

## ОБЪЕМНАЯ УЛЬТРАСТРУКТУРА ДЕНДРИТНЫХ СИНАПСОВ ИДЕНТИФИЦИРОВАННЫХ ТЕМНЫХ И СВЕТЛЫХ НЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА КРЫС

О.А. Клименко, В.В. Рогачевский

Институт биофизики клетки РАН, 142290, РФ, Московская обл., г. Пущино,  
ул. Институтская, 3; vadim\_rogachevsky@synapsis.ru; www.synapsis.ru

Темные или гиперхромные нейроны – нейроны с высокой оптической плотностью, выявляемые после прокрашивания или контрастирования ткани мозга. Природа красителя не имеет значения, это и стандартные красители для гистологии, и окраска по методу Гольджи, и стандартные контрастеры в электронной микроскопии. Механизм образования темных нейронов остается загадкой для нейробиологов уже полтора века. Формирование темных нейронов связывают с процедурами подготовки ткани к морфологическому исследованию, а в последних работах с потерей нейронами воды при механическом их повреждении. В функциональном плане образование темных нейронов связывают с патогенными воздействиям на мозг, таким как гипоксия/ишемия, эпилептиформная активность, нейротоксичность, гипогликемия, острая травма и др. Число темных нейронов используют в качестве маркера выраженности степени патологии мозга, а сам феномен гиперхромии нейронов является признаком их отложенной гибели.

Существует и альтернативная точка зрения: считается, что темные нейроны могут представлять собой особое функциональное состояние нейрона. Две основные функциональные формы пластичности нейрона, потенциация и депрессия синаптической передачи, всегда проявляются в изменениях структуры его синаптических связей; при этом наиболее информативным показателем активности синапса являются структурные характеристики дендритных шипиков и их постсинаптических уплотнений (PSDs). Во многих работах показано, что структура синаптических связей *in vitro* значительно отличается от таковой *in vivo*. Определить *in vivo* принадлежность нейрона к темному или светлому типу возможно только после подготовки ткани к морфологическому исследованию. При этом использование трейсеров для идентификации нейрона после физиологической регистрации синаптической активности *in vivo* непременно приведет к маскированию деталей синапса продуктом цитохимической реакции трейсера. По-видимому, единственным способом оценки структуры синапсов темных нейронов *in vivo* является трехмерная (3D) реконструкция их синаптических связей на ультратонких срезах. Особенностью морфологии темных нейронов является потеря их дендритами оптической плотности в молекулярном слое нейропиля, где и сосредоточена основная масса синапсов. В таком случае встает вопрос о способе идентификации дендритов темных нейронов в глубоких слоях нейропиля.

Для анализа структуры синапсов темных нейронов мы использовали сегменты дендритов CA1 области гиппокампа крыс на глубине около 200 мкм от тел нейронов. Мы прослеживали дендрит от тела нейрона до последнего среза в стеке из серии выровненных относительно друг друга изображений 200–300 полутонких срезов толщиной 1 мкм в плоскости сечения поперечной ходу дендритов. В соответствующей области на образце готовилась пирамидка площадью 20×100 мкм, с которой получали серии ультратонких срезов для последующей 3D реконструкции синапсов.

В докладе обсуждаются функциональные особенности структурной организации синапсов темных и светлых нейронов в норме, при гипоксии/гипотермии, и на экспериментальной модели болезни Альцгеймера.

Иллюстрации к докладу доступны в разделе публикаций по адресу: [www.synapsis.ru](http://www.synapsis.ru).

Работа поддержана грантом РФФИ: 12-04-01420-а.