

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ им. И. П. ПАВЛОВА АН СССР

На правах рукописи

УДК 612.81 : 611—018.8

СОТНИКОВ
Олег Семенович '

**ДИНАМИКА И МЕХАНИЗМЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОЙ
ПЕРЕСТРОЙКИ НЕЙРОНА**

(03.0013—ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук

ЛЕНИНГРАД
1984

Работа выполнена в Институте физиологии им. И.П. Павлова АН СССР.

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор А.Д. НОЗДРАЧЕВ,
доктор биологических наук, профессор В.Ф. МАШАНСКИЙ,
доктор биологических наук Ю.А. ДАРИНСКИЙ

Ведущая организация — Институт физиологии АН БССР.

Защита состоится "19" ноября 1984 г. в 15.15 часов на заседании специализированного совета Д 002.36.01 по защите диссертации на соискание ученой степени доктора наук при ордена Трудового Красного Знамени Института физиологии им. И.П. Павлова АН СССР (199164, Ленинград, наб. Макарова, 6).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института.

Автореферат разослан "17" октября 1984 г.

Ученый секретарь
специализированного совета
доктор биологических наук

Н.М. ВАВИЛОВА

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. В ноябре 1981 г. на совместной сессии Академии наук СССР и Академии медицинских наук СССР среди фундаментальных физиологических проблем, имеющих решающее значение для прогресса медицины и здравоохранения, была названа проблема реактивности (Костюк, 1983). Реактивность организма базируется на клеточной реактивности. Поэтому изучение реактивных перестроек клеток весьма актуально. Особенно это касается исследования механизмов реакции нервных клеток, так как последние непосредственно участвуют в регуляции реактивности организма и, кроме того, обладают рядом уникальных характеристик. Структурная динамика нейронов (нейроплазматические токи, восстановление отростков и др.) давно рассматривается как важный механизм поддержания реактивности организма и способности его к компенсации патологических нарушений (Schade, Ford, 1976; Саркисов, 1977; Kandel, 1980; и др.). Однако систематическое исследование динамики и механизмов реактивной перестройки нейронов не проведено.

Сейчас, когда современная электрофизиология нейрона достигла высокого уровня развития и по праву может рассматриваться как один из важных разделов молекулярной биологии (Hodgkin, 1965; Eccles, 1966; Kats, 1968; Tasaki, 1971; Ходоров, 1975; Костюк и Крышталь, 1981, и др.), стала очевидной неразрывная связь электрических и структурных процессов. Оказалось, что любые геометрические преобразования аксонов, дендритов, синапсов равносильны изменению пассивных электрических свойств проводника и должны быть исследованы как физиологические процессы (Hodgkin, Huxley, 1952; Cooley, Dodge, 1966; Позин, 1970; Тимин, 1979; Соколов, Шмелев, 1983, и др.). Стало ясно, что изменения ионной проницаемости мембран непосредственно зависят от перестройки геометрии (конформации) больших агрегатов канальных белковых макромолекул, связанных с подвижным субмембранным белковым слоем, и латеральным

смещением макромолекул в мембране (Cohen, 1973; Heuser, Rees, 1979; Левин, Гольфанд, 1980; Пеганов, 1980; Васильев, Гельфанд, 1981, и др.). Было показано, что геометрические изменения структур, сопровождающиеся модификациями отношения их поверхности к объему, представляют собой одновременно изменение термодинамического параметра системы (Williams, Williams, 1976; Siesjö, 1978; Фролов, 1982; Gerson, 1983, и др.). Обнаружение актино- и мио-зиноподобных белков в цитоплазме и мембранах различных структур нейронов поставило вопрос о сократительной функции нейронов (Berl, 1974; Grey, 1975; Франк, 1976; Porter и др., 1979; Stebbings, Hyams, 1979; Глебов и др., 1981, и др.). Стало ясно, что наряду с импульсной электрической активностью в функционировании нейронов важное место занимают и другие физиологические процессы, такие как: изменчивость геометрии структур, их сократительная активность, нейроно-глиальные взаимодействия, нейроплазматические токи и др. Иначе говоря, сформировалась проблема динамики структур живого нейрона.

Из анализа современной литературы следует, что подвижность структуры различных отделов нервной клетки на всех уровнях ее организации изучена совершенно недостаточно. Для полноценного исследования проблемы необходима разработка собственной методической базы (новые живые препараты структур интактных нейронов, методики их изоляции, микроскопическая техника, использующая не тинкториальные, а современные оптические способы контрастирования и т.д.). Необходима также дальнейшая разработка и методологических подходов к трактовке структурно-функциональной изменчивости.

Цель и задачи исследования. Цель работы состояла в том, чтобы изучить прижизненную динамику и механизмы быстрой, легко-обратимой реактивной перестройки всех основных структурных элементов нейрона при нарушении гомеостаза окружающей среды.

Эта цель осуществлялась путем решения нескольких производных задач.

1. Необходимо было разработать новые живые препараты и методику визуального исследования динамики всех основных структурных компонентов нейрона (его тела, миелинового и безмиелинового волокон, концевых нервных структур) и глии как в естественном окружении, так и после их изоляции друг от друга. Требовалось создать специальные микрокамеры и приемы совмещения электрофизиологической аппаратуры с микроскопом.

2. Следовало выявить общие черты в реакции таких резкоотличных по строению элементов, как тело нейрона, миелиновое волокно с его перехватами Ранвье и насечками Шмидта-Лантермана, а также синапсы, и охарактеризовать специфические черты клеточной реакции, свойственные только нейрону и связанные с наличием длинных отростков, синаптических контактов, глии и других особенностей.

3. Важно было оценить, оказывают ли наблюдаемые структурные превращения влияние на электрические функции нейрона.

4. Следовало проанализировать функционально-морфологические механизмы, связанные с изменениями основных химических компонентов нейроплазмы (белка и воды), и выяснить возможность сходных черт в перестройке околочембранной цитоплазмы и наружной электрогенной мембраны нейрона.

5. Важно было также сформулировать общее представление о комплексе реактивной перестройки как проявлении динамики структур живого нейрона в его взаимодействии с глией.

Научная новизна результатов исследования. 1. Проведенное экспериментальное исследование является первым систематическим анализом реактивной подвижности всех основных компонентов живого нейрона и глии, позволившим выявить общность механизмов их перестроек и сформулировать представление о комплексе реактивной перестройки нейрона как единого целого.

2. Разработана методическая база для дальнейших прижизненных морфо-физиологических микроисследований изолированных структурных элементов нервной клетки. Так, впервые предложен способ изоляции нейрона позвоночного с сохраненным аксо-соматическим синапсом (Авт. свид. № 584324). Разработан препарат неисследованной ранее разновидности автономных нейронов-отшельников соединительной ткани, изучение которых не требует искусственной механической изоляции. Предложена специальная камера для морфо-физиологических экспериментов на этих препаратах (Авт. свид. № 819169). Впервые проведены функционально-морфологические эксперименты на исходно интактной нервной системе ряда невоскрытых прозрачных морских животных. Разработаны также методика протеолитического препарирования нейронов с сохраненной системой дендритных ветвлений (Авт. свид. № 972311), позволяющая разделить синапсы на пре- и постсинаптические отделы, и методика определения функционального состояния живых миелиновых волокон по структуре их перехватов (Авт. свид. №810222).

3. С помощью прижизненной УФ-микроспектрофотометрии и интерферометрии, а также электронной микроскопии получены новые данные, свидетельствующие о том, что первые реактивные изменения развиваются в наружной мембране и в прилежащих периферических слоях околосоматической нейроплазмы и имеют сходные механизмы. Они проявляются в увеличении степени адгезии белков, их агрегации и отмирании более обводненной жидкой фракции нейроплазмы.

4. Показан реципрокный и кооперативный характер пространственных глио-нейронных взаимодействий при реактивной перестройке всех элементов нейрона. Выявлены новые механизмы этих взаимодействий. На живых миелиновых нервных волокнах обнаружено и исследовано принципиально важное, но неизученное ранее, явление срочной функциональной демиелинизации, ремиелинизации и гипер-миелинизации.

5. Экспериментально установлены механизмы широко распространенного в ранней невропатологии реактивного явления – варикозной деформации нервных отростков и синапсов. Вопреки распространенному мнению, в прижизненных наблюдениях показано, что в основе этого явления лежит не истинное набухание структур, а неравномерное перераспределение жидкой фракции нейроплазмы вдоль отростков со вздутием одних его участков за счет истончения других. В сравнительноморфологических исследованиях выявлена значительная филогенетическая древность этой реакции нейрона.

6. Полученные новые физиологические данные позволили оценить функциональную значимость комплекса прижизненной реактивной перестройки нейрона, выявить функциональные корреляты фаз Майорова в структурно-тинкториальных изменениях синапса, проанализировать функциональное значение динамики реактивной геометрической деформации структуры нейрона на ЭВМ с помощью видоизмененной математической модели Ходжкина-Хаксли.

7. Впервые при ортодромной активации обнаружено массовое формирование глио-нейрональных мембранных контактов в области синапсов, претерминалей, а также в зоне миелиновых насечек Шмидта-Лантермана. Приведены доказательства, позволяющие рассматривать все структурные разновидности мембранных контактов как стадии в единой реактивной перестройке мембран. Полученные данные о формировании высокопроницаемых, с низким сопротивлением глио-нейронных контактов при высокочастотном раздражении позволяют по-новому оценить явление пессимального торможения в синапсах.

8. Имеющиеся в литературе сведения о динамике нейронов в культуре нервной ткани дополнены исследованием нескольких новых механизмов реактивной подвижности (рамыфикация путем расщепления ламеллоподий, мультиполяризация путем ретракции площадок ветвления и др.).

9. Получен новый экспериментальный материал о механическом напряжении в синапсах, общности явлений ретракции и ретроградного тока нейроплазмы, единстве противоречивых свойств межклеточных контактов: их адгезии, обеспечивающей механическую прочность, и постоянной плоскостной подвижности.

В общем, проведенные исследования позволяют дополнить известные данные об электрогенной функции нейрона представлениями о реактивной динамике его структур.

Теоретическое и практическое значение результатов работы и их реализация. Теоретическое значение работы состоит в том, что на основе новой методической базы изучена реактивная подвижность всех основных структурных компонентов живого нейрона, окружающей его глии и показано единство механизмов этих перестроек. Тем самым существующие данные об электрогенной функции нейрона дополнены представлениями о реактивной прижизненной динамике его структур, отражающей модификацию пассивных электрических свойств проводника и изменение термодинамических параметров системы.

Прижизненные исследования позволили охарактеризовать некоторые механизмы быстрых процессов в цитоплазме нейронов, волокон и синапсов, связанные с конформационными перестройками белка, изменением его адгезии и перемещениями массы воды, оценить физиологическую значимость реактивных перестроек, показать их компенсаторный характер и обратимость, обнаружить связь между реакцией и ретрактивной активностью отростков, общность мембранных и цитоплазматических механизмов реактивной перестройки.

Существенное теоретическое значение, по-видимому, имеет данная в работе характеристика специфических черт реактивной перестройки нейронов, связанных с особенностями его структурно-функциональной организации. Обнаруженная кооперативная и реципрокная реакция нейроглии, быстрый

трансмембранный нейроно-глиальный обмен жидкой фракцией цитоплазмы и образование глио-нейронных мембранных высокопроницаемых контактов с низким электрическим сопротивлением поможет в объяснении некоторых физиологических явлений, механизмы которых до сих пор изучены слабо.

Практическое значение работы состоит в том, что выделение в ней комплекса ранних легкообратимых изменений элементов нейрона одновременно представляет собой преодоление важнейшего этапа в разработке дифференциальной диагностики, позволяющей отдифференцировать необратимые дегенеративные изменения в нервной системе, терапия которых не может быть эффективной, от обратимых (излечимых) изменений, терапия которых имеет благоприятный прогноз.

Предложенные в работе способы протеолитической диссоциации нейронов, камера и приемы прижизненной микроскопии могут быть использованы для срочной диагностики состояния нейронов, например, при определении границ жизнеспособной зоны в очаге поражения мозга. Изученные новые препараты для прижизненного микроскопического исследования безмякотных нервных волокон, чувствительных терминалей, синапсов, целых рефлекторных дуг у интактных прозрачных морских животных могут быть использованы не только для дальнейшего развития комплексных морфо-физиологических научных исследований, но и в процессе скрининга серий нейротропных химических агентов. Предпринятые впервые прижизненные наблюдения за процессами, развивающимися в дендритной системе живых нейронов ЦНС обнаружили, что при травме мозга помимо известных сопутствующих неблагоприятных процесса, имеет место еще одно неучитываемое ранее осложнение – уменьшение числа дендритов, а следовательно, и количества информации, приходящей по ним через аксо-дендритные синапсы.

Исследования реактивной подвижности в культуре нервной ткани (использование направителей роста) дало возможность понять некоторые

механизмы, препятствующие регенерации нейронов, наметить пути, позволяющие их преодолеть и способствующие проявлению огромных потенциальных регенераторных возможностей нейронов.

Полученные в работе данные об изменении нервных волокон во время их переживания могут быть использованы микрохирургами для оценки жизнеспособности длительно переживающих аутотрансплантатов конечностей или специально консервированных внутренних органов.

Совместно с С.В. Ревенко и Б.И. Ходоровым разработана методика оценки функционального состояния живых миелиновых нервных волокон по морфологической картине перехвата Ранвье (Авт. свид. № 810222, Ревенко и др., 1981). Сформулированная в диссертации концепция о функциональной демиелинизации имела фундаментальное значение для работы научно-прикладного характера по изучению восходящего неврита, которая проводилась (совместно с Е.К. Гуманенко) на разработанной нами модели, имитирующей ишемическое повреждение нервов при облитерирующем эндартериите и коллатеральном кровообращении (Сотников, 1976).

Научный материал о прижизненном строении и кинетике структур живого нейрона несомненно полезен в педагогической практике. Это апробировано нами в лекциях на тему: "Статика и динамика структуры живого нейрона", читаемых с 1979 г. для слушателей факультета повышения квалификации преподавателей медицинских ВУЗов, а также в курсах лекций по гистологии и нормальной физиологии девяти медицинских и педагогических ВУЗов страны. Материал диссертации использован в учебном пособии для студентов "Структура и проницаемость биологических мембран" (Каталымов, 1979), в руководстве "Прижизненная микроскопия нейрона" (Л., Наука, 1978), в монографическом руководстве (Немечек и др., 1978) в монографиях: "Функциональные клеточные взаимодействия в нервно-мышечном аппарате" (Матюшкин, 1980), "Функциональная морфология живого мякотного нервного волокна (Сотников, 1976), в коллективной монографии "Механизмы

реагирования нейрона на раздражающие воздействия (Л., Наука, 1981) и при создании научно-популярного кинофильма "Частная жизнь нейрона" (режиссер В.А. Чигинский, оператор Б.В. Балашов, Леннаучфильм, 1981). Результаты исследований и разработанные методики внедрены в практику научной работы лабораторий ЛГУ им. А.А. Жданова, ВМА им. С.М. Кирова, Инст. биофизики АН СССР, Инст. физиологии ГССР, Инст. биологии АН Латвийской ССР, Инст. хирургии им. А.В. Вишневского АМН СССР и некоторых ВУЗов.

Апробация работы. Материалы диссертации многократно докладывались и обсуждались на: УП-м Всесоюзном съезде анатомов, гистологов и эмбриологов (Тбилиси, 1969 г.), П-м Всесоюзном симпозиуме "Местное и распространяющееся возбуждение" (Ленинград, 1972), Всесоюзном симпозиуме "Структурно-функциональная организация вегетативных ганглиев" (Минск, 1973); VI-й Поволжской конференции физиологов (Чебоксары, 1973), 1-й Международной школе по культивированию нервной ткани (Пушино, 1973), VIII-м Всесоюзном съезде анатомов, гистологов и эмбриологов (Ташкент, 1974), XII-м Съезде Всесоюзного физиологического общества им. И.П.Павлова (Тбилиси, 1975), Симпозиуме „Функции нейроглии" (Тбилиси, 1976), Международном симпозиуме „Структура и функция синапсов" (Киев, 1976), XIII-м Съезде Всесоюзного физиологического общества им. И.П.Павлова (Алма-Ата, 1979), I-ом Международном симпозиуме "Миелинизация и демиелинизация" (Варна, 1979), 3-м Всесоюзном совещании "Немышечные формы подвижности" (Пушино, 1981), Всесоюзном совещании "Современные методы нейроморфологии" (Москва, 1981), IX-м Всесоюзном съезде анатомов, гистологов и эмбриологов (Минск, 1981), I-м Всероссийском съезде анатомов, гистологов и эмбриологов (Оренбург, 1982), 2-ом Международном симпозиуме "Миелинизация и демиелинизация" (Варна, 1982), XIV-м Съезде Всесоюзного физиологического общества им. И.П.Павлова (Баку, 1983). Материалы диссертации, опубликованные в монографии "Функциональная морфология живого мякотного нервного волокна" (Сотников, 1976) обсуждались в

рецензиях на страницах журналов: *Нейрофизиология*, 1978, т.10, №2, с.215; *Физиологический журнал СССР*, 1979, т.65, №2, с.313-314; *Архив анатомии, гистологии и эмбриологии*, 1978, т.75, в.7, с.113-115, и на Пленуме Правления Всесоюзного научного общества АГЭ (*Арх. анат.*, 1976, т.71, в.12, с.93-102). Данные диссертации неоднократно докладывались на заседаниях ленинградских отделений Всесоюзного общества анатомов, гистологов и эмбриологов. Всесоюзного физиологического общества и секции "Нейрон *in vitro*" при Научном совете по проблемам биологической физики АН СССР (Пушино).

Объем и структура. Диссертация включает 299 страниц текста, 103 рисунка, 5 таблиц и указатель литературы, состоящий из 738 названий. Работа состоит из введения, 1-й главы, формулирующей проблему динамики структур живого нейрона, и 6 глав, в которых излагаются собственные данные. Методика (в основном собственные разработки методических приемов и препаратов для прижизненных микроисследований) приведена во 2-й главе. Обсуждение результатов дается в конце каждой главы. Две последние главы обобщают материал всей диссертации. Заключают работу 8 выводов.

РАЗРАБОТКА ПРЕПАРАТОВ И МЕТОДИЧЕСКИХ ПРИЕМОВ ДЛЯ ПРИЖИЗНЕННЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для исследования динамики и механизмов быстрых обратимых перестроек структур живого нейрона необходимо было разработать методическую основу – комплекс новых методик и новых живых препаратов, способов визуального исследования, оптического контрастирования и совмещения нейронов с электрофизиологической аппаратурой. Известные в литературе живые препараты и способы прижизненных морфофизиологических исследований (Лаврентьев и Федоров, 1934; Майоров, 1969; Landborg, 1970; McMahan, Kuffler, 1971; Willwams, Hall, 1971; Webster, de Billings, 1972; Yamamoto, 1975; Kuffler, Nicholls, 1979; Самойлов, 1982, и др.)

были нами классифицированы в зависимости от степени изоляции (нарушения кровоснабжения) и допустимой длительности исследования на 3 основные и 10 вторичных групп.

Сложные задачи прижизненных наблюдений не могут быть полноценно решены при использовании одного препарата или даже одной из групп препаратов. Поэтому в ходе наших исследований разрабатывались и анализировались новые препараты из всех трех групп предложенной классификации. К первой группе относятся предложенные нами для экспериментальных исследований препараты нервной системы прозрачных интактных морских животных: ланцетника, моллюска (*Clione limacina*) и гребневика (*Bolinopsis*). Ко второй группе относятся препараты мочевого пузыря лягушки с сохраненным кровообращением (препарат Майорова) и ганглии ряда беспозвоночных, исследованные *in situ*. Наконец, к III-й группе относятся разработанные нами препараты одиночного вегетативного нейрона и аксо-соматического синапса, изолированные из блуждающего нерва лягушки, нейрон-отшельник соединительной ткани, изолированные миелиновые и безмиелиновые нервные волокна и нейроны с сохраненной системой дендритных ветвлений и анатомированными синапсами, а также препарат живых культивируемых нейронов, лишенных глии, разработанный М.А. Костенко (1973), и клетки нейробластомы С-1300, клон №18 А-1 (ff-40) М. Ниренберга. Основным объектом исследования служили автономные нейроны с сохраненными синапсами блуждающих нервов и симпатических стволов лягушки (571 препарат), а также нервные волокна (249 седалищных нерва лягушки).

Изолированные структуры, позволяющие получить максимальный контраст, использовались для анализа особенностей и механизмов реактивной подвижности каждого из отделов нейрона, а изучение целых нейронных систем и интактных животных позволило синтезировать полученные данные и сформулировать представление о реакции нейрона как единого целого.

Роль глии в реакциях определялась путем сравнения динамики естественных глио-нейронных комплексов с реакцией нервных структур, лишенных глии. Протеолитическое анатомирование синапсов на пре- и постсинаптический отделы позволило анализировать индивидуальную реакцию последних. Роль механизмов внутриклеточной осморегуляции в динамике структур изучалась в растворах со сниженной ионной силой, конформационные перестройки белков с увеличением степени их адгезии осуществлялись с помощью растворов мочевины и повышенной температуры, дезагрегирующее влияние исследовали с помощью типичного ренатуратора сахарозы. В качестве других факторов, нарушающих гомеостаз и провоцирующих неспецифическую реактивную подвижность компонентов нейрона использовались также, в зависимости от конкретных задач, повышенные во внешней среде концентрации KCl , электростимуляция, облучение видимым светом, длительное переживание, механическая травма, прижизненный краситель метиленовый синий и другие агенты.

Функциональная значимость перестроек оценивалась путем отведения электрической активности от препаратов, расположенных в специальной микрокамере, допускающей одновременное микроскопическое изучение и киносъемку нейрональных структур с помощью инвертированного микроскопа МБИ-13. Функциональное состояние перехватов Ранвье и изолированных тел нейронов определялось с помощью методики фиксации потенциала. Значение реактивной подвижности структур нейрона для их электрической активности оценивалось с использованием математической модели Ходжкина-Хаксли.

Локальные изменения концентрации белка при его агрегации и отмешивании воды определялись с помощью УФ-микроспектрофотометрии и интерферометрии (Jasin et al., 1980). Характер и степень ретракции концевых структур оценивались по изменению освещенности поля зрения и регистрировались посредством механофотоэлектрического преобразователя (Лабас, 1977).

Для одновременных микроскопических исследований применены все основные способы оптического контрастирования: фазовоконтрастная, аноптральная, интерференционная микроскопия, темнопольная ультрамикроскопия и методика Номарского. Все полученные данные сопоставлены с традиционными электронномикроскопическими и нейрогистологическими препаратами.

ДИНАМИКА И МЕХАНИЗМЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОЙ ' ПЕРЕСТРОЙКИ ТЕЛА НЕЙРОНА

Для исследований реактивной динамики структур нервной клетки наиболее удобным оказался препарат неизученного ранее внутриствольного автономного нейрона вагосимпатического ствола лягушки и его аксо-соматического синапса. Под электронным микроскопом его строение несколько напоминает ультраструктуру интрамуральных нейронов сердца и мочевого пузыря лягушки (Taxi, 1969; McMahan, Kuffler, 1971; Воробьев, 1975), однако у внутриствольных клеток есть особенности и варианты строения. Цитоплазма живого нейрона содержит значительное количество контрастного гранулярного материала, субклеточных структур и гомогенного вещества. Ядро неповрежденного нейрона едва заметно. Ядрышки видны всегда. Оптически весьма контрастная гранулярная масса цитоплазмы плотно и сравнительно равномерно заполняет видимые контуры клетки на всем протяжении, кроме области аксонного холмика, где заметна цитоплазматическая манжетка, образованная утолщением глиальной оболочки. Здесь же располагается преганглионарное волокно и перичеселлюлярный аппарат, которые удалось зарегистрировать документально с помощью дифференциального и цветного интерференционного контраста, а также аноптрального микроскопа без применения подкраски метиленовым синим. У живых нейронов наиболее переменными являются размеры глиальной манжетки в области аксонного холмика, конфигурация наружного контура нейрона, контрастность наружной границы ядра, оптическая плотность околядерной и околядрышковой зоны.

Реактивные морфологические перестройки наиболее часто выявляются в тех участках нейрона, где чаще возникают и бывают наиболее выраженными естественные колебания внутриклеточного гомеостаза, например, в области пограничной мембраны или глиальной манжетки, где сосредоточены синапсы. Структурная кинетика на живом нейроне обычно проявляется в тех местах, где на фиксированных препаратах отмечалась наибольшая вариабельность. Удастся показать, что варианты строения представляют собой зафиксированные различные стадии той или иной динамики структуры нейрона в покое.

Однако, специальное изучение процесса фиксации живых нейронов, проведенное с помощью цейтраферной микрокиносъемки и количественного машинного анализа, показывает, что на основании фиксированных препаратов нельзя с уверенностью судить о механизмах и направлении прижизненных перестроек. Так, в ряде случаев на месте набухших живых нейронов после фиксации можно обнаружить сморщенные клетки.

При длительном переживании нейрона, при его механической травме или нарушении гомеостаза среды удастся отметить неспецифическую реактивную перестройку тела клетки. Наибольшей подвижностью отличается область аксонного холмика (рис.1). Здесь наблюдается три одновременных явления: изменение крутизны аксонного холмика, увеличение степени агрегации филаментозно-тубулярного (ФТ) материала нейроплазмы, связанное с колебаниями диаметра аксона и реципрокное изменение объема окружающей глиальной манжетки. Причем, набухание глии всегда сопровождается истончением аксона и увеличением крутизны аксонного холмика. На противоположном (ядерном) полюсе нейрона, где отсутствует скопление глиальных отростков, в околосоматической нейроплазме появляются просветленные зоны. В этих, вначале едва заметных, зонах со временем становится заметным процесс агрегации контрастного гранулярного материала. Одна часть его ассоциируется с наружной мембраной, а другая медленно ретрагирует по направлению к центру клетки. При этом расширяющиеся

промежутки между агрегатами превращаются в просветленную зону гомогенной нейроплазмы (рис.1). Последняя, по-видимому, представляет собой жидкую фракцию нейроплазмы, так как в резко выраженных случаях здесь можно отметить броуновское движение одиночных контрастных частиц. Так как основную массу цитоплазмы составляет вода, а основная часть сухого остатка клетки приходится на белок, можно предположить, что отмеченные околосубмембранные агрегаты представляют собой ассоциированный с нейролеммой белок, а соседние неконтрастные участки с броуновской подвижностью частиц обводнены и, следовательно, имеют сниженную концентрацию белка.

Появление ассоциированного с мембраной субмембранного белкового слоя, порой достигающего значительных размеров отмечено неоднократно у многих клеток (Комиссарчик, 1975; Левин, 1976; Edelman, 1976; Nicholson, 1976; Поглазов, Левицкий, 1982; Evans, Skalak, 1982, и др.). В его состав входят актино- и миозиноподобные сократимые белки. Так как нативные белки способны удерживать значительное количество воды цитоплазмы (Jirgensons,

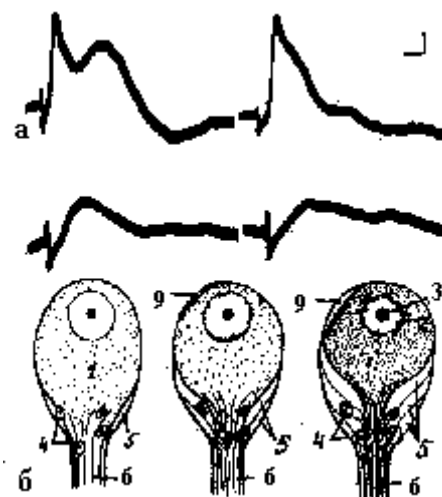


Рис.1. Изменение электрической активности (а) в вагосимпатическом стволе лягушки и неспецифическая динамика структуры (б) его внутриствольных нейронов при нарушении гомеостаза среды (схема).

1 – гранулярная сома; 2 – ядро нейрона; 3 – ядрышко; 4 – ядра глиоцитов; 5 – утолщение глиальной оболочки («манжетка»); 6 – аксон; 7 – синаптическая намотка; 8 – коллагеновые волокна; 9 – измененная нейроплазма.

Масштаб: по вертикали – 40 мкВ, по горизонтали – 5мс.

1956; Williams, Williams, 1976; Фролов, 1982, и др.), их конформационные изменения, проявляющиеся увеличением степени адгезии и агрегации, должны сопровождаться отмишиванием воды цитоплазмы (Brandts, 1973; Кушнер, 1977; Кяйвярайнен, 1980; Shulz, Schirmer, 1982, и др.). Этими процессами, по-видимому, можно объяснить наблюдаемое нами явление формирования оптически плотного, ассоциированного с мембраной слоя и граничащей с ним зоны, занятой обводненной фракцией нейроплазмы. Предположение об изменениях содержания общего белка или воды в периферических отделах измененных нейронов было проверено с помощью УФ-микроспектрофотометрии и интерференционной микроскопии. Микроспектральный анализ изолированных реактивно измененных нейронов на спектрофотометре MPS-50L (Шимадзу) при сканировании зондами с длиной волны 280 нм (максимум светопоглощения белка) и 520 нм (контроль) обнаружил резкое падение концентрации белка ("белковую яму") в периферической зоне гомогенной измененной нейроплазмы. В области мембраны и удаленных агрегатов цитоплазмы отмечено резкое уменьшение светопрозрачности, что соответствует росту концентрации белка по берегам обводненной гомогенной зоны.

Чтобы исключить эффект светорассеяния, зависящий от различия в коэффициентах преломления структуры, использована методика интерферометрии (Перавал-интерфако). Наименьшая концентрация сухого вещества нейроплазмы обнаружена в образовавшейся периферической зоне измененной цитоплазмы. Максимальное различие концентрации сухого вещества обводненных и концентрированных локусов может быть

десятикратным. В экспериментах с дегидрирующим воздействием 96% этанола с помощью цейтраферной микрокиносъемки показано, что в измененных зонах часть воды удерживается цитоплазмой слабее, чем в других неизмененных участках или клетках. Дегидратация и изменение объема нейрона начинается и протекает наиболее быстро именно в этих обводненных участках.

При электрофизиологических исследованиях нейроны с заметной в световом микроскопе периферической обводненной зоной обычно не генерировали ПД при внутриклеточной электростимуляции и имели низкое мембранное сопротивление порядка 100 кОм. ПП достигал 10 мВ. Тем не менее такие клетки в культуре ткани длительно жили, активно регенерировали отростки и устанавливали межнейронные контакты. Более того, первые признаки ундулирующей подвижности нейронов обнаруживались непосредственно в реактивно измененной зоне. Здесь же появлялся первый нервный отросток. Возможно, образование реактивной подвижной зоны является необходимой подготовительной стадией для проявления регенераторных потенциалов нейрона.

Присутствие в среде, окружающей нейрон, белков (альбумин) ингибировало появление периферических реактивных зон обводненной цитоплазмы и значительно удлиняло время, в течение которого нейроны способны генерировать ПД. Описанные реактивные изменения нейрона легко восстанавливаемы при наличии в изотонической среде сахарозы. При этом исчезновение или уменьшение реактивных зон сопровождается снижением степени светорассеяния нейроплазмы при ультрамикроскопии в темном поле. Это свидетельствует о дезагрегирующем влиянии сахарозы на нейроплазму. Так как белковые макромолекулы, а также сахароза, способны ренатурировать белки, уменьшая их адгезию (Yost, 1975; Пушкарь и др., 1978; Кяйрярйнен, 1980, и др.), можно считать, что эксперименты с альбумином и сахарозой подтверждают наши представления о механизме реактивной перестройки в околосмембранной зоне нейрона. Она состоит в конформационном изменении

белков, сопровождающемся увеличением степени их адгезии и агрегации, а также отменивании слабосвязанной воды нейроплазмы. Реактивная перестройка в области аксонного холмика нейрона свидетельствует о том, что слабосвязанная вода реактивно измененной нейроплазмы может частично переходить в цитоплазму окружающей глии (глиальную манжетку). При этом набухание манжетки сопровождается истончением аксона в этой зоне и увеличением крутизны его перехода в тело нейрона. Такая обязательная кооперативная и реципрокная реакция глии может быть обусловлена активной ролью глиоцита в организации перестройки нейрона.

Экспериментальная проверка этого положения проводилась на нейронах моллюска Большого прудовика, лишенных глии, и клетках нейробластомы С-1300. Показано, что изменение крутизны аксонного холмика и появление околосоматических зон измененной нейроплазмы развивается и в отсутствие глии. Участие глии в реакции нейроно-глиального комплекса, видимо, в значительной мере обусловлено перестройкой нейроплазмы.

РЕАКТИВНАЯ ДИНАМИКА СТРУКТУРЫ НЕРВНЫХ ОТРОСТКОВ

Реактивная перестройка миелиновых нервных волокон исследовалась неоднократно (Müller-Mohnssen, 1961; Lundborg, Branemark, 1968; Webster, Billings, 1972; Hall, 1980, и др.). Однако полученные данные не дают общего представления о комплексной реакции всех структур волокна как единого целого, нет гипотезы, объединяющей все перестройки единым механизмом. В диссертации проанализирована динамика всех основных структур миелинового волокна: миелиновых насечек Шмидта-Лантермана, перехватов Ранвье, перикариона шванновской клетки и осевого цилиндра.

Неспецифическая перестройка насечек состоит в их набухании, в усилении степени расслоения компактного миелина в этой зоне и сужении осевого цилиндра пропорциональном набуханию насечек. В области перехватов Ранвье такое же расслоение миелина сопровождается его внедрением в зону осевого цилиндра, который при этом оказывается суженным

до размеров миелинового конуса. Расслоившийся миелин теряет контрастность, происходит его "оптический лизис". Это приводит к кажущемуся расширению щели перехвата. Одновременно наблюдается набухание перикариона леммоцита за счет сужения осевого цилиндра. Локальные сужения осевого цилиндра в области насечек, перехватов и перикариона глиоцита вызывают варикозную деформацию осевого цилиндра. Все отмеченные перестройки мягкотного волокна имеют существенное значение для его биоэлектрической активности. Расслоение миелина представляет собой увеличение диаметра, а значит и падение сопротивления глиального цитоплазматического паранодального канала, связывающего напрямую аксолемму с внешней средой. Эта перестройка в области насечек и перехвата равносильна существенному падению сопротивления (шунтированию) миелиновой оболочки. В параллельных электрофизиологических (фиксация потенциала) и микроскопических исследованиях одних и тех же перехватов показано, что генерация ПД прекращается только тогда, когда расслоения миелина полностью захватывает конусы перехвата, и они претерпевают оптический лизис. Удастся показать, что увеличение K' -тока перехвата при его реактивной перестройке не связано с ретракцией миелина, как это представляется ряду авторов (Chiu, Ritchie, 1980), а, по-видимому, объясняется конформационной перестройкой канальных белков, как предполагает Э.М. Пеганов (1980).

Несмотря на высокую специфичность строения элементов мягкотного волокна в его реакции имеется много общего с перестройкой тела нейрона. Электронная микроскопия обнаруживает в области насечек и конусов перехвата агрегацию филаментозно-тубулярного белкового материала. В экспериментах с переживанием волокон в безводной среде (перфорированная жидкость или вазелиновое масло), когда исключено набухание насечек и перехватов за счет внешней воды, удастся показать, что они увеличиваются в объеме за счет слабосвязанной воды, отмешивающейся в осевом цилиндре в результате агрегации его белков.

Тот факт, что в основе этой сложной перестройки миелиновых волокон лежит конформационная перестройка белков аксоплазмы с увеличением степени их адгезии и агрегации, подтверждают опыты с воздействием типичного денатуратора 2М- и 4М-мочевины, вызывающей стереотипную реактивную перестройку волокна. Структура волокна спонтанно восстанавливается, если длительность действия мочевины не превышает 60 секунд. Типичный ренатуратор белков изотоническая сахароза легко восстанавливает весь сложный комплекс реактивной перестройки мякотного волокна. Это также подтверждает представление о том, что ведущим моментом в реакции служит конформационная перестройка белков нейрона.

Реакция безмиелиновых нервных волокон. Наиболее яркое проявление реактивной перестройки безмиелиновых и тонких миелиновых волокон - феномен варикозной деформации (бусинкоподобное, монилиформное состояние). Он был известен еще первым нейрогистологам (Golgi, 1874; Суханов, 1900; Cajal, 1928, и др.), однако прижизненная динамика, механизмы этого явления и его функциональная роль остаются малоизученными до настоящего времени. Более того, оказалось, что варикозности формируются неодновременно на разных волокнах, не на всех волокнах и не у всех животных. Для анализа этого явления нами были изучены реактивные перестройки безмиелиновых волокон ЦНС и ПНС у представителей 16 видов из 7 типов животных. Оказалось, что появление варикозностей не зависит от положения животного в филогенетическом ряду или топографических особенностей волокон, а непосредственно связано с его диаметром. На тонких волокнах варикозности развивались раньше и встречались чаще, а у гигантских и толстых аксонов деформация не развивалась вообще.

В диссоциированной культуре одиночных нейронов и на автономных клетках с синапсами удается показать, что этот эффект не зависит от удаленности отростка от содержащего ядро тела клетки (трофического центра), от того, относится ли отросток к системе пре- или постганглионарных волокон,

но пропорционален отношению поверхности отростка к его объему (S/V), которое, как известно, является термодинамическим показателем системы.

На целом нейроне, выращенном в диссоциированной культуре и позволяющем наблюдать, как тело, так и все его отростки, обнаруживается своеобразный целлюлофугальный градиент структурной реакции. Варикозности полностью отсутствуют на толстых отростках. На более тонких отростках имеются начальные формы (штриховидные варикозности). На еще более тонких встречаются веретенообразные вздутия, а каплевидные варикозности хорошо выражены и часто встречаются только на самых тонких и терминальных разветвлениях. С помощью цейтраферной микрокиносъемки нейробластомы показано, что варикозности, отсутствующие на толстых отростках закономерно формируются при истончении последних.

Вопреки сложившемуся в неврологии мнению, при фазовоконтрастной микроскопии нами обнаружено, что варикозности формируются не путем локального набухания волокна, а путем перераспределения жидкой фракции нейроплазмы из одних участков, где происходит сужение отростка в смежные участки, где диаметр волокна увеличивается. Варикозности, постепенно округляясь, превращаются из штриховидных в веретенообразные, а затем в каплевидные. Они расположены на плотном филаментозно-тубулярном тяже (ФТ-агрегате), который обеспечивает механическую опору волокна и равен по диаметру его суженной части. Помимо механической прочности ФТ-тяж обладает сродством к прижизненным красителям, а на фиксированных препаратах обнаруживает свойство металлофилии. Интерферометрия суженных и расширенных участков вдоль варикозно деформированного волокна позволяет заключить, что количество сухого остатка (в основном, белка) в разных его частях приблизительно равно, а концентрация белка в варикозностях в 5-8 раз меньше чем в истонченных зонах. Киноисследования реактивной динамики структуры безмиелиновых отростков позволяют заключить, что в основе механизма варикозной деформации лежит процесс

увеличения адгезии и агрегации ФТ-белков нейроплазмы, сопровождающийся отмешиванием ее обводненной жидкой фракции. Последняя стремится сформировать каплевидные структуры, расположенные на ФТ-тяже.

При развитии блока проведения в среде со сниженной ионной силой и при длительном переживании в блуждающем нерве или брюшной цепочке пиявки всегда имеет место массовая варикозная деформация безмиелиновых волокон. Это свидетельствует о возможном значении этих геометрических деформаций для электрической активности проводника.

Для проверки гипотезы о возможном формировании варикозностей путем спазматического перешнуровывания волокон в процессе сократительной активности окружающей глии нами проведены опыты по культивированию нейронов, лишенных глии, и анализу возможности образования на них варикозностей. Показано, что варикозная деформация развивается и в отсутствие глии. То есть, несмотря на участие в реакции нервных отростков, нейроглия не является первичным организующим началом этой перестройки. В лишенных глии нейритах отмечается агрегация белкового филаментозно-тубулярного материала нейроплазмы, который в виде тяжа располагается внутри варикозностей, заполненных гомогенной жидкой нейроплазмой. Появление варикозностей на отростках таких изолированных от глии нейронов нередко сочетается с ретракцией самих отростков. Это приводит к перемещению варикозностей по длине отростка. Нами впервые показана динамика слияния варикозностей живых волокон в единую каплевидную структуру. Сокращение отростков может завершаться их полным впячиванием в тело клетки. В этом случае процесс ретракции отростков непосредственно переходит в центробежную ретракцию агрегирующей цитоплазмы тела нейрона, сопровождающуюся отмешиванием периферической обводненной фракции, описанной выше. Последнее обстоятельство позволяет рассматривать изменения в отростках и соме как непрерывный процесс реактивной перестройки нейрона.

Таким образом, проведенные исследования показали, что ведущими механизмами реактивной динамики структур живых безмиелиновых и миелиновых волокон является увеличение степени агрегации ФТ-белков, отмешивание обводненной фракции нейроплазмы, которая формирует варикозности, и ретракция измененных отростков.

ДИНАМИКА И МЕХАНИЗМЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОЙ ПЕРЕСТРОЙКИ НЕРВНЫХ ОКОНЧАНИЙ

Изменения синапсов, важнейших для функции нервной системы структур, исследовались неоднократно (Gray, 1975; Косицын, 1976; Sandri et al., 1977; Heuser, Reese, 1979; Боголепов, 1979; Lynch, 1980; Uchisono, 1980; Fujimoto et al., 1980; Бабминдра, Брагина, 1982; Меркулова, Даринский, 1982, и др.), однако прижизненная подвижность этих нервных окончаний исследована слабо.

Из функционально значимых реактивных изменений синаптического аппарата вначале нами было исследовано закономерное явление одновременного (дифференциального) окрашивания концевых нервных приборов и тела нейронов (Ehrlich, 1886; Лаврентьев, 1946; Майоров, 1969; Kuffler, Nicholls, 1979, и др.). В прижизненных экспериментах на аксо-соматических синапсах внутри блуждающего нерва было показано, что первой окрашивается пресинаптическая терминаль. После стадии гранулярного отмешивания красителя в пресинаптическом аксоне наступает диффузное прокрашивание перичеселлюляра. В период обесцвечивания перичеселлюляра резко набухают его бутоны, появляются признаки окраски парасинаптических глиальных клеток. Затем наступает прокрашивание ядра нейрона и, наконец, диффузно синее цитоплазма. Фазы образуют непрерывный процесс реактивной перестройки. Этот процесс имеет критические в функциональном отношении этапы. Так, первые электрофизиологические изменения отмечаются еще в фазе диффузно окрашенного перичеселлюлярного аппарата. Блокада синаптического проведения всего ганглия совпадает с промежуточной фазой,

когда синаптические бутоны начинают обесцвечиваться. Полный блок электрической активности в вагосимпатическом стволе, включая проведение по волокнам, наступает на стадии окрашенного нейрона. По-видимому, причиной феномена дифференциального окрашивания могут служить не только химические особенности, отличающие претерминальные волокна и тело нейрона (фибриллярные белки, преобладающие в претерминалях, характеризуются большей способностью к сорбции красителя), но и очень высокое отношение S/V у тонких волокон по сравнению с телами нейронов. В связи с тем, что физиологические и структурно-тинкториальные изменения развиваются в первую очередь в области синаптического аппарата и совпадают во времени, можно думать, что в их основе лежит один и тот же (термодинамический) фактор – высокая удельная поверхность тонких

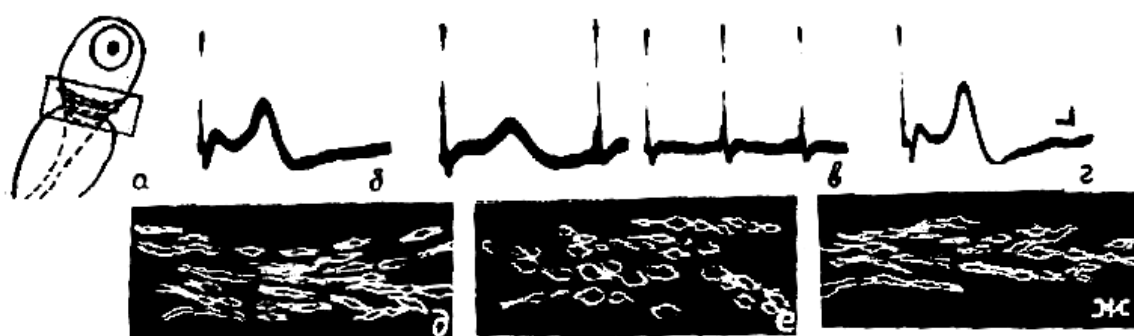


Рис.2. Одновременные морфологические и физиологические изменения синапсов при высокочастотной электростимуляции.

а – схема расположения синапса на данном препарате; б – суммарный трехкомпонентный ПД вагосимпатического ствола лягушки при стимуляции 1 имп/с; в – исчезновение поздних компонентов Пд при 20 и 40 имп/с; г – восстановление ПД при частоте активации 1 имп/с; д – продолговатые профили синаптических бутонов перичеселлюлярного аппарата в исходном состоянии (вставка-схема расположения синапсов на данном препарате); е – округление синаптических бутонов того же препарата во время активации 40 имп/с; ж – восстановление формы бутонов после прекращения высокочастотной стимуляции.

Масштаб: по вертикали – 60 мкВ, по горизонтали – 10 мс.

претерминалей, а также увеличение степени их геометрической неоднородности.

Роль степени геометрических неоднородностей синаптического аппарата *en passant* исследовалась в одновременных морфо-физиологических экспериментах на одном и том же препарате одиночного нейрона-отшельника соединительной ткани (рис.2, высокочастотная ортодромная синаптическая активация препарата, частота электростимуляции была 20 и 40 имп/с, длительность 5-15 мин).

В первые 1-3 минуты стимуляции отмечалось увеличение размеров и округление синаптических вздутий (рис.2). Иногда удавалось отметить некоторое округление и тела нейрона (постсинапса). Округление (стремление к форме капли) живых объектов служило признаком появления жидкой фракции цитоплазмы, обогащенной слабосвязанной водой, как это было отмечено на примере претерминальных нервных волокон. На фиксированных препаратах, окрашенных метиленовым синим, обнаружено резкое вздутие и обесцвечивание части синаптических бутонов. Под электронным микроскопом, наряду с появлением просветленных округлых профилей, возникает значительное количество "темных профилей", отличающихся снижением степени округлости, что напоминает начальные признаки фиксационного сморщивания структур. У светлых профилей в зоне просветленного матрикса закономерно выявляются либо глыбчато-хлопьевидные конденсаты слабо контрастного вещества, либо агрегаты филаментозно-тубулярного материала. Слабоконтрастные везикулы имеют тенденцию к аглютинации. По их окружности нередко налипает хлопьевидный материал. Появляется значительное число пузырьков с плотной сердцевиной и мелких осмиофильных, миелиноподобных и лизосомо-подобных телец.

Реактивная перестройка наружных клеточных мембран при синаптической активации состояла в появлении картин штриховидных

мембран, отражающих явления латеральной диффузии и агрегации мембранных белков, в образовании субмембранных агрегатов и вызванных ими признаков эндоцитоза. Наиболее ярким проявлением реактивной динамики структуры мембраны было образование значительного числа нейроно-глиальных межклеточных мембранных контактов всех видов. На основании анализа полученного материала высказано представление о том, что разные виды контактов представляют собой стадии одного процесса реактивной перестройки мембран. Повышение степени адгезии материала межклеточной щели, его скопление, образование отдельных агрегатов и их ретракция соответствует чередованию стадий: непрерывного, септированного, щелевого и плотного контактов. На электроннофотограммах обнаружены переходные формы. Скорее всего, все эти перестройки связаны с изменением адгезии мембранных и околосмембранных белковых макромолекул. Об изменении гидрофобных взаимодействий липидов при реактивной перестройке мембран свидетельствует появление со временем на месте межклеточных нейроно-глиальных контактов многослойных миелиноподобных контактных телец.

Образование нейроно-глиальных щелевых контактов («электрических синапсов») равносильно падению омического сопротивления нейролеммы, а, возможно, и значительному увеличению ее емкости. Наряду с другими отмеченными перестройками мембран, явление образования высокопроницаемых нейроно-глиальных контактов, по нашему мнению, может играть определенную роль в механизме пессимального синоптического торможения. Важно подчеркнуть, что нейроно-глиальные контакты формируются и у миелиновых нервных волокон (в зоне насечек) хотя частота активации в 60 и 100 имп/сек еще не является для них пессимальной. В диссертации сделана попытка объяснить различные виды наблюдаемых деформаций нейролеммы взаимодействием явлений адгезии и ретракции околосмембранных белковых макромолекул.

Ретрактильная активность белков концевых структур зрелых дендритов, сформированных не в условиях культуры ткани, а в естественных условиях мозга животного, оставалась неизученной. Это было связано в основном с отсутствием соответствующих препаратов живых терминальных структур и дендритов, изолированных вместе с телом нейрона. Разработанная нами методика протеолитической препаровки позволила получить такие препараты пре- и постсинаптических отделов на сохраненных аксоне и дендритах целостного нейрона. Помимо ундулирующей подвижности и округления концевых структур здесь нами обнаружена выраженная ретрактильная активность, которая завершалась втягиванием концевых бутонов, шипиковидных цитоплазматических выступов, мелких веточек и соответствующим уменьшением степени ветвления отростков. Было показано, что сократительная реакция дендритов является компенсаторной, так как приводит к уменьшению поверхности, на которую действуют неблагоприятные внешние факторы. Уменьшение S/V делает систему более стабильной. Следует, однако, иметь в виду, что такой же ретрактильный процесс в ране мозга должен вызывать и уменьшение количества информации, приходящей к нейрону, в основном, через поверхность многочисленных разветвленных дендритов. Это осложняющее обстоятельство ранее не учитывалось. Обнаружение ретрактильной активности пре- и постсинаптических отделов после протеолиза синапсов позволило нам высказать предположение о возможности механического напряжения в нерасщепленном синапсе. Это представление давало возможность понять механизм формирования совершенно прямолинейных трактов после установления связей между эксплантатами мозга в наших экспериментах с органотипическими культурами. В культуре клеток нейробластомы механическое напряжение в области межклеточных контактов аксональных отростков было продемонстрировано в прямых опытах с цейтраферной микрокиносъемкой. Значительное механическое натяжение заканчивалось разрывом одного из отростков, но

межклеточный контакт при этом оставался нерасщепленным. Отрывы (аутономия) целых дендритных систем - нередкое явление при ретракции в культурах диссоциированных нейронов. У реактивно измененных дендритов ампутированными могут оказаться значительные участки системы дендритных ветвлений. Этим также достигается уменьшение S/V нейрона.

Цейтраферная микрокиносъемка позволяет, наряду с высокой прочностью нейрональных контактов, зарегистрировать в них постоянную плоскостную подвижность. Адгезия и подвижность, видимо, являются двумя неотъемлемыми свойствами межклеточных контактов. Движение в контакте осуществляется по "принципу сороконожки".

Адгезия и ретракция оказались важнейшими факторами в реактивной подвижности нейрона. Соотношение их интенсивности лежит в основе многих механизмов, зарегистрированных нами в культуре диссоциированных нейронов и нейробластомы. Преобладание силы адгезии в области тела клетки или в зоне нервного окончания определяло локализацию *punctum fixum*, а следовательно, и направление ретракции нейроплазмы. Если адгезия окончания отростка к субстрату была относительно слабой и сила ретракции преобладала, то наблюдалось укорочение отростка по направлению к телу нейрона. Если преобладала адгезия контактов в зоне окончаний, то направление ретракции изменялось, и ядро нейрона вместе с околядерной цитоплазмой перемещалось в сторону окончаний. При слабой адгезии и в области тела, и на конце отростка оба полюса смещались навстречу друг другу. В том случае, когда в сложившейся системе межклеточные контакты и тело клетки, обладая высокой адгезией, оказывались внешне относительно малоподвижными, наблюдалась ретрактивная подвижность нейроплазмы внутри отростков без резких смещений их контуров. Такие перемещения при просмотрах киноматериалов представляют собой токи нейроплазмы самых разных направлений, включая и одновременные противоположные (ретроградный и антероградный) токи. Помимо экструзионных и других явлений, связанных с ростом культуры

нейронов нами продемонстрирован ряд механизмов морфогенеза, связанных с реактивной ретрактильной подвижностью нейроплазмы: ретрактивный механизм образования отростков, перемещение тела клетки из эксплантата, ложная ретрактильная рамификация отростков, рамификация путем расщепления ламеллоподий, ретрактильная мультиполяризация малоотростчатого нейрона и, наоборот, превращение биполяра в одноотростчатую клетку, выпрямление нервных отростков и образование нервных пучков (трактов), а также феномен редукции сплетений и агрегации нейронов с образованием ганглиев. Так как образование нервных стволов, редукция сплетений и централизация нервной системы с образованием ганглиев имеют место в процессе нормального онтогенеза и филогенеза, высказано предположение о роли эффектов реактивной подвижности в процессах эволюционного и онтогенетического развития. Необходимо подчеркнуть, что последние процессы протекают с уменьшением S/V системы, то есть являются термодинамически выгодными.

Одновременно с реактивной перестройкой нервных элементов в культуре ткани выявляется и реакция глии. При редукции нервных сетевидных связей между эксплантатами органотипических культур обнаруживалась редукция глиальных сетевидных мостиков. При этом отростки части глиоцитов, оставшихся вне контактов с нервными структурами, ретрагировали, а тела клеток округлялись.

Функционально значимая подвижность отростков глиоцитов существует, очевидно, и в области синапсов. С помощью электронной микроскопии в нормально функционирующих автономных ганглиях выделено 3 типа нейроно-глиальных взаимодействий в зоне синапса. Так как глиальная оболочка выполняет электроизолирующую функцию, отмеченное нами полное отсутствие глиального покрытия синапса (тип слабой изоляции) должно уменьшать надежность синаптического проведения и способствовать диффузии медиатора из синаптической щели в межклеточное пространство. При

чрезмерной изоляции синапса парасинаптической глией ламеллоподии последней, проникая в межклеточную щель между аксоном и дендритом, могут диафрагмировать площадь аксо-дендритного контакта. Поэтому наиболее оптимальной следует признать талую форму нейроно-глиальных взаимоотношений, когда парасинаптическая глия обеспечивает среднюю степень изоляции синапсов (равновесное состояние между экструзией и ретракцией парасинаптических глиальных отростков).

Таким образом, проведенные исследования показывают, что в области нервных окончаний существует такая же значительная структурная динамика, как и в области тела нейрона, его миеллиновых и безмиелиновых отростков. Основные механизмы реакции этих структур сходны. В их основе лежит увеличение адгезии, агрегация и ретракция конформационно измененных белков клеточной мембраны, межклеточной щели и нейроплазмы, сопровождающееся отмешиванием обводненной фракции последней.

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ЖИВОГО НЕЙРОНА

Обобщая экспериментальные данные, следует отметить, что все описанные в диссертации реактивные перестройки структур нейрона протекали с уменьшением S/V , что свидетельствует о переходе системы на более устойчивый термодинамический уровень. Сюда относятся эффекты округления, явления агрегации на уровне макромолекул, органелл и нервных клеток, ретракция отростков, их аутономия и др. Следовательно, реактивные перестройки могут быть отнесены в разряд компенсаторных. Такая модуляция термодинамической устойчивости системы должна рассматриваться как единый структурно-физиологический процесс. Математический анализ показал, что скорость насыщения геометрических тел, моделирующих сомату, толстые и тонкие нервные отростки, альтерирующим химическим агентом, свободно диффундирующим в среде, непосредственно зависит от S/V . В то время как концентрация альтерирующего агента в терминальном волоконец близка к

насыщению (100%), в толстом волокне она достигает 18%, а в теле нервных клеток с диаметром 20 и 40 мкм она равна лишь 13 и 11% соответственно.

Более отчетливо структурно-электрофизиологическое единство во время реактивной динамики прослеживается при использовании математической модели Ходжкина-Хаксли. Хотя принципиальное значение для электрических процессов некоторых геометрических неоднородностей упрощенной формы уже анализировалось (Hodgkin, Huxley, 1952; Cooley, Dodge, 1966; Ходоров, 1975; Тимин, 1979; Соколов, Шмелев, 1983, и др.), динамика структур живого нейрона в этом плане не может считаться достаточно исследованной. Вместо упрощенного уравнения для ровного аксона нами использовано уравнение распространения ПД, в котором радиус аксона есть функция его длины. Для увеличения точности решения шаг интегрирования по времени был уменьшен в 2 раза. В отличие от предыдущих исследований, нами анализировалось не условное внезапное (скачком) вздутие, а постепенное варикозное утолщение, которое сформировалось не путем локального набухания отростка, а при перераспределении нейроплазмы с истончением смежных его участков (рис.3). При добавлении сужений разной интенсивности к варикозности амплитуда ОД претерпевала более сложные изменения, чем это имело место при простом вздутии или сужении нейрита. В области истинной варикозности происходит не последовательное воспроизведение эффектов вздутия и сужения, расположенных одно за другим вдоль нейрита, а интеграция их эффектов. Существенно ниже падает амплитуда импульса в зоне вздутия и значительно увеличивается его длительность, что свидетельствует о более быстром падении лабильности проводника в этом участке. Оказалось, что порог возбуждения нервного отростка в области сужений на порядок ниже, а в области расширения в 50 раз выше, чем у контрольного однородного волокна. Эти результаты показывают, что феномен варикозной деформации может объяснить нарушение проводимости, повышенную чувствительность и "спонтанную" импульсацию в нервах при синдроме *anaesthesia dolorosa*, который нередко развивается при

ишемических невритах в нервах с резко выраженной варикозной деформацией аксонов. Как выяснилось, увеличение числа вздутий вдоль аксона (модель транзиторных синапсов) не сопровождается суммацией их влияния на амплитуду ПД, который неизменно восстанавливается, если ПД, удается преодолеть первую варикозность. В то же время задержка импульса на каждой варикозности суммируется. Полученные данные использованы и для оценки физиологического значения реактивной перестройки крутизны аксонного холмика нейрона.

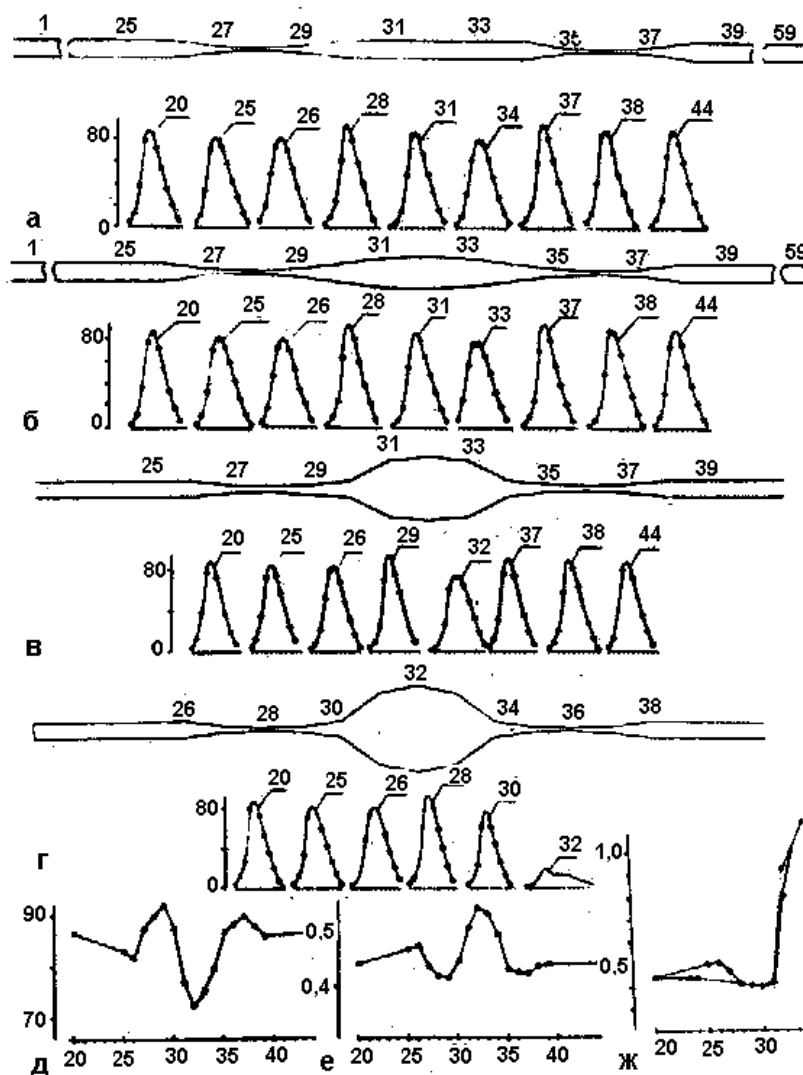


Рис.3. Графическое изображение результатов математического моделирования соотношений структурной динамики и электрофизиологических свойств нейрита.

а – два сужения нейрита (контроль) и ПД, соответствующие равноудаленным точкам (1-59) на нейрите; б,в – увеличение вздутия и сужений нейрита (под каждой

варикозностью – изменяющиеся ПД); г – критическая величина (и форма) варикозности (под ней – падение ПД и развитие блока проведения); д,е – изменения амплитуды ПД (д) и ширины импульса (е) в разных точках реактивно измененного нейрита; ж – сопоставление длительности импульса в области истинной варикозности (г) и простого вздутия на нейрите.

По оси абсцисс: д-ж – равноудаленные точки волокна; по оси ординат: а-д – величина амплитуды импульса (мВ); е,ж – длительность импульса (мс).

Проведенный анализ с помощью модели Ходжкина-Хаксли показал, что все проявления отмеченной нами динамики структур живого нейрона одновременно представляют собой физиологические процессы модуляции его пассивных электрических свойств.

ОБСУЖДЕНИЕ РОЛИ МЕХАНИЗМОВ ОСМОРЕГУЛЯЦИИ В РЕАКТИВНОЙ ПЕРЕСТРОЙКЕ НЕЙРОНОВ

Для того, чтобы выяснить, с помощью какого механизма осуществляется перераспределение обводненной фракции цитоплазмы нейрона в глию, была проанализирована литература о многочисленных механизмах внутриклеточной осморегуляции (Kleinzeller, 1972; Gerard, 1975; Сорокина, 1978; Dick, 1979; Gillas, 1979; Rorive, Gilles, 1979; Наточин, 1983, и др.) и проведены собственные дополнительные эксперименты с воздействием гипоосмотического раствора Рингера на автономные нейроны лягушки. Выявлено, что многие процессы неспецифической реактивной перестройки нейронов являются одновременно конденсаторными процессами осморегуляции, ведущими к снижению внутриклеточного осмотического давления. Все они связаны с изменением агрегатного состояния химических компонентов нейрона. Главным среди них является процесс агрегации белков нейроплазмы, составляющих, как известно, основную массу сухого вещества клетки и обладающих высоким сродством к воде. Повышение адгезии и агрегации белков сопровождается снижением специфического давления

макромолекул, отмешиванием обводненной фракции нейроплазмы и падением внутриклеточного осмотического давления.

Адгезия с наружной клеточной мембраной субмембранных агрегатов белка неминуемо должна сопровождаться увеличением механической жесткости нейролеммы и ростом гидростатического давления внутри нейрона, что препятствует его набуханию.

Отмеченная нами с помощью электронного микроскопа множественная реактивная самосборка ламеллярных миелиноподобных липидных структур свидетельствует о массовом процессе агрегации липидов, а следовательно, уменьшении их молярной концентрации и осмотического давления нейроплазмы. В нейрональных профилях было отмечено также резко выраженное образование гранул частичкового гликогена, что равносильно агрегации сахаров с образованием осмотически неактивных полимеров и соответствующему падению осмотического давления.

Так как все отмеченные нами выше неспецифические реактивные перестройки нейрона сопровождались снижением осмотического давления, можно было думать, что основным механизмом перемещения воды из обводненной фракции нейроплазмы в глиоплазму, является осмотический механизм. Это перераспределение воды по осмотическому градиенту, видимо, в ряде случаев может облегчаться прямыми водными трансмембранными каналами нейроно-глиальных щелевых и других межклеточных контактов, которые склонны формироваться, как уже отмечалось, при реактивной перестройке мембран. Появляющаяся возможность усреднения осмотического давления в нейроно-глиальном ассоциате компенсирует неблагоприятный эффект внешнего воздействия.

Полученные данные объясняют механизм кооперативной реципрокной реакции глии, имеющей важное значение при реактивной динамике структур живого нейрона.

ВЫВОДЫ

1. Проведенные исследования показали, что представления о динамике структур живого нейрона как единого целого могут быть получены только после разработки новых методик, позволяющих, во-первых, полностью изолировать друг от друга и от окружающей глии, тела, аксоны, дендриты, пре- и постсинапсы для их анализа, а во-вторых, допускающих синтез и проверку полученных данных на целостных системах нейронов в культуре ткани или у невскрытых прозрачных животных. Такой комплекс новых методик был разработан.

2. Морфо-физиологические эксперименты обнаружили, что при нарушении гомеостаза внешней среды основными неспецифическими перестройками живого нейрона, влияющими на его биоэлектрическую активность, являются: образование субмембранных агрегатов и околомембранной обводненной фракции нейроплазмы в теле клетки, его округление и изменение геометрии аксонного холмика, увеличение степени расслоения миелина в области перехватов и насечек с одновременными локальными истончениями здесь осевого цилиндра, варикозная деформация безмиелиновых волокон и синапсов *en passant*, ретракция нервных отростков и соответствующее повышение механического напряжения в синапсе. Все перечисленные перестройки обратимы.

3. С помощью математической модели Ходжкина-Хаксли показано, что все прижизненные проявления подвижности структур нейрона, меняя его геометрию, приводят к локальным перестройкам пассивных электрических свойств проводника и тем самым изменяют его возбудимость, амплитуду и длительность ПД, время и надежность проведения, то есть являются одновременно физиологическими процессами.

4. В основе динамики структур живого нейрона лежат три основных функциональных механизма.

Первый механизм – обратимые конформационные перестройки мембранных и околомембранных белков, которые проявляются в увеличении степени их адгезивности, частичной агрегации и ретракции, а также в отмишивании слабо связанной с ними воды. Появление обводненной жидкой фракции нейроплазмы вызывает ее перераспределение с округлением тела нейрона, синаптических бутонов и формирование каплевидных варикозных деформаций отростков. Агрегация и ретракция измененных белков приводит к образованию субмембранных ассоциатов и адгезивных нейроно-глиальных межклеточных контактов, обладающих низким электрическим сопротивлением и высокой проницаемостью.

Второй механизм состоял в трансмембранном перераспределении массы воды между нейроном и глией через высокопроницаемые нейроно-глиальные контакты. Кооперативная и реципрокная реакция глиии развивалась в результате падения осмотического давления нейроплазмы, связанного с агрегацией ее белков.

Третьим механизмом динамики структур живого нейрона являлась ретрактивная активность нервных отростков, которая приводила к минимизации поверхности клетки, механическому напряжению в синапсах, уменьшению информативной площади дендритов и активации ретроградного тока нейроплазмы.

5. Функционально-морфологическое изучение миелиновых нервных волокон позволило выделить новое неизученное ранее явление срочной функциональной демиелинизации, ремиелинизации и гипермиелинизации. Набухание глиии в зоне насечек и перехватов равносильно появлению в миелиновой оболочке низкоомных шунтирующих связей, нарушающих ее изолирующие свойства. Показано, что этот процесс, коррелирующий обычно с ростом K^+ -тока аксолеммы перехвата, не сопровождается ретракцией миелина. Генерация ПД прекращается только при полном расслоении миелина конусов перехвата.

6. Морфо-физиологические эксперименты показали, что появление субмембранных агрегатов и обводненного периферического слоя в теле нейрона приводит к падению сопротивления нейролеммы и прекращению генерации ПД. Такие нейроны, однако, сохраняют способность жить, регенерировать отростки и синапсы в культуре ткани. Развитие блокады синаптического проведения совпадает с округлением синаптических бутонов и завершением фазы их диффузного окрашивания метиленовым синим. Развитие пессимального синаптического торможения сопровождается появлением конформационной перестройки мембранных белков и образованием электрически проницаемых нейроно-глиальных контактов.

7. Максимальная ранимость одновременно морфологических и физиологических свойств тонких терминальных отростков по сравнению с толстыми волокнами или телами нервных клеток не зависит от того, к какому (пре- или постсинаптическому) отделу относится нервный отросток, не связана с его удаленностью от ядросодержащего участка, а, видимо, обусловлена резко увеличенной удельной поверхностью (S/V), отражающей термодинамические свойства системы.

8. Обнаружено, что все реактивные перестройки протекают с уменьшением удельной поверхности, т.е. переводят живую систему в термодинамически более устойчивое состояние. В этом проявляется компенсаторное значение реактивной подвижности структур живого нейрона.

СПИСОК ОСНОВНЫХ ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ДИССЕРТАЦИИ

1. Сотников О.С., Шавлаев З.Ф. Прижизненные изменения мякотных нервных волокон при действии новокаина. Экспер. хир., 1969, в.2, с. 66-70.

2. Сотников О. С. Функционально-морфологические исследования реактивных изменений периферических мякотных нервных волокон при внешнем раздражении. Тр.7-го Всесоюзн. съезда анат., гист. и эмбр. Тбилиси, 1965, с. 395-396.

3. Сотников О.С. Прижизненные исследования статики и динамики структуры перехватов Ранвье. Арх. анат. 1971, т.60, вып.1, с.52-62.

4. Майоров В.Н., Сотников О.С. Прижизненный морфологический анализ обратимой реакции аксона. Тез. докл. на 2-м симпозиуме "Местное и распространяющееся возбуждение". Л., 1972, с.80.

5. Сотников О.С. Дискуссионные вопросы об особых свойствах аксона на концах миелиновых сегментов. Арх. анат. 1973, т. 64, вып.3, с. 95-101.

6. Левкович С.И., Лозовский В.Б., Майоров В.Н., Сотников О.С. Анализ условий, необходимых для исследования одиночного нейрона с помощью цейтраферной микрокиносъемки. Арх. анат., 1974, т.66, вып.5, с. 59-65.

7. Сотников О.С. Прижизненные морфологические исследования механизмов взаимодействия аксона и шванновской клетки при реактивной перестройке нервного волокна. 8-й Всесоюзный съезд анатомов, гистологов и эмбриологов. Ташкент, Медицина, 1974, с. 350.

8. Майоров В.Н., Сотников О.С., Левкович Ю.И., Лозовский В.Б. Морфологическая перестройка вегетативного нейрона во время фиксации (прижизненное киноисследование). В кн.: "Внутриузловые межнейрональные связи и нейротканевые взаимоотношения". Л., Наука, 1975, с. 67-73.

9. Левкович Ю.И., Стрельникова Л.А., Майоров В.Н., Сотников О.С. Методика цейтраферной микрокиносъемки для количественного анализа морфологических изменений нейрона в эксперименте. Физиол. журн. СССР, т.61, №1, с.165-168.

10. Пушкарев С.П., Сотников О.С. Пространственные нейроно-глиальные взаимоотношения при электростимуляции и изменении свойств окружающей среды. 12-й Съезд Всесоюзного физиологического общества им. И.П.Павлова. Т.2, Л., Наука, 1975, с.12.

11. Сотников О.С. Функционально-морфологический анализ реактивных изменений нервных волокон при развитии коллатерального кровообращения в нервах. Арх. анат., 1976, т.70, вып.4, с.31-38.

12. Сотников О.С., Майоров В.Н., Левкович Е.И., Стрельникова Л.А. Киноисследование временных и геометрических параметров фиксации этанолом изолированного нейрона. *Арх. анат.*, 1976, т.71, вып.9, с.5-11.

13. Сотников О.С. Функциональная морфология живого мягкотного нервного волокна. Л., Наука, 1976, 99 с.

14. Сотников О.С. Реактивная динамика нейроглии и надежность синаптического проведения. Симпозиум "Функции нейроглии". Тбилиси, Мецниереба, 1976, с.8.

15. Исраилов Б.И., Сотников О.С. К анализу разнотипных реактивных изменений нервных волокон. *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, 1977, Т.83, вып.2, с. 241-243.

16. Сотников О.С. Морфологические изменения синапса при блоке проведения в среде со сниженной ионной силой. *Арх. анат.*, 1977, т.72, вып.2, с. 46-49.

17. Сотников О.С. Способ получения препарата нейрона позвоночного (Авт. свидетельство № 584324) *Бюл. изобр.*, 1977, №46 с.17.

18. Сотников О.С., Лагутенко Ю.П. Морфологические изменения аксодендритных синапсов пиявки при блокировании проведения возбуждения в среде со сниженной ионной концентрацией. *Нейрофизиология*, 1977, т.9, вып.6, с. 613-618.

19. Сотников О.С. К разработке методики одновременного морфологического и физиологического исследования изолированного вегетативного нейрона и его межнейронного синапса. *Арх. анат.*, 1977, т.73, вып.8, с. 105-111.

20. Сотников О.С., Шадрин Н.С., Люлько О.М., Педь В.И. Морфология переживающих и импрегнированных солями металлов нервных волокон. *Арх. анат.*, 1978, т.74, вып.5, с. 57-62.

21. Ревенко С.В., Сотников О.С., Ходоров Б.И. Сравнительный анализ морфологических и физиологических характеристик перехватов Ранвье. *Нейрофизиология*, 1978, т.10, № 4, с.400-405.

22. Сотников О.С. Методики для прижизненного микроскопического исследования одиночного нервного волокна. В кн.: *Прижизненная микроскопия нейрона*. Л., Наука, 1978, с. 37-44.

23. Сотников О.С. Методики для прижизненного микроскопического изучения периферического нейрона и межнейронного синапса. В кн.: *Прижизненная микроскопия нейрона*. Л., Наука, 1978, с.45-57.

24. Сотников О.С. Пространственные нейроно-глиальные отношения и реактивная перестройка живого нейрона. 13-й Съезд Всесоюзного физиологического общества им. И.П.Павлова (Алма-Ата, 1979). Т.1, Л., Наука, 1979, с. 30-31.

25. Сотников О.С. Реактивная динамика нейроглии и надежность синаптического проведения. В кн.: *Функции нейроглии*. Тбилиси, Мецниереба, 1979, с. 35-41.

26. Сотников О.С., Курчиков А.Л., Казаченко В.Н., Бочарова Л.С. Сравнительный анализ морфологических и физиологических характеристик живого изолированного нейрона. *Физиол. журн. СССР*, 1980. т. 64, № 4, с. 497-504.

27. Сотников О.С., Ройтбак А.И. Стимулированная ионами калия быстрая функциональная миелинизация. *Докл. АН СССР*, 1980, т.255, № 4, с. 986-968.

28. Сотников О.С. Камера для одновременных микроскопических и электрофизиологических исследований препаратов живых тканей и клеток. (Авт. свид. № 819169). *Бюлл. изобр.*, 1981, № 13, с.106.

29. Ревенко С.В., Сотников О.С., Ходоров Б.И. Способ витальной микроскопии нервного волокна. (Авт. свид. № 810222). *Билл. изобр.*, 1981, № 9, с. 180.

30. Сотников О.С., Костенко М.А. Реактивные изменения живых нервных окончаний в культуре нейронов, лишенных глин. *Арх. анат.*, 1981, т.80, вып.6, с. 17-26.

31. Сотников О.С., Яшин В.А., Карнаухов В.Н. Изменение гетерогенности структуры переживающих нервных клеток. *Арх. анат.*, 1981, т.81, № 8, с. 41-50.

32. Сотников О.С. Статика и реактивная кинетика структур живого вегетативного нейрона. В кн.: *Механизмы реагирования нейронов на раздражающие воздействия*. Л., Наука, 1981, с.99-127.

33. Сотников О.С., Пушкарев Ю.П., Золотарева Г.А. Реактивные изменения вегетативных синапсов при их частотной электростимуляции. *Бюлл. эксперим. биол. и мед.*, 1981, т.52, № 12, с.743-747.

34. Сотников О.С. Способ приготовления препарата живого нейрона беспозвоночного животного. (Авт. свид. № 972311). *Бюлл. изобр.*, 1982, № 41, с. 190.

35. Сотников О.С., Замосковский Е.М. Неоднородность распределения филаментозно-тубулярного материала в реактивно измененных синапсах и нейритах. *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, 1982, т.48, вып.1, с.91-95.

36. Виноградов С.Ю., Сотников О.С. К морфо-физиологическим исследованиям периферических миелиновых нервных волокон в условиях нарушенного окислительного фосфорилирования. В кн.: *Структура и реактивные свойства нейрона*. Труды ЛОЕ, т.81, вып.4, Л., 1982, с. 54-60.

37. Чубаков А.Р., Сотников О.С. Формирование связей между ядрами шва и гиппокампа в культуре ткани. *Арх. анат.*, 1982, т.82, вып.3, с. 11-20.

38. Сотников О.С. Формирование нейроно-глиальных контактов в терминальных отделах вегетативного нейрона при его ортодромной электростимуляции. *Докл. АН СССР*, 1982, т. 265, № 2, с.467-469.

39. Сотников О.С. О механизме универсальной прижизненной реакции варикозных изменений нейритов. *Арх. анат.*, 1982, т.82, вып.4, с.35-45.

40. Лагутенко Ю.П., Сотников О.С. Изменения ультраструктуры синапсов брюшного мозга медицинской пиявки под влиянием высокочастотной электростимуляции. Цитология, 1982, т.24, № 9, с.1019-1623.

41. Майоров В.Н., Самойлов М.О., Сотников О.С. О структурно-функциональных закономерностях в реагировании нейрона на раздражающие воздействия. В кн.: Нейрон и межнейронная интеграция. Л., Наука, 1983, с.5-11.

42. Майоров В.Н., Сотников О.С. Формирование глио-нейрональных мембранных контактов при ортодромной активации, 14-й Съезд Всесоюзного физиологического общества им. И.П.Павлова, Л., Наука, 1983, с. 36-37.

43. Сотников О.С., Лабас Ю.А., Летунов В.Н. Реактивная подвижность дендритов и концевых структур у выделенных нейронов морских беспозвоночных. Цитология, 1983, т.25, № 4, с.420-425.

44. Сотников О.С., Панин А.И., Праздникова В.П. Морфофизиологические соотношения, выявленные с помощью математического моделирования реактивных изменений нейрона. Арх.анат., 1984, т.86, вып.1, с.9-27.

45. (Сотников О.С.) Sotnikov O.S. Structure of Schmidt-Lantermann incisures. Fed. Proc. 1966, v.25, N 2, Pt.2, T204-T210.

46. (Сотников О.С.) Sotnikov O.S. Urgent functional myelination and remyelination. In: Bulgarian-Rumanian symposium on myelination and demyelination. Varna, 1979, p. 85-86.

47. (Яшин В.А., Сотников О.С., Карнаухов В.Н.) Jasin V.A., Sotnikov O.S., Karnauhov V.N. Untersuchungen der Struktur lebender Nervenzellen mit dem Interferenzmikroskop PERAVAL interphako. Jenaer Rundschau, 1980, 25 Jahr., H.3, S. 113-116.

48. (Майоров В.Н., Сотников О.С.) Majorov V.N., Sotnikov O.S. Intercellular glial-axonal interactions in the initial, phase of functional demyelination. In: Second International symposium on myelination and demyelination. Varna, Bulgarian Academy of Sciences, 1982, p. 15-16.

