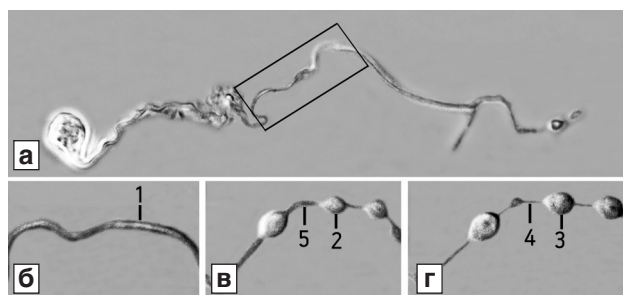


Рис. 6. Резкое истончение промежутков между варикозностями отростка нервной клетки при появлении феномена «бусинок».

а — изолированный нейрон с сохраненным отростком; б–г (участок на рис. а, очерченный рамкой) — динамика процесса. 1 — исходное состояние отростка; 2 — появление варикозностей при переживании отростка; 3 — округление варикозностей; 4 — истончение отростка между варикозностями до пределов видимости; 5 — локальное истончение отростка. Прижизненная микроскопия. Фазовый контраст. Об. 40 Ph, ок. 10

невидимости истонченных отростков и кинетике субмикроскопических процессов в отростках нервных клеток. Возможно, «исчезают» (становятся невидимыми) крайне растянутые и частично потерявшие сродство к красителям «отростки-невидимки». Тот факт, что вдоль предельно истонченных (как будто прерванных) дендритов часто располагаются выстроенные в ровные ряды мелкие варикозности (см. рис. 7, б, в), свидетельствует о том, что связь не прервана, а лишь резко истончены отростки.

Предположение о механизме образования отростков-невидимок

Полученные при изучении культуры нейронов и клеток нейробластомы данные мы пытались использовать для объяснения отмеченной в литературе «редукции» апикальных дендритов и увеличения объемов их проксимальных частей. Полное обратимое падение оптической плотности ветвей отростков нейронов, которые становятся невидимыми, рассматривались как формирование «отростков-невидимок». Мы полагаем, что удивительная эластичность нейроплазмы и особые свойства изометрической ретракции являются истинной причиной наблюдаемого феномена «исчезновения» апикальных дендритов пирамидных нейронов. Уменьшение диаметра отростков нервных клеток в пределах 0,1 мкм [27] вполне может изменять и химические аргентофильные свойства фибрилл, обуславливающих их импрегнацию по методу Гольджи, и способствовать тому, что они становятся невидимыми. Примеры спонтанного падения аргентофилии отростков широко известны в нейрогистологии. Оно также может имитировать уменьшение длины апикальных ден-

дритов. Химические изменения нейроплазмы и ее цитоскелета при ретракции отростков нейронов неоднократно обсуждались в литературе [6, 25].

Разборка микротрубочек и их связей с ассоциированными белками вполне возможна при охлаждении [5]. Предполагалось также разрушение при этом ионного и осмотического гомеостаза, влияние белка p190 [7].

Исчезновение микротрубочек и нейрофиламентов рассматривалось как механизм быстрой атрофии дендритов и при других экспериментальных условиях. Однако получены убедительные данные [6], что ретракция происходит в результате актомиозинового сокращения. В предложенной классификации морфологических изменений нервных волокон [6] высказана мысль о возможном истончении аксонов в случае «истощения микротрубочек». Описанное выше поведение отростков нервных клеток в культуре вполне соответствует изометрической ретракции. Первое совпадение состоит в том, что отростки обязательно должны иметь 2 точки опоры (оба закрепленных конца). Вторая особенность этого состояния заключается в том, что отростки, сокращающиеся изометрически, обладают удивительной растяжимостью. Высказано предположение о том, что фосфорилирование легких миозиновых цепей активирует актомиозиновые взаимодействия в аксоплазме и может приводить к «огромной эластичности» аксона [6], регулирующей его строение. По-видимому, свойством резкого удлинения и истончения обладают и некоторые другие отростчатые клетки. Так, например, ведут себя и отростки («дендриты») дендритных клеток лимфоидных органов в культуре ткани, опирающиеся на зоны адгезии [35]. Таким образом, наша гипотеза изометрической ретракции заключается в особом двойном закреплении концов отростков, в бидирекциональности тока нейроплазмы и ее чрезвычайной эластичности и растяжимости.

Важно учитывать и принципиальные особенности различных видов микроскопии. Существует масса новых методов, позволяющих преодолеть трудности прижизненной микроскопии для визуализации ультрамикроскопических процессов. Предполагается, что путем разделения молекул как во времени, так и в пространстве [24],

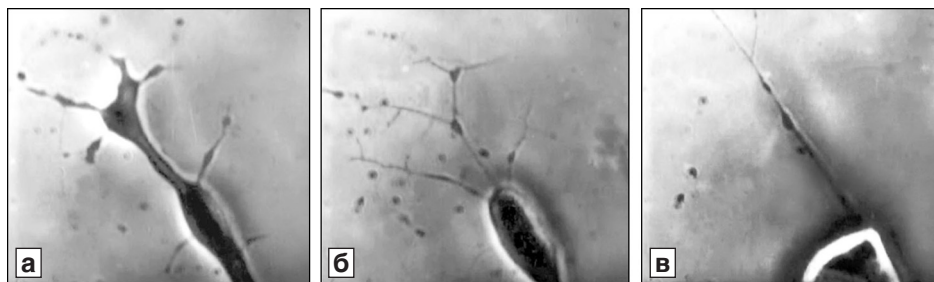


Рис. 7. Резко выраженное естественное эластическое растяжение нейроплазмы при изометрической ее ретракции.

а–в — стадии процесса; б–в — фазы формирования отростков-невидимок. Их присутствие выдает большое количество рядов мелких дендритных варикозностей вдоль воображаемых прямых линий. Прижизненная видеомикроскопия культуры клеток нейробластомы. Фазовый контраст. Об. 40 Ph, ок. 10

удается достичь «суперразрешения» отдельных микротрубочек в живых аксонах. Однако, как показывают данные литературы, остаются неисследованными на светооптическом уровне многие явления, наподобие исчезновения апикальных дендритов пирамидных нейронов. Однако когда невидимая структурная деталь отростков кажется отсутствующей, «атрофированной», она на самом деле, возможно, живет, функционирует, и ее анатомическая непрерывность сохраняется. Видимо, именно нейроплазматические токи объемной изометрической ретракции существуют в дендритах при гибернации или других воздействиях. Нейроплазматический ток при охлаждении направлен преимущественно в сторону сомы нейрона. Он увеличивает массу проксимальной части дендроплазмы (рис. 8).

При этом, возможно, растет и объем сомы нейронов. При согревании зимнеящих животных [27], видимо, направление тока нейроплазмы изменяется на противоположное. Тот факт, что восстановление структуры дендритов происходит очень быстро, возможно свидетельствует о том, что их анатомический разрыв отсутствовал при изменении изначально, а сохранившиеся прежние невидимые участки способствовали быстрому восстановлению антероградного тока нейроплазмы. Обращают на себя внимание и данные, показавшие, что при гибернации происходит не просто сокращение апикальных дендритов, но и ретроградное смещение всей общей массы нейроплазмы в дистальных отделах дендритов и их проксимальное перемещение в направлении сомы (см. рис. 8). Процесс повторной изометрической ретракции массы нейроплазмы наблюдается в целых нейронах *in vivo*, подобный тому, что воспроизводится в экспериментах, на препаратах «сoma—отросток нервной клетки». Обнаруживается бидирекциональное, объемное перемещение нейроплазмы в одиночных отростках [32]. Мы полагаем, что

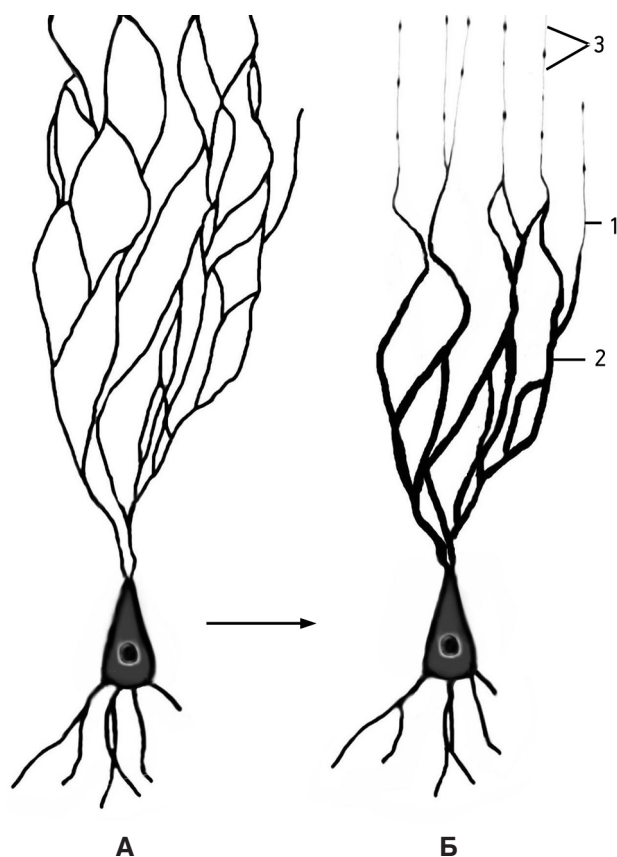


Рис. 8. Гипотетическая схема, объясняющая обратимое «исчезновение» апикальных дендритов пирамидных нейронов при их альтерации.

А — исходное состояние пирамидного нейрона; Б — морфологические изменения нейрона; стрелка — направление процесса; 1 — истонченные растянутые дистальные части апикальных дендритов; 2 — утолщенные проксимальные части дендритов; 3 — истонченные дендриты, превратившиеся в них невидимые участки при альтерации нейронов

сокращение апикальных дендритов пирамидных нейронов гиппокампа, префронтальной коры и быстрое восстановление целостности структуры дендритов после стресса гибернации и других воздействиях связаны с появлением и сохранением резко истонченных «отростков-невидимок».

ЛИТЕРАТУРА

1. Гуляева Н.В. Влияние стрессорных факторов на функционирование гиппокампа взрослого организма: молекулярно-клеточные механизмы и дорсовентральный градиент // *Росс. физиол. журн.* 2013. Т. 99, № 1. С. 3–16.
2. Лесгафт П.Ф. Основы теоретической анатомии. СПб.: Т-во Художественной печати, 1905.
3. Сотников О.С. Функциональная морфология живого мякотного нервного волокна. Л.: Наука, 1976.
4. Al-Jahdari W.S., Saito S., Nakano T. et al. Propofol induces growth cone collapse and neurite retractions in chick explant culture // *Canad. J. Anaesthesia*. 2006. Vol. 53, № 11. P. 1078–1085.
5. Arendt T., Stieler J., Strykstra A.M. et al. Reversible paired helical filament-like phosphorylation of tau is an adaptive process associated with neuronal plasticity in hibernating animals // *J. Neurosci.* 2003. Vol. 23, № 18. P. 6972–6881.
6. Baas P.W., Ahmad F.J. Force generation by cytoskeletal motor proteins as a regulator of axonal elongation and retraction // *Trends Cell Biol.* 2001. Vol. 11, № 6. P. 244–249.
7. Billuart P., Winter C.G., Maresh A. et al. Regulating axon branch stability: the role of p190 RhoGAP in repressing a retraction signaling pathway // *Cell*. 2001. Vol. 107, № 2. P. 195–207.
8. Bloss E.B., Puri R., Yuk F. et al. Morphological and molecular changes in aging rat prelimbic prefrontal cortical synapses // *Neurobiol. Aging*. 2013. Vol. 34, № 1. P. 200–210.
9. Bray D. Mechanical tension produced by nerve cells in tissue culture // *J. Cell Sci.* 1979. Vol. 37. P. 391–410.
10. Bray D. Axonal growth in response to experimentally applied mechanical tension // *Dev. Biol.* 1984. Vol. 102, № 2. P. 379–389.
11. Brown S.M., Henning S., Wellman C.L. Mild, short-term stress alters dendritic morphology in rat medial prefrontal cortex // *Cereb. Cortex*. 2005. Vol. 15, № 11. P. 1714–1722.
12. Cook C.S., Wellman C.L. Chronic stress alters dendritic morphology in rat medial prefrontal cortex // *J. Neurobiol.* 2004. Vol. 60, № 2. P. 236–248.
13. Eiland L., Ramroop J., Hill M.N. et al. Chronic juvenile stress produces corticolimbic dendritic architectural remodeling and modulates emotional behavior in male and female rats // *Psychoneuroendocrinology*. 2012, Vol. 37, № 1. P. 39–47.
14. Fenoglio K.A., Brunson K.L., Baram T.Z. Hippocampal neuroplasticity induced by early-life stress: functional and molecular aspects // *Front. Neuroendocrinol.* 2006. Vol. 27, № 2. P. 180–192.
15. Fernandez-Moran H. The submicroscopic organization of vertebrate nerve fibers: an electron microscopic study of myelinated and unmyelinated nerve fibers // *Exp. Cell Res.* 1952. Vol. 3, № 2. P. 282–359.
16. Grutzendler J., Kasthuri N., Gan W.B. Long-term dendritic spine stability in the adult cortex // *Nature*. 2002. Vol. 420, № 6917. P. 812–816.
17. Hill M.H., Hillard C.J., McEwen B.S. Alterations in corticolimbic dendritic morphology and emotional behavior in cannabinoid CB1 receptor-deficient mice parallel the affects of chronic stress // *Cereb. Cortex*. 2011. Vol. 21, № 9. P. 2056–2064.
18. Kilinc D., Gallo G., Barbee K.A. Mechanical membrane injury induces axonal beading through localized activation of calpain // *Exp. Neurol.* 2009. Vol. 219, № 2. P. 553–561.
19. Magarinos A.M., Li C.J., Gal Toth J. et al. Effect of brain-derived neurotrophic factor haploinsufficiency on stress-induced remodeling of hippocampal neurons // *Hippocampus*. 2011. Vol. 21, № 3. P. 253–264.
20. Malkinson G., Spira M.E. Clustering of excess growth resources within leading growth cones underlies the recurrent «deposition» of varicosities along developing neurites // *Exp. Neurol.* 2010. Vol. 225, № 1. P. 140–153.
21. Martínez-Tellez R., Gómez-Villalobos M.J., Flores G. Alteration in dendritic morphology of cortical neurons in rats with diabetes mellitus induced by streptozotocin // *Brain Res.* 2005. Vol. 1048, № 1–2. P. 108–115.
22. McCall T., Weil Z.M., Nacher J. et al. Depletion of polysialic acid from neural cell adhesion molecule (PSA-NCAM) increases

- CA3 dendritic arborization and increases vulnerability to excitotoxicity // *Exp. Neurol.* 2013. Vol. 241. P. 5–12.
23. Miller M.M., Morrison J.H., McEwen B.S. Basal anxiety-like behavior predicts differences in dendritic morphology in the medial prefrontal cortex in two strains of rats // *Behav. Brain Res.* 2012. Vol. 229, № 1. P. 280–288.
 24. Mudrakola H.V., Zhang K. Optically resolving individual microtubules in live axons // *Structure.* 2009. Vol. 17, № 11. P. 1433–1441.
 25. Myers K.A., Tint I., Nadar C.V. et al. Antagonistic forces generated by cytoplasmic dynein and myosin-II during growth cone turning and axonal retraction // *Traffic.* 2006. Vol. 7, № 10. P. 1333–1351.
 26. Nimchinsky E. A., Sabatini B. L., Svoboda K. Structure and function of dendritic spines // *Annu. Rev. Physiol.* 2002. Vol. 64. P. 313–353.
 27. Popov V.I., Bocharova L.S. Hibernation-induced structural changes in synaptic contacts between mossy fibres and hippocampal pyramidal neurons // *Neuroscience.* 1992. Vol. 48, № 1. P. 53–62.
 28. Radley J.J., Rocher A. B., Miller M. et al. Repeated stress induces dendritic spine loss in the rat medial prefrontal cortex // *Cereb. Cortex.* 2006. Vol. 16, № 3. P. 313–320.
 29. Ramon y Cajal S. Degeneration, Regeneration of the Nervous System. N.Y.: Haften Publishing Co. 1959.
 30. Shansky R.M., Hamo C., Hof P.R. et al. Stress-induced dendritic remodeling in the prefrontal cortex is circuit specific // *Cereb. Cortex.* 2009. Vol. 19, № 10. P. 2479–2484.
 31. Sotnikov O.S. Use of cell culture to prove syncytial connection and fusion of neurons / *Biomedical Tissue Culture.* Chapter 6. Rijeka. INTECH. 2012. P. 83–114.
 32. Sotnikov O.S., Vasyagina N.Yu., Sergeeva S.S. Traumatic retraction of living neural processes and its inhibition / *Axons: Cell Biology, Molecular Dynamics and Roles in Neural Repair and Rehabilitation.* New York: Nova Biomedical. 2013. P. 1–94.
 33. Sotnikov O.S., Vasyagina N.Yu., Sergeeva S.S. et al. Simultaneous axonal flows of opposite direction in neurites / *Biological Motility. New facts and hypotheses.* Pushchino. Russian Academy of Sciences, 2014. P. 289–292.
 34. Suter D.N., Miller K.E. The emerging role of forces in axonal elongation // *Prog. Neurobiol.* 2011. Vol. 94, № 2. P. 91–101.
 35. Swetman C.A., Leverrier Y., Garg R. et al. Extension, retraction and contraction in the formation of a dendritic cell dendrite: distinct roles for Rho GTPases // *Eur. J. Immunol.* 2002, Vol. 32, № 7. P. 2074–2083.
 36. Turina D., Loitto V.M., Björnström K. et al. Propofol causes neurite retraction in neurons // *Br. J. Anaesth.* 2008. Vol. 101, № 3. P. 374–379.
 37. Von der Ohe C.G., Smith C.D., Garner C. C. et al. Ubiquitous and temperature-dependent neural plasticity in hibernators // *J. Neurosci.* 2006. Vol. 26, № 41. P. 10590–10598.

Поступила в редакцию 30.06.2014
Получена после доработки 29.01.2015

ISOMETRIC RETRACTION AND THE INVISIBLE PROCESSES OF NERVE CELLS

O.S. Sotnikov, N. Yu. Vasyagina, T. V. Krasnova

Recently, a large number of physiological studies on stress and hibernation had described an unusual morphological phenomenon of the rapid disappearance and reappearance of apical dendrites of pyramidal neurons of the hippocampus, prefrontal cortex and other parts of the brain. In this article an attempt is made to explain this phenomenon on the basis of morphological analysis of natural elastic properties of neuroplasm and structural kinetics of partially preserved processes of the living isolated neurons. The neuroplasm displacement with its bidirectional flow was identified in the processes. A new physiological phenomenon is described — the isometric retraction of nerve cell processes, during which the neuroplasm fluxes were directed to the opposite sides, leading to abrupt thinning of middle parts of the processes and to a thickening of both ends. It is suggested that the extremely attenuated processes can reach the submicroscopic sizes, becoming invisible in the light microscope. The repeated reversible «disappearance» and «appearance» of the processes was demonstrated supravivally in the culture of neurons and of C-1300 neuroblastoma cells. Reduction of the diameter of the processes to a limit of their visibility was demonstrated by the example of their natural stretching. The same effect was observed in the areas between the reversible varicosities of the processes. These areas became extremely thin, and then invisible. Becoming thinner, the processes were capable of sharp extension. A review of the available literature and our own data allow to conclude that the phenomenon of the disappearance of the apical dendrites was due to their isometric retraction, which lead to the emergence of «invisible processes».

Key words: *neurons, nerve cell processes, mechanical properties, mechanism of thinning, neuroplasm retraction*

Laboratory of Neuron Functional Morphology and Physiology, RAS I.P. Pavlov Institute of Physiology, St. Petersburg