

Ультраструктура синапсов коры большого мозга человека в старческом возрасте

Н.Н. Боголепов

Научный центр неврологии РАМН, Москва

В настоящем электронно-микроскопическом исследовании показаны изменения ультраструктуры синапсов сенсомоторной и лобной областей коры большого мозга человека в старческом возрасте. Выявлены изменения в распределении синаптических пузырьков в пресинаптическом отростке и механизмах их сближения и стыковки с пресинаптической мембраной. Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что нарушение взаимодействия синаптических пузырьков и пресинаптической мембраны является стадией, предшествующей деструкции и исчезновению синапса.

Ключевые слова: синапс, возрастные изменения, функциональная асинапсия, синаптическая патология.

В настоящее время изучение синапсоархитектоники мозга — одна из актуальных проблем неврологии. Синапсоархитектоника лежит в основе системной деятельности мозга, механизмов адаптации, обучения, компенсации нарушенных функций. Ультраструктура и организация межнейрональных связей мозга изучалась в нашей лаборатории на протяжении многих лет [1, 5, 6] и продолжает оставаться основным направлением работы.

Один из приоритетов в изучении синапсоархитектоники — анализ возрастных изменений синапсов [27]. Это направление работ позволяет раскрывать характеристики, которые являются структурной базой нарушений интегративной деятельности мозга, патологии когнитивных функций и системной деятельности мозга при старении.

Изменениям синапсов в пожилом и старческом возрасте посвящена достаточно большая литература [7, 8, 23, 25, 29, 30]. В нашей лаборатории также проводились исследования изменений синапсов в коре большого мозга человека и экспериментальных животных в возрастном аспекте [2–4]. Однако ряд вопросов возрастных изменений синапсов требует дальнейшего изучения.

Целью настоящей работы было изучение изменений ультраструктуры синапсов коры большого мозга человека в старческом возрасте, сопровождающихся нарушением их функций, а также анализ перехода этих изменений в деструктивные, приводящие к ликвидации контакта и уменьшению общего числа синапсов в изучаемой области коры большого мозга.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследования служил мозг 10 больных в возрасте от 70 до 80 лет. Отбирались только те случаи, в которых больной погибал от причин, не связанных непосредственно с поражением мозга. Изучались сенсомоторная и лобная области коры большого мозга.

Материал для электронно-микроскопического исследования готовили в лаборатории ультраструктуры и цитохимии

мозга отдела исследований мозга Научного центра неврологии РАМН. Работу проводили на микроскопе Hitachi H600.

Результаты

Возрастные изменения ультраструктуры синапсов складываются из изменений пресинаптических отростков, нарушения взаиморасположения синаптических пузырьков и пресинаптической мембраны (их сближения, соприкосновения и стыковки), трансформации липопротеиновых комплексов цитоплазмы пресинаптического отростка, прилежащей к пресинаптической мембране. Одновременно изменяется ультраструктура постсинаптических отростков, прежде всего за счет цитоплазмы, прилежащей к постсинаптической мембране.

Рассмотрим последовательно эти процессы, которые в начальных стадиях являются функциональными, но затем могут приводить к деструктивным изменениям синапсов и предшествовать их исчезновению.

При просмотре ультратонких срезов мозга пожилого человека прежде всего обращают на себя внимание изменения ультраструктуры пресинаптических отростков. Они выглядят просветленными, количество синаптических пузырьков в них уменьшено, нарушается также распределение пузырьков. Синаптические пузырьки не заполняют весь пресинаптический отросток с увеличением их количества у пресинаптической мембраны, как это наблюдается в структуре нормального синапса. В большинстве контактов в мозгу старого человека они образуют лишь скопления у пресинаптической мембраны или располагаются группами вблизи от нее. Вместо синаптических пузырьков в пресинаптических отростках появляются скопления мелкогранулярного материала и фибриллы небольшой протяженности. Пресинаптические окончания при этом выглядят несколько набухшими, однако отчетные окончания встречаются редко.

Нарушение распределения синаптических пузырьков в пресинаптическом отростке, уменьшение их количества и замещение пузырьков гранулярным и фибриллярным

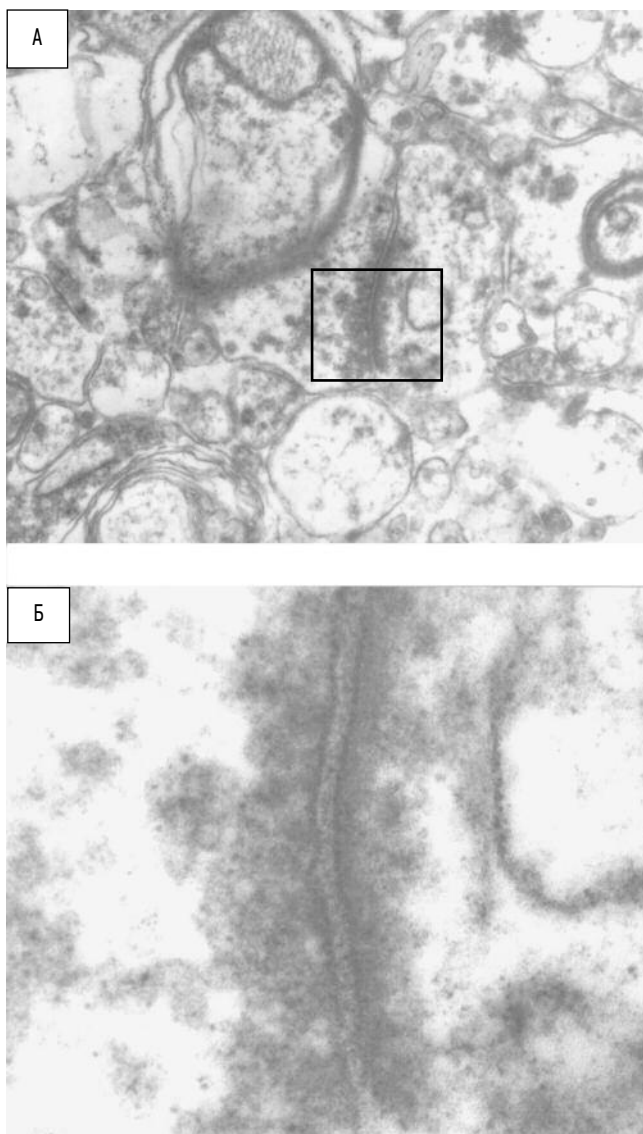


рис. 1: Синапс сенсомоторной области коры большого мозга человека 70 лет
А – нарушено распределение синаптических пузырьков в отростке, скопление в пресинаптическом отростке мелкогранулярного и фибриллярного материала. Увеличение $\times 20\ 000$.
Б – увеличенный фрагмент рис. А (изображение в рамке). Количество осмиофильного материала у пресинаптической и постсинаптической мембран увеличено. Синаптические пузырьки теряют четкость контура. Нарушение стыковки пузырьков и мембраны. Увеличение $\times 100\ 000$.

материалом свидетельствуют о нарушении цитоскелета пресинаптического отростка, изменении аксонального транспорта и, следовательно, механизмов приближения, соприкосновения и стыковки синаптических пузырьков и пресинаптической мембраны. В синапсах людей старше 70 лет были выявлены затруднения в непосредственном приближении синаптических пузырьков к пресинаптической мембране, стыковке с ней и выделении медиатора в синаптическую щель.

Как сказано выше, синаптические пузырьки образуют скопления у пресинаптической мембраны, при этом сами они заметно изменяются: четкость их контуров теряется, мембраны многих из них выглядят «размытыми», между пузырьками, объединенными в группы, располагаются скопления мелкогранулярного осмиофильного материала.

На рис. 1 А представлен синапс из сенсомоторной коры большого мозга человека 70 лет. Синапс находится в начальной стадии изменений. Синаптические пузырьки еще располагаются по всему пресинаптическому отростку, хотя и неравномерно. Видны их скопления на отдалении от пресинаптической мембраны. Некоторые из них имеют размытый контур и формируют небольшие цепочки из нескольких пузырьков.

Анализ активной зоны синапса показывает, что она претерпевает с возрастом выраженные изменения, являющиеся составной частью изменений пресинаптических отростков. Эти изменения складываются из уменьшения количества синаптических пузырьков, стыкованных с пресинаптической мембраной, потери их дискретности, «размытости» контура их мембран, формирования скоплений осмиофильного материала, в которых нечетко выявляются отдельные пузырьки.

Следует отметить образование у пресинаптической мембраны осмиофильного материала, который как бы отделяет от нее синаптические пузырьки (рис. 1 Б). В синапсах в старческом возрасте следует также обратить внимание на скопление у постсинаптической мембраны в постсинаптическом отростке большого количества осмиофильного материала, имеющего особенно высокую электронную плотность непосредственно у самой мембраны.

Следующая стадия изменений синапсов – контакты с патологическими изменениями. К ним относятся (рис. 2 А): грубые нарушения ультраструктуры синаптических пузырьков, большая часть которых не имеет четкого контура; размытость мембран, окружающих пузырьки; потеря пузырьками обычной для них округлой или овальной формы. Изменение электронной плотности пузырьков формирует скопление осмиофильного материала.

В некоторых случаях образуются цепочки или скопления синаптических пузырьков, в которых они соединены более плотным осмиофильным материалом, включающим как белки мембраны пузырька, так и липопротеиновые комплексы пресинаптического отростка.

Необходимо обратить внимание на то, что у пресинаптической мембраны синаптические пузырьки в большинстве своем замещаются осмиофильным материалом, хотя тенденция их движения к мембране сохраняется. В этой стадии нередко выявляются синапсы, у которых отсутствует непосредственный контакт синаптических пузырьков с пресинаптической мембраной или количество пузырьков, соприкасающихся с мембраной, заметно уменьшено (рис. 2 Б). В таких случаях между пузырьками и мембраной чаще всего наблюдается полоска осмиофильного материала шириной около 30–70 нм либо скопление осмиофильного материала включает в себя отдельные пузырьки с нечеткими измененными контурами.

Были выявлены также синапсы, в которых осмиофильный материал не оттеснял пузырьки от мембраны или не становился преградой между ними и мембраной, но замещал их. В этих случаях вблизи от пресинаптической мембраны синаптические пузырьки теряют свой четкий контур, на месте их скопления образуется осмиофильный материал, в котором изредка могут намечаться контуры отдельных пузырьков. Этот электронноплотный

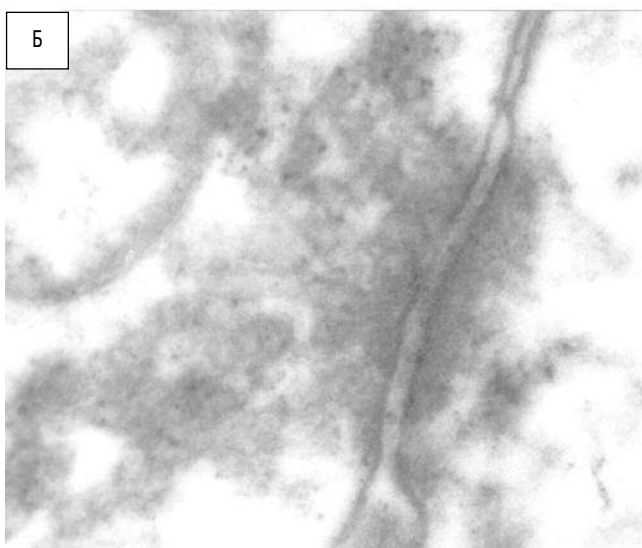
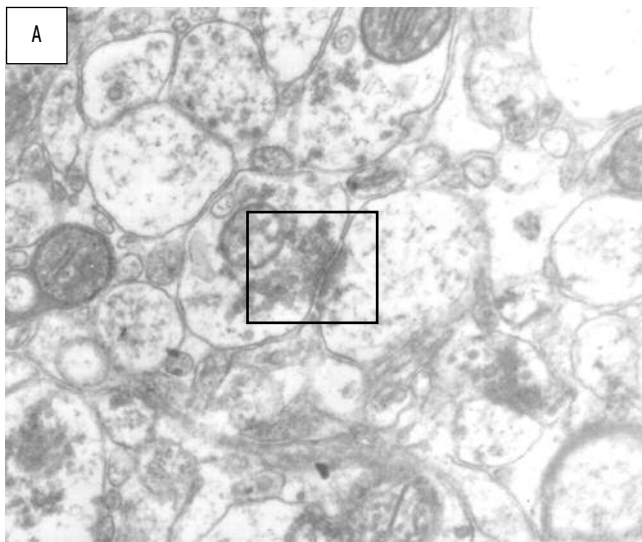


рис. 2: Синапс сенсомоторной области коры большого мозга человека 70 лет
 А – демонстрируется объединение скоплений синаптических пузырьков в группы и короткие цепочки, нарушение ультраструктуры митохондрий в этом пресинаптическом отростке. Увеличение $\times 20\ 000$. Б – увеличенный фрагмент рис. А (изображение в рамке). Показано нарушение дискретности синаптических пузырьков, превращение их в образования с размытыми контурами, замещение стыковки пузырьков с мембраной скоплением осмиофильного материала. Увеличение $\times 100\ 000$.

материал неоднороден: в нем имеются участки большой плотности и очаги просветления. Участки повышенной электронной плотности располагаются как у мембраны, так и на расстоянии 40–50 нм от нее. Размеры скопления осмиофильного материала также весьма переменны по протяженности вдоль мембран и по углублению в пресинаптический отросток.

В некоторых случаях скопление осмиофильного материала вдоль пресинаптической мембраны настолько выражено, что можно говорить уже не о синаптическом, а о десмосомовидном контакте. Нам представляется, что подобные изменения ультраструктуры синапсов могут служить структурной основой для термина «функциональная асинапсия», когда контакт еще существует, но уже не работает.

При старении нередко встречаются пресинаптические окончания, которые имеют и активные зоны с синаптическими пузырьками, прилежащими к мембране, и десмосомовидные контакты. Десмосомовидные контакты – одна из переходных стадий от работающего синапса к его исчезновению. В таких контактах не осуществляется передача импульса, но он какое-то время остается «резервным» и при определенных условиях может восстанавливать свою функцию.

Таким образом, прежде чем синапс исчезает, он проходит несколько стадий изменений, которые сначала снижают функциональную активность этого контакта, затем приводят к прекращению функции данного контакта при еще частично сохраненной его ультраструктуре и, наконец, к его деструкции и исчезновению.

В пожилом возрасте изменяется ультраструктура не только пресинаптических отростков, но и постсинаптических компонентов синапсов.

У пожилых людей по сравнению с молодыми скопления осмиофильного материала у постсинаптической мембраны выражены более сильно в коре большого мозга. Они, как правило, не располагаются в виде равномерного, сравнительно узкого уплотнения у мембраны. Часто наблюдаются глубокие клинья мелкогранулярного материала в цитоплазму постсинаптического отростка. При изучении межнейронных контактов при старении встречаются, хотя и редко, синапсы с выраженными деструктивными изменениями. К ним относятся появление в пресинаптическом отростке лизосом и липидных включений, что сочетается с образованием в нем большого количества гранулярного и фибриллярного материала (рис. 3 А). Анализ активной зоны этого синапса при большом увеличении (рис. 3 Б) показывает, что одновременно идет нарушение контакта: резкое уменьшение количества синаптических пузырьков у пресинаптической мембраны, нарушение с ней контакта пузырьков, скопление у мембраны мелкогранулярного осмиофильного материала, частично замещающего синаптические пузырьки и частично встраивающегося между сохранившимися пузырьками и мембраной. Анализ ультраструктуры данного синапса указывает на выраженные нарушения его функции и свидетельствует о том, что это фаза разрушения синапса и его исчезновения.

Патологические изменения отдельных синапсов и их исчезновение приводят к нарушениям афферентно-эфферентных соотношений и реорганизации синапсоархитектоники нервных центров. Наиболее заметно страдают аксо-шиповые синапсы, синапсы на тонких веточках дендритов, уменьшается количество синапсов на тонких веточках дендритов, сокращается число дендро-дендритных и аксо-аксонных связей, исчезают реципрокные связи. В меньшей степени изменяются синапсы на крупных стволах дендритов и аксо-соматические связи.

Обсуждение

Таким образом, в результате работы показано возникающее при старении нарушение распределения и уменьшение количества синаптических пузырьков в пресинаптических отростках, изменение ультраструктуры мембран пузырьков, нарушение прикрепления синаптических

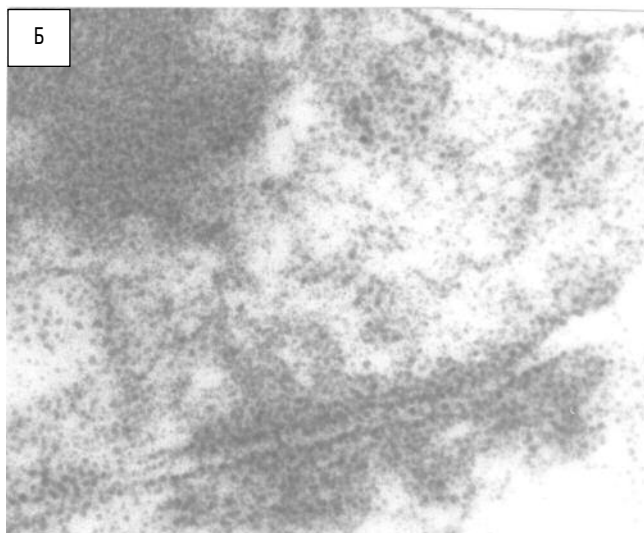
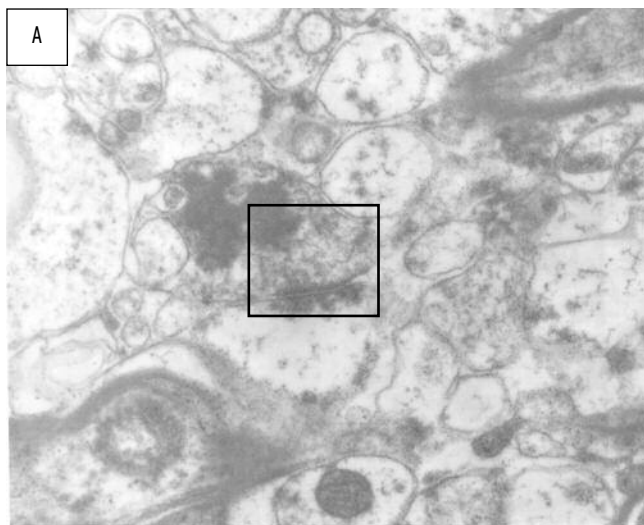


рис. 3: Синапс сенсомоторной коры большого мозга человека 70 лет
А – выраженная деструкция пресинаптического отростка, скопление в нем осмиофильного материала и появление липидных включений и лизосом. Увеличение $\times 20\,000$. Б – увеличенный фрагмент рис. А (изображение в рамке). Нарушение контакта синаптических пузырьков и пресинаптической мембраны. Увеличение $\times 100\,000$.

пузырьков к пресинаптической мембране. Выявлены также стадии формирования десмосомовидных контактов на месте синаптических мембран.

Изменения в распределении синаптических пузырьков и нарушения в цитоскелете пресинаптического отростка могут быть связаны с нарушением энзимных систем, участвующих в поддержании ионного гомеостаза пресинаптического отростка [13]. Показанные изменения синаптических пузырьков, возможно, в определенной мере обусловлены уменьшением количества белков, связанных с синаптической передачей, что было обнаружено у 12-месячных мышей в исследовании SAMP-10 [30]. Выявленные нами при старении нарушения стыковки синаптических пузырьков и пресинаптической мембраны развивают представления J. Adams [7] об изменении пресинаптического парамембранного уплотнения при старении.

На нарушения в архитектонике синапсов при старении указывают и другие данные литературы. Показано уменьшение количества синаптических пузырьков в сенсомоторной коре старых крыс [16], изменение с возрастом энзимов и рецепторов синаптических мембран [15]. Изменения митохондрий в синапсах свидетельствуют о возрастных нарушениях синаптического энергетического метаболизма [9].

Важно отметить, что показанные в настоящей работе изменения расположения синаптических пузырьков в непосредственной близости к пресинаптической мембране и на некотором расстоянии от нее позволяют на основании нарушений ультраструктуры пузырьков и механизмов их стыковки с мембраной говорить о функциональной асинапсии.

Это находит подтверждение и в данных литературы. M. Jawamoto et al. [14] показали, что у старых крыс уменьшение выделения медиатора из пресинаптического отростка обусловлено прежде всего редукцией определенных белковых компонентов вольтаж-зависимых кальциевых каналов, которые принимают участие в реализации действия медиатора. Нарушение ультраструктуры и функции кальциевых каналов, вероятно, приводит к конформационным изменениям липопротеиновых комплексов цитоплазмы, прилежащих к пресинаптической мембране, что выражается при электронномикроскопическом исследовании в формировании различной формы и выраженности осмиофильных скоплений у мембраны. Возрастные изменения ультраструктуры и функции кальциевых каналов были отмечены также в работе G. Akopian и J.P. Walsh [8].

Выявленные нами изменения цитоплазмы постсинаптического отростка, прилежащего к постсинаптической мембране, также указывают на изменения функциональных возможностей контакта. В литературе отмечается и то, что выявленная в синапсах гиппокампа при старении редукция постсинаптического уплотнения связана с изменением содержания постсинаптических протеинов и ведет к снижению функции синапсов [21].

Показанные в работе изменения синапсов могут быть структурной предпосылкой их деструкции и исчезновения. На уменьшение количества синапсов при старении указывает ряд авторов [7, 10, 12, 22, 26, 32, 35]. При этом связанные с возрастом изменения синапсов в различной степени выявляются в разных областях коры [7, 20, 28] и имеют свои региональные особенности [11, 24]. В старческом возрасте отмечено также уменьшение количества перфорированных синапсов различного типа и локализации [12, 33]. Наиболее заметно снижается число синапсов на шипиках и тонких ветвях дендритов, в меньшей степени – на крупных стволах дендритов и телах нервных клеток. Одновременно с уменьшением числа синапсов снижается количество мелких ветвей дендритов за счет их атрофии [34]. В связи с неравномерным уменьшением при старении синапсов различного типа представляют интерес работы, в которых отмечено изменение при этом соотношения возбуждающих и тормозных синапсов [19, 29].

Следует отметить, что пластичность синапсоархитектоники при старении в определенной мере сохраняется [25]. В то же время имеются работы, авторы которых считают, что число синаптических связей уменьшается преимущественно

но при патологических процессах, развивающихся в старческом возрасте. Речь идет прежде всего о болезни Альцгеймера [17, 31, 28], когда количество синапсов снижается особенно заметно.

Существует также точка зрения, что число синапсов при старении не уменьшается [32], хотя при этом отмечаются изменения их ультраструктуры [18].

Таким образом, показанные изменения ультраструктуры синапсов являются одним из компонентов инволютивных изменений мозга. Обнаруженные патологические изменения пресинаптических отростков и механизмов сближения

и стыковки синаптических пузырьков и пресинаптической мембраны нарушают выделение медиатора, ухудшают синаптическую передачу и приводят к функциональной асинапсии, когда синапс еще существует, но уже не функционирует. Изменения пресинаптических отростков и взаимодействие синаптических пузырьков с пресинаптической мембраной являются стадией, предшествующей деструкции и исчезновению ранее функционировавших синапсов. Изменения цитоплазмы постсинаптического отростка, прилежащей к постсинаптической мембране, указывают на нарушение рецепторной функции постсинаптического компонента контакта.

Список литературы

1. Боголепов Н.Н. Ультраструктура синапсов в норме и патологии. М.: Медицина, 1975.
2. Боголепов Н.Н. Изменения ультраструктуры активной зоны синапсов коры большого мозга при старении. Российские морфологические ведомости 1999; 1: 36–40.
3. Боголепов Н.Н. Возрастные изменения ультраструктуры синапсов коры большого мозга. Морфология 2002; 2-3: 23–25.
4. Боголепов Н.Н., Фрумкина Л.Е. Возрастные изменения ультраструктуры синапсов в мозгу человека. Морфология 2006; 4: 24–28.
5. Саркисов С.А., Боголепов Н.Н. Электронная микроскопия мозга. М.: Медицина, 1967.
6. Семченко В.В., Степанов С.Е., Боголепов Н.Н. Синаптическая пластичность головного мозга. Омск, 2008.
7. Adams J. Plasticity of the synaptic contact zone following loss of synapses in the cerebral cortex of aging humans. Brain Res. 1987; 424: 343–351.
8. Akopian G., Walsh J.P. Pre- and postsynaptic contributions to age-related alterations in corticostriatal synaptic plasticity. Synapse 2006; 60: 233–238.
9. Bertoni-Freddari C., Fattoretti P., Casoli T. et al. Morphological plasticity of synaptic mitochondria during aging. Brain Res. 1993; 628: 193–200.
10. Bertoni-Freddari C., Fattoretti P., Giorgetti B. et al. Synaptic pathology in the brain cortex of old monkeys as early alteration in senile plaque formation. Rejuvenation Res. 2006; 9: 85–88.
11. Brunso-Bechtold J.K., Linville M.C., Sonntag W.E. Age-related synaptic changes in sensorimotor cortex of the Brown Norway X fischer 334 rat. Brain Res. 2000; 872: 125–133.
12. Geinisman V., de Tolledo-Morrell L., Morrell F. Loss of perforated synapses in the dentate gyrus: morphological substrate of memory deficit in aged rats. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1986; 83: 2027–2031.
13. Gorini A., Canosi U., Devecchi E. et al. AMPase enzyme activities during ageing in different types of somatic and synaptic plasma membranes from rat frontal cerebral cortex. Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry 2002; 26: 81–90.
14. Jawamoto M., Hagishita T., Shoji-Kasai V. et al. Age-related changes in the levels of voltage-dependent calcium channels and other synaptic proteins in rat brain cortices. Neurosci. Lett. 2004; 336: 277–281.
15. Konev S.V., Aksentsev St., Okun I.M. et al. Structural reorganization of the brain synaptic membranes and aging. Fiziol. Zh. 1990; 36: 36–42.
16. Langmeier M., Trojan S. Presynaptic terminals in the sensorimotor area of the cerebral cortex in old laboratory rats. Sb. Lek. 1991; 93: 203–210.
17. Lin X., Erikson C., Brun A. Cortical synaptic changes and gliosis in normal aging, alzheimer's disease and frontal lobe degeneration. Dementia 1996; 7: 128–134.
18. Lovova I., Lovov V., Petcov V.D. Quantification of the synapses in the hippocampus of aged rats. Z. Mikrosk. Anat. Forsch. 1989; 103: 447–458.
19. Luebke J.I., Chang V.M., Moore T.L. et al. Normal aging results in decreased synaptic excitation and increased synaptic inhibition of layer 2/3 pyramidal cells in the monkey prefrontal cortex. Neuroscience 2004; 125: 277–288.
20. Moll G.H., Mehnert C., Wicher M. et al. Age-associated changes in the densities of presynaptic monoamine transporters in different regions of the rat brain from early juvenile life to late adulthood. Brain Res. Dev. 2000; 119: 251–257.
21. Nyffeler M., Zhang W.N., Feldon J. et al. Differential expression of PSD proteins in age-related spatial learning impairments. Neurobiol. Aging. 2005; 27: 30.
22. Pakkenberg B., Pelvig D., Marnier L. et al. Aging and the human neocortex. Exp. Gerontol. 2003; 38: 95–99.
23. Peters A. Structural changes that occur during normal aging of primate cerebral hemispheres. Neurosci. Biobehav. Rev. 2002; 26: 733–41.
24. Peters A., Moss M.B., Sethares C. The effects of aging on layer 1 of primary visual cortex in the rhesus monkey. Cereb. Cortex 2001; 11: 93–103.
25. Platano D., Bertoni-Freddari C., Fattoretti P. et al. Structural synaptic remodeling in the perirhinal cortex of adult and old rats following object recognition visual training. Rejuvenation Res. 2006; 9: 102–106.
26. Poe B.H., Linville C., Brunso-Dechtold J. Age-related decline of presumptive inhibitory synapses in the sensorimotor cortex as revealed by physical dissection. J. Comp. Neurol., 2001; 439: 65–72.
27. Saito V., Katsumaru H., Wilson C.J. et al. Light and electron microscopic study of corticorubral synapses in adult cat: evidence for extensive synaptic remodeling during postnatal development. J. Comp. Neurol. 2001; 440: 236–244.
28. Scheff S.W., Price D.A., Sparks D.L. Quantitative assessment if possible age-related change in synaptic numbers in the human frontal cortex. Neurobiol. Aging 2001; 22: 355/365.
29. Shi L., Pang H., Linville M.C. et al. Maintenance of inhibitory interneurons and bontons in sensorimotor cortex between middle and old age in Fischer 344X-Brown Norway rats. J. Chem. Neuroanat. 2006; 32: 46–53.
30. Shimada A., Keino H., Satoh M. et al. Age-related loss synapses in the frontal cortex of SAMPIO mouse: a model of cerebral degeneration. Synapse 2003; 48: 198–204.
31. Terry R.D., Katzman R. Life span and synapses: will there be a primary senile dementia. Neurobiol. Aging 2001; 20: 347–348.

32. *Tigges J., Herndon J.G., Rosene D.L.* Preservation into old age of synaptic number and size in the supragranular layer of the dentate gyrus in rhesus monkeys. *Acta Anat. (Basel)* 1996; 157: 63–72.

33. *De Tolledo-Morrell L., Geinisman V., Morrell F.* Age-dependent alterations in hippocampal synaptic plasticity: relation to memory disorders. *Neurobiol. Aging* 1988; 9: 581–590.

34. *Toussaint C., Kugler P.* Morphometric analysis of mitochondria and boutons in the dentate gyrus molecular layer of aged rats. *Anat. Embryol. (Berl.)* 1989; 179: 411–414.

35. *Wong T.P., Campbell P.M., Ribeiro-da-Silva A. et al.* Synaptic numbers across cortical laminae and cognitive performance of rat during ageing. *Neuroscience* 1998; 84: 403–412.

Ultrastructure of synapses of human cerebral cortex in the old age

N.N. Bogolepov

Research Center of Neurology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Key words: synapse, age-related changes, functional asynapsy, synaptic pathology.

In the present electron-microscopic study, changes of ultrastructure of synapses in the sensory-motor and frontal cerebral cortex in humans of old age are demonstrated. Abnormalities of distribution of synaptic vesicles in the presynaptic ending and changes of mechanisms of their rapprochement and attachment to the

presynaptic membrane were found. Analysis of the obtained results suggests that disturbed interaction between synaptic vesicles and presynaptic membrane represents a stage preceding the destruction and disappearance of the synapse.