

УЛЬТРАСТРУКТУРА МІЖНЕЙРОННИХ КОНТАКТІВ У ПІРАМІДНОМУ ШАРІ ГІПОКАМПА КРОЛИКА

Є. Д. Геніс, В. О. Майський

Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ

Деякі електрофізіологи передбачають у гіпокампі наявність ефап-тичних зв'язків між суміжними нейронами, що в особливих умовах приводить до синхронізованих судорожних розрядів [7, 8, 9, 16]. Тому електронномікроскопічні дослідження гіпокампа можуть дати важливі дані для розуміння такої особливості електричної активності цієї області мозку.

В літературі нема точних відомостей про ультраструктуру нейрон-нейрональних контактів у гіпокампі, хоч деякі електронномікроскопічні дослідження проведені на пірамідному шарі гіпокампа щурів [8, 10], а ранні дослідження цитоархітекτονіки старої кори у світловому мікроскопі дали багато цінних відомостей про структуру гіпокампа [1, 6, 14].

Ми вивчали тонку структуру ділянок стику мембран суміжних нейронів пірамідного шару гіпокампа кроликів, оскільки у деяких гризунів (щурів, морських свинок, кроликів) гіпокампу властива виражена шаруватість і щільність розташування тіл пірамідних нейронів, що робить його зручним об'єктом для проведення електрофізіологічних і електронномікроскопічних досліджень та з'ясування морфо-функціональних кореляцій [11, 12]. Досліджували ультраструктуру пірамідного шару дорсального гіпокампа у відділі CA_1 , де пірамідні нейрони найбільш щільно упаковані [5, 12].

Методика досліджень

Електронномікроскопічні дослідження проведені на трьох інтактних кроликах вагою 1,5—3 кг. Крім того додатково було досліджено кілька тварин для виготовлення препаратів гіпокампа за методом Нісля, Більшовського і Гольджі. На цих препаратах у світловому мікроскопі спочатку вивчали цитоархітекτονіку шару піра-мід і прилеглих до нього шарів у відділі CA_1 гіпокампа.

Для електронномікроскопічного дослідження мозок кроликів перфузували 2,5%-ним розчином глутаральдегіду (на фосфатному буфері). Через 1 год після перфузії мозок вилучали та з дорсального гіпокампа вирізали зрізи товщиною 1 мм, площина яких перпендикулярна довгій осі гіпокампа. У цих зрізах легко можна було виділити шматочки тканини з відділу CA_1 гіпокампа площею $1 \times 0,5$ мм². Після тривалого промивання в розчині сахарози (до 12 год) шматочки фіксували протягом трьох годин у чотириокисі осмію (на веронал-ацетатному буфері з додаванням 4,5% сахарози), обезводнювали в спиртах, абсолютному ацетоні і заливали в аралдит (Araldit, Fluca).

Шматочки тканини гіпокампа включали клітинні тіла пірамідних нейронів і прилегли до них ділянки апікальних і базальних дендритів (рис. 1, Б). Ідентифікацію шару пірамід здійснювали в світловому мікроскопі на двомікронних зрізах, забарвлених парафенілєндіаміном [2].

Ультратонкі зрізи виготовляли на ультрамікротомі LKB-8800, контрастували гідроокисем свинцю [17] і досліджували в електронному мікроскопі високого розв'язування «Tesla» BS-513A.

Слід відзначити, що гіпокамп є важким об'єктом для одержання зрізів високої контрастності, на що вказують також й інші дослідники [5, 10, 11, 12]. Тому для кращого збереження тканини, посилення контрасту і поліпшення якості ілюстративного матеріалу ми застосували подвійну фіксацію і значно подовжили тривалість відмивання тканини в сахарозному розчині після першої фіксації її глютаральдегідом.

Результати досліджень

Тіла пірамідних нейронів легко ідентифікуються в оптичному (рис. 1) і електронному мікроскопах (рис. 2, 3), завдяки своїй однорідній структурі, тісного розташування в одному певному шарі. Серед пірамідних нейронів траплялись вставочні нейрони (рис. 1, Б) і значна кількість гліальних елементів. Відмітною особливістю гліальних клітин при електронній мікроскопії була більш висока електронна щільність ядра і вузький обідок цитоплазми. У центральних ділянках шару можна було часто спостерігати пірамідні нейрони з вклиненням цитоплаз-

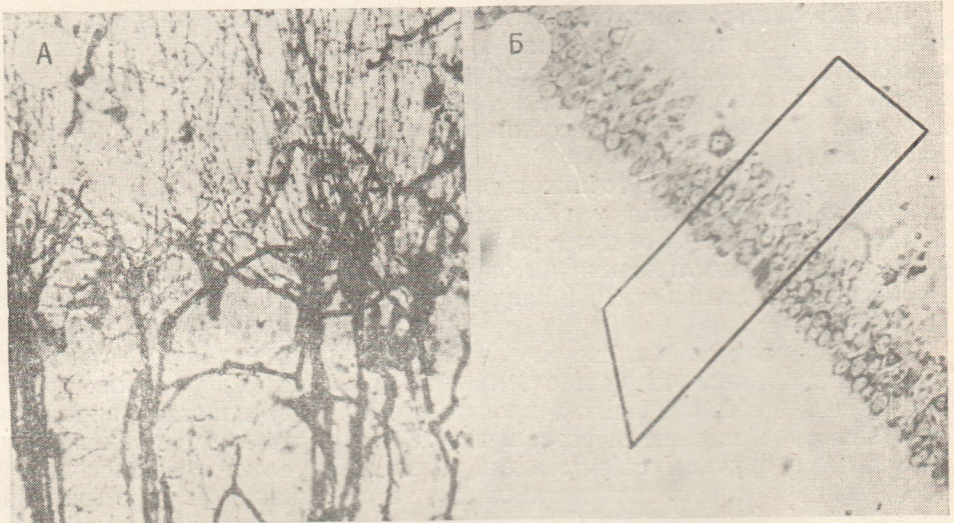


Рис. 1. Пірамідний шар гіпокампа кролика в світловому мікроскопі.

А — клітинні тіла з галузженнями базальних (вгорі) і апікальних (внизу) дендритів, Гольджі, $\times 250$; Б — пірамідний шар гіпокампа, Ніссль. Видно щільно упаковані клітинні тіла, розташовані в чотирьох-п'яти шарах; контуром умовно позначено місце вилучення шматочків тканини для електронної мікроскопії, $\times 125$.

ми в ядро (рис. 2). Контури клітинної мембрани соми пірамідних нейронів гладкі, рівні, без виступів.

Найбільш характерною особливістю пірамідного шару відділу СА₁ гіпокампа було тісне розташування клітинних тіл і апікальних дендритів. Ділянки безпосереднього стику мембран суміжних нейронів траплялись на всіх рівнях пірамідного шару, але найбільш виразними вони були в середній його частині.

Прошарки нейропілю, які роз'єднують нейрони у вигляді трикутника, не перевищували 2—3 мк (рис. 3, А). Спостерігалась типова картина нейропілю з великою кількістю дрібних синаптичних закінчень, відростків дендритів і гліальних елементів (рис. 3). У нижніх відділах пірамідного шару тіла нейронів частіше контактували з апікальними дендритами сусідніх нейронів.

Ділянки безпосереднього стику мембран двох суміжних нейронів займали значну частину їх поверхні. Іноді протяжність контакту досягала кількох мікрон. Так, на рис. 4, А видно, що безпосередній кон-

такт двох нейронів має протяжність понад 4 мк, тоді як середня величина поперечного діаметра пірамідного нейрона становить 15—20 мк. При великих збільшеннях можна було бачити, що область контакту нейронів становила двоконтурну мембрану з ясною, рівномірною по всій довжині щільною шириною близько 200 Å, (рис. 4, Б). В жодному



Рис. 2. Електронна мікрофотографія пірамідного нейрона та ділянки прилеглого нейропілю.
n — нейрон, *nu* — ядро, *den* — дендрит, *at* — аксональні термінали.

випадку ми не відзначали об'єднання мембран у суцільну лінію або більш тісного зближення мембран, характерного для *gap junction*, описаного рядом авторів у нижчих тварин [4, 15].

Не траплялось також і таких ознак мембранної спеціалізації, як поява електроннощільної речовини в міжмембранній щільності або потовщення контурів мембран.

Стик мембран двох нейронів переривався відростками глії. Іноді між двома нейронами можна було бачити вклинення вузького прошарку глії шириною не більше 1000 Å, який легко розпізнається при значніших збільшеннях за наявністю чотирьох паралельно розташованих мембран. Тут як і в інших випадках нейро-нейрональних контактів, ми не відзначали жодних ознак мембранної спеціалізації (рис. 4, Г).

Основна маса аксональних терміналей, розташованих на тілах пірамідних нейронів поза зони нейро-нейрональних контактів, не пере-

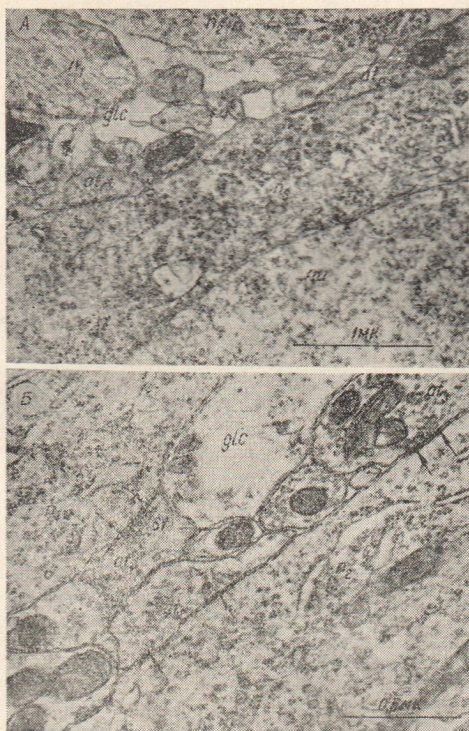


Рис. 3. Ділянки нейропілю між тілами пірамідних нейронів при малому (А) і великому (Б) збільшенні.

gls — гліальний відросток, sv — синаптичні пухирці. Стрілками показані активні зони аксо-соматичних контактів. Інші позначення див. рис. 2.

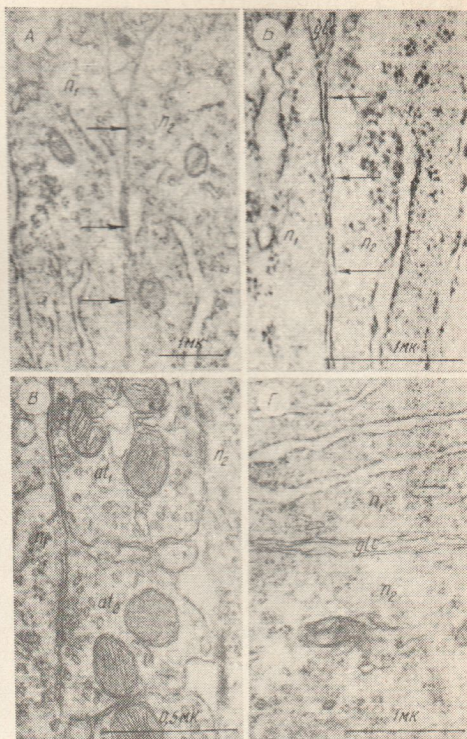


Рис. 4. Ультраструктура ділянок безпосереднього контакту суміжних нейронів (А, Б, Г) і спільних аксо-соматичних синапсів (В). Місця безпосереднього контакту вказані стрілками.

Умовні позначення див. рис. 2.

вищувала 1 мк, проте траплялись і більш крупні закінчення. Їх можна було бачити і біля місця відходження апікальних дендритів, де вони розташовувались один за одним.

Більшість дрібних і крупніші закінчення перебували в синаптичному контакті з тілом нейрона та його апікальним дендритом. Ділянки мембранної спеціалізації в аксо-соматичних синапсах відповідали II типу синапсів за Греем.

Часто в крупних аксо-соматичних синапсах можна було бачити ряд ділянок синаптичного контакту, що слідують один за одним. Синаптичні пухирці, переважно овальної форми, 300 Å у діаметрі були розташовані рівномірно по всій терміналі.

При значніших збільшеннях видно, що аксональні терміналі від-

ділялись від мембрани нейрона ясною щільною, шириною близько 200 Å, рівномірною на всьому протязі.

Часто в проміжках між двома нейронами були видні дрібні аксональні терміналі, які контактують одночасно з тілами обох нейронів, що стикаються. Ділянки мембранної спеціалізації вивчалися як з одного, так і з другого боку терміналі, що об'єднує два суміжні нейрони (рис. 4, В).

Обговорення результатів досліджень

Дані світлової і електронної мікроскопії вказують, що зона СА₁ гіпокампа кроликів відрізняється щільним розташуванням тіл і паралельним ходом апікальних дендритів пірамідних нейронів. Прямі нейрональні контакти займають значний простір, а дендритні і соматичні мембрани розділені в них вузькою щільною, яка не перевищує 200 Å. Все це свідчить про незначну величину позаклітинного простору навколо пірамід гіпокампа, в якому, як відзначають ряд авторів [7—10], під впливом розрядів клітин може відбуватися збільшення вмісту іонів кальцію, що приводить до деполяризації мембран сусідніх нейронів [8, 10, 13]. Відомо, що реакції післядії досягають в гіпокампі значної величини і можуть накладатися [13], сприяючи синхронізованим судорожним розрядам.

Як гадають деякі автори [8], щільне прилягання клітинних мембран у пірамідному шарі гіпокампа створює сприятливі умови для захвату позаклітинними струмами сусідніх нейронів. Зміна іонного складу і циркуляція цих струмів мають сприяти збудженню нейронів один від одного.

Наші електронномікроскопічні дослідження підтвердили дані Гріна [8—10] про те, що прямі контакти між нейронами в пірамідному шарі гіпокампа не мають будь-якої спеціалізації. Наявність у місці контакту двох стичних мембран однакової товщини і рівномірної, ясної щільності між ними свідчить про відсутність тих структурних елементів, які трапляються в синапсах з хімічною передачею.

У досліджуваних нами інтактних кроликів у місцях прямих нейрональних контактів не виявлено жодних ознак мембранної спеціалізації, характерних для електротонічних синапсів (*gap junction*). Для них характерне більше зближення контактуючих мембран і наявність особливої сітки каналців в екстрацелюлярних просторах між мембранними сполученнями, що протистоять. Крім екстрацелюлярних каналців є й внутріклітинні каналці або пори, по яких можуть здійснюватися взаємні впливи клітин одна на одну [15].

Є дані [3] про те, що спеціалізація мембран нейронів стає більш вираженою в особливих умовах (тривалі судороги, застосування деяких фармакологічних речовин), а, можливо, потрібні й спеціальні методи обробки тканини для електронномікроскопічних досліджень.

Спостережувані нами тонкі прошаршки глії погано ізолюють сусідні нейрони, що також може створювати сприятливі умови для синхронізації розрядів у пірамідному шарі гіпокампа. Ширина таких прошарків не перевищує 1000 Å, водночас протяжність їх становить кілька мікрон.

Цікавою особливістю нейропіля в пірамідному шарі гіпокампа є наявність великої кількості дрібних аксо-дендритних і аксо-соматичних контактів. Нами показано, що аксо-соматичні контакти займають значну частину поверхні нейрона, а деякі з них спільні для двох сусідніх клітин. Можливо, що такі «об'єднуючі» синапси також відіграють деяку роль в електричній активності гіпокампа.

Зрозуміло, згаданими можливими механізмами не вичерпуються механізми синхронізації електричної активності гіпокампа. Слід брати до уваги наявність складної системи аферентних і еферентних зв'язків гіпокампа з різними структурами мозку.

Висновки

1. Електронномікроскопічне дослідження підтверджує наявність великої кількості прямих контактів між тілами суміжних нейронів у пірамідному шарі поля СА₁ гіпокампа кролика.
2. Характерною особливістю виявлених нейро-нейрональних контактів є їх значна протяжність, що становить кілька мікрон (від 1 до 4 μm), та відсутність будь-якої мембранної спеціалізації.
3. Виявлені прямі неспеціалізовані контакти також між апікальними дендритами і тілами суміжних нейронів.
4. Контакти між двома нейронами перериваються тонкими про-шарками глії, ширина яких становить близько 1000 Å і більше.
5. В межах пірамідного шару області СА₁ виявлено два типи синаптичних контактів — аксо-соматичні і аксо-дендритичні, які можуть бути спільними для двох суміжних нейронів.

Література

1. Бехтерев В. М.—В кн.: Проводящие пути спинного и головного мозга, СПб., 1898.
2. Майский В. А.—В сб.: Тез. докл. на VII Всес. конфер. по электрон. микроскоп., М., 1969, 238.
3. Смирнов Г. Д.—В сб.: Тез. докл. на XI съезде Всес. физиол. об-ва им. И. П. Павлова, Л., 1970, 24.
4. Bennet M.—Soc. proc. in EEG Clin. Neurophysiol., 1970, 29, 4, 409.
5. Blackstad T.—Progr. in Brain Res., 1963, 3, 122.
6. Cajal R.—Arch. für Anat. und Physiol., Leipzig, 1893.
7. Euler C., Green J.—Acta Physiol. Scand., 1960, 48, 110.
8. Green J., Maxwell D.—EEG Clin. Neurophysiol., 1961, 13, 837.
9. Green J., Shimamoto T.—Arch. Neurol. Psychiatr., 1953, 70, 687.
10. Green J.—Physiol. Rev., 1964, 4, 561.
11. Hamlyn L.—J. Anat. (London), 1963, 97, 2, 189.
12. Ibata V.—J. Hirnforschung, 1968, 10, 451.
13. Kandal E., Spencer N.—Exper. Neurol., 1961, 4, 162.
14. Lorento de No—J. Psychol., Neurol., 1934, 46, 113.
15. Pappas G.—Soc. proc. in EEG Clin. Neurophysiol., 1970, 29, 4, 409.
16. Purpura D., Murtry J., Leonard C., Malliani A.—J. Neurophysiol., 1966, 29, 954.
17. Reynolds E.—J. Cell. Biol., 1963, 17, 208.

Надійшла до редакції
3.IX 1971 р.

ULTRASTRUCTURE OF INTERNEURONAL CONTACTS IN RABBIT HIPPOCAMPUS PYRAMIDAL LAYER

E. D. Genis, V. A. Maisky

*The A. A. Bogomoletz Institute of Physiology, Academy of Sciences,
Ukrainian SSR, Kiev*

Summary

To detect morphological peculiarities, which can condition properties of electrical activity of hippocampus — its ability to synchronized convulsive discharges — the ultrastructure was studied of contact plots of membranes of contiguous neurons of pyramidal layer of rabbit dorsal hippocampus.

A great number of direct contacts was found between the bodies of contiguous neurons in the pyramidal layer of CA₁ part of hippocampus, where pyramidal neurons are most compactly packed. The considerable duration of neuro-neuronal contact for 1–4 μ and more, the average magnitude of neuron transversal diameter being 15–20 μ is the typical peculiarity of the found neuro-neuronal contacts. The plots of direct contact of contiguous neurons are the uniform by the length bicontour line, divided by slit 200 Å without visible features of membrane specialization. The similar direct non-specialized contacts are detected also between apical dendrites and bodies of contiguous neurons. The above-mentioned neuro-neuronal contacts were broken by thin layers of glia, 1000 Å wide. Within the limits of pyramidal layer of CA₁ region two types of synaptic contacts — axo-somatic and axo-dendritic are detected which can be common for two contiguous neurons.