

Ультроструктурный анализ синапсов первичной соматосенсорной коры и переднего кортикального ядра у крыс с абсансной эпилепсией

А. М. Федорова*, И. И. Садртдинова, З. Р. Хисматуллина,
Л. Б. Калимуллина

Башкирский государственный университет

Россия, Республика Башкортостан, г. Уфа, 450076, ул. Заки Валиди, 32.

**Email: marmishka-06@mail.ru*

В работе проведен количественный и ультроструктурный анализ синапсов пятого слоя первичной соматосенсорной коры (ПСК) и переднего кортикального ядра миндалевидного комплекса (СОа МК) мозга крыс линии WAG/Rij. Крысы линии WAG/Rij являются моделью абсансной эпилепсии человека. В ПСК и СОа МК нами выявлены различные типы синапсов: аксосоматические, аксо-дендритные, аксо-шипиковые, дендро-дендритные и аксо-аксональные. Проанализированы: плотность синапсов (на 100 мкм²), относительная частота встречаемости асимметричных, симметричных, перфорированных и инвагинированных синапсов, величина и форма синаптических пузырьков.

Ключевые слова: эпилепсия, крысы, синапсы, первичная соматосенсорная кора, миндалевидный комплекс.

Исследование нейрофизиологических механизмов эпилепсии является одним из важных направлений нейробиологии, которое позволяет понять патогенез данного заболевания, и вносит существенный вклад в изучение фундаментальных механизмов работы головного мозга [4, 5]. Эпилепсия – хроническое неврологическое заболевание, для которого характерно повторное возникновение спонтанных судорог. Считается, что в основе развития эпилепсии лежит нарушение баланса тормозных и возбуждающих процессов в ЦНС, ведущее к патологическому гиперсинхронному возбуждению больших нейронных популяций. Согласно современным представлениям, судороги являются сетевым феноменом, отражающим реверберацию патологического гипервозбуждения в нейронных сетях [1]. У большинства пациентов с первично генерализованной эпилепсией отсутствует выраженная структурная аномалия головного мозга, которая могла бы отвечать за инициацию судорог, и конкретные патогенетические механизмы этой формы заболевания остаются неясными. Считается, что генерализованная эпилепсия является результатом генетически детерминированных изменений нейронной возбудимости [1, 2, 3].

Известно, что функционирование головного мозга, обеспечивающее протекание процессов высшей нервной деятельности и их психических проявлений, определяется состоянием межнейронных связей, отростков нейронов и синаптических контактов.

Целью работы явилось изучение синапсоархитектоники пятого слоя первичной соматосенсорной коры (ПСК) и переднего кортикального ядра миндалевидного комплекса (СОа МК) мозга крыс линии WAG/Rij.

Материал и методы

Исследование проведено на половозрелых крысах линии WAG/Rij (модель абсансной эпилепсии). Крысы были выращены в стандартных условиях вивария кафедры физиологии человека и зоологии БашГУ и содержались при световом дне 14 часов и свободном доступе к еде и воде. Масса тела экспериментальных крыс составляла 270–350 г. При работе с крысами полностью соблюдались международные принципы Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным (2000 год).

Для проведения электронно-микроскопических исследований была выделена первичная соматосенсорная кора (n=6) и переднее кортикальное ядро (n=6) под контролем микроскопа МБС-10 (ЛОМО, СПб, Россия). Кусочки ткани фиксировали путем погружения в охлажденный 2.5%-ный раствор глутаральдегида на фосфатном буфере (рН 7.4) и постфиксировали в 2%-ном растворе OsO₄, обезвоживали в этаноле и заливали смесь смол Эпон-Аралдита. Для правильной ориентации блока использовали полутонкие срезы, окрашенные метиленовой синью. Готовили ультратонкие срезы на ультратоме LKB III, контрастировали цитратом свинца (Reynolds, 1963) и анализировали в трансмиссионном электронном микроскопе JEM 200 EX (75 кВ).

Выполнен анализ количественных характеристик синапсов в первичной соматосенсорной коре и переднем кортикальном ядре у крыс линии WAG/Rij. Регистрировали следующие параметры: плотность синапсов (на 100 мкм²), относительную частоту встречаемости асимметричных, симметричных, перфорированных и инвагинированных синапсов, величину и форму синаптических пузырьков. Все измерения проводили на микрофотографиях при увеличении 20 тысяч.

Результаты собственных исследований

В изучаемых нами структурах мозга выявлены различные типы синапсов: аксосоматические, аксо-дендритные (рис. 1), аксо-шипиковые, дедро-дендритные и аксо-аксональные. Чаще всего во всех изучаемых нами группах мы встречали аксо-дендритные синапсы: в ПСК плотность составляла 70.3%, а в СОа – 73.3%. При этом постсинаптическим компонентом выступали различные части дендрита: их проксимальные части, основные стволы, концевые ветвления и шипики. На основании учета указанных частей дендритов, аксо-дендритные синапсы были подразделены на аксо-

дендритные и аксо-шипиковые. В ПСК их соотношение равнялось 26% и 44.3%, а в СОа – 33.3% и 40%, соответственно.

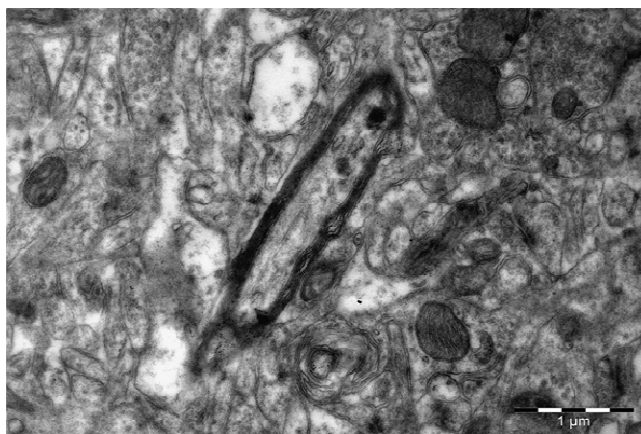


Рис. 1. Аксо-дендритный синапс у крыс с абсансной эпилепсией

Большая часть аксо-дендритных синапсов располагалась на основных стволах дендритов, в пресинаптическом компоненте выявлялись синаптические пузырьки различного типа: мелкие округлые везикулы, диаметр которых не превышал 70 нм, и сферические пузырьки с плотным центром, диаметр, которых был от 60 до 130 нм. В постсинаптическом компоненте у таких синапсов четко просматривались митохондрии, участки гранулярной эндоплазматической сети, рибосомы и их скопления – полисомы. Митохондрии были большей частью округлой и овальной формы, их матрикс выглядел гомогенным, просветленным, четко выявлялись кристы. Толщина постсинаптического уплотнения варьировала от 40 до 60 нм, при этом осмиофилия постсинаптической мембраны была сплошной или прерывистой. В последнем случае синапсы носили характер перфорированных. Синаптическая щель в аксо-дендритных синапсах составляла 12–18 нм.

Аксо-дендритные синапсы носили характер дивергентных, когда один аксон формировал синапс на двух разных постсинаптических окончаниях, в качестве последних выступали ствол дендрита и его шипик. Кроме дивергентных синапсов, были отмечены также конвергентные аксо-дендритные синапсы, когда несколько аксонов формировали синапс с одним дендритом.

Аксосоматические синапсы встречались относительно редко: в ПСК – 3.7%, в СОа – 6.7%. В перикарионе нервных клеток отмечали наличие телец Ниссля. Клеточное ядро нейронов, на some которых отмечалось формирование аксо-соматических синапсов, было больших размеров, чаще занимало центральное положение. В аксонах хорошо просматривались митохондрии, микротрубочки и синаптические пузырьки. Последние носили характер округлых или овальных прозрачных везикул с диаметром 50–70

нм, среди которых были округлые везикулы диаметром 90–140 нм с плотным центром. Ширина синаптической щели не превышала 20 нм.

Нами найдены и дендро-дендритные синапсы, их процент оказался равным 18.3% в ПСК и 6.7% в СОа. Цитоплазма дендритов, которые принимали участие в образовании синапсов, была светлая, в некоторых довольно крупных дендритах хорошо просматривались митохондрии с четкими кристами. Синаптические пузырьки были округлой и овальной формы с размерами 60–90 нм.

Аксо-аксональные синапсы составили: в ПСК – 7.7%, в СОа – 13.3% от общего количества синапсов. Синаптические пузырьки, заполнявшие терминали, были светлыми, овальной и округлой формы с диаметром 50–70 нм, и отдельные из них носили характер везикул с плотным центром, размеры которых колебались в пределах 80–140 нм.

По действию на иннервируемую клетку, синапсы делят на возбуждающие и тормозные. Возбуждающие синапсы чаще располагаются на мелких дендритах и их шипиках, у них наиболее выражена асимметрия и осмиофилия постсинаптической мембраны – синапсы первого типа по Грею. Тормозные синапсы располагаются на телах нейронов, стволах дендритов, постсинаптическая мембрана обладает слабой выраженной полоской осмиофильного вещества – синапсы второго типа по Грею.

Согласно данной классификации у крыс в первичной соматосенсорной коре 88.9% синапсов были асимметричными (возбуждающими), и только 11.1% из них симметричными (тормозными) синапсами. Среди анализируемых синаптических контактов в переднем кортикальном ядре выявлено 33.3% симметричных и 66.7% асимметричных синапсов. В составе пресинаптической мембраны возбуждающих синапсов мы отметили наличие круглых, прозрачных синаптических пузырьков с диаметром 50–60 нм и сферических с плотным центром синаптических пузырьков. При этом в некоторых синапсах отмечалось присутствие только круглых пузырьков с диаметром 50–60 нм или только сферических везикул с плотным центром с размерами 50–130 нм, но наряду с этим, встречались такие пресинаптические терминали, в которых было сочетание круглых прозрачных и сферических везикул с плотным центром. В тормозных синапсах преобладали овальные прозрачные пузырьки, размеры которых колебались в пределах 80–100 нм.

Таким образом, изучение синапсоархитектоники является одним из наиболее важных направлений в нейроморфологии, так как именно межнейрональные связи составляют структурную основу взаимодействия нервных клеток и определяют их целостную деятельность. Организация межнейрональных связей лежит в основе системной деятельности мозга, механизмов адаптации, системы обучения, компенсации нарушенных функций.

Литература

1. Avanzini G, Manganotti P, Meletti S, Moshe SL, Panzica F, Wolf P, Capovilla G. The system epilepsies: a pathophysiological hypothesis // *Epilepsia*. 2012. Vol. 53 Pp. 771–778.
2. Engel J. Can we replace the terms “focal” and “generalized”? In: *Generalized Seizures: From Clinical Phenomenology to Understanding System and Networks* (Hirsch E, Andermann F, Chauvel P., Engel J., Lopes da Silva F., Luders H., eds), 2006, Pp. 305–325.
3. Faingold, C. L. Role of GABA abnormalities in the inferior colliculus pathophysiology – audiogenic seizures // *Hear. Res.* 2002. Vol. 168 Pp. 223–237.
4. Spenser S. S. Neural networks in human epilepsy: evidence of and implications for treatment// *Epilepsia*. 2002. Vol. 43 Pp. 219–227.
5. Steriade M. Neuronal substrates of sleep and epilepsy // *Genes, Brain and Behavior*. 2004. V. 3. Pp. 125–126.

Статья рекомендована к печати кафедрой физиологии человека и зоологии БашГУ
(доктор биологических наук, профессор З. Р. Хисматуллина)

Ultrastructural analysis of synapses primary somatosensory cortex and anterior cortical nucleus of rats with absence epilepsy

A. M. Fedorova*, I. I. Sadrtidinova, Z. R. Khismatullina,
L. B. Kalimullina

Bashkir State University
Russia, 450076 Ufa, Zaki Validi 32

Email: marmishka-06@mail.ru

The quantitative and ultrastructural analysis of the synapses are studied of the fifth layer of the primary somatosensory cortex (PSC) and the anterior cortical nucleus amygdala (CoA) brain rats WAG / Rij line. Rats WAG / Rij line is a model of human absence epilepsy. we identified different types of synapses: axo-somatic, axo-dendritic, axo-spiny, dendrodendritic and axo-axonal in the PSC and the CoA. Analyzed: the density of synapses (on 100 mkm²), the relative frequency of occurrence of asymmetric, symmetric, perforated and invaginated synapse size and shape of synaptic vesicles.

Keywords: epilepsy, rats, synapses, the primary somatosensory cortex, amygdala.