

УДК 611.018.1+612.64

## СИНЦИТИАЛЬНЫЕ ПЕРФОРАЦИИ НЕЙРОНАЛЬНЫХ МЕМБРАН ЭМБРИОНА ЧЕЛОВЕКА<sup>1</sup>

© 2011 г. О. С. Сотников, С. А. Новаковская\*, И. А. Соловьева

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, 199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6  
e-mail: [Sotnikov@kolt.infran.ru](mailto:Sotnikov@kolt.infran.ru)

\*Институт физиологии НАН Беларуси,  
220072 Минск, ул. Академическая, д. 28  
e-mail: [biblio@fizio.bas-net.by](mailto:biblio@fizio.bas-net.by)

Поступила в редакцию 02.02.10 г.  
Окончательный вариант получен 30.04.10 г.

Проведено электронно-микроскопическое исследование закладки коры большого мозга эмбриона человека, с целью выявления наличия синцитиальных межнейронных связей в эмбриогенезе. Обнаружено, что у части нейронов отсутствует глиальная оболочка, и их наружные клеточные мембраны прилегают непосредственно друг к другу, образуя продолговатые или точечные плотные контакты. Иногда эти контакты перфорированы и на их основе формируются истинные синцитиальные межнейронные связи. Закономерные структурные свойства этих связей следующие: формирование на базе плотных мембранных контактов, обязательное закругление краев перфорации и наличие остаточных телец в виде сферических везикул в просвете перфораций. Полученные результаты позволяют заключить, что в закладке коры большого мозга у зародышей, получаемых при операции прерывания беременности, помимо формирования синаптических контактов или до их образования возможно появление синцитиальных межнейронных связей. Это следует учитывать при трансплантации развивающегося мозга.

*Ключевые слова:* биологические мембраны, синцитиальные поры спаренных мембран.

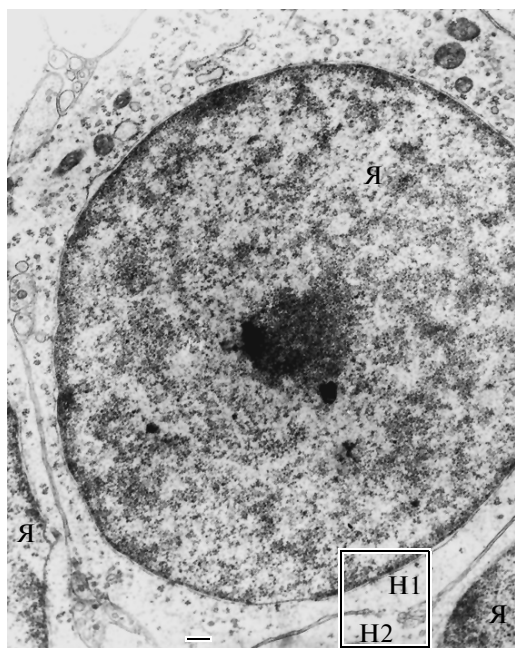
В литературе имеются сведения о существенных изменениях нейрональных мембран при различных патологических процессах и в онтогенезе. Так обнаружены в постгипоксическом периоде синцитиальные связи между спаренными нейронами коры мозга (Боголепов и др., 1980). В 1994 г. приведены данные о появлении синцитиальных связей между нейронами мозжечка под влиянием больших доз L-глутамата (Ларионова и др., 1994). Стали известны факты образования межнейронного синцития после механической травмы мозга (Сотников, Парамонова, 2010) и при валлеровской дегенерации (Сотников и др., 2009а). Описано появление многоядерных слившихся клеток мозга при многих видах патологии (Marotte et al., 2007; Mizuguchi, 2007). Открыта возможность синцитиального слияния нервных клеток с глиоцитами при вирусной патологии (Askman et al., 2006) и электростимуляции (Самосудова и др., 2007). Синцитиальные поры и мембранные перфорации описаны также у многих животных в

норме (Santander et al., 1988; Сотников, 2008; Сотников и др., 2009б; Арчакова и др., 2009). При анализе литературы создается впечатление, что синцитиальные перфорации чаще возникают между нейронами на ранних этапах онтогенеза, когда они еще не полностью покрыты глией и чаще контактируют друг с другом (Chen K. et al., 2006; Сотников, и др., 2007; Сотников, 2008). Учитывая изложенное, с целью выявления межнейронных связей нами исследовано состояние мембран у эмбрионов человека.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В исследовании использована корковая пластинка 8-недельных эмбрионов. Кусочки мозга 1–3 мм<sup>3</sup> после операции прерывания беременности помещались в культуральную среду 199 на 3–4 часа. Далее для электронной микроскопии мозг фиксировали в течение 1 часа погружением в раствор, состоящем из 2.5%-ного глутаральдегида в 0.1 М фосфатном буфере (рН 7.2–7.4). После промывки в фосфатном буфере проводили дополнительную фиксацию в

<sup>1</sup> Работа выполнена при финансовой поддержке грантов № 09-01-00473 и № 10-04-90000-Бел\_а.



**Рис. 1.** Плотное прилегание мембран смежных нейронов закладки коры большого мозга эмбриона человека 8 недель при отсутствии глии.

Н<sub>1-2</sub> — тела нейронов, в рамке — синцитиальная межнейронная перфорация (при большем увеличении см. рис. 2, б); полоска — 0.1 мкм.

1%-ном OsO<sub>4</sub> в какодилатном буфере (рН 7.4; 1 час). Проводили через спирты возрастающей концентрации для обезвоживания объекта. Срезы докрашивали уранил-ацетатом и цитратом свинца. Ткань заключали в эпон. Ультратонкие срезы получали на ультратоме ЛКБ-3 (Швеция) и исследовали под микроскопом Хитачи (Япония).

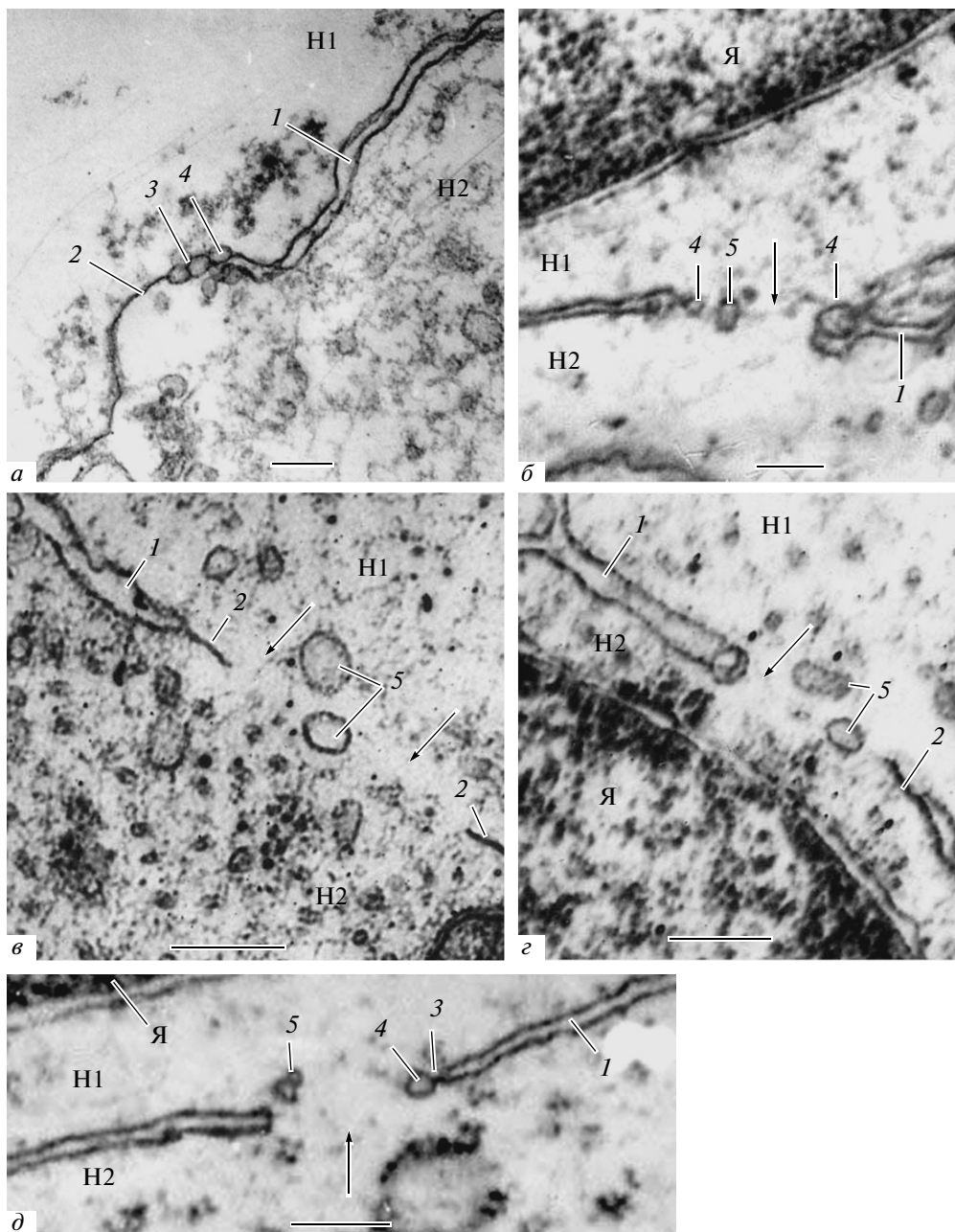
## РЕЗУЛЬТАТЫ

Нейроны на срезах имеют узкий слой цитоплазмы вокруг ядра, обедненный органеллами. Вокруг нейронов в ряде случаев имеются расширенные межклеточные промежутки, части тел нейронов и их отростков в отсутствии глиальной оболочки контактируют своими наружными клеточными мембранами непосредственно (рис. 1). Именно в этих участках удается обнаружить малозаметные своеобразные изменения, которые, однако, по нашему мнению, должны существенно влиять на электрические свойства нейронов. В некоторых местах спаренные мембраны двух смежных нейронов оказываются перфорированными. Это не случайные, бесформенные артефициальные дефекты мембран, которые нередко видны на электронных микрофотографиях, а морфологически четко организованные перфорации спаренных мембран. На одиночных мембранах они не встречаются. Прежде всего,

обнаруживаются довольно длинные участки смежных мембран, которые, контактируя, сливаются и образуют структуру, напоминающую плотный контакт (tight junction). Здесь же могут формироваться ожерельеподобные, варикозные структуры, стенки которых образованы слившимися смежными мембранами, а полость представляет собой остаток межклеточной щели. Фактически бусинки отделены очень короткими “точечными” плотными контактами (рис. 2, а). В области tight junctions возникают перфорации, которые как показано (Чизмаджев, Пастушенко, 1989), являются термодинамически крайне неустойчивыми образованиями. В том случае, когда перфорируется относительно длинный контакт, по краям перфораций остаются тонкие концы прерванных контактов (рис. 2, в). Одним из существенных признаков межмембранных (межклеточных) перфораций является отщепление одного или двух варикозных бусинок, которые становятся остаточными везикулярными тельцами внутри перфораций (рис. 2, в, г). Формирование таких остаточных телец представлено на рис. 2, б, д. В ряде случаев краевые остатки плотных контактов выявляются плохо. В этом случае морфологическим признаком естественно возникших перфораций служат четко закругленные края слившихся смежных мембран (рис. 3 а, б). Иногда остаточные тельца прослеживаются внутри перфорации между нейритами как лизирующиеся едва заметные овальные структуры (рис. 3, в). Варианты встречающихся изменений спаренных мембран обобщены схематически (рис. 4). Они могут быть представлены как стадии одного и того же процесса синцитиальных перфораций мембран эмбриона.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Причины возникновения перфораций спаренных мембран эмбрионов назвать невозможно. Это могут быть оперативные процедуры по прерыванию беременности. Однако известно, что такие же синцитиальные перфорации отмечены и в нормальной нервной системе новорожденных котят и двухмесячных поросят (Сотников и др., 2007; Сотников, 2008). Синцитиальные межнейронные перфорации выявлены у 19–21-дневных эмбрионов нормальных крыс (Peters, Feldman, 1973). Естественный процесс образования синцитиальных пор на основе плотных контактов с последующим слиянием клеток хорошо описан при онтогенетическом формировании мышечных волокон из отдельных миогенных клеток. Большинство авторов, изучавших эмбриогенез скелетных мышц, рассматривает формирование плотных контактов, как начальную фазу их синцитиального слияния (Sheridan, 1966; Pash et al., 1974).

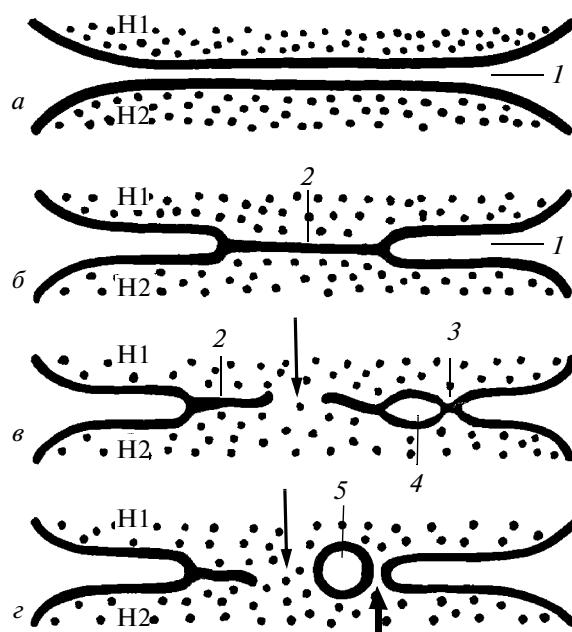


**Рис. 2.** Формирование бусиновидных структур и синцитиальных перфораций контактирующих мембран смежных нейронов.

*а* – протяженный плотный мембранный контакт и бусиновидные варикозные деформации межнейронной щели; *б* – формирование остаточных телец из “бусинок” межклеточной щели (фрагмент рис. 1 в рамке); *в* – смещенные остаточные тельца внутри перфорации, края которой образованы остатками плотных контактов; *г* – сферическое и овальное плотные тельца внутри синцитиальной перфорации; *д* – формирование “бусинки” у точечного плотного контакта и отщепление остаточного тельца на краю перфорации; 1 – межклеточная щель; 2 – остатки плотного контакта; 3 – точечный плотный контакт; 4 – бусиновидная деформация межклеточной щели; 5 – остаточные тельца; Н<sub>1-2</sub> – тела смежных нейронов; Я – ядра нейронов; стрелки – синцитиальные межнейронные перфорации; стрелка – синцитиальная перфорация; полоска – 0.1 мкм.

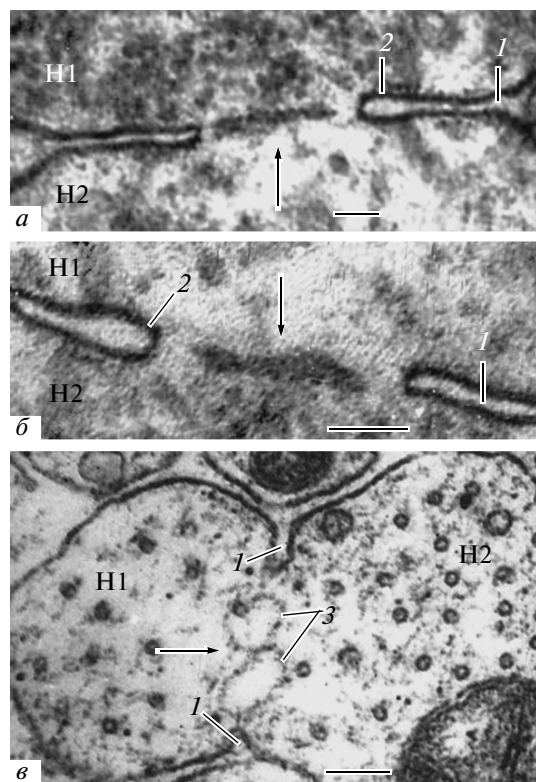
Формирование сфероидных остаточных телец и закругление краев перфораций также следует представлять как термодинамически выгодное природное свойство липидных мембран (Козлов, Маркин, 1989; Молотковский, 2009).

Не исключено также, что сформировавшие синцитиальные перфорации клетки в дальнейшем могут вступать в апоптоз. Однако то, что синцитиальные связи встречаются и у взрослых нормальных животных свидетельствует целый ряд данных



**Рис. 3.** Закругление краев слившихся мембран смежных нейронов.

*a* – крупная перфорация между нейритами; *б* – крупная перфорация между телами прилежащих нейронов; *в* – следы овальных остаточных телец внутри синцитиальной перфорации; *1* – межклеточная щель; *2* – булавовидные закругленные края крупных перфораций; *3* – следы овальных остаточных телец;  $H_{1-2}$  – два различных нейрита (*a*) или тела нейронов (*б*), полоска – 0,1 мкм.



(Santander et al., 1988; Сотников, 2008). Синцитиальные связи у взрослых животных обладают такой же строгой структурной организацией. Перфорации всегда появляются на основе плотных контактов, края перфораций имеют овальную форму, а внутри перфораций присутствуют одно или несколько овальных везикулярных остаточных телец (Сотников, Парамонова, 2010). Во всяком случае, полученные данные могут свидетельствовать о том, что у эмбрионов *in situ* и при пересадке эмбриональных эксплантатов помимо химических синапсов и электрических мембранных контактов следует иметь в виду возможность и синцитиальных связей, что может существенно менять функцию формирующихся нервных сетей.

**Рис. 4.** Предполагаемый процесс формирования синцитиальных межнейронных перфораций (схематическое изображение).

*a* – нормальная межклеточная щель; *б* – образование плотного межнейронного мембранного контакта; *в* – формирование варикозной жемчужины, точечного плотного контакта и синцитиальной перфорации продленного контакта; *г* – образование расширенной синцитиальной перфорации, появление поры и отщепление “жемчужины” в области точечного контакта; *1* – межклеточные щели; *2* – продленные плотные контакты; *3* – точечный плотный контакт; *4* – бусинкоподобная деформация межклеточной щели; *5* – остаточное тельце;  $H_{1-2}$  – смежные нейроны; стрелки – синцитиальные поры и расширенные перфорации.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Арчакова Л.И., Сотников О.С., Новаковская С.А. и др. Синцитиальные цитоплазматические анастомозы между нейритами клеток каудального брыжеечного ганглия взрослых кошек // Морфология. 2009. Т. 135. № 2. С. 23–26.
- Боголепов Н.Н., Павловская Н.И., Яковлева Н.И. Ультраструктура контактов парных нейронов в постгипоксическом периоде // Арх. анат. 1980. Т. 79. № 9. С. 15–24.
- Козлов М.М., Маркин В.С. Устойчивость сферической формы везикул // Биол. мембр. 1989. Т. 6. № 8. С. 869–882.
- Ларионова Н.П., Самосудова Н.В., Чайлахян Л.М. Патологическое слияние зернистых клеток мозжечка лягушки под влиянием L-глутамата *in vitro* // ДАН СССР. 1994. Т. 336. № 3. С. 406–409.
- Молотковский Р.Ю., Акимов С.А. Расчет линейного натяжения в различных моделях кромки поры в липидном бислое // Биол. мембр. 2009. Т. 26. № 2. С. 149–158.
- Самосудова Н.В., Реутов В.П., Ларионова Н.П. Нейро-глиальные контакты, образующиеся в мозжечке при электрической стимуляции в присутствии NO-генерирующего соединения // Морфология. 2007. Т. 131. № 2. С. 53–58.
- Самосудова Н.В., Шунская В.Е., Ларин Ю.С. Межклеточные взаимодействия, предшествующие слиянию мышечных клеток // Цитология. 1985. Т. 27. № 12. С. 1404–1407.
- Сотников О.С. Статика и структурная кинетика живых асинаптических дендритов. СПб: Наука, 2008. 397 с.
- Сотников О.С., Арчакова Л.И., Новаковская С.А. и др. Проблема синцитиальной связи нейронов при патологии // Бюлл. экспер. биол. и мед. 2009а. Т. 147. № 2. С. 207–210.
- Сотников О.С., Камардин Н.Н., Рыбакова Г.И. и др. Цитоплазматическая синцитиальная межнейронная связь у моллюсков // Ж. эвол. биохим. и физиол. 2009б. Т. 45. № 2. С. 223–232.
- Сотников О.С., Малашко В.В., Рыбакова Г.И. Синцитиальная связь нейронов в культуре ткани в раннем онтогенезе // Морфология. 2007. Т. 131. № 2. С. 7–15.
- Сотников О.С., Парамонова Н.М. Цитоплазматическая синцитиальная связь — одна из трех форм международной связи // Успехи физиол. наук. 2010. Т. 41. № 1. С. 45–57.
- Чизмаджев Ю.А., Пастушенко В.Ф. Электрическая стабильность биологических и модельных мембран // Биол. мембр. 1989. Т. 6. № 10. С. 1013–1045.
- Ackman J.B., Siddiqui F., Walikonis R.S. et al. Fusion of microglia with pyramidal neurons after retroviral infection // J. Neurosci. 2006. V. 26. № 44. P. 11413–11422.
- Chen K.A., Laywell E.D., Marshall G. et al. Fusion of neural stem cells in culture // Exp. Neurol. 2006. V. 198. № 1. P. 129–135.
- Marotti J.D., Savitz S.I., Kim W.K. et al. Cerebral amyloid angiitis processing to generalized angiitis and leucoencephalitis // Neuropathol. Appl. Neurobiol. 2007. V. 33. № 4. P. 475–479.
- Mizuguchi M. Light microscopic analysis of cellular networks in the pineal gland of the golden hamster as revealed by methylene blue labeling // Congenit. Anom. 2007. V. 47. № 1. P. 2–8.
- Pash D.E., Staehelin A. Freeze cleave demonstration of gap junctions between skeletal myogenic cells *in vivo* // Develop. Biol. 1974. V. 36. P. 455–461.
- Peters A., Feldman M. The cortical plate and molecular layer of the late rat fetus // Z. Anat. Entwicklungsgesch. 1973. V. 141. № 1. P. 3–37.
- Santander R.S., Cuadrado G.M., Sáez M.R. Exceptions to Cajal's neuron theory: communicating synapses // Acta Anat. 1988. V. 132. P. 74–76.
- Sheridan J.D. Electrophysiological study of special connections between cells in the early chick embryo // J. Cell Biol. 1966. V. 31. P. 1–5.

## Syncytial Perforations of Human Embryo Membranes

O. S. Sotnikov<sup>a</sup>, S. A. Novakovskaya<sup>b</sup>, and I. A. Solovieva<sup>a</sup><sup>a</sup> Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, nab. Makarova 6, St. Petersburg, 199034 Russia  
e-mail: Sotnikov@kolt.infran.ru<sup>b</sup> Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Belarus, Akademicheskaya ul. 28, Minsk, 220072 Belarus  
e-mail: biblio@fizio.bas-net.by

**Abstract**—An electron microscopy study of the anlage of cerebral cortex of human embryo has been carried with the aim of determining the presence of syncytial interneuronal connections in embryogenesis. It has been determined that, in part of the neurons, the glial embryo is absent and their external cell membranes are directly attached to each other by forming elongated or dotted tight junctions. Sometimes these junctions are perforated and, on their basis, the true syncytial interneuronal connections are formed. Natural structural properties of these connections are the following: formation of the base of tight membrane contacts, obligatory rounding of perforation edges, and the presence of residual particles in the form of spherical vesicles in the lumen of perforations. Results obtained allowed us to conclude that, in the anlage of cerebral cortex of embryos obtained during surgical abortion of pregnancy, apart from the formation of synaptic contacts, or until their formation, there is the possibility of syncytial interneuronal connections appearing. This should be considered during the transplantation of the developing brain.

**Keywords:** biological membrane, syncytial pores of paired membranes