

Л.И. Арчакова¹, О.С. Сотников, С.А. Новаковская¹, И.А. Соловьева и Т.В. Краснова

СИНЦИТИАЛЬНЫЕ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИЕ АНАСТОМОЗЫ МЕЖДУ НЕЙРИТАМИ КЛЕТОК КАУДАЛЬНОГО БРЫЖЕЕЧНОГО ГАНГЛИЯ ВЗРОСЛЫХ КОШЕК

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

Так как большинство опубликованных данных о синцитиальных цитоплазматических анастомозах касаются автономной нервной системы в раннем постнатальном периоде развития, когда многие нервные волокна слабо покрыты глией или не имеют глиальных оболочек вообще, существовало представление, что таких анастомозов нет во взрослом состоянии в связи со значительным развитием глии и изоляцией ею одиночных нейритов друг от друга. Проверка этого положения предпринята нами при помощи электронно-микроскопических исследований каудального брыжеечного ганглия взрослых кошек. Обнаружена высокая степень покрытия нейритов глиальными оболочками. Однако между контактирующими нейритами, оказавшимися все-таки без глиального покрытия, синцитиальные поры обнаруживаются почти в каждом образце. Иногда встречаются серийно синцитиально связанные нейриты. Впервые в автономной нервной системе выявлены аксодендритические синапсы с перфорациями пресинаптической части вне синаптической специализации. Высказано предположение о том, что хотя у взрослых животных синцитиальные цитоплазматические связи встречаются, это не отвергает нейронную теорию.

Ключевые слова: межнейронные анастомозы, аксодендритические синапсы, каудальный брыжеечный ганглий, автономная нервная система.

Первые данные о цитоплазматических анастомозах между нейритами в автономной нервной системе взрослых млекопитающих были опубликованы более 10 лет назад [6]. Их удалось обнаружить между нейритами в пучках нервных сплетений 1–2-месячных поросят, у которых глиоциты еще не успели образовать сплошных оболочек вокруг нейритов. Синцитиальные анастомозы имели массовый характер. R.G. Santander и соавт. [17] продемонстрировали сходные анастомотические поры рядом с мембранной специализацией аксодендритического синапса в коре большого мозга у взрослой кошки. Позднее были выявлены множественные синцитиальные связи между телами нейронов гиппокампа и клеток-зерен мозжечка у взрослых кроликов [7]. Ранее было обнаружено и подробно описано явление формирования межнейронных синцитиальных анастомозов (слияния нейронов) при ишемических поражениях мозга [1, 3, 10], при увеличении концентрации медиатора L-глутамата или электростимуляции [5, 9].

Цель настоящего исследования — проверить возможность наличия синцитиальных анастомозов в автономной нервной системе взрослых животных, у которых формирование глиальных оболочек нейритов в основном закончено.

Материал и методы. Исследования проведены на 5 половозрелых кошках, у которых после умерщвления извлекали и фиксировали каудальный брыжеечный ганглий. Животных умерщвляли согласно этическим при-

нципам, изложенным в Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментах. Кровеносную систему животного перфузировали сначала раствором Рингера, а затем 2,5% раствором глутаральдегида, приготовленного на 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,2–7,4). Извлеченный ганглий делили на части и фиксировали в охлажденном 2,5% растворе глутаральдегида в течение 1,5 ч, а затем в 1% растворе четырехоксида осмия в течение 2 ч при 4° С. Далее кусочки ганглия обезвоживали в 70%, 96% (дважды) и 100% этаноле (три смены по 20 мин). После этого материал заливали в аралдит по схеме [2] и помещали в термостат при 37° С, а затем 56° С. Срезы, приготовленные на ультратоме, контрастировали цитратом свинца и уранил-ацетатом по Рейнольдсу.

Результаты исследования. В каудальном брыжеечном ганглии почти все безмиелиновые нервные волокна погружены в обширные глиальные отростки, образуя своеобразные глионейритные комплексы. Такие комплексы обычно отделены друг от друга массой коллагеновых волокон. На препаратах видно, что часть нервных отростков полностью покрыты глией, другие же, особенно мелкие, образуют группы, в которых они непосредственно контактируют друг с другом (рис. 1, 2). У таких отростков не всегда удается выявить мезаксон. Не покрытыми глией остаются также поверхности соприкасающихся нейритов или расположенных на периферии нервных пучков (см. рис. 2, 3). Безглиальные волокна (полностью лишённые глиальной оболочки) в ганглии встречаются редко.

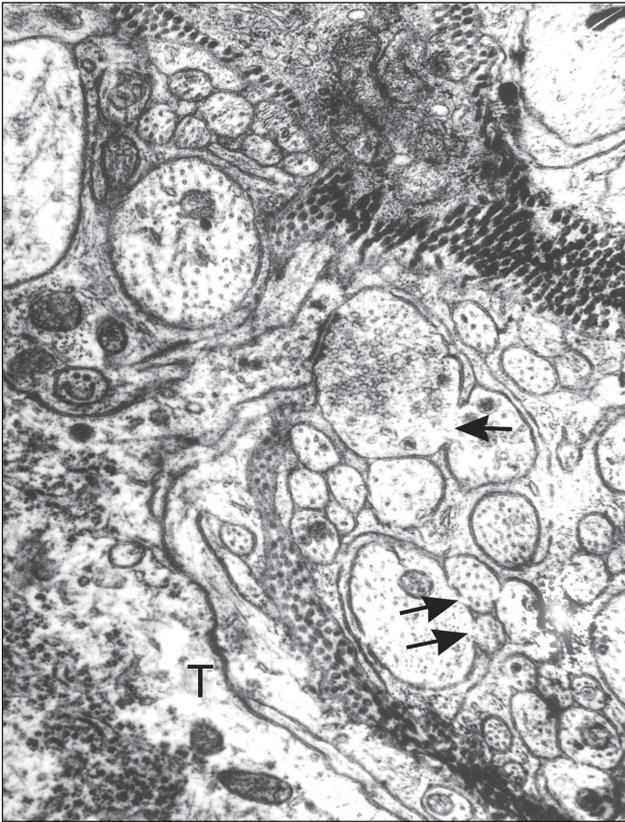


Рис. 1. Синцитиальное слияние между двумя аксонами и между тремя дендритами.

Стрелки — межнейрональные цитоплазматические поры; Т — тело нейрона. Ув. 30 000.

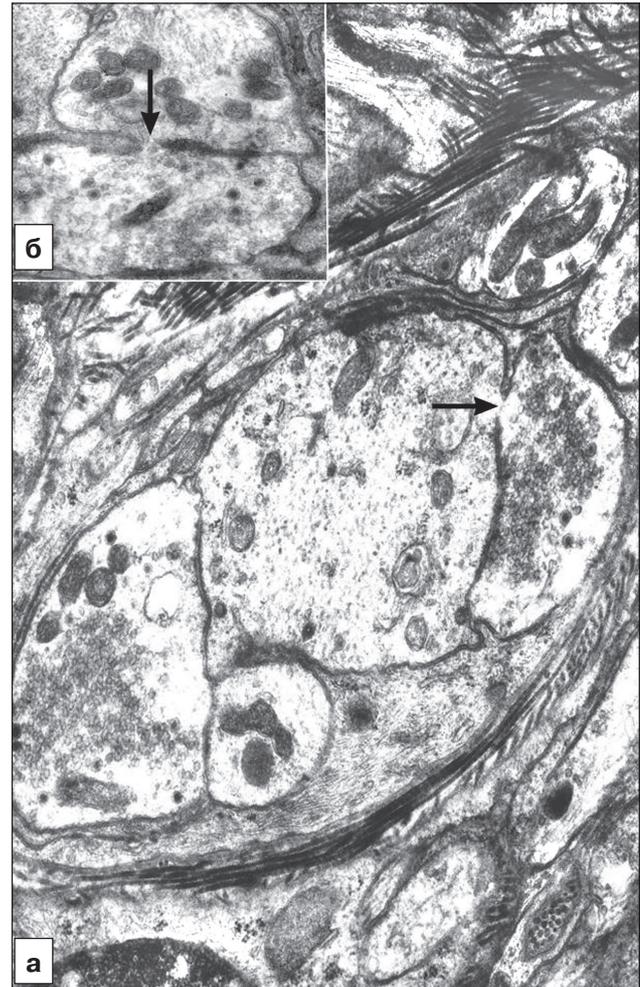


Рис. 2. Синцитиальные поры (стрелки) в области аксодендритических синапсов.

а, б — варианты строения. Ув. 40 000.

Примечательно, что в области соприкосновения контактирующих отростков, не изолированных глией, овальный контур нейритов превращается в прямолинейный (см. рис. 2). Иногда в этих местах обнаруживается «лизис» контактирующих мембран с образованием мелкой или даже крупной перфорации, соединяющей между собой смежные профили (см. рис. 2, 3). В редких случаях так могут соединяться не 2, а 3 мелких нейрита, образуя группу синцитиально связанных отростков (см. рис. 1). На поперечных срезах поры могут занимать от 15 до 60% длины контактирующих мембран. Края пор образуют слившиеся мембраны смежных профилей. Это обязательный признак, отличающий пору от возможных случайных повреждений мембран, хотя такие артефакты нам не встречались ни разу. На рис. 1 видно, что синцитиальный анастомоз может формироваться между пресинаптическими аксонами при полной сохранности аксосоматического синапса. Подобное неизвестное ранее аксонно-

аксосоматическое взаимодействие требует нового осмысления электрофизиологического исследования. То же можно сказать и относительно обнаруженной нами синцитиальной взаимосвязи между аксоном и дендритом непосредственно в области аксодендритических синапсов (см. рис. 2). Перфорированные нейриты в ганглиях удается обнаружить почти в каждом образце. Нейроплазма внутри перфорированных отростков ничем не отличается от нейроплазмы соседних волокон. В ней могут содержаться митохондрии, нейротрубочки, светлые и с электронно-плотной сердцевиной синаптические пузырьки. Это свидетельствует об отсутствии видимой патологии у синцитиально связанных отростков.

Таким образом, синцитиальные цитоплазматические связи нервных волокон в каудальном брыжеечном ганглии кошки представляют собой не случайные находки, а закономерные явления, роль которых нуждается в дополнительном физиологическом исследовании.

Рис. 3. Крупная синцитиальная пора (стрелка) на месте перфорированного интернейронального мембранного контакта.
Ув. 20 000.



Обсуждение полученных данных. Распространено мнение о том, что эффект образования синцитиальной связи с последующим слиянием показан на клетках всех типов тканей, кроме нейронов [4, 8]. Поэтому можно было предположить, что это связано с какими-то особыми свойствами нейрональной мембраны. Однако опыты по трансплантации стволовых клеток [12–15, 18, 19] показали, что нейролема способна, подобно внешним мембранам других клеток, сливаться и формировать синцитиальные поры.

Данные, представленные в настоящей статье, подтверждают сформулированную ранее гипотезу о возможности образования и межнейронального синцития [11]. Так как синцитиальные анастомозы были вначале показаны в автономной нервной системе у животных на ранних стадиях постнатального развития, когда еще отсутствует полное глиальное покрытие нервных отростков, а также в культуре нейронов, лишенных глии [11], высказывалось предположение, что поэтому синцитий отсутствует у взрослых животных с хорошо развитой глией. Факт, казалось бы, общеизвестный. Однако целенаправленный поиск синцитиальных анастомозов между нейронами автономного ганглия позволяет найти убедительные и нередкие препараты с образованием синцитиальных пор в мембранах непосредственно контактирующих нервных отростков. Синцитий при этом формируется в зонах, не покрытых глией.

Как известно, химические синапсы покрыты глией всегда. Именно электронно-микроскопические снимки послужили самым убедительным доказательством нейронной теории и аргументом, якобы «полностью» опровергающим возможность синцитиальной модели организации нервной системы. Однако исследования испанских электронных микроскопистов [17], явных сторонников нейронной теории Сантьяго Рамон и Кахала, убедительно продемонстрировали реаль-

ную возможность образования синцитиальной связи и в синапсе, между пре- и постсинаптической частями. Конечно, полученные нами данные не свидетельствуют о широком распространении синцитиальных анастомозов в ганглиях автономной нервной системы у взрослых животных, но такая связь все-таки существует, и ее невозможно игнорировать. Мы придерживаемся точки зрения известного нейробиолога R.W. Guillery [16], который, анализируя ряд существующих фактов, включая слияние нейронов, считает что они реально не отвергают нейронную доктрину и совпадают с клеточной теорией.

Работа поддержана грантом РФФИ 08-04-90033-Бел_а.

ЛИТЕРАТУРА

1. Боголепов Н.Н. Ультраструктура синапсов в норме и патологии. М., Медицина, 1975.
2. Боголепов Н.Н. Методы электронно-микроскопического исследования мозга. М., Медицина, 1976.
3. Боголепов Н.Н., Павловская Н.И. и Яковлева Н.И. Ультраструктура контактов парных нейронов в постгипоксическом периоде. *Арх. анат.*, 1980, т. 79, вып. 9, с. 15–24.
4. Зеленин А.В., Куц А.А. и Прудовский И.А. Реконструированная клетка. М., Наука, 1982.
5. Ларионова Н.П., Самосудова Н.В. и Чайлахян Л.М. Влияние L-глутамата на структуру зернистых клеток мозжечка лягушки *in vitro*. *Докл. РАН*, 1993, т. 333, № 2, с. 260–263.
6. Малашко В.В. и Сотников О.С. Ультраструктурный анализ постнатального развития энтеральной нервной системы поросят. Морфогенез и реактивная перестройка нервной системы. *Труды Санкт-Петербургск. общ-ва естествоиспытат.*, 1996, т. 76, вып. 5, с. 30–40.
7. Парамонова Н.М. и Сотников О.С. Цитоплазматическая синцитиальная связь между телами нейронов ЦНС взрослых животных. *Морфология*, 2008, т. 134, вып. 6, с. 13–17.
8. Рингерц Н. и Сэвидж Р. Гибридные клетки. М., Мир, 1979.
9. Самосудова Н.В., Ларионова Н.П. и Чайлахян Л.М. Патологическое слияние зернистых клеток мозжечка лягуш-

- ки под влиянием L-глутамата *in vitro*. Докл. РАН, 1994, т. 336, № 3, с. 406–409.
10. Семченко В.В., Боголепов Н.Н., Степанов С.С. и др. Синаптическая пластичность неокортекса белых крыс при диффузно-очаговых повреждениях головного мозга. Морфология, 2005, т. 128, вып. 4, с. 76–81.
11. Сотников О.С., Малашко В.В. и Рыбакова Г.И. Синцитиальная связь нейронов в культуре ткани в раннем онтогенезе. Морфология, 2007, т. 131, вып. 2, с. 7–15.
12. Ackman J.B., Siddiqi F., Walikonis R.S. and LoTurco J.J. Fusion of microglia with pyramidal neurons after retroviral infection. *J. Neurosci.*, 2006, v. 26, № 44, p. 11413–11422.
13. Alvarez-Dolado M., Pardal R., Garcia-Verdugo J.M. et al. Fusion of bone-marrow-derived cells with Purkinje neurons, cardiomyocytes and hepatocytes. *Nature*, 2003, v. 425, № 6961, p. 968–973.
14. Bae J.S., Furuya S., Shinoda Y. et al. Neurodegeneration agents the ability of bone marrow-derived mesenchymal stem cells to fuse with Purkinje neurons in Niemann-Pick type C mice. *Hum. Gene Ther.*, 2005, v. 16, № 8, p. 1006–1011.
15. Bae J.S., Han H.S., Youn D.H. et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells promote neuronal networks with functional synaptic transmission after transplantation into mice with neurodegeneration. *Stem Cells*, 2007, v. 25, № 5, p. 1307–1316.
16. 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. 55, № 2, p. 411–421.
17. Santander R.G., Cuadrado G.M. and Sáez M.R. Exceptions to Cajal's neuron theory: Communicating synapses. *Acta anat.*, 1988, v. 132, p. 74–76
18. Weimann J.M., Charlton C.A., Brazelton T.R. et al. Contribution of transplanted bone marrow cells to Purkinje neurons in human adult brains. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, v. 100, № 4, p. 2088–2093.
19. Weimann J.M., Johansson C.B., Trejo A. and Blau H.M. Stable reprogrammed heterokaryons form spontaneously in Purkinje neurons after bone marrow transplant. *Nat. Cell. Biol.*, 2003, v. 5, № 11, p. 952–954.

Поступила в редакцию 15.08.08
Получена после доработки 04.12.08

SYNCYTIAL CYTOPLASMIC ANASTOMOSES BETWEEN THE NEURITES OF CAUDAL MES- ENTERIC GANGLION CELLS IN ADULT CATS

*L.I. Archakova, O.S. Sotnikov, S.A. Novakovskaya,
I.A. Solovyova and T.V. Krasnova*

Since the majority of the published data on syncytial cytoplasmic anastomoses relate to the autonomic nervous system in the early postnatal period of development, when many nerve fibers are still poorly covered by glia or have no glial sheaths at all, it was suggested that such anastomoses were not present in adults due to the significant development of glia separating individual neurites from each other. To check this assumption, we have performed an electron microscopic study of the adult cat dorsal caudal mesenteric ganglion. The cell neurites were found to be frequently covered by glial sheaths. However, almost in every sample, the syncytial pores were detected between the contacting neurites lacking glial covering layers. Sometimes serial syncytially connected neurites were seen. Axo-dendritic synapses with presynaptic perforations outside the synaptic specializations were described in the autonomic nervous system for the first time. These observations therefore provide evidence of syncytial cytoplasm connections in normal adult animals, however this does not reject the neuronal doctrine.

Key words: *interneuronal anastomoses, axo-dendritic synapses, caudal mesenteric ganglion, autonomic nervous system.*

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